

# **Evaluación del potencial antidiabesidad de 30 plantas medicinales nativas y cultivadas en busca de alternativas naturales para el control de la Diabetes tipo II**

Ivonne Juliana González Merchan

Tesis presentada como requisito para optar al título de:  
**Química Farmacéutica**

Director:

Dr(c). Jeisson Javier Martínez Vargas

Codirectora:

Dra. Erika Andrea Plazas Gonzalez



Fundación Universitaria Salesiana  
Facultad de ciencias exactas y naturales  
Química Farmacéutica  
Bogotá D.C  
2024

## Resumen

La presente investigación aborda la determinación del potencial antidiabético de extractos vegetales obtenidos de 30 especies utilizadas en la medicina tradicional, mediante ensayos de tamizaje *in vitro* de todos los extractos para la selección de los más promisorios para continuar la caracterización farmacológica y química mediante estudios *in vivo* en modelos de *Drosophila melanogaster* y un perfilado metabólico por HPLC-HRMS. Este trabajo se desarrolló con el objetivo de identificar y caracterizar compuestos bioactivos que puedan contribuir al desarrollo de alternativas terapéuticas para la diabetes tipo II y la diabetes, condiciones que constituyen una preocupación creciente en la salud pública global debido a su alta prevalencia y carga socioeconómica.

En el primer frente de trabajo, se evaluó la capacidad de los extractos vegetales para inhibir tres enzimas clave:  $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática. Estas enzimas desempeñan un papel crucial en la fisiopatología de la diabetes y la obesidad al mediar la digestión de carbohidratos y lípidos, así como en el incremento de los niveles de glucosa y triglicéridos en sangre. Los ensayos *in vitro* permitieron determinar el potencial inhibitorio de cada extracto, identificando aquellos con mayor potencial para disminuir la actividad enzimática.

Posteriormente, los estudios *in vivo* se llevaron a cabo en un modelo de diabetes en *Drosophila melanogaster*. Este organismo, ampliamente utilizado en investigaciones biomédicas debido a su homología genética con humanos y su capacidad para simular procesos metabólicos complejos, permitió evaluar el potencial farmacológico de los extractos seleccionados en un sistema vivo. Los ensayos incluyeron el monitoreo de la actividad locomotora y cuantificación de lípidos y proteínas. Los resultados evidenciaron diferencias significativas entre los grupos experimentales, destacándose la capacidad de ciertos extractos para revertir o mitigar alteraciones metabólicas inducidas por una dieta rica en glucosa. Este enfoque proporciona evidencia preliminar de la eficacia y seguridad de los compuestos bioactivos, complementando los hallazgos derivados de los estudios *in vitro*.

Como parte del tercer eje de investigación, se realizó un perfilado metabólico del extracto más promisorio utilizando técnicas de cromatografía líquida de alta resolución acoplado a espectrometría de masas (LC-MS/MS). Este análisis permitió la anotación preliminar de algunos metabolitos secundarios presentes en el extracto más activo. Los aportes del presente estudio están determinados por la generación de nuevo conocimiento, ampliando y validando conocimiento etnobotánico con la validación de ensayos *in vitro* e *in vivo*, e incluso robustecer la caracterización fitoquímica de las especies estudiadas, validando su uso tradicional y contribuyendo a la revalorización del conocimiento etnofarmacológico. Por otro lado, los resultados resaltan la importancia de los productos naturales como fuente de compuestos potencialmente bioactivos o matrices multicomponente relevantes en la fitoterapéutica, en particular las especies estudiadas con un enfoque en enfermedades metabólicas. La validación de la actividad de los extractos vegetales y la identificación tentativa de metabolitos resultan necesarios para el desarrollo de sustancias bioactivas de origen natural que puedan ser accesibles y efectivos en el manejo de la diabetes tipo II y la diabetes. Además, fortalece el puente entre la ciencia básica y la medicina aplicada, respondiendo desde la investigación temprana a la necesidad urgente de alternativas terapéuticas frente a enfermedades crónicas de alta prevalencia. El presente trabajo también revaloriza la práctica tradicional sin dejar de lado el papel latente de la biodiversidad Colombiana en la búsqueda de soluciones que respondan a las necesidades sanitarias a nivel mundial.

# Contenido

<b>1. Introducción</b>	<b>5</b>
<b>2. Marco teórico</b>	<b>6</b>
2.1. Generalidades de la diabetes tipo II	6
2.2 Fisiopatología	8
2.3 Blancos moleculares	9
2.3.1. Enzima $\alpha$ -glucosidasa	9
2.3.2. Enzima $\alpha$ -amilasa	10
2.3.3. Enzima lipasa pancreática	11
2.4 Modelos alternativos in vivo para la búsqueda de agentes antidiabéticos	12
2.4.1. Drosophila Melanogaster	13
2.5 Agentes terapéuticos actuales	14
2.6 Productos naturales con potencial (antidiabético)	16
2.6.1. Especies vegetales con potencial antidiabético: un enfoque etnobotánico	16
<b>Especies reportadas</b>	<b>17</b>
2.6.2. Potencial antidiabético de extractos, fracciones y metabolitos de origen vegetal	18
2.7 Especies seleccionadas	20
<b>3. Objetivos</b>	<b>21</b>
<b>4. Metodología</b>	<b>22</b>
4.1. Obtener y seleccionar los extractos con mayor el potencial antidiabetesidad por medio de un tamizaje de actividad inhibitoria enzimática in vitro frente a $\alpha$ -glucosidasa, $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática	22
4.1.1 Obtención del material vegetal y de los extractos	22
4.1.2 Tamizaje de actividad inhibitoria in vitro de los extractos a las concentraciones de 50 y 500 ppm	22
4.1.2.1 Determinación de las concentraciones inhibitorias IC50	24
4.2. Evaluar los efectos antidiabéticos del extracto más promisorio en los ensayos in vitro empleando modelos de diabetes in vivo en Drosophila melanogaster	24
4.2.1 Selección del extracto más promisorio	24
4.2.2 Establecer un modelo de diabetes en Drosophila melanogaster	24
4.2.3 Ensayos comportamentales	25
4.2.4 Ensayos ex vivo	25
4.2.5 Evaluación del efecto antidiabetesidad del extracto más promisorio	26
4.2.6. Hacer una aproximación de la composición química del extracto más promisorio por medio de un perfilado metabólico usando cromatografía líquida acoplada de alta eficiencia a espectrometría de masas de alta resolución (HPLC-HRMS).	27
<b>5. Resultados y discusión</b>	<b>27</b>
5.1 Rendimiento de extracción	27
5.2 Tamizaje de actividad inhibitoria enzimática in vitro frente a $\alpha$ -glucosidasa, $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática	29
5.2.1 Actividad Inhibitoria frente a $\alpha$ -glucosidasa	29
5.2.2 Actividad Inhibitoria frente a -amilasa	31
5.2.3 Actividad Inhibitoria en lipasa pancreática	32
5.2.3. Concentraciones inhibitorias cincuenta de los extractos más activos	33
5.3 Efectos antidiabéticos del extracto más promisorio en los ensayos in vitro empleando modelos	

de diabetes en <i>Drosophila melanogaster</i>	36
5.3.1 Matriz de selección extracto más promisorio	36
5.3.2 Establecimiento del modelo	37
5.3.3 Tratamiento con el extracto más promisorio ( <i>Juglans neotropica</i> )	38
5.3.3.1 Cuantificación de proteínas	40
5.3.3.2 Cuantificación de Lípidos	41
5.4 Hacer una aproximación de la composición química del extracto más promisorio por medio de un perfilado metabólico usando cromatografía líquida -acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (HPLC-HRMS/MS).	43
<b>6. Conclusiones</b>	<b>47</b>
<b>7. Bibliografía</b>	<b>49</b>
<b>Anexos</b>	<b>57</b>
Anexo 1	57
Anexo 2.	58
Anexo 3	59
Anexo 4.	59
Anexo 5	61

## 1. Introducción

En las últimas décadas se ha evidenciado un incremento masivo de los casos de diabetes a nivel mundial lo que ha llevado a que esta enfermedad sea considerada una "pandemia". Actualmente, se estima que 425 millones de adultos (entre 20 y 79 años) viven con diabetes, cifra que se prevé alcance los 629 millones para el año 2045. En 2009, la diabetes fue la causa directa de 1,5 millones de muertes, y se estima que este número aumentará a 2,2 millones para el año 2040. En las Américas, la situación no es menos preocupante, por ejemplo, de acuerdo con los reportes del Atlas de Diabetes (novena edición) se calcula que hoy en día cerca de 62 millones de personas viven con diabetes tipo 2, cifra que se ha triplicado desde 1980 y se espera que llegue a 109 millones para el año 2040. Además, diferentes estudios indican que la prevalencia de la enfermedad ha aumentado con mayor rapidez en los países de ingresos bajos y medianos que en los de ingresos altos (OMS, 2022).

En Colombia la diabetes tipo 2 se ha descontrolado en la última década asemejándose a una epidemia. De hecho, la Federación Colombiana de Diabetes (FCD) estima que más de 5 millones de personas viven con diabetes actualmente, de los cuales más del 90% son de tipo 2. Además, cada año se diagnostican alrededor de 400.000 nuevos casos, siendo la tercera causa de muerte en el país. La diabetes tipo 2 es más común en adultos mayores, con un promedio de edad al diagnóstico de 57 años. Sin embargo, la prevalencia de la enfermedad ha venido aumentando en poblaciones más jóvenes, y hoy en día se estima que alrededor del 10% de los nuevos casos corresponden a personas menores de 40 años. Y como si esto no fuera suficientemente preocupante, la diabetes tipo 2 es un factor de riesgo para otras enfermedades graves, como las enfermedades cardiovasculares y renales (Federación Colombiana de diabetes, 2020). Por lo cual, es importante tomar medidas para prevenir y controlar la diabetes, ya que es una enfermedad que puede tener graves consecuencias para la salud pública local y mundial.

En la actualidad, los medicamentos utilizados en el tratamiento de la diabetes tipo 2 conllevan efectos secundarios no deseados, como la hipoglucemia, el aumento de peso y problemas gastrointestinales. Además, muchos de estos medicamentos, como la Metformina, presentan interacciones con otros fármacos, lo que puede exacerbar estos efectos secundarios (Alaya, 2020). Por otro lado, fármacos como la acarbosa muestran falta de eficacia en pacientes con insuficiencia renal, y su disponibilidad se ve limitada por factores económicos y geográficos (Antoñanzas, 2017). Pese a los constantes avances en el tratamiento de esta enfermedad, aún existe una brecha terapéutica significativa, lo que refuerza la importancia de emprender investigaciones enfocadas a la búsqueda de nuevos agentes terapéuticos más efectivos y seguros que permitan mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Por otro lado, la relevancia de desarrollar nuevas alternativas terapéuticas derivadas de productos naturales para el tratamiento de la diabetes tipo 2 radica en la posibilidad de reducir posibles efectos secundarios y ofrecer un perfil de seguridad más favorable. Así como, facilitar el acceso a tratamientos mediante opciones económicamente más viables es especialmente relevante en países como Colombia, donde una parte significativa de la población carece de acceso adecuado a servicios médicos. Además, los tratamientos convencionales suelen ser de alto costo y de difícil alcance, lo que agrava la problemática de atención en salud. En este contexto, los productos naturales (PNs), en particular los extractos vegetales, representan una opción prometedora para el control de la diabetes ofreciendo diferentes ventajas como una mayor disponibilidad, propiedades multidiana y un menor riesgo de efectos adversos. Asimismo, el uso de especies medicinales, profundamente arraigado en la cultura y tradición, facilita su obtención y cultivo, lo que podría, a su vez, impulsar la economía local y fortalecer el vínculo entre la medicina tradicional y las necesidades actuales de salud.

Históricamente los productos naturales han desempeñado un papel crucial en la obtención de nuevos fármacos constituyendo una fuente importante de nuevas entidades químicas para la farmacología y terapéutica (Cragg, 2007). Dicha importancia se encuentra estrechamente relacionada con su función

biológica, ya que han sido biosintetizados, degradados y transformados por sistemas enzimáticos, lo que les confiere una interacción privilegiada con las biomoléculas diana (Newman, 2020). Además considerando su naturaleza multitarget podrían presentar un mejor perfil terapéutico para enfermedades complejas como es el caso de la diabetes.

Colombia, con una de las mayores floras del planeta, alberga un enorme potencial para la investigación etnobotánica. Se estima que el país posee alrededor de 50.000 especies de plantas, de las cuales cerca de 5.000 tienen usos medicinales documentados (Instituto Alexander von Humboldt, 2003). Los conocimientos ancestrales de las comunidades indígenas y afrodescendientes sobre las propiedades curativas de las plantas son un tesoro invaluable para la investigación etnobotánica. Estas comunidades, a través de la observación y la experiencia acumulada durante generaciones, han desarrollado un profundo conocimiento sobre la flora local y sus aplicaciones medicinales. En este contexto, la etnobotánica es una herramienta fundamental para identificar especies vegetales con potencial antidiabético. Por ende, el estudio y corroboración de las prácticas medicinales ancestrales es una pieza clave en la identificación de especies que pueden ser empleadas en el tratamiento de la diabetes tipo 2 o enfermedades crónicas relacionadas (Heinrich, 2018). Un ejemplo de esto es el trabajo titulado “Estudio etnobotánico y bibliográfico de las plantas comercializadas en plazas de mercado de Cali – Colombia para tratar la Diabetes Mellitus” en el cual se estudiaron alrededor de 15 plantas con usos etnofarmacológicos relacionados a esta enfermedad, entre ellas *Justicia secunda*, *Marrubium vulgare* y *Momordica charantia*. La especie *J. secunda* demostró un alto porcentaje de inhibición en las enzimas de  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -lipasa pancreática (> 80%), lo cual respalda el valor de los productos naturales para el tratamiento de la diabetes (Nazzaro, 2023).

Considerando que un alto porcentaje de las especies empleadas en la medicina folclórica de nuestro país no tienen estudios *in vivo* y/o *in vitro* que confirmen su potencial, resulta crucial llevar a cabo investigaciones que abarquen estudios farmacológicos con el fin de corroborar las propiedades antidiabéticas de estas. Así como indagar los posibles mecanismos de acción y los posibles metabolitos secundarios responsables de la actividad farmacológica. En este contexto, este proyecto buscó determinar el potencial de diferentes plantas reconocidas por sus usos etnobotánicos para el tratamiento de la diabetes tipo 2 y la diabetes, mediante estudios de actividad biológica *in vitro* en modelos enzimáticos; así como estudios farmacológicos preliminares *in vivo* usando modelos de diabetes en *Drosophila melanogaster* y análisis metabólicos de los extractos más promisorios.

## 2. Marco teórico

### 2.1. Generalidades de la diabetes tipo II

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) constituye una condición clínica debilitante, degenerativa y multifacética de alta prevalencia a nivel mundial. La diabetes mellitus (DM) es un grupo de alteraciones metabólicas que se caracteriza por hiperglucemia crónica, debida a un defecto en la secreción de la insulina, a un defecto en la acción de ésta, o a ambas. Los factores determinantes de la enfermedad son variados e interactúan entre sí, influyen factores como, el estilo de vida del paciente, el entorno físico y sociocultural, así como la genética y epigenética (García, 2020). La DM históricamente se ha dividido en DM1 y DM2, ambas con diferencias fundamentales en sus mecanismos causales, siendo la DM1 una enfermedad principalmente autoinmune central donde se destruyen selectivamente las células beta pancreáticas productoras de insulina generando un cese en su producción. Por otra parte, en la DM2 hay dos mecanismos patológicos fundamentales, la resistencia a la insulina, así como la posterior y progresiva disfunción de la célula beta, en los cuales interactúan múltiples vías de señalización de diferentes órganos (Álvarez-Rendón, 2018).

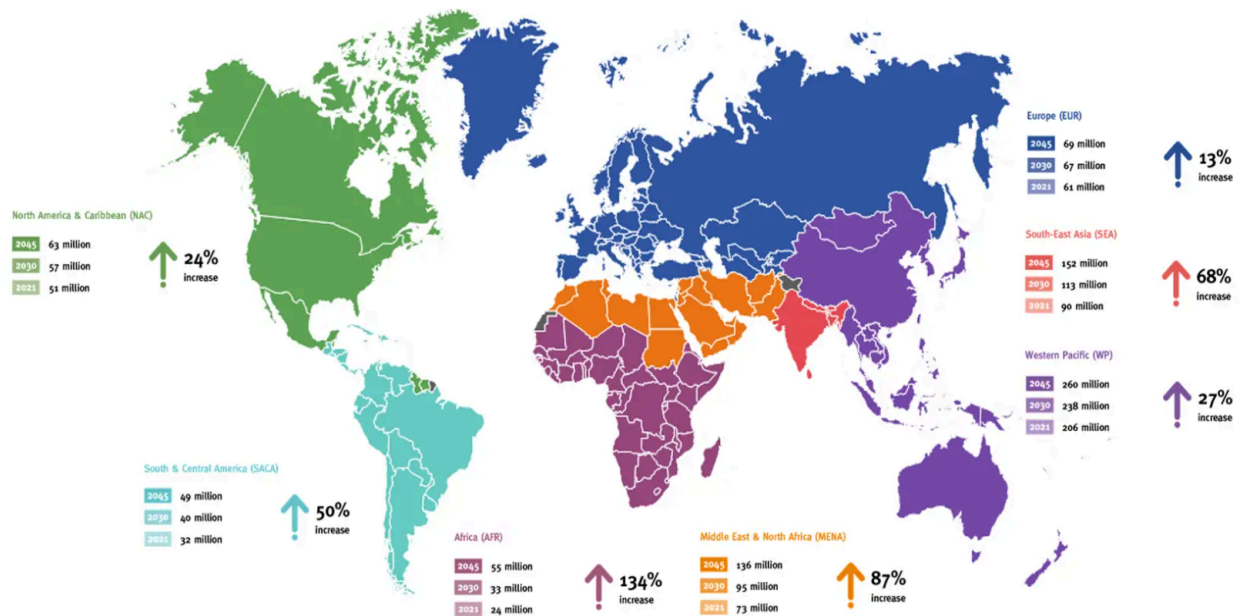
La resistencia a la insulina es una condición en la que las células no responden adecuadamente a esta hormona, lo que dificulta la absorción de glucosa por parte del tejido muscular y adiposo. Esta condición puede deberse a mutaciones o modificaciones en el receptor de insulina, el sustrato del

receptor u otras moléculas en la vía de señalización (Rodelo, 2015). Cuando la insulina se une al receptor, desencadena una serie de cambios conformacionales que activan cascadas de señalización intracelular, como la vía de la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K)/Akt, responsable de acciones metabólicas, y la vía de las cinasas activadas por mitógeno/Ras (MAPK/Ras), que regula la expresión genética y los efectos mitogénicos (Shulman, 2016).

La señalización hepática de insulina influye en la actividad gluconeogénica del hígado, principalmente a través de la inhibición de la lipólisis en el tejido adiposo. En el músculo esquelético, la insulina activa Akt2, promoviendo el transporte de glucosa a la membrana celular y la síntesis de glicógeno. Mecanismos independientes de la glucosa, como la contracción muscular, también pueden promover la captación de glucosa, activando proteínas que regulan la translocación de la proteína transportadora de glucosa 4 (GLUT4). Las causas comunes de resistencia a la insulina incluyen disminución en el número y actividad del receptor de insulina, aumento de la fosforilación de residuos serina/treonina en el receptor, y defectos en la expresión y función de GLUT-4. El estrés del retículo y la disfunción mitocondrial también se han asociado con la resistencia (Shulman, 2016). En personas obesas, el tejido adiposo libera adipocinas como TNF- $\alpha$ , IL-6 y resistina, que contribuyen a la patología. Estas sustancias también estimulan la lipólisis, aumentando la liberación de ácidos grasos libres, que pueden inducir lipotoxicidad en el músculo y el hígado, interfiriendo con la señalización de la insulina (Perez, 2024).

La presentación clínica de la enfermedad incluye una serie de síntomas característicos como poliuria, polidipsia, polifagia, alteración repentina del peso, cansancio extremo, falta de concentración, vómitos y dolor de estómago, cosquilleo o adormecimiento de manos y pies, visión borrosa, infecciones frecuentes y dificultad para curar heridas. Sin embargo, se reporta que en bastantes ocasiones es una enfermedad asintomática en sus primeras fases por esto la importancia la realización de exámenes de sangre constantes (Farmacéutica CIM del COFBI, 2024).

Globalmente, según las estadísticas de la Federación Internacional de Diabetes (FID) para el año 2019 se habían reportado cerca de 340 a 536 millones de personas con DM, sin embargo se prevé que estas cifras hayan superado los 600 millones de casos para el presente año. Por tanto, según estimados, la prevalencia mundial de la DM, que fue de 2,8 % en el año 2000, aumentará a 10,4 % en el 2040. El número de personas con diabetes mellitus a nivel mundial se ha cuadruplicado en las últimas tres décadas y la diabetes mellitus es la novena causa principal de muerte (OMS, 2021). Además, según el Atlas de la Federación Internacional de Diabetes Mellitus se prevé que para el año 2035, 592 millones de personas están afectadas por algún tipo de diabetes (Figura 1). Para América Latina y el Caribe se pronostica un incremento del 60 % de individuos afectados para el año 2035. Tal como se observa en la figura 1, los casos de DM han crecido de forma exponencial, lo cual también se ha asociado a un incremento en las tasas de enfermedades cardiovasculares, dislipidemias, enfermedades renales entre otras (IDF Diabetes Atlas 10th edition, 2021). Además, cabe señalar que el gasto total en salud relacionado con la diabetes para el 2021 fue de cerca de 6 millones de dólares y se proyecta que alcance los 18 millones de dólares en el 2045, por lo tanto es considerada una enfermedad de alto costo.



**Figura 1.** Mapa porcentaje de incremento de nuevos casos en el mundo. Tomado de IDF Diabetes Atlas 10th edition

Por su parte en Colombia, en el año 2021 se reportaron 3 millones de personas con la enfermedad y se espera que esta cifra alcance los 5 millones de casos para el año 2045, lo que implicaría un aumento de la prevalencia del 9,9%. También se evidencia que del 12% al 14% de los casos reporta una enfermedad secundaria de nefropatía, arteriopatía coronaria, neuropatía entre otras (IDF Diabetes Atlas 10 the edition, 2021).

## 2.2 Fisiopatología

En relación con la fisiopatología de la enfermedad, cuando hay un desajuste en los circuitos de retroalimentación entre la acción y la secreción de insulina, se pueden observar niveles anormalmente elevados de glucosa en sangre. Cuando las células beta pancreáticas funcionan incorrectamente, la producción de insulina se ve reducida, lo que limita la capacidad del organismo para regular los niveles normales de glucosa en sangre. Por otro lado, la resistencia a la insulina contribuye a un aumento en la producción de glucosa por el hígado y a una disminución en la captación de glucosa tanto por parte del músculo como del hígado y del tejido adiposo (Stumvoll, 2020). Aunque ambos procesos ocurren en las etapas tempranas de la enfermedad y contribuyen a su desarrollo, la disfunción de las células beta suele ser más significativa que la resistencia a la insulina. Sin embargo, cuando ambos factores están presentes, tanto la disfunción de las células beta como la resistencia a la insulina, la hiperglucemia se ve exacerbada, lo que conduce a la progresión de la diabetes tipo II.

Las células beta pancreáticas son responsables de producir insulina, que se almacena en gránulos y se libera en respuesta a altos niveles de glucosa en sangre. La glucosa es absorbida por las células beta a través del transportador GLUT2, lo que desencadena una serie de eventos que culminan en la exocitosis de insulina. Además de la glucosa, otros factores como aminoácidos, ácidos grasos y hormonas también pueden inducir la liberación de insulina. La señalización de calcio juega un papel crucial en este proceso, amplificando la señal que desencadena la exocitosis. Se ha observado que el AMPc y el ATP extracelular también contribuyen a regular la función de las células beta y la liberación de insulina, a través de la movilización de vesículas secretoras y la activación de receptores purinérgicos respectivamente (Cerf, 2013).

La disfunción de las células beta en la DM2 es el resultado de una interacción compleja entre factores exógenos, diversas vías moleculares y la concomitancia con otras patologías de base. Por ejemplo, en

personas con obesidad la hiperglucemia e hiperlipidemia favorecen la resistencia a la insulina y la inflamación crónica. Estas condiciones ejercen presión sobre las células beta, induciendo estrés en el retículo endoplásmico a través de la vía de la proteína desplegada (Manrique, 2016). El exceso de ácidos grasos libres y la hiperglucemia desencadenan este estrés en el retículo endoplasmático, contribuyendo a la disfunción de las células beta. Además, la acumulación de proinsulina mal plegada y polipéptidos amiloides de los islotes debido a niveles elevados de glucosa aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno, promoviendo señales proapoptóticas y la inflamación local de los islotes (Christensen, 2019). Dicha disfunción celular afecta la liberación de insulina y glucagón, lo que conduce a la exacerbación de la hiperglucemia. Los defectos en la síntesis de insulina y la alteración en los mecanismos de secreción contribuyen a la insuficiencia de las células beta y son fundamentales en el desarrollo de esta patología (Fernández, 2021).

## 2.3 Blancos moleculares

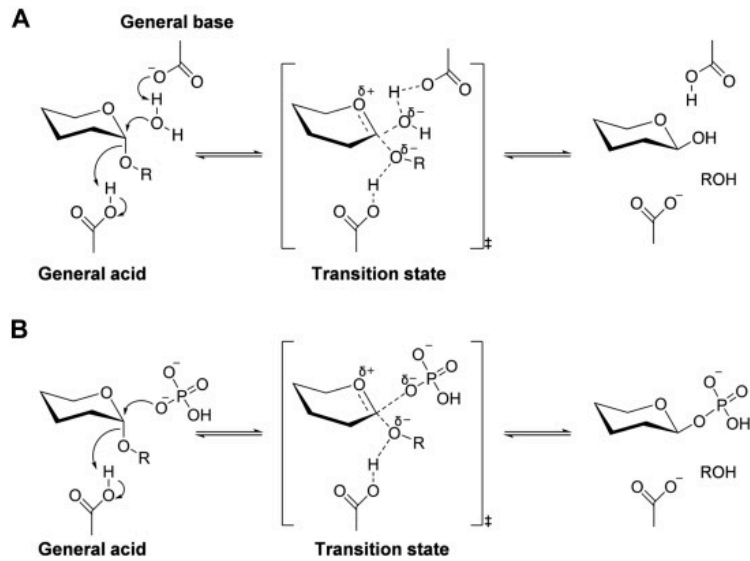
En el desarrollo de agentes terapéuticos para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo II, la identificación y comprensión de blancos moleculares resulta esencial para diseñar estrategias que aborden los mecanismos subyacentes de esta enfermedad metabólica. Entre los principales blancos moleculares involucrados destacan la  $\alpha$ -glucosidasa, la  $\alpha$ -amilasa y la lipasa pancreática, enzimas que desempeñan roles fundamentales en la digestión y absorción de carbohidratos y lípidos, contribuyendo de manera directa al control de los niveles de glucosa y lípidos en sangre. La inhibición selectiva de estas enzimas ha demostrado ser una estrategia efectiva para retrasar la absorción de carbohidratos y reducir la carga glucémica posprandial, lo que convierte a estos objetivos en pilares fundamentales en el diseño de nuevas terapias. A continuación, se analizarán sus funciones específicas y su importancia como dianas terapéuticas en el manejo integral de esta patología crónica.

### 2.3.1. Enzima $\alpha$ -glucosidasa

Las glucosido hidrolasas, también conocidas como glucosidasas, son enzimas que facilitan la ruptura de enlaces glucosídicos, generando glúcidos más simples. Son enzimas ampliamente distribuidas en la naturaleza y desempeñan diversas funciones vitales, incluida los mecanismos de patogénesis en la DM2 y la regulación celular normal. Adicionalmente, la  $\alpha$ -glucosidasa participa en un sistema de control de calidad de glicoproteínas presente en el retículo endoplasmático, en donde los glicopéptidos mal plegados son transportados al compartimento citoplasmático y degradados por el proteosoma (Cerf, 2013).

En humanos, existen dos isoformas de  $\alpha$ -Glucosidasa, codificadas por el gen GAA en el cromosoma 17q25. Estas enzimas hidrolizan enlaces  $\alpha$ -1,4 y  $\alpha$ -1,6 de oligosacáridos y disacáridos, liberando unidades de  $\alpha$ -D-glucosa. La isoforma EC 3.2.1.3 se encuentra en todas las células, participando en funciones catabólicas como la biosíntesis de glicoconjugados en lisosomas. Por otro lado, la isoforma EC 3.2.1.20 está presente en las vellosidades del intestino delgado y tiene funciones anabólicas, como la degradación final de carbohidratos durante la digestión, siendo una de las enzimas responsables de la degradación completa del almidón (Lysek, 2016). También se clasifican con el número EC 3.2.1 como enzimas que catalizan la hidrólisis de glucósidos O o S.

Las glucosidasas pueden catalizar la hidrólisis de enlaces glucosídicos mediante dos mecanismos: retención e inversión, como se observa en la figura 2. En ambos mecanismos participan residuos catalíticos ácidos, como Asp o Glu. En el mecanismo de inversión, la hidrólisis ocurre en una sola etapa, donde el carbono anomérico del azúcar liberado puede retener o invertir su configuración con respecto al sustrato. Por otro lado, en el mecanismo de retención, la hidrólisis ocurre en dos etapas, con la formación de un ion oxocarbenio en cada una, donde un residuo actúa como nucleófilo y el otro como catalizador ácido/base (Nakamura, 2021)



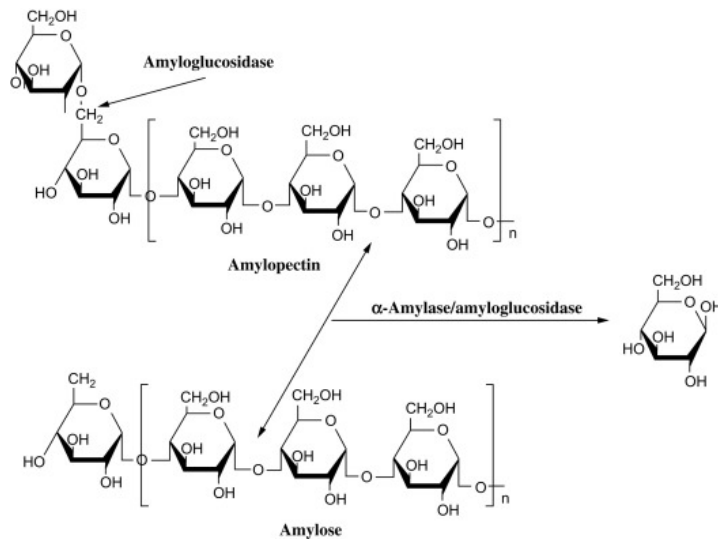
**Figura 2.** Mecanismo de hidrólisis de  $\alpha$ -glucosidasa. Tomado de Davies and Henrissat 2015

El principal efecto de los inhibidores de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasas se basa en el retraso de la digestión de carbohidratos resultando en una disminución de la hiperglucemia postprandial. Su mecanismo se basa en la inhibición competitiva de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasas intestinales ubicadas en el borde del cepillo de los enterocitos, por lo que impiden que estas enzimas escindan sus substratos (oligosacáridos y disacáridos) en monosacáridos para su posterior absorción (Gong, 2016).

### 2.3.2. Enzima $\alpha$ -amilasa

Durante el catabolismo de los azúcares los carbohidratos complejos deben descomponerse en monosacáridos para ser absorbidos. En este proceso están involucradas varias enzimas, como las  $\alpha$ -amilasas presentes en la saliva y en los jugos pancreáticos; las cuales hidrolizan los carbohidratos complejos en oligosacáridos. Así como otras enzimas localizadas en el borde en cepillo del intestino delgado, que convierten los oligosacáridos en monosacáridos, para que puedan atravesar la pared intestinal y pasar al torrente sanguíneo (Fox, 2018).

La  $\alpha$ -amilasa es responsable de la mayor parte de la hidrólisis que sufren los carbohidratos mediante la ruptura de enlaces glucosídicos de las cadenas de los polisacáridos, liberando unidades de oligosacáridos, disacáridos y monosacáridos como se muestra en la figura 3. Las amilasas también pueden hidrolizar las uniones glucosídicas internas de los polisacáridos (endo-amilasas) y las que se encuentran en las extremidades de las cadenas (exo-amilasas). Siendo las terminales más fáciles de degradar para las amilasas que las interiores (Payan, 2014).

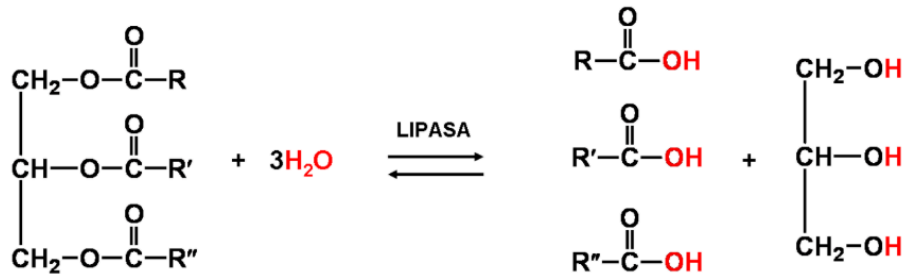


**Figura 3.** Hidrólisis del almidón con  $\alpha$ -amilasa. Tomado de *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 2012

La inhibición de la enzima alfa-amilasa en el tratamiento de la diabetes tipo 2 se basa en su papel en la digestión de los carbohidratos. En pacientes con diabetes tipo 2, la respuesta glucémica posprandial puede ser exagerada debido a una absorción rápida de glucosa. Los inhibidores de la alfa-amilasa actúan bloqueando la actividad de esta enzima, lo que ralentiza la descomposición de los carbohidratos y, por lo tanto, la liberación de glucosa en el torrente sanguíneo. Como resultado, se reduce el aumento rápido de los niveles de glucosa en sangre después de las comidas, lo que ayuda a mantener los niveles de glucosa en un rango más saludable (Rodelo, 2015).

### 2.3.3. Enzima lipasa pancreática

Las enzimas lipolíticas, tienen como función principal catalizar la hidrólisis de los triglicéridos, liberando monoglicéridos y diglicéridos (Figura 4). Éstas tienen una estereoespecificidad, que se refiere a la capacidad de distinguir e hidrolizar de forma específica cada una de las uniones éster del ácido graso con el glicerol (Sastre, 2024). La lipasa pancreática es una enzima secretada por el páncreas exocrino cuya función principal es la hidrólisis de triglicéridos en el intestino delgado, transformándolos en ácidos grasos libres y monoglicéridos para facilitar su absorción. Esta enzima desempeña un papel crucial en el metabolismo de las grasas, ya que regula la cantidad de lípidos disponibles para ser almacenados o utilizados como fuente de energía (Neu, 2022.) . En el contexto de la diabetes tipo II y la obesidad, la lipasa pancreática adquiere relevancia como blanco terapéutico, dado que su inhibición puede reducir la digestión y absorción de grasas dietéticas, lo que contribuye a una disminución del peso corporal y a una mejora en los perfiles metabólicos asociados a estas patologías. Además, la modulación de esta enzima ayuda a controlar la resistencia a la insulina y la inflamación crónica, factores clave en el desarrollo y progresión de la diabetes tipo II y sus complicaciones (Cotten, 2020). Por tanto, el estudio de la lipasa pancreática y su regulación representa una estrategia prometedora para el diseño de intervenciones terapéuticas dirigidas a estas condiciones metabólicas.



**Figura 4.** Hidrólisis de las uniones ésteres de los triglicéridos con las lipasas. Tomado de *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 2012

Para que la lipasa sea plenamente activa requiere de la denominada activación de interfase con la colipasa, formando un complejo de anclaje en la interfase hidrofóbica/hidrofílica, en presencia de sales biliares. La colipasa es una glucoproteína hidrofóbica formada a partir de la procolipasa de la secreción pancreática por acción de la tripsina (Sastre, 2024). Estructuralmente las lipasas presentan un dominio canónico compuesto por ocho cadenas  $\beta$  que forman una hoja  $\beta$ , estas cadenas están conectadas por hélices  $\alpha$ , que quedan empaquetadas a ambos lados de la hoja  $\beta$ . Este núcleo central es el responsable directo de la actividad catalítica y define el plegamiento  $\alpha/\beta$ -hidrolasa, común para muchas hidrolasas de origen filogenético y funciones catalíticas diferentes (Lunagariya, 2014).

Para el tratamiento de la obesidad se tiene como objetivo importante el desarrollo de inhibidores de la digestión y absorción de nutrientes; al ser los triglicéridos la mayor parte de la ingesta de las grasas en la dieta. La inhibición de la lipasa pancreática es una estrategia terapéutica clave en el tratamiento de la diabetes tipo II y la obesidad, debido a su papel fundamental en la digestión y absorción de grasas dietéticas. Al bloquear la actividad de esta enzima, se reduce la conversión de triglicéridos en ácidos grasos y monoglicéridos, lo que limita la cantidad de lípidos absorbidos por el organismo. Esto no solo contribuye a una disminución en la acumulación de grasa corporal, sino que también mejora el perfil metabólico al reducir la resistencia a la insulina, un factor central en la fisiopatología de la diabetes tipo II (Shulman, 2016). Además, la inhibición de la lipasa pancreática ha demostrado efectos positivos en el control del peso, la disminución de la inflamación sistémica y la mejora de los niveles de lípidos en sangre, lo que a su vez reduce el riesgo de complicaciones cardiovasculares asociadas a estas enfermedades (Cotten, 2020).

## 2.4 Modelos alternativos *in vivo* para la búsqueda de agentes antidiabéticos

La investigación de alternativas terapéuticas para la diabetes mellitus, especialmente en su variante tipo II, ha recurrido tradicionalmente a modelos *in vivo* como roedores, debido a su similitud metabólica y fisiológica con los seres humanos. Estos modelos permiten el estudio detallado de las complejas interacciones moleculares y metabólicas subyacentes a la enfermedad, así como la evaluación de la eficacia y seguridad de agentes terapéuticos (Álvarez-Rendón, 2018). Sin embargo, su uso presenta limitaciones importantes, como el elevado costo, tiempos prolongados para las fases de investigación, así como restricciones éticas; lo que ha impulsado la búsqueda de modelos alternativos más eficientes y éticamente viables.

En este contexto, *Drosophila melanogaster* ha emergido como un modelo alternativo relevante debido a su simplicidad genética, bajo costo de mantenimiento y ciclo de vida corto, lo que permite realizar experimentos de manera más rápida y accesible. A pesar de ser un organismo invertebrado, *D. melanogaster* comparte vías metabólicas altamente conservadas con los mamíferos, incluyendo aquellas implicadas en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y la señalización de insulina (Thummel, 2017). Además, este modelo presenta características fisiológicas similares a la resistencia a la insulina y la hiperglucemia cuando se somete a dietas ricas en azúcar o grasas, reproduciendo condiciones clave de la diabetes tipo II (Léopold, 2022).

### 2.4.1. *Drosophila Melanogaster*

*Drosophila melanogaster*, conocida popularmente como la mosca de la fruta o del vinagre, es ampliamente utilizada como organismo modelo en diversas disciplinas, que abarcan desde la genética fundamental hasta el estudio del desarrollo de tejidos y órganos. Su genoma comparte un 60 % de homología con el genoma humano, y aproximadamente el 75 % de los genes asociados a enfermedades humanas tienen homólogos en este organismo (Ugur, 2016). Estas características, combinadas con su corto ciclo de vida, bajos costos de mantenimiento y fácil modificación genética, la convierten en un modelo ideal para investigar vías biológicas complejas de relevancia en la investigación biomédica y estudios de farmacología en búsqueda de activos, incluyendo patologías como la diabetes.

Además, su pequeño tamaño y facilidad de mantenimiento en grandes cantidades en el laboratorio permiten realizar estudios a gran escala y en etapas preliminares en la búsqueda de moléculas activas de manera eficiente. Considerando que su ciclo de vida es corto (10 a 12 días) en comparación con otros organismos se favorece la obtención de resultados experimentales (Coral G, 2018). La estructura genética de *Drosophila*, que incluye solo cuatro cromosomas y herramientas genéticas avanzadas como UAS-GAL4, LexA-lexAop y QR-QUAS, facilita manipulaciones precisas para el estudio de vías metabólicas complejas.

A nivel metabólico, la mosca comparte una regulación altamente conservada de la homeostasis de la glucosa con los humanos (Worthman, 2020). Al alimentarse, los azúcares ingeridos se convierten en trehalosa, el principal disacárido de su sistema circulatorio. Este compuesto se transporta a través de la hemolinfa (equivalente a la sangre en insectos) y el exceso de azúcares se almacena como glucógeno o triglicéridos en el cuerpo graso y los músculos (Miao, 2022). El cuerpo graso de *Drosophila* funciona de manera análoga al hígado y al tejido adiposo en mamíferos, regulando el metabolismo energético del organismo. Asimismo, las células neuroendocrinas productoras de péptidos similares a la insulina (DILP) desempeñan un papel similar al de las células  $\beta$ -pancreáticas en humanos, reduciendo los niveles de glucosa en la hemolinfa. Complementariamente, la hormona adipocinética (AKH), homóloga al glucagón en humanos, regula de manera positiva los niveles de glucosa. La interacción antagonista entre los DILP y el AKH asegura el equilibrio en la homeostasis de la glucosa, destacando a la mosca de la fruta como un modelo valioso y versátil para explorar mecanismos metabólicos y enfermedades como la diabetes (Søndergaard, 2023).

Por otro lado, la señalización de insulina en *D. melanogaster* se ha conservado a lo largo de la evolución, lo que permite modelar tanto la diabetes tipo 1 como la diabetes tipo 2 en este organismo. Por ejemplo, la reducción o supresión casi total de la expresión de los péptidos similares a la insulina (ILP) en la mosca puede simular un estado equivalente a la diabetes tipo 1 (Broughton, 2016). Mientras que, la diabetes tipo 2 puede reproducirse mediante diversas manipulaciones experimentales, como mutaciones en los componentes de la vía de señalización de la insulina que actúan aguas abajo de los ILP, así como a través de modificaciones dietéticas que provocan obesidad, desequilibrio metabólico e hiperglucemia (Grifoni, 2018). Proporcionar dietas con alto o bajo contenido de nutrientes a *D. melanogaster* provoca una desregulación significativa de su metabolismo y de la señalización de insulina. Las dietas ricas en azúcar o proteínas inducen un aumento en la expresión de los péptidos similares a la insulina (Musselman, 2021). Este incremento inicial en la expresión de péptidos similares a la insulina es consistente con lo observado en vertebrados durante el desarrollo de resistencia a la insulina, donde el organismo intenta compensar el exceso de nutrientes mediante un aumento en la producción de insulina. Sin embargo, en los vertebrados, la compensación inicial suele fallar debido al deterioro progresivo de las células beta pancreáticas (Varman, 2016).

De manera similar, en *Drosophila* con una alimentación rica en glucosa y carbohidratos, el tejido adiposo (cuerpo graso) reduce secundariamente su respuesta a los niveles elevados de péptidos similares a la insulina circulantes. Con el tiempo, esta respuesta disminuye de forma marcada a medida que las moscas envejecen, volviéndose completamente resistentes a la insulina en etapas avanzadas de vida (Morris, 2022). Estos hallazgos indican que una dieta alta en grasas inicialmente

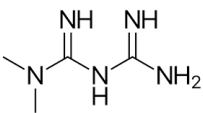
aumenta los niveles de ILP, lo que permite, en una primera etapa, mitigar los efectos de la sobrealimentación mediante un estado de hiperinsulinemia. No obstante, este aumento en la señalización de insulina, junto con la hiperglucemia, conduce a efectos metabólicos adversos, como un incremento de ácidos grasos libres debido a una lipólisis inadecuada, lo que finalmente genera resistencia a la insulina, particularmente en el cuerpo graso (Armstrong, 2020). Lo anterior demuestra que la manipulación de la dieta en *Drosophila* puede utilizarse como un modelo para inducir estados diabéticos similares a la diabetes tipo 2 en las moscas.

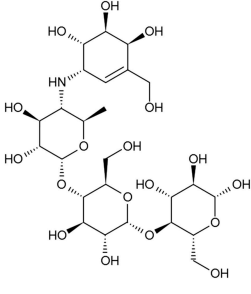
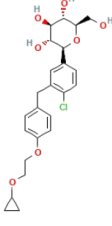
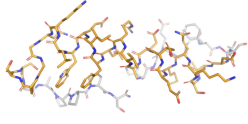
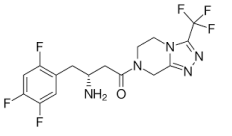
## 2.5 Agentes terapéuticos actuales

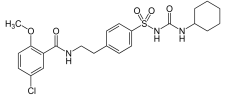
Es crucial impulsar la investigación y el desarrollo de nuevas fuentes terapéuticas para el tratamiento de la diabetes tipo 2, dada la complejidad y la creciente prevalencia de esta enfermedad a nivel mundial. Si bien los medicamentos actuales, como la metformina, la acarbosa, la bexagliflozina y la exenatida, han demostrado ser eficaces en el control de la glucosa en sangre, también están asociados con una serie de efectos adversos significativos como se muestra en la tabla 1. Por ejemplo, la metformina puede causar intolerancia gastrointestinal, como dolor abdominal y diarrea, mientras que la acarbosa está vinculada a flatulencia, distensión abdominal y diarrea. Además, la bexagliflozina puede aumentar el riesgo de infecciones genitourinarias, y la exenatida puede provocar hipoglucemia, náuseas, vómitos, diarrea y cefalea, entre otros efectos secundarios.

Los tratamientos estratégicos para combatir la obesidad se basan en enfoques periféricos y centrales, centrándose en mecanismos clave para la homeostasis energética. Los enfoques centrales regulan la ingesta de alimentos, mientras que los periféricos afectan la absorción de grasa de la dieta, el almacenamiento y metabolismo de la grasa, y/o aumentan la termogénesis derivada de la grasa dietética (Lunagariya et al., 2014). Si una adecuada glucemia no se logra mediante la dieta, la metformina se utiliza como terapia de primera línea. Además, existen otras terapias, como las sulfonilureas orales, los inhibidores de la dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4), los agonistas del receptor del péptido similar al glucagón-1 (GLP-1), los inhibidores del cotransportador de sodio-glucosa-2 (SGLT2) y la insulina (Silva & Díaz, 2023).

**Tabla 1.** Fármacos aprobados para el tratamiento de la diabetes tipo 2: estructura, mecanismo de acción y efectos secundarios.

Agente terapéutico	Estructura	Características	Efectos adversos
Metformina (Biguanida)		Actúa principalmente reduciendo la producción hepática de glucosa al disminuir la gluconeogénesis (Saenz, 2015).	El efecto adverso más común es la intolerancia gastrointestinal, especialmente diarrea dependiente de la dosis, mientras que el más grave, aunque raro, es la acidosis láctica, lo que contraindica su uso en insuficiencia renal, cardíaca y condiciones predisponentes (Mata, 2024).

<p>Acarbosa</p>		<p>La acarbosa, un tetrasacárido no absorbible de origen microbiano, actúa inhibiendo las alfa-glucosidasas intestinales, reduciendo la degradación de carbohidratos complejos y, con ello, el aumento posprandial de glucemia e insulina endógena (Benavides, 2024).</p>	<p>Los principales efectos secundarios de la acarbosa incluyen flatulencia, meteorismo, distensión abdominal y diarrea, estando contraindicada en casos de hipersensibilidad, diabetes insulino dependiente, cetoacidosis diabética, cirrosis, enfermedades intestinales graves, menores de 18 años, embarazo y lactancia (Benavides, 2024).</p>
<p>Bexagliflozina</p>		<p>La bexagliflozina, un inhibidor del SGLT2, reduce la reabsorción de glucosa en el túbulo proximal, disminuye el umbral renal de glucosa y aumenta la glucosuria (López, 2017).</p>	<p>Los efectos secundarios más comunes de los inhibidores de SGLT2 incluyen infecciones genitourinarias asociadas a la glucosuria, como orina frecuente, dolor al orinar, cambios en el color de la orina, dolor pélvico o de espalda, infecciones por hongos con síntomas específicos en genitales masculinos y femeninos, y erupciones o secreciones malolientes (Peréz, 2020).</p>
<p>Exenatida</p>		<p>La exenatida es un polipéptido incretín-mimético que, al unirse a los receptores de GLP-1, ejerce un efecto antihiper glucemiante al incrementar la secreción de insulina de manera glucosa-dependiente, suprimir la secreción anormal de glucagón, resistir la degradación por DPP-4 y ralentizar el vaciado gástrico, favoreciendo el control de la glucosa en la DM2 (Centro de información farmacoterapéutico, 2018).</p>	<p>Se reportan efectos adversos como hipoglucemia (con sulfonilurea o insulina), disminución del apetito; cefalea, mareos; náuseas, vómitos, diarrea, dispepsia, dolor abdominal, ERGE, distensión abdominal, estreñimiento, flatulencia; prurito y/o urticaria. Además, para las formas de liberación inmediata: hiperhidrosis, prurito, eritema y erupción en el lugar de inyección, fatiga, astenia (Centro de información farmacoterapéutico, 2018)</p>
<p>Sitagliptina</p>		<p>Los inhibidores de la DPP-4, como la sitagliptina, bloquean la enzima dipeptidil peptidasa-4, evitando la degradación de las incretinas GLP-1 y GIP, lo que aumenta sus niveles en sangre, estimula la producción de insulina, reduce la glucosa en sangre y puede administrarse como monoterapia o en combinación con otros antidiabéticos (Carretero, 2024).</p>	<p>Los efectos adversos más comunes de la sitagliptina incluyen náuseas, diarrea, dolor de cabeza e infecciones respiratorias altas (hasta 1 de cada 10 personas), mientras que los menos frecuentes comprenden rinitis, sinusitis, dolor de espalda y fatiga (hasta 1 de cada 100 personas); los raros, como reacciones alérgicas graves y pancreatitis, afectan hasta 1 de cada 1.000 personas (Bo Ahrén, 2009).</p>

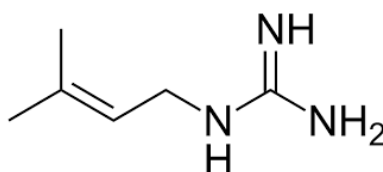
<p>Glibenclamida (Sulfonilureas)</p>		<p>La glibenclamida se une a los receptores SUR1 en las células beta pancreáticas, cerrando los canales de potasio ATP-dependientes, lo que despolariza la membrana celular y activa canales de calcio; el aumento de calcio intracelular induce la liberación de insulina preformada, que reduce la glucosa en sangre al promover su captación por tejidos periféricos (Surendiran, 2014).</p>	<p>Puede causar efectos secundarios como hipoglucemia, sudoración, palpitaciones, mareos, reacciones alérgicas, problemas gastrointestinales, y efectos hematológicos raros (leucopenia, trombocitopenia). También se pueden presentar reacciones cutáneas, alteraciones hepáticas y un aumento del riesgo de eventos cardiovasculares (Villarruel, 2018).</p>
--	---	---	--

Los efectos adversos presentados por estos fármacos pueden afectar negativamente la calidad de vida de los pacientes y limitar su adherencia al tratamiento, lo que respalda la necesidad de la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas que sean más seguras, efectivas y mejor toleradas.

## 2.6 Productos naturales con potencial (antidiabético)

Desde tiempos ancestrales, los productos naturales (PN) han sido una fuente primordial de tratamientos, y hoy en día siguen desempeñando un papel crucial en el descubrimiento de nuevos fármacos en el ámbito farmacéutico global. Se reveló que el 46% de los fármacos recetados en Estados Unidos ese año se derivaron de compuestos naturales (Newman, 2020). Recientes investigaciones han destacado que los PN no solo han sido la génesis de muchos medicamentos en el pasado, sino que también continúan siendo una fuente abundante de moléculas activas para el desarrollo de nuevos fármacos (Irache, 2008). Su importancia radica en su interacción biológica, al ser metabolizados y transformados por sistemas enzimáticos, lo que les confiere una afinidad especial con las moléculas diana (Jimenez, 2018).

Un ejemplo de productos naturales con potencial antidiabético fue la galega (*Galega officinalis L*, Fabaceae) de la cual se aisló la amina galegina (Figura 5). Este compuesto es conocido como el primer antidiabético de origen natural, que posteriormente dio origen a las biguanidas (metformina). Si bien el alcaloide galegina se conocía desde tiempos antiguos su mecanismo de acción fue elucidado recientemente (Rios, 2016).



**Figura 5.** Estructura compuesto galegina

### 2.6.1. Especies vegetales con potencial antidiabético: un enfoque etnobotánico

Actualmente, existe una amplia gama de literatura que documenta el uso etnobotánico de diversas especies vegetales en el manejo de afecciones relacionadas al metabolismo de la glucosa. Entre estas investigaciones, se destaca por ejemplo el estudio realizado por Yepes y colaboradores (Yepes, 2023) en el cual se estudiaron diferentes plantas comercializadas en plazas de mercado de Cali – Colombia para tratar la Diabetes Mellitus. Según el estudio realizado por Yepes Benavides en 2023, se identificaron múltiples plantas medicinales comercializadas en las plazas de mercado de Cali, Colombia, que son empleadas tradicionalmente para el tratamiento de la diabetes mellitus. Mediante un enfoque etnobotánico, se recolectaron testimonios de vendedores y consumidores locales,

documentándose un total de 42 especies vegetales pertenecientes a 27 familias botánicas. Entre las especies más citadas se encuentran *Cymbopogon citratus* (limoncillo), *Momordica charantia* (balsamina) y *Aloe vera* (sábila), las cuales poseen una amplia aceptación debido a sus propiedades hipoglucemiantes percibidas. Este estudio además reveló que las preparaciones más comunes incluyen infusiones, decocciones y jugos, destacándose el uso de hojas y raíces como las partes vegetales preferidas. Además, se observó que los vendedores de estas plantas transmiten conocimientos tradicionales que han sido heredados de generaciones anteriores, lo que refleja la fuerte conexión entre la cultura local y el uso de la medicina natural. Esto es especialmente importante para garantizar su eficacia y seguridad, así como para fomentar su integración en estrategias de tratamiento complementarias y sustentadas por evidencia farmacológica (Yepes, 2023).

Por otro lado, en el semillero de investigación *Naturetech* de la Fundación Universitaria Salesiana en el año 2023 se llevó a cabo una encuesta etnobotánica en regiones cercanas a Bogotá, como Mosquera, La mesa, Tena, entre otros; principalmente visitando las principales plazas de mercado de cada pueblo a fin de identificar y clasificar las especies vegetales más usadas a nivel de la medicina tradicional de la región. Mediante este estudio se logró identificar un total de 104 plantas comúnmente utilizadas para el tratamiento de la diabetes mellitus y la obesidad, lo que representa un potencial etnofarmacológico importante para emprender estudios de laboratorio que permitan validar dicho conocimiento. En la tabla 2 se evidencian las familias con mayor número de plantas reportadas para el tratamiento de la diabetes tipo II y la obesidad.

**Tabla 2.** Plantas medicinales con reportes etnofarmacología para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo II y obesidad.

<b>Familia</b>	<b>Ejemplo de especie representativa</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Especies reportadas</b>
Actinidiaceae	<i>Actinidia chinensis</i>	Kiwi	5
Anacardiaceae	<i>Mangifera indica</i>	Mago	4
Apiaceae	<i>Apium graveolens</i>	Apio	4
Asteraceae	<i>Achyrocline satureioides</i>	Vira Vira	10
Brassicaceae	<i>Brassica oleracea</i>	Col rizada	4
Caricaceae	<i>Carica papaya</i>	Papaya	4
Commelinaceae	<i>Tradescantia zebrina</i>	Panameña	4
Equisetaceae	<i>Equisetum bogotense</i>	Cola de caballo	4
Fabaceae	<i>Bauhinia forficata</i>	Pata de vaca	6
Ginkgoaceae	<i>Ginkgo biloba</i>	Ginkgo biloba	4
Juglandaceae	<i>Juglans neotropica</i>	Nogal	4
Lamiaceae	<i>Origanum vulgare</i>	Orégano	4
Lauraceae	<i>Persea americana</i>	Aguacate	5
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i>	Hoja de guayaba	5
Plantaginaceae	<i>Digitalis purpurea</i>	Deldera	4
Sapindaceae	<i>Melicoccus bijugatus</i>	Mamoncillo	4
Tropaeolaceae	<i>Tropaeolum</i>	Cubio	4
Verbenaceae	<i>Stachytarpheta cayennensis</i>	Verbena	4

### 2.6.2. Potencial antidiabético de extractos, fracciones y metabolitos de origen vegetal

A continuación se muestran algunos ejemplos representativos de estudios en donde se evalúa la actividad antidiabética promisorio de extractos tanto en modelos *in vivo* como *in vitro*. Entre las familias botánicas relevantes destacan Fabaceae, Lauraceae y Myrtaceae, mientras que especies como *Bauhinia forficata* (pata de vaca), *Persea americana* (aguacate) y *Psidium guajava* (hoja de guayaba) se encuentran entre las más representativas. Toda la información recopilada sobre estas plantas, incluyendo sus nombres comunes, familias, partes utilizadas y propiedades terapéuticas y mecanismo de acción se encuentra resumida en la Tabla 3, proporcionando una visión integral sobre su potencial antidiabético y su relevancia dentro de la medicina tradicional.

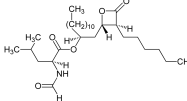
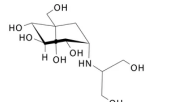
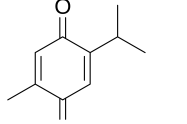
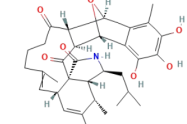
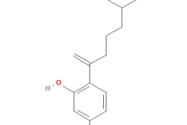
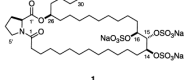
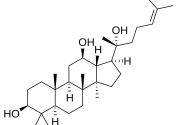
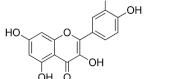
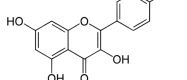
**Tabla 3.** Selección de plantas medicinales con actividad antidiabética.

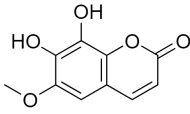
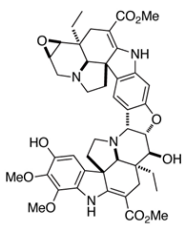
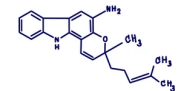
Familia	Nombre	Parte usada	Resultado	Referencia
Fabaceae	<i>Glicine max</i>	Toda la planta	Los extractos de soja inhibieron la actividad de la alfa-amilasa y alfa-glucosidasa.	(Oboh, 2021)
Lauraceae	<i>Cinnamon zeylanicum</i>	Toda la planta	El extracto de canela de Ceilán inhibió la actividad de la $\alpha$ -amilasa, con una concentración mínima inhibitoria baja. La administración del extracto en ratas condujo a una menor elevación de los niveles de glucosa en sangre después de la carga de almidón, lo que indica una mejor tolerancia al mismo.	(Mohun, 2014)
Moringaceae	<i>Moringa oleifera</i>	Hojas	El estudio encontró que el extracto de hojas produjo efectos antidiabéticos significativos en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina.	(Villarruel, 2018)
Rosaceae	<i>Sorbus norvegica</i>	Fruto	Los extractos inhibieron significativamente la actividad de las enzimas alfa-amilasa y alfa-glucosidasa. El extracto con mayor actividad inhibitoria fue el extracto etanólico, con una IC <sub>50</sub> de 150 $\mu$ g/mL para la alfa-amilasa y 200 $\mu$ g/mL para la alfa-glucosidasa.	(von Kempelen, 2019.)

Por otro lado, en la tabla 4, se pueden observar compuestos puros derivados de productos naturales que poseen actividad antidiabética por medio de la inhibición de  $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática. La revisión de literatura realizada se centró en las dianas moleculares de interés para el proyecto de investigación como la  $\alpha$ -glucosidasa y la  $\alpha$ -amilasa. Los inhibidores de estas enzimas, ampliamente presentes en la naturaleza, se caracterizan por su alta afinidad de unión. Además, la literatura científica respalda de manera consistente la actividad inhibitoria de  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa en extractos de plantas tradicionalmente utilizadas para el tratamiento de la diabetes. Estos efectos se atribuyen a una amplia gama de compuestos naturales, incluidos flavonoides, ácidos fenólicos, antocianinas, saponinas, carotenoides, terpenos, azúcares, proteínas, capsaicinoides, ácidos grasos y alcaloides. Entre ellos, los flavonoides y los terpenos destacan como los más efectivos en el tratamiento de esta patología. (Dineshkumar, 2023).

**Tabla 4.** Compuestos de origen natural con potencial antidiabético: modelos de evaluación y efectos reportados

Compuesto	Estructura	Tipo	Modelo	Efecto/ mecanismo de acción	Referencia
-----------	------------	------	--------	-----------------------------	------------

Orlistat		Análogos de triglicéridos	<i>In vivo</i>	El orlistat, un compuesto similar a un triglicérido, se une de forma covalente al sitio activo de la lipasa pancreática, para su inhibición.	(Rubino, 2022)
Voglibose		Monosacárido	<i>In vivo</i>	Inhibición competitiva de las enzimas $\alpha$ -glucosidasas intestinales y pancreáticas. También puede inhibir la actividad de la enzima amilasa.	(Chunhong Shi, 2019)
Timoquinona		Quinona	<i>In vitro</i>	El $IC_{50}$ frente a alfa-glucosidasa fue de 20 y 40 $\mu\text{g/mL}$ . El $IC_{50}$ frente a la enzima NF- $\kappa\text{B}$ de 10 $\mu\text{g/mL}$ .	(Demir, 2019)
Asperchalsina I		Macrólido marinos	<i>In vitro</i>	Estudios en animales han demostrado que puede mejorar el control de la glucosa y la sensibilidad a la insulina. La inflamación crónica contribuye a la resistencia a la insulina. Tiene una $IC_{50}$ de 15.7 mM para $\alpha$ -glucosidasa.	(Qiu, 2019)
7-Deoxy-7,14-Didehidroxydonol		Macrólido marinos	<i>In vitro</i>	Protege las células del daño causado por el estrés oxidativo, mejorando potencialmente la salud celular general en individuos diabéticos. Tiene una $IC_{50}$ en $\alpha$ -glucosidasa de 7.5 mM.	(Qiu, 2019)
Sulfatos de penarolida A1		Macrólido marino	<i>In vitro</i>	Activa AMPK, lo que podría mejorar la sensibilidad a la insulina y la captación de glucosa en las células. Además inhibe la $\alpha$ -glucosidasa con una $IC_{50}$ en de 1.2 $\mu\text{g/mL}$ .	(Qiu, 2019)
Protopanaxadiol		Terpeno	<i>In vivo</i>	El Ginsenoside Rb2 fue activo en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina disminuyendo el nivel de glucosa en sangre.	(Jeong Kim, 2014)
Quercetina		Flavonoide	<i>In vitro/In vivo</i>	La quercetina inhibe de manera importante a $\alpha$ -amilasa en experimentos tanto <i>in vitro</i> como <i>in vivo</i> .	(Kumar, 2024)
Kaempferol		Flavonoide	<i>In vivo/In vitro</i>	Estudios <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> han demostrado la capacidad del kaempferol para inhibir tanto la $\alpha$ -glucosidasa como la $\alpha$ -amilasa. En ratas diabéticas se encontró que el kaempferol redujo significativamente la actividad de $\alpha$ -glucosidasa intestinal y mejoró la tolerancia a la glucosa.	(Kumar, 2024)

Fraxetin		Polifenol	<i>In vitro</i>	Concentraciones bajas (1-5 mM) inhiben la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) inducida por metales y radicales libres.	(Hanbing Li, 2017)
Conofilina		Alcaloide	<i>In vivo</i>	Responsable de cambiar las células originarias del páncreas en células productoras de insulina. Administrada por vía oral aumentó del nivel de insulina en ratas Sprague-Dawley normales y diabéticas inducidas por estreptozotocina.	(Umezawa, 2015)
Mahanimbina		Alcaloide	<i>In vivo</i>	Es activo como antidiabético contra la diabetes asociada con anomalías en los perfiles de lípidos.	(B. Dineshkuar, 2023)

## 2.7 Especies seleccionadas

Para la selección de las especies medicinales con potencial antidiabético, se diseñó una estrategia metodológica basada en la integración de información etnobotánica y su validación mediante una revisión bibliográfica exhaustiva en bases de datos científicas especializadas. La recolección de la información etnofarmacológica se llevó a cabo a través de visitas sistemáticas y la realización de encuestas estructuradas, las cuales incluyeron aproximadamente 300 entrevistas en mercados tradicionales de plantas medicinales ubicados en la sabana de Bogotá. Este enfoque permitió recopilar un conjunto significativo de datos que reflejan el conocimiento ancestral y local sobre las plantas utilizadas para el manejo de afecciones relacionadas con la diabetes y otros trastornos metabólicos.

A partir de esta primera etapa, se generó un listado inicial de especies medicinales, el cual fue sometido a un riguroso proceso de priorización utilizando la metodología PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses), una herramienta ampliamente reconocida y aplicada en revisiones sistemáticas para organizar y clasificar información de manera objetiva y reproducible (Matthew J. Page et al., 2021). Los criterios de inclusión empleados en este análisis fueron cuidadosamente seleccionados para garantizar la relevancia y aplicabilidad de las especies. Entre los criterios clave se consideraron los siguientes:

**Reportes etnobotánicos:** El primer criterio de exclusión se basó en los reportes etnobotánicos proporcionados por la comunidad estudiada. En este contexto, se excluyeron todas las plantas que no tuvieran usos asociados o relacionados a las patologías seleccionadas (Diabetes y obesidad). Para ello se seleccionaron aquellas especies a las cuales se les reportaron usos asociados a las siguientes palabras clave: "pérdida de peso", "Bajar el azúcar" y "diabetes".

**Reportes bibliográficos:** Las plantas que superaron el primer criterio de priorización fueron sometidas a una revisión bibliográfica exhaustiva, usando bases de datos como PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com/>) y Google Scholar (<https://scholar.google.co/>), consultados en el año 2023. Además, se dio prioridad a aquellas plantas que no habían sido sometidas a estudios *in vitro* específicos relacionados con la inhibición de enzimas clave en el metabolismo de carbohidratos y lípidos, como la  $\alpha$ -amilasa, la  $\alpha$ -glucosidasa y la lipasa pancreática y que no se contaran con estudios *in vivo*. Con estos datos se seleccionaron las 30 especies utilizadas para el estudio como se presenta en la tabla 5.

**Tabla 5.** Listado de especies seleccionadas para el estudio

Nombre común	Nombre científico (Familia)	Parte usada	Nativa o cultivada
Marrubio	<i>Marrubium vulgare</i> (Lamiaceae)	Hojas	Cultivada
Algarrobo	<i>Hymenaea courbaril</i> (Fabaceae)	Fruto	Nativa
Perejil liso	<i>Petroselinum crispum</i> (Apiáceas)	Hojas	Cultivada
Venturosa	<i>Lantana camara</i> (Verbenaceae)	Hojas	Nativa
Níspero	<i>Manilkara zapota</i> (Sapotaceae)	Hojas	Cultivada
Altamisa	<i>Ambrosia peruviana</i> (Asteraceae)	Hojas	Nativa
Casco de vaca	<i>Bauhinia sp.</i> (Fabaceae)	Hojas	Nativa
Nogal	<i>Juglans neotropica</i> (Yuglandáceas)	Hojas	Nativa
Mamoncillo	<i>Melicoccus bijugatus</i> (Sapindáceas)	Hojas	Nativa
Yacón	<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Asteraceae)	Hojas	Nativa
Cola de caballo	<i>Equisetum bogotense</i> (Equisetáceas)	Hojas	Nativa
Sauco	<i>Sambucus nigra</i> (Adoxáceas)	Hojas	Cultivada
Vira vira	<i>Achyrocline satureioides</i> (Asteráceas)	Hojas	Nativa
Arrayan	<i>Myrcia fallax</i> (Mirtáceas)	Hojas	Nativa
Amor seco	<i>Desmodium adscendens</i> (Fabaceae)	Hojas	Nativa
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i> (Lamiaceae)	Hojas	Cultivada
Morena	<i>Morus alba</i> (Moraceae)	Hojas	Cultivada
Achiote	<i>Bixa orellana</i> (Bixaceae)	Fruto	Nativa
Almizclillo	<i>Abelmoschus moschatus</i> (Malvaceae)	Hojas	Cultivada
Hoja de pan	<i>Gunnera antioquiensis</i> (Gunneraceae)	Hojas	Nativa
Apio de monte	<i>Eryngium foetidum</i> (Apiaceae)	Hojas	Nativa
Col rizada	<i>Brassica oleracea</i> (Brassicaceae)	Hojas	Cultivada
Verbena	<i>Verbena litoralis</i> (Verbenaceae)	Hojas	Nativa
Siempre viva	<i>Gomphrena globosa</i> (Amaranthaceae)	Hojas	Cultivada
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i> (Myrtaceae)	Hojas	Cultivada
Laurel	<i>Laurus nobilis</i> (Lauraceae)	Hojas	Cultivada
Panameña	<i>Tradescantia zebrina</i> (Commelinaceae)	Hojas	Cultivada
Contra gavilana	<i>Neurolaena lobata</i> (Asteraceae)	Hojas	Nativa
Nopal	<i>Opuntia ficus-indica</i> (Cactaceae)	Hojas	Cultivada
Anamú	<i>Petiveria alliacea</i> (Phytolaccaceae)	Hojas	Nativo

### 3. Objetivos

**Objetivo General:** Evaluar el potencial antidiabético de 30 plantas medicinales mediante ensayos de inhibición enzimática *in vitro* y modelos *in vivo* en *Drosophila melanogaster*, con el fin de contribuir al desarrollo de alternativas terapéuticas para el control de la diabetes.

#### Objetivos específicos

1. Obtener y seleccionar los extractos con mayor el potencial antidiabetes por medio de un tamizaje de actividad inhibitoria enzimática *in vitro* frente a  $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática.
2. Evaluar los efectos antidiabéticos del extracto más promisorio en los ensayos *in vitro* empleando modelos de diabetes *in vivo* en *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta).
3. Hacer una aproximación de la composición química del extracto más promisorio por medio de un perfilado metabólico usando cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (HPLC-HRMS).

## 4. Metodología

Para alcanzar el objetivo general de este proyecto, se diseñó una metodología estructurada en tres fases relacionadas con los diferentes objetivos específicos, las cuales se describen a continuación:

### 4.1. Obtener y seleccionar los extractos con mayor el potencial antidiabetes por medio de un tamizaje de actividad inhibitoria enzimática *in vitro* frente a $\alpha$ -glucosidasa, $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática

#### 4.1.1 Obtención del material vegetal y de los extractos

El material vegetal de las especies seleccionadas se adquirió en la plaza de Paloquemao de Bogotá en el mes de Mayo del año 2024. Para la obtención de los extractos se realizó la selección, y limpieza de cada uno de los órganos de las 30 plantas. Posteriormente, se realizó el secado en horno a una temperatura de 35°C durante aproximadamente 2 días. El material seco se molió, pesó y se extrajo con etanol del 80% por maceración asistida por ultrasonido. Para ello el material se extrajo durante 10 min a 20 °C en un baño de ultrasonido. Este proceso se llevó a cabo por mínimo triplicado renovando el solvente. Los extractos obtenidos se rotaevaporaron a temperaturas menores a 40°C (para evitar la degradación de metabolitos termolábiles) y el extracto resultante se secó en la cabina y se almacenó a temperatura ambiente hasta la evaluación de actividad biológica.

#### 4.1.2 Tamizaje de actividad inhibitoria *in vitro* de los extractos a las concentraciones de 50 y 500 ppm

Los extractos obtenidos fueron evaluados a dos concentraciones (500 y 50 ppm) mediante ensayos *in vitro* diseñados para determinar su capacidad inhibitoria frente a tres enzimas clave implicadas en el metabolismo de carbohidratos y lípidos:  $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática. Para el ensayo de  $\alpha$ -glucosidasa, se utilizó la isoforma 3.2.1.20 de *Saccharomyces cerevisiae* (CAS: 9001-42-7) como fuente enzimática, empleando 4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (CAS: 3767-28-0) como sustrato. Este compuesto permite la cuantificación de la actividad enzimática mediante la liberación de p-nitrofenol, un producto detectable colorimétricamente.

En el caso de la  $\alpha$ -amilasa, se utilizó la isoforma 3.3.1.1 de *Saccharomyces cerevisiae* (CAS: 9000-90-2), y el almidón de maíz (CAS: 9005-94-9) fue seleccionado como sustrato. Para la detección de los productos generados por la reacción enzimática, se empleó ácido 3,5-dinitrosalicílico (CAS: 609-99-4) como revelador cromogénico. La preparación de la enzima y el sustrato se realizó en un buffer fosfato (0,1 M, pH 7,2), lo que garantizó las condiciones óptimas para la actividad enzimática.

Finalmente, para el ensayo de inhibición de lipasa pancreática, se utilizó la isoforma 3.3.1.3 de *Saccharomyces cerevisiae* (CAS: 9000-62-1) con nitrophenyl dodecanoate (CAS: 1956-11-2) como sustrato. Este ensayo se realizó en un buffer Tris (0,1 M, pH 8,4) suplementado con Tritón X-100 al 0,01% (CAS: 9036-19-5), optimizando las condiciones para la actividad de la enzima.

Estas metodologías estandarizadas con la metodología que se observa a continuación permitieron evaluar de manera precisa el potencial inhibitorio de los extractos frente a las enzimas seleccionadas, proporcionando una base sólida para identificar compuestos bioactivos con aplicaciones terapéuticas potenciales en el tratamiento de enfermedades metabólicas como la diabetes tipo II y la obesidad

**Ensayo de inhibición de  $\alpha$ -glucosidasa:** Para el ensayo de actividad inhibitoria frente a la  $\alpha$ -glucosidasa, se utilizó un método colorimétrico directo basado en el sustrato 4-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranosido (PNPG), siguiendo metodologías previamente reportadas con algunas modificaciones (Bharadwaj, 2018).

En placas de 96 pozos se dispusieron 50  $\mu$ L de cada muestra de extracto a las concentraciones del tamizaje (500, 50  $\mu$ g/mL en buffer fosfato y DMSO 1%), 50  $\mu$ L de enzima  $\alpha$ -glucosidasa a una concentración de 0,15U/ml y la placa se incubó a una temperatura constante de 37 °C durante 30 minutos. Posteriormente, se adicionaron 50  $\mu$ l del sustrato PNPG (100mM) para iniciar la reacción enzimática. La cinética de la reacción se monitoreó espectrofotométricamente a 405 nm durante un periodo de 30 minutos. Como control positivo se usó acarbosa (500 y 50  $\mu$ g/mL) y como control negativo DMSO (1% en buffer fosfato). En el ensayo se incluyeron blancos espectrofotométricos para los extractos, empleando 50  $\mu$ L de extracto a las dos concentraciones evaluadas y 100  $\mu$ L de buffer fosfatos. Todos los ensayos se llevaron a cabo por triplicado en tres experimentos independientes (Bharadwaj, 2018).

**Ensayo de inhibición de  $\alpha$ -amilasa:** En el ensayo de inhibición de  $\alpha$ -amilasa se usó un método colorimétrico con ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) de acuerdo con metodologías previamente reportadas (Nair et al., 2013).

De forma semejante, en placas de 96 pozos se agregaron 50  $\mu$ L de cada extracto a (500, 50  $\mu$ g/mL en buffer fosfatos 0,1 M pH 7,2) y 50  $\mu$ L de enzima  $\alpha$ -amilasa a una concentración 3U/ml; los cuales se incubaron una temperatura constante de 37 °C durante 30 minutos. Tras esta etapa, se incorporaron 50  $\mu$ l de sustrato (almidón soluble al 5%), la mezcla de reacción se incubó bajo las mismas condiciones durante 30 minutos más. Posteriormente, se añadieron 50  $\mu$ l de ácido 3,5-dinitrosalicílico (10 mM) seguido de un tratamiento térmico a 100 °C durante 15 minutos. Al finalizar este paso la absorbancia fue medida a 540 nm. Como control positivo nuevamente se usó acarbosa y como control negativo buffer fosfatos. Todos los ensayos fueron realizados por triplicado en tres experimentos independientes (Nair et al., 2013).

**Ensayo de inhibición lipasa pancreática:** La inhibición de la lipasa se determinó mediante el ensayo colorimétrico directo con p-nitrofenil-laurato (pNPL) empleando metodologías previamente reportadas con modificaciones (Nair et al., 2013).

Igual que en los ensayos anteriores 50  $\mu$ L de los extractos o muestras de prueba fueron incubadas con 50  $\mu$ L de enzima lipasa pancreática (10 mg/mL) a 37 °C durante 30 minutos. Posteriormente, se añadieron 50  $\mu$ L del sustrato p-nitrofenil-laurato (0,5 mg/ml) y la mezcla se incubó bajo las mismas condiciones. Al finalizar la reacción se midió la absorbancia a una longitud de onda de 405 nm. Como control control negativo buffer fosfatos. Todas las mediciones se realizaron por triplicado y en tres experimentos independientes.

### **Cálculos de porcentajes de inhibición y selección de los extractos para continuar el estudio**

Para todos ensayos del tamizaje se calcularon los porcentajes de inhibición de acuerdo con la siguiente fórmula.

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Absorbancia del control negativo} - \text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia del control negativo}} * 100$$

Los datos fueron normalizados y graficados con el software GraphPad Prism 9 y se expresaron como el promedio del porcentaje  $\pm$  desviación estándar.

Los resultados del tamizaje de los extractos a concentraciones de 50 ppm fueron usados como criterio de selección de los extractos con mayor potencial antidiabético. Se establecieron criterios de priorización para seleccionar los extractos más promisorios en función de su capacidad inhibitoria frente a tres enzimas clave. Para ello, se definieron puntos de corte específicos: en el caso de la  $\alpha$ -glucosidasa, se seleccionaron los extractos con porcentajes de inhibición superiores al 80%; para la  $\alpha$ -amilasa, se eligieron aquellos con porcentajes de inhibición mayores al 90%; y, finalmente, para la lipasa pancreática, se consideraron los extractos con porcentajes de inhibición superiores al 50%. A partir de esta evaluación, se seleccionaron los extractos más destacados para continuar con la determinación de las concentraciones inhibitorias  $IC_{50}$ , lo que permitió priorizar 14 de los 30 extractos iniciales. Estos extractos cumplieron con la mayoría de los criterios establecidos y fueron seleccionados para avanzar en los ensayos posteriores de inhibición enzimática.

#### **4.1.2.1 Determinación de las concentraciones inhibitorias $IC_{50}$**

Las concentraciones inhibitorias frente a  $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática determinaron con las metodologías anteriormente descritas (Affini et al., 2018; Ramsay and Tipton, 2017; Xue et al., 2017). Para la determinación de la  $IC_{50}$ , se utilizaron mínimo 8 concentraciones del extracto, las cuales fueron obtenidas por diluciones seriadas en una escala logarítmica en el rango de 0,001 a 300 ppm. Todos los ensayos se realizaron en tres experimentos independientes y en cada uno se incluyeron como mínimo tres réplicas. Los valores de las  $IC_{50}$  fueron calculados con las curvas de dosis-respuesta usando la regresión no lineal (log [I] vs respuesta) en el software estadístico GraphPad Prism 9 y son expresados como el valor promedio de la concentración inhibitoria más o menos el error estándar.

## **4.2. Evaluar los efectos antidiabéticos del extracto más promisorio en los ensayos *in vitro* empleando modelos de diabetes *in vivo* en *Drosophila melanogaster***

### **4.2.1 Selección del extracto más promisorio**

Para seleccionar uno de los extractos para continuar con los ensayos *in vivo* a partir de las 14 especies promisorias detectadas en la fase 1, se diseñó una matriz de priorización en la que se asignó un puntaje de 0 a 1 a cada planta (Ver anexo 4). Un puntaje de 0 representa plantas menos estudiadas y con valores más bajos de  $IC_{50}$ , mientras que un puntaje de 1 correspondía a plantas de las cuales se tenían mayor número de reportes en literatura y valores de  $IC_{50}$  mayores. Los parámetros evaluados incluyeron: valores de  $IC_{50}$  en las tres enzimas, reportes químicos y/o farmacológicos previos (es decir, la existencia de estudios sobre los metabolitos secundarios de la planta y estudios *in vivo*), así como reportes sobre compuestos purificados asociados al control de la diabetes y estudios de estos *in vitro* con las enzimas evaluadas. Finalmente, con esta matriz de selección se calculó el promedio de los puntajes para cada extracto y se construyó una gráfica de puntuación, seleccionando aquella con un valor más cercano a cero.

### **4.2.2 Establecer un modelo de diabetes en *Drosophila melanogaster***

Para los estudios de *in vivo* se emplearon moscas adultas (2 a 3 días de edad) de ambos sexos mantenidas en medio estándar de *Drosophila (cornmeal)* bajo condiciones controladas (25 °C, 60% de humedad relativa, fotoperiodo de 12h luz/12h oscuridad) en el Laboratorio de investigación de la Fundación Universitaria Salesiana.

Inicialmente se evaluaron los efectos de la exposición de las moscas a dietas sólidas hipercalóricas (sacarosa 32%, peptona 20%, extracto de levadura 17%, agar 5% y levadura 30%) con el objetivo de inducir el modelo metabólico de diabetes tipo II en comparación con el control negativo (dieta estándar) siguiendo las metodologías reportadas previamente (Álvarez-Rendón, 2018). Para esto, grupos de aproximadamente 50 individuos fueron expuestos a la dieta sólida estándar (control negativo) durante 72 horas. Una vez completado este periodo, se realizaron ensayos comportamentales en los cuales se evaluó la actividad locomotora y exploratoria usando el experimento de arenas como se describe a continuación.

### 4.2.3 Ensayos comportamentales

Para evaluar la capacidad exploratoria de *Drosophila melanogaster*, se diseñó un ensayo conductual en un sistema de arena controlada, donde se cuantificó la distancia recorrida por los individuos en función de la cantidad de cuadros atravesados por minuto. Este método permitió evaluar de manera precisa la actividad locomotora y la exploración espontánea de las moscas, lo cual es un indicador relevante de la funcionalidad neuronal y la respuesta metabólica frente a diferentes condiciones experimentales. Para garantizar la fiabilidad y reproducibilidad de los resultados, se realizaron mediciones en duplicado para cada individuo, es decir, se repitió el ensayo en dos oportunidades independientes, con el fin de minimizar la variabilidad inherente al comportamiento individual.

Además con el propósito de caracterizar las alteraciones metabólicas derivadas del modelo de diabetes inducido, al finalizar los estudios comportamentales, las moscas de cada grupo fueron conservadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posteriores análisis bioquímicos *ex vivo*. Para los análisis se obtuvo un extracto de 50 mg a parte de los individuos decapitados y se analizaron de forma preliminar los cambios en biomoléculas clave como se describe a continuación.

### 4.2.4 Ensayos *ex vivo*

Se pesó una cantidad determinada de individuos previamente decapitados para cada grupo experimental, a fin de garantizar una comparación adecuada entre tratamientos y se llevó a cabo un proceso de extracción con buffer fosfato (pH 7,2; 0,1 M) suplementado con 0,01% de Tritón X-100. La proporción utilizada fue de aproximadamente 20  $\mu\text{L}$  de buffer por mg de peso de moscas. Para asegurar una eficiente extracción de las biomoléculas, se realizaron tres ciclos de sonicación de 1 minuto cada uno. Posteriormente, el homogeneizado resultante fue sometido a una filtración para remover partículas sólidas para obtener un extracto crudo (F1).

Posteriormente, el extracto F1 fue sometido a un fraccionamiento inicial utilizando n-hexano en una proporción aproximada de 10  $\mu\text{L}$  de n-hexano (3 veces) por mg de peso de las moscas procesadas. La fracción lipídica (Fracción F2), contenida en la fase hexano, fue recolectada y almacenada a  $-20^{\circ}\text{C}$  para su posterior análisis. La fracción no hexánica restante (Fracción F3), tras la extracción de lípidos, fue sometida a un procedimiento de precipitación de proteínas mediante la adición de una mezcla 1:1 de metanol y cloroformo en una proporción de 30  $\mu\text{L}$  de la mezcla por mg de peso de moscas procesadas, posteriormente las proteínas fueron separadas por centrifugación durante 1 hora a alta velocidad. Las proteínas precipitadas (Fracción F4) fueron cuidadosamente recolectadas y almacenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Adicionalmente, la fracción sobrenadante resultante, que contenía compuestos no precipitables como metabolitos solubles y pequeñas moléculas (Fracción F5), también fue recolectada y almacenada bajo las mismas condiciones para futuros análisis.

Este protocolo de fraccionamiento permitió la obtención de fracciones enriquecidas en diferentes biomoléculas, asegurando así un enfoque sistemático para la evaluación de lípidos, proteínas y metabolitos solubles, facilitando una caracterización exhaustiva de los cambios bioquímicos asociados al modelo experimental de diabetes tipo II en *Drosophila melanogaster*. Posteriormente se realizaron ensayos para la cuantificación de proteínas y estudios preliminares en TLC para la detección de cambios en el perfil de lípidos como se describe a continuación:

**Cuantificación de proteínas:** Se empleó el método colorimétrico del ácido bicinconínico (BCA) siguiendo metodologías previamente reportadas (Cortes, 2020). Para asegurar la precisión y reproducibilidad de los resultados, se elaboraron curvas de calibración independientes por triplicado para cada muestra analizada en los diferentes experimentos (Resultados en el Anexo 5). Como estándar de referencia, se utilizó albúmina sérica bovina (BSA), preparada en un rango de concentraciones que abarcó desde 0,1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  hasta 650  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

El procedimiento comenzó con la adición de 25  $\mu\text{L}$  de las muestras de proteínas o de los estándares de BSA en las placas de microtitulación, seguidos de 200  $\mu\text{L}$  del reactivo de BCA, previamente

preparado de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Este reactivo, compuesto por bicinconinato de sodio y sulfato cúprico, permite la formación de un complejo púrpura entre los iones cúpricos reducidos ( $\text{Cu}^+$ ) y las proteínas, cuya intensidad es directamente proporcional a la concentración proteica. Las placas fueron incubadas en condiciones controladas a 37 °C durante 30 minutos, asegurando una reacción completa. Una vez concluida la incubación, la absorbancia de cada pozo se midió a una longitud de onda de 562 nm utilizando un lector de microplacas. Los valores de absorbancia obtenidos para las muestras experimentales se interpolaron posteriormente en las curvas de calibración generadas a partir de las muestras estándar de BSA, permitiendo calcular la concentración proteica de cada muestra.

#### **4.2.5 Evaluación del efecto antidiabetes del extracto más promisorio**

Para este ensayo se diseñó un protocolo experimental para evaluar el potencial terapéutico del extracto a una concentración final de 1000 ppm. En este experimento, moscas adultas de ambos sexos (2 a 3 días de edad) fueron divididas en 3 grupos de 50 individuos cada uno así: 1 tratamiento con el extracto, 2 moscas control negativo (inducción de diabetes) y 3 moscas control sin tratamiento de diabetes (estado basal). Los grupos 1 y 2 fueron sometidos a una dieta sólida hipercalórica durante un periodo de 72 horas, mientras que el grupo 3 fue mantenido en dieta estándar durante todo el experimento. Tras este periodo, el grupo 2 fue transferido a un vial con dieta estándar (cornmeal) y el grupo 1 a un vial con dieta normal complementada con el extracto a una concentración final de 1000 ppm. Todos los grupos fueron mantenidos bajo estas condiciones durante 72 horas, al finalizar este periodo de tiempo se realizaron los estudios comportamentales descritos anteriormente. Posteriormente, los individuos de cada grupo fueron sacrificados y mantenidos a -20 °C para realizar los ensayos *ex vivo* de cuantificación de proteínas como se describió en el apartado 4.2.4 y un análisis de cuantificación de lípidos empleando cromatografía de gases de acuerdo con la siguiente metodología.

**Cuantificación de lípidos:** para la cuantificación de lípidos totales y perfil de ácidos grasos, se empleó la técnica de cromatografía de gases (GC), utilizando la fracción lipídica (F2) obtenida previamente. Inicialmente, la fracción F2 fue sometida a un proceso de secado y se pesaron los lípidos totales para determinar cambios en la fracción lipídica entre los diferentes tratamientos.

Para el análisis por GC, se realizó una derivatización química mediante la formación de ésteres metílicos por reacción con trifluoruro de boro en metanol ( $\text{BF}_3/\text{MeOH}$  al 14%) en una proporción de 1 mL de reactivo por cada 10 mg de lípidos secos. La mezcla reactiva se transfirió a tubos de tapa rosca de vidrio, los cuales se incubaron en un baño maría a una temperatura controlada de 85 °C durante 60 minutos, permitiendo la completa transesterificación de los triglicéridos y otros lípidos complejos en sus correspondientes FAMES. Posteriormente los ésteres metílicos se extrajeron con 3 mL de una mezcla 1:0.5 de n-heptano y tetradecano (Kennish, 2015)

Para el análisis cromatográfico se empleó un cromatógrafo de gases equipado con un detector de ionización de llama (GC-FID) y una columna capilar polar DB-23. El método cromatográfico incluyó un programa de temperatura que comenzó con un rango inicial de 150 °C, incrementándose a 230 °C a una tasa de 10 °C/min para garantizar la resolución óptima de los compuestos. Las condiciones del puerto de inyección Split/Splitless incluyeron una temperatura de 250 °C, con un volumen de inyección de 1  $\mu\text{L}$  en modo Split con una relación de división de 10:1. La identificación de los ácidos grasos presentes en las muestras se realizó comparando los tiempos de retención obtenidos con estándares certificados de FAMES, mientras que la cuantificación se llevó a cabo mediante normalización de áreas, considerando el área total de todos los picos detectados en el cromatograma. Este enfoque permitió determinar con precisión la proporción relativa de cada ácido graso en la fracción lipídica analizada.

Una vez establecido y corroborado el modelo de diabetes inducido se procedió a evaluar el potencial terapéutico del extracto seleccionado en la primera fase del estudio como se describe a continuación.

#### 4.2.6. Hacer una aproximación de la composición química del extracto más promisorio por medio de un perfilado metabólico usando cromatografía líquida acoplada de alta eficiencia a espectrometría de masas de alta resolución (HPLC-HRMS).

En esta investigación, se llevó a cabo la aproximación de la composición química del extracto más promisorio mediante un perfilado utilizando cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (UHPLC-HRMS). Para ello, se empleó un equipo de espectrometría de masas Bruker Impact II acoplado a un sistema de cromatografía líquida UHPLC Bruker Elute. El análisis cromatográfico se realizó utilizando una columna Bruker Intensity Solo 2 C18 (100 x 2.1 mm, i.d.) con una fase móvil compuesta por dos solventes: A (agua con acetato de amonio 10 mM) y B (acetonitrilo). El método incluyó un gradiente lineal de 5% a 95% de B en un tiempo total de 10 minutos, manteniendo la columna a una temperatura constante de 30 °C. El volumen de inyección fue de 10 µL.

Para el análisis de espectrometría de masas, se utilizó una fuente de ionización por electrospray (ESI) en modo de ionización negativa. El sistema operó en modo de escaneo automático MS/MS, cubriendo un rango de masas de 100 a 5000 m/z con una velocidad de escaneo de 6 Hz. Los parámetros específicos de operación incluyeron un voltaje de offset en la placa final de 400 V, voltaje en la capilar de 4500 V, presión del nebulizador de 29 psi, flujo de gas seco de 9.0 L/min y una temperatura de gas seco de 200 °C. Esta metodología permitió la caracterización preliminar de los compuestos presentes en el extracto seleccionado mediante dereplicación manual usando bases de datos.

## 5. Resultados y discusión

### 5.1 Rendimiento de extracción

Los rendimientos de extracción asistida por ultrasonido para las especies vegetales (Tabla 6) mostraron variaciones significativas dependiendo de la planta y la parte utilizada. Los valores oscilaron entre un rendimiento mínimo de 5,0% para *Petiveria alliacea* (Anamú) y un máximo de 10,1% para *Juglans neotropica* (Nogal), siendo esta última la especie con el mayor porcentaje de extracción, reflejando una alta eficiencia en la recuperación de compuestos bioactivos de las hojas.

Otras especies destacadas en términos de rendimiento incluyen *Morus alba* (Morera) con 9,7%, *Desmodium adscendens* (Amor seco) con 9,6% y *Manilkara zapota* (Nispero) con 9,1%, las cuales también superaron el umbral del 9,0%. En contraste, especies como *Hymenaea courbaril* (Algarrobo) y *Eucalyptus globulus* (Eucalipto) presentaron rendimientos más bajos, con 5,7% y 6,2%, respectivamente, posiblemente debido a características estructurales de sus frutos y hojas que limitan la liberación de metabolitos bajo las condiciones de ultrasonido empleadas.

Especies de interés como *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Lantana camara* (Venturosa) tuvieron rendimientos moderados, con 7,5% y 7,2%, mientras que plantas como *Smallanthus sonchifolius* (Yacón) y *Gunnera antioquiensis* (Hoja de pan) alcanzaron valores más altos de 8,4% y 8,9%, respectivamente, destacando por su capacidad de liberación de compuestos bajo las condiciones de extracción aplicadas.

**Tabla 6. Porcentajes de rendimiento de extracción en la obtención de los extractos empleando maceración asistida por ultrasonido**

Nombre común	ID	Nombre científico (Familia)	Parte usada	% Rendimiento
Marrubio	1	<i>Marrubium vulgare</i> (Lamiaceae)	Hojas	8,5
Algarrobo	2	<i>Hymenaea courbaril</i> (Fabaceae)	Fruto	5,7
Perejil liso	3	<i>Petroselinum crispum</i> (Apiáceas)	Hojas	6,8

Venturosa	4	<i>Lantana camara</i> (Verbenaceae)	Hojas	7,2
Níspero	5	<i>Manilkara zapota</i> (Sapotaceae)	Hojas	9,1
Altamisa	6	<i>Ambrosia peruviana</i> (Asteraceae)	Hojas	6,2
Casco de vaca	7	<i>Bauhinia sp.</i> (Fabaceae)	Hojas	7,4
Nogal	8	<i>Juglans neotropica</i> (Yuglandáceas)	Hojas	10,1
Mamoncillo	9	<i>Melicoccus bijugatus</i> (Sapindáceas)	Hojas	5,8
Yacón	10	<i>Smallanthus sonchifolius</i> (Asteraceae)	Hojas	8,4
Cola de caballo	11	<i>Equisetum bogotense</i> (Equisetáceas)	Hojas	6,9
Sauco	12	<i>Sambucus nigra</i> (Adoxáceas)	Hojas	7,8
Vira vira	13	<i>Achyrocline satureioides</i> (Asteráceas)	Hojas	8,3
Arrayan	14	<i>Myrcia fallax</i> (Mirtáceas)	Hojas	7,9
Amor seco	15	<i>Desmodium adscendens</i> (Fabaceae)	Hojas	9,6
Romero	16	<i>Rosmarinus officinalis</i> (Lamiaceae)	Hojas	7,5
Morena	17	<i>Morus alba</i> (Moraceae)	Hojas	9,7
Achiote	18	<i>Bixa orellana</i> (Bixaceae)	Fruto	8,2
Almizclillo	19	<i>Abelmoschus moschatus</i> (Malvaceae)	Hojas	7,1
Hoja de pan	20	<i>Gunnera antioquiensis</i> (Gunneraceae)	Hojas	8,9
Apio de monte	21	<i>Eryngium foetidum</i> (Apiaceae)	Hojas	7,3
Col rizada	22	<i>Brassica oleracea</i> (Brassicaceae)	Hojas	6,4
Verbena	23	<i>Verbena litoralis</i> (Verbenaceae)	Hojas	7,2
Siempre viva	24	<i>Gomphrena globosa</i> (Amaranthaceae)	Hojas	7,8
Eucalipto	25	<i>Eucalyptus globulus</i> (Myrtaceae)	Hojas	6,2
Laurel	26	<i>Laurus nobilis</i> (Lauraceae)	Hojas	6,9
Panameña	27	<i>Tradescantia zebrina</i> (Commelinaceae)	Hojas	7,5
Contra gavilana	28	<i>Neurolaena lobata</i> (Asteraceae)	Hojas	8,5
Nopal	29	<i>Opuntia ficus-indica</i> (Cactaceae)	Hojas	6,7
Anamú	30	<i>Petiveria alliacea</i> (Phytolaccaceae)	Hojas	5,0

Los resultados reflejan que el método de extracción asistida por ultrasonido es altamente eficiente para especies como *Juglans neotropica* (10,1%) y *Morus alba* (9,7%), debido probablemente a su alto contenido de metabolitos secundarios de polaridad alta, solubles en Etanol. Por otro lado, los bajos rendimientos observados en especies como *Petiveria alliacea* (5,0%) y *Hymenaea courbaril* (5,7%) podrían deberse a su composición química o a una mayor resistencia de sus tejidos vegetales. Las especies con rendimientos intermedios, como *Rosmarinus officinalis* y *Lantana camara*, reflejan una liberación moderada de compuestos. Los resultados del estudio muestran que la extracción asistida por ultrasonido (EAU) presenta rendimientos variables según la especie vegetal, con valores generalmente comparables o superiores a los obtenidos por métodos tradicionales como maceración o Soxhlet. Por ejemplo, especies como *Juglans neotropica* y *Morus alba* lograron rendimientos superiores al 9%, destacándose frente a reportes previos donde estos métodos alcanzan entre 6-8% bajo condiciones similares. Esto refuerza la capacidad del ultrasonido para mejorar la extracción al romper eficazmente las paredes celulares y facilitar la liberación de metabolitos bioactivos (Chemat et al., 2017). Por otro lado, en especies como *Petiveria alliacea* y *Hymenaea courbaril*, los rendimientos obtenidos por ultrasonido no difirieron significativamente de los valores reportados en la literatura para métodos convencionales (4-6%), lo que sugiere que las características químicas y estructurales de

estas plantas pueden limitar la eficiencia de extracción independientemente del método utilizado (Zhang et al., 2020).

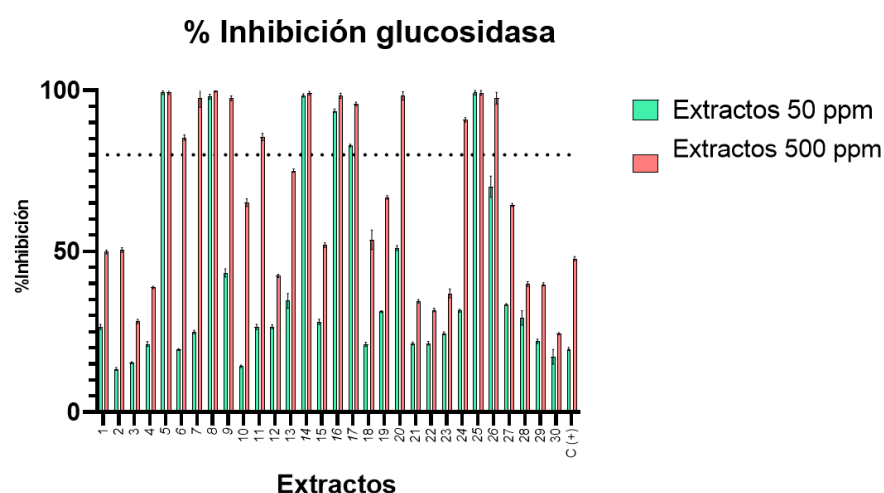
En términos generales, la EAU ofrece ventajas significativas en términos de tiempo y reducción en el uso de solventes, especialmente en especies con tejidos vegetales menos resistentes. Sin embargo, la eficacia del ultrasonido puede variar considerablemente según la composición química de la planta y los compuestos de interés, lo que subraya la importancia de optimizar las condiciones experimentales para cada especie (Martins et al., 2019). Estos resultados confirman que el ultrasonido es una herramienta versátil y eficiente para la extracción de compuestos bioactivos en una amplia gama de plantas, destacándose como una alternativa prometedora a las metodologías convencionales. Sin embargo, se recomienda una evaluación individualizada de cada especie para maximizar los rendimientos y aprovechar al máximo sus propiedades químicas únicas.

## 5.2 Tamizaje de actividad inhibitoria enzimática *in vitro* frente a $\alpha$ -glucosidasa, $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática

### 5.2.1 Actividad Inhibitoria frente a $\alpha$ -glucosidasa

La evaluación de la actividad inhibitoria de los 30 extractos frente a la enzima  $\alpha$ -glucosidasa (Figura 6, Tabla 8 del anexo 1) permitió observar variaciones en los porcentajes de inhibición en función de la concentración evaluada (50 ppm y 500 ppm); siendo mayores a la concentración más alta y disminuyendo significativamente a 50 ppm para la mayoría de las especies.

En términos generales la mayoría de los extractos presentaron porcentajes de inhibición mayores que el control positivo (acarbose) a las dos concentraciones evaluadas. De hecho, cinco especies demostraron marcada actividad inhibitoria frente a la enzima, con porcentajes superiores al 90% en ambas concentraciones: *M. zapota* (99,29%), *J. neotropica* (98,02%), *M. fallax* (98,37%), *R. officinalis* (87,72%) y *M. alba* (82,84%). Además, especies como *G. antioquiensis* (98,30%), *Bauhinia sp.* (97,65%) y *M. fallax* (97,83%) mostraron inhibiciones superiores al 90% a 500 ppm, y aunque la actividad disminuyó considerablemente a 50 ppm siguieron siendo más activas que el control. Por otro lado, especies como *R. officinalis* (87,72%) y *M. alba* (82,84%) demostraron una actividad significativa, aunque inferior en comparación con las especies más promisorias. En contraste, *P. crispum* (16,31%) y *B. oleracea* (27,29%) fueron unas de las pocas especies con actividad significativamente más baja que el control acarbose.



**Figura 6.** Gráfica de porcentajes de inhibición frente a  $\alpha$ -glucosidasa a dos concentraciones (500 y 50 pp) con punto de corte del 80%.

Los resultados del tamizaje preliminar de los extractos frente a la enzima  $\alpha$ -glucosidasa resaltan la importancia de hacer una aproximación preliminar de la actividad inhibitoria a diferentes concentraciones. Puesto que este enfoque permitió descartar especies con baja actividad y concentrar los estudios posteriores en aquellas con mayor actividad a 50 ppm. En particular, las especies *M. zapota*, *J. neotropica*, *M. fallax*, *R. officinalis* y *M. alba* mostraron porcentajes de inhibición superiores al 60-70% a esta concentración, posicionándolas como candidatas con alto potencial inhibitorio. Además, el comportamiento dosis-respuesta de estas especies sugiere que las  $IC_{50}$  de estas especies podrían estar por debajo de 50 ppm, lo que las convierte en prometedoras para estudios más detallados de caracterización farmacológica y química.

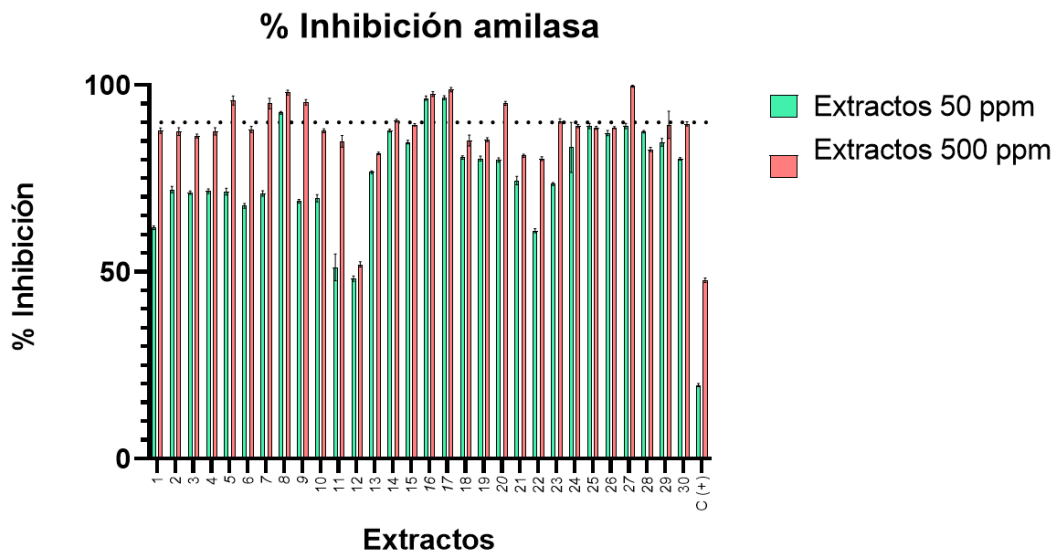
De acuerdo con la quimiotaxonomía de las familias a las que pertenecen las especies más prometedoras en la inhibición de esta enzima, es posible especular que los compuestos bioactivos responsables incluyen flavonoides, taninos, alcaloides y saponinas (Moelands, 2018). Considerando que este tipo de compuestos bioactivos son reconocidos por su capacidad para inhibir enzimas clave en el metabolismo de carbohidratos, lo que las convierte en objetivos prioritarios para estudios de caracterización fitoquímica (Assefa, 2019).

Por otro lado, la actividad de *R. officinalis* podría estar relacionada con su contenido de ácido carnósico y rosmarínico compuestos con propiedades antioxidantes e inhibitoras de enzimas (Yan, 2020). Mientras que en el caso de *M. alba* ha sido previamente asociada con flavonoides activos como la rutina y la quercetina, que podrían desempeñar un papel en su acción inhibitoria. Así como también el alcaloide 1-Deoxynojirimicina (DNJ) presente en las hojas de esta especie reconocido por su capacidad para inhibir la glucosidasa, lo que puede ayudar a reducir la glucemia postprandial. (Hansawasdi, 2019).

Con todo lo anterior es posible concluir que cinco especies, *M. zapota*, *J. neotropica*, *M. fallax*, *R. officinalis* y *M. alba*, mostraron una actividad inhibitoria frente a la  $\alpha$ -glucosidasa, superando el 80% a 50 ppm, posicionándose como los extractos más prometedores para futuras investigaciones.

### **5.2.2 Actividad Inhibitoria frente a $\alpha$ -amilasa**

Los resultados frente a la enzima  $\alpha$ -amilasa revelaron una tendencia de inhibición similar a la observada en  $\alpha$ -glucosidasa, aunque con porcentajes de inhibición notablemente mayores. Es importante destacar que todos los extractos analizados fueron significativamente más activos que el control positivo (acarbose) en ambas concentraciones evaluadas como se muestra en la Tabla 9 (Anexo 2) y la Figura 7. En términos generales la mayoría de los extractos presentaron porcentajes cercanos o superiores al 90% a la concentración más alta (500 ppm). A la concentración de 50 ppm, cuatro extractos mantuvieron inhibiciones superiores al 90%, mientras que las demás especies presentaron porcentajes de inhibición superiores al 60%. Estos resultados resaltan el potencial de los extractos estudiados como inhibidores efectivos de  $\alpha$ -amilasa y justifican su exploración en estudios adicionales.



**Figura 7.** Gráfica de porcentajes de inhibición frente a  $\alpha$ -amilasa a 500 y 50 ppm con punto de corte del 90%.

De forma semejante a lo observado frente a la enzima  $\alpha$ -glucosidasa, las especies *M. alba* y *J. neotropica* sobresalieron nuevamente con los valores más altos de inhibición frente a la enzima  $\alpha$ -amilasa con porcentajes de 96,59% y 96,48%, respectivamente a 50 ppm. Además, otras especies como *D. adscendens* (94,73%), *M. fallax* (87,79%) y *E. globulus* (88,97%) también mostraron porcentajes de inhibición significativos a esta concentración, consolidándose como alternativas prometedoras para inhibir esta enzima clave en el metabolismo de carbohidratos.

Es de destacar que *M. alba* y *J. neotropica* podrían tener un potencial inhibitorio dual frente a las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa, lo que les otorgaría un valor adicional al presentar un perfil de actividad más completo en el metabolismo de los carbohidratos. Este doble efecto inhibitorio sugiere que estas especies podrían regular de manera más eficiente la degradación de polisacáridos y disacáridos en distintas etapas del metabolismo, ofreciendo una estrategia integral para el control de la glucosa postprandial. Se podría inferir que metabolitos secundarios de tipo fenólico y flavonoide presentes en estas especies favorecen la inhibición enzimática mediante interacciones directas con los sitios catalíticos o alostéricos de las enzimas, tal como lo han reportado estudios previos (Yuan, 2024; Nakamura, 2021). Además, la complejidad química de los extractos vegetales podría permitir interacciones sinérgicas entre múltiples compuestos, aumentando su afinidad y eficacia en la inhibición de diferentes regiones de las enzimas (Tang, 2018). Este enfoque sinérgico no solo maximiza el efecto inhibitorio, sino que también resalta el potencial de estas especies como fuentes prometedoras para el desarrollo de tratamientos alternativos en el manejo de la diabetes tipo II.

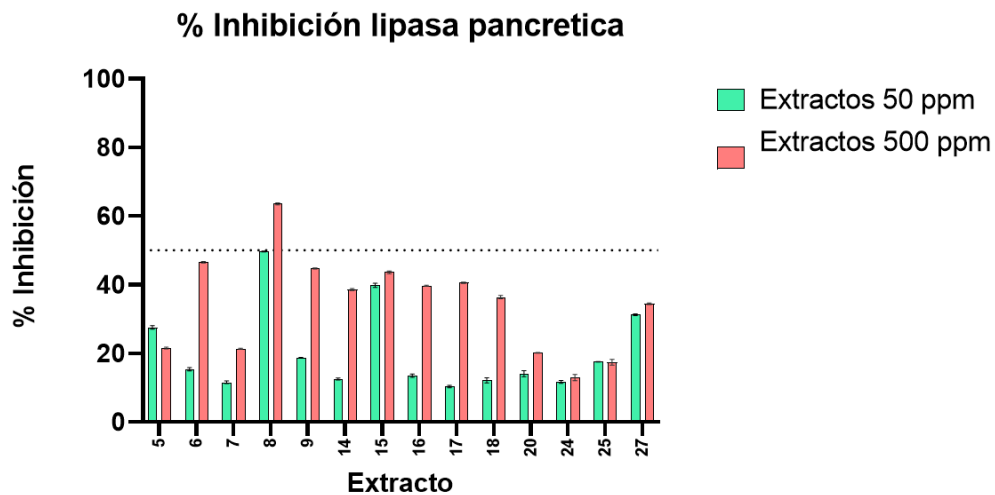
Finalmente, los hallazgos del tamizaje frente a la enzima  $\alpha$ -amilasa permitieron identificar al menos cinco extractos promisorios con altos porcentajes de inhibición a 50 ppm, constituyendo un punto de partida sólido para continuar con los estudios de caracterización farmacológica y química.

### 5.2.3 Actividad Inhibitoria en lipasa pancreática

Con base en los resultados obtenidos previamente, se decidió realizar el ensayo de inhibición de lipasa pancreática únicamente con los 14 extractos que mostraron mayor actividad frente a las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa. Esto con el objetivo de enfocar el estudio en extractos con potencial antidiabético (multimodal). Los resultados de la Figura 8 (Tabla 10 Anexo 3) muestran los porcentajes de inhibición de la enzima lipasa pancreática a las concentraciones del tamizaje. A una concentración baja (50 ppm), los resultados evidencian una actividad inhibitoria moderada en la

mayoría de las especies, con excepciones destacadas como *J. neotropica* ( $50,61 \pm 0,14\%$ ), *D. adscendens* ( $39,78 \pm 0,99\%$ ) y *T. zebrina* ( $31,25 \pm 0,34\%$ ). Estas especies demostraron la mayor capacidad para inhibir la  $\alpha$ -lipasa a esta concentración, lo que sugiere la presencia de compuestos bioactivos con alta afinidad hacia esta enzima clave en el metabolismo lipídico.

A una concentración más alta (500 ppm), se observó un aumento general en los porcentajes de inhibición siendo *Marrubium vulgare* ( $45,15 \pm 0,63\%$ ), *Hymenaea courbaril* ( $44,84 \pm 0,85\%$ ) y *Desmodium adscendens* ( $43,61 \pm 0,33\%$ ) las especies con mayor actividad inhibitoria a esta concentración. Sin embargo, algunas especies como *Petroselinum crispum* y *E. globulus* mantuvieron niveles de inhibición bajos incluso a 500 ppm ( $16,31 \pm 0,81\%$  y  $17,39 \pm 0,72\%$ , respectivamente), lo que podría indicar una menor densidad de compuestos activos en sus extractos o una afinidad limitada hacia la enzima.



**Figura 8.** Gráfica de porcentajes de inhibición frente a lipasa pancreática a dos concentraciones (500 y 50 pp) con punto de corte del 50%.

Al comparar los resultados de la figura 9, frente a la obtenidos en glucosidasa y amilasa, se puede observar que los extractos resultaron ser mucho menos activos en la inhibición de la lipasa pancreática lo que podría relacionarse con la composición química de estos de naturaleza más polar y la estructura de la enzima. Se ha reportado que la inhibición de la lipasa pancreática puede estar influenciada por diversos factores, incluyendo la estructura del sitio activo de la enzima, el medio del ensayo, limitantes en la solubilidad por parte de los metabolitos polares entre otros. Esto considerando que la lipasa es una enzima serín-proteasa que cataliza la hidrólisis de triglicéridos en ácidos grasos y glicerol, cuyo sitio activo está compuesto por una triada catalítica clásica (Ser-His-Asp) con una región hidrofóbica circundante que interactúa específicamente con sustratos lipídicos. Lo anterior implica que los metabolitos secundarios con características hidrofóbicas y afinidad por las interacciones no covalentes, como los terpenoides, pueden unirse eficazmente al sitio activo e inhibir su función (Yan, 2020). Así, la variabilidad observada entre los extractos podría también estar relacionada con las diferencias en la biodisponibilidad de los metabolitos en el medio de reacción. Algunos compuestos activos presentes en los extractos pueden tener una polaridad que no favorece su interacción con el entorno hidrofóbico del sitio activo de la lipasa pancreática.

Considerando que los porcentajes de inhibición obtenidos fueron inferiores al 50% en ambas concentraciones evaluadas y debido a limitaciones de solubilidad en el ensayo, que impidieron probar concentraciones más altas, no se procedió a determinar las concentraciones inhibitorias cincuenta ( $IC_{50}$ ) frente a esta enzima.

### 5.2.3. Concentraciones inhibitorias cincuenta de los extractos más activos

Para la determinación de las concentraciones inhibitorias medias ( $IC_{50}$ ) frente a la enzima  $\alpha$ -glucosidasa, se estableció como criterio de selección aquellos extractos que presentaron un porcentaje de inhibición superior al 80% en al menos una de las dos concentraciones evaluadas (50 y 500 ppm). Bajo este criterio, se seleccionaron un total de 13 especies vegetales. En el caso de la  $\alpha$ -amilasa, se utilizó como punto de corte un porcentaje de inhibición superior al 90% a una concentración de 50 ppm, lo que resultó en la selección de 9 especies vegetales. La determinación de las  $IC_{50}$  se realizó evaluando diferentes concentraciones de cada extracto, siguiendo un modelo de respuesta dosis-dependiente. Dicho modelo se ilustra en la Figura 9, en la cual se presentan únicamente los resultados correspondientes a los extractos más prometedores. Los valores de  $IC_{50}$  obtenidos para cada extracto y enzima analizada se resumen en la Tabla 13.

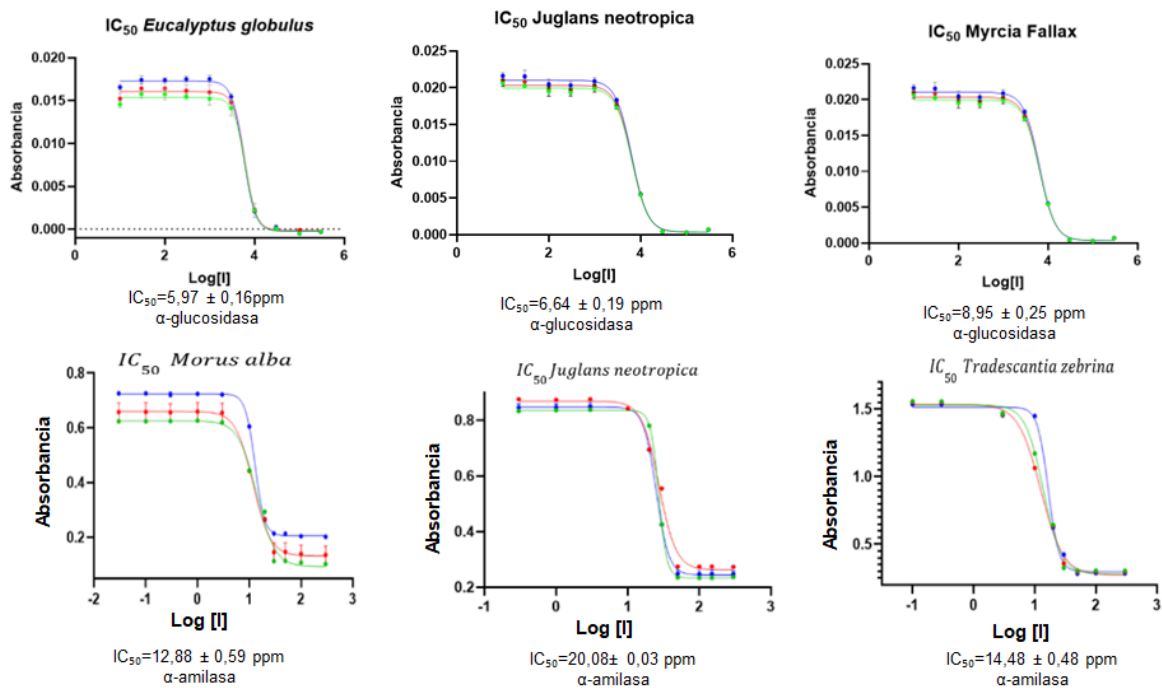


Figura 9. Modelo dosis dependiente para determinar  $IC_{50}$  en  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa

Si bien no existe una escala universalmente aceptada para clasificar las concentraciones inhibitorias medias ( $IC_{50}$ ) frente a las enzimas  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, diversos estudios sugieren ciertos rangos para evaluar la efectividad de los inhibidores. De acuerdo con la literatura, se considera una inhibición altamente efectiva cuando los valores de  $IC_{50}$  son inferiores a 100 ppm, moderada para valores entre 100 y 500 ppm, y baja cuando las  $IC_{50}$  superan los 500 ppm (Kim, Y. et al., 2011; Zhang, L. et al., 2018). En este contexto, los extractos evaluados en el presente estudio fueron seleccionados y analizados con base en estos criterios. A continuación, se detallan los resultados obtenidos para las  $IC_{50}$  frente a la  $\alpha$ -glucosidasa y la  $\alpha$ -amilasa, así como los puntos de corte empleados para la selección de extractos altamente promisorios. En términos generales, los extractos con mayor potencial inhibitorio  $\alpha$ -glucosidasa fueron los de *E. globulus*, con un  $IC_{50}$  de  $5,97 \pm 0,16 \mu\text{g/mL}$ , seguido de *J. neotropica* ( $6,64 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$ ), y *M. fallax* con un valor de  $8,95 \pm 0,25 \mu\text{g/mL}$ . Además, cuatro extractos más mostraron un alto potencial inhibitorio con concentraciones menores a  $20 \mu\text{g/mL}$  (Tabla 13). En contraste, tres extractos *M. bijugatus*, *A. peruviana* y *G. brephogea* mostraron menor actividad con  $IC_{50}$  superiores a  $100 \mu\text{g/mL}$ , mientras que los restantes exhiben potencial inhibitorio moderado con valores de  $IC_{50}$  cercanos a  $50 \mu\text{g/mL}$ .

**Tabla 7.** Concentraciones inhibitorias cincuenta (IC<sub>50</sub>) de los extractos más promisorios frente a las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa

Nombre científico	Nombre común	IC <sub>50</sub> Glucosidasa (ppm)	IC <sub>50</sub> Amilasa (ppm)
<i>Morus alba</i>	Morena	11,49 ± 0,31	12,88 ± 1,03
<i>Melicoccus bijugatus</i>	Hoja de mamoncillo	117,47 ± 2,39	34,67 ± 1,88
<i>Gunnera antioquiensis</i>	Hoja de pan	124,17 ± 4,36	30,78 ± 1,34
<i>Manilkara zapota</i>	Níspero	13,99 ± 0,557	34,88 ± 0,10
<i>Ambrosia peruviana</i>	Altamisa	143,6 ± 5,70	ND
<i>Bixa orellana</i>	Achiote	20,37 ± 0,08	ND
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romero	30,16 ± 0,66	22,14 ± 0,05
<i>Eucalyptus globulus</i>	Eucalipto	5,97 ± 0,16	ND
<i>Bauhinia variegata</i>	Casco de vaca	50,66 ± 0,26	26,52 ± 1,28
<i>Gomphrena globosa</i>	Siempre viva	56,16 ± 3,76	ND
<i>Juglans neotropica</i>	Nogal	6,64 ± 0,19	20,8 ± 0,03
<i>Tradescantia zebrina</i>	Panameña	63,73 ± 2,13	14,34 ± 2,04
<i>Myrcia fallax</i>	Arrayan	8,95 ± 0,25	ND
<i>Bidens pilosa</i>	Amor seco	ND	20,8 ± 0,03
Acarbosa		880*	970**

Los valores de IC<sub>50</sub> se presentan como el promedio ± SEM de tres experimentos independiente realizados por triplicado

ND= No determinado

\*Tomado de: Nakamura, 2021 \*\* tomado de: Dirir, 2022

En comparación con la inhibición de la  $\alpha$ -glucosidasa, ninguno de los extractos evaluados frente a la  $\alpha$ -amilasa mostró concentraciones inhibitorias menores a 10 ppm. Sin embargo, los extractos más prometedores presentaron valores de IC<sub>50</sub> menores o iguales a 20 ppm. Por ejemplo, *M. alba*, mostró el mayor potencial inhibitorio con una IC<sub>50</sub> de 12,88 ± 1,03  $\mu$ g/mL, seguido de *T. zebrina* (14,34 ± 2,04  $\mu$ g/mL) y *J. neotropica* (20,8 ± 0,03  $\mu$ g/mL). Por otro lado, los extractos de *M. zapota* y *M. bijugatus* mostraron valores de IC<sub>50</sub> un poco más altos (34,88 ± 0,10  $\mu$ g/mL y 34,67 ± 1,88  $\mu$ g/mL, respectivamente) pero inferiores a 50 ppm, lo que indica una eficacia moderada en la inhibición de la enzima.

Entre los extractos con mayor potencial debido a su actividad dual frente a las enzimas se encuentra *M. alba* (morena) que presentó valores de IC<sub>50</sub> de 11,49 ± 0,31  $\mu$ g/mL para  $\alpha$ -glucosidasa y 12,88 ± 1,03  $\mu$ g/mL para  $\alpha$ -amilasa. La notable actividad de *M. alba* y puede atribuirse a la presencia de compuestos como flavonoides (quercetina y rutina) y 1-Deoxynojirimicina (DNJ) que como se mencionó anteriormente ha demostrado actividad inhibitoria frente a  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa *in vitro*, de acuerdo con reportes previos (Hansawasdi, 2019).

Es relevante mencionar que incluso extractos con IC<sub>50</sub> altas para nuestro estudio como *G. brephogea* y *A. peruviana* mostraron mayor potencial inhibitorio que la acarbosa, con diferencias de hasta 6 veces en sus valores de IC<sub>50</sub>. Esto sugiere que, aunque menos efectivos que *M. alba* o *J. neotropica*, siguen siendo alternativas prometedoras que podrían explorarse en combinación con otros extractos para maximizar la eficacia terapéutica. En este contexto, nuestros resultados permiten suponer que los extractos vegetales podrían inhibir más efectivamente a las enzimas de estudio en comparación con la acarbosa, lo que podría estar relacionado con su alta complejidad al ser una mezcla de diferentes metabolitos (Hansawasdi, 2019). De hecho, algunos estudios previos respaldan la hipótesis del posible

sinergismo en los extractos completos totales, por ejemplo, extractos ricos en flavonoides, como los de *Camellia sinensis* (té verde), han reportado IC<sub>50</sub> de aproximadamente 10-20 ppm, mientras que compuestos aislados como EGCG alcanzan IC<sub>50</sub> de 50 ppm (Chemat et al., 2017). Esto sugiere que la complejidad química de los extractos integrales puede potenciar su actividad inhibitoria. Además, el perfil químico diverso de estos extractos podría ofrecer una actividad multitarget lo que podría resultar beneficioso considerando que la diabetes tipo II es un desorden metabólico complejo.

En el caso de *M. zapota*, su alta actividad inhibitoria podría atribuirse a la presencia de taninos y compuestos fenólicos, como catequinas y epicatequinas, que han mostrado actividad frente a la  $\alpha$ -glucosidasa en otros estudios (Assefa, 2019). Asimismo, los estudios químicos de esta especie han permitido identificar otros compuestos activos como ácido gálico y flavonoides, que también podrían contribuir a su actividad. Por ejemplo, se ha reportado que las catequinas que contienen múltiples grupos hidroxilo pueden interactuar directamente con los residuos activos de la  $\alpha$ -glucosidasa, bloqueando su actividad (Assefa, 2019).

Por otro lado, las naftoquinonas, como la juglona, son compuestos característicos de la familia Juglandaceae, a la cual pertenece *Juglans neotropica*. En particular el género *Juglans* es conocido por producir metabolitos secundarios como naftoquinonas, flavonoides y taninos. Estudios previos han demostrado que la juglona y sus derivados poseen una notable capacidad inhibitoria hacia la enzima  $\alpha$ -glucosidasa, con valores de concentración inhibitoria en el rango de 15–25 ppm (Yan et al., 2020). La juglona, gracias a su estructura bicíclica, núcleo aromático y grupos carbonilo, puede interactuar eficazmente con los sitios activos de la  $\alpha$ -glucosidasa mediante la formación de enlaces de hidrógeno y la generación de interacciones  $\pi$ - $\pi$  con residuos aromáticos de la enzima.

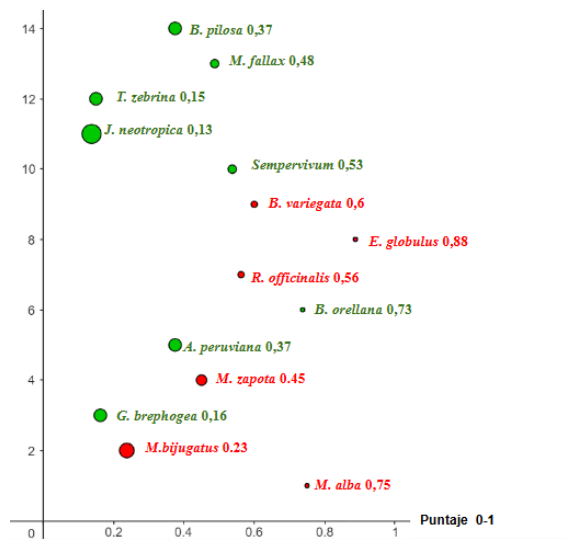
Los extractos de *M. alba*, *M. zapota*, y *J. neotropica* se destacaron por su notable actividad inhibitoria frente a la  $\alpha$ -glucosidasa, con valores de IC<sub>50</sub> significativamente bajos de  $11,49 \pm 0,31$  ppm,  $13,99 \pm 0,55$  ppm y  $20,08 \pm 0,08$  ppm, respectivamente, siendo hasta 75 veces más efectivos que el control positivo (acarbose). Además, otras especies como *G. brephogea* y *A. peruviana*, aunque presentaron IC<sub>50</sub> relativamente más altos, demostraron una eficacia superior a la de la acarbose, posicionándose como alternativas viables. Asimismo, los extractos de *E. globulus*, *J. neotropica*, *M. fallax* y *M. alba* emergen como candidatos prometedores para el desarrollo de terapias orientadas al manejo de la diabetes y la obesidad, destacando el potencial de los extractos vegetales como inhibidores eficaces de la  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa. Estos hallazgos subrayan la necesidad de profundizar en estudios que caractericen la composición química específica de los extractos más activos y esclarezcan los mecanismos moleculares responsables de su actividad, mientras que los extractos menos activos podrían investigarse para optimizar sus métodos de extracción o explorarse en combinaciones que potencien su efectividad.

### **5.3 Efectos antidiabéticos del extracto más promisorio en los ensayos *in vitro* empleando modelos de diabetes en *Drosophila melanogaster***

#### **5.3.1 Matriz de selección extracto más promisorio**

Para seleccionar el extracto más promisorio para continuar con los estudios farmacológicos *in vivo* se desarrolló una matriz de priorización en la cual se incluyeron los 14 extractos a los que se les determinaron las concentraciones inhibitorias frente a las dos enzimas (Tabla 7). En la matriz de puntuación se incluyeron como criterios de priorización los resultados de actividad *in vitro*, así como los reportes químicos y de estudios *in vivo* reportados en literatura, asignando valores entre 0 y 1 como se presenta en el anexo 4. Para facilitar la interpretación de los resultados, se elaboró un gráfico de tipo heat map representado en la figura 10. En esta visualización, los puntajes más cercanos a cero corresponden a los extractos con mayor potencial terapéutico, mientras que los valores más cercanos a uno identifican aquellos menos promisorios. Además, el tamaño de los círculos en la figura está directamente relacionado con el puntaje asignado (ver tabla 11), los círculos más grandes representan puntajes más favorables, es decir los extractos con un mayor potencial. Además, el esquema utiliza una codificación de colores para diferenciar el estado de investigación de cada especie (Ver puntajes

en las tablas 11,12 y 13 del anexo 4). Los círculos en color verde indican que las especies no han sido objeto de estudios *in vivo* previos relacionados con la patología en cuestión, mientras que los círculos en color rojo corresponden a especies que ya cuentan con investigaciones previas relacionadas a la diabetes tipo II.



**Figura 10.** Matriz de selección del extracto más promisorio. Heat map.

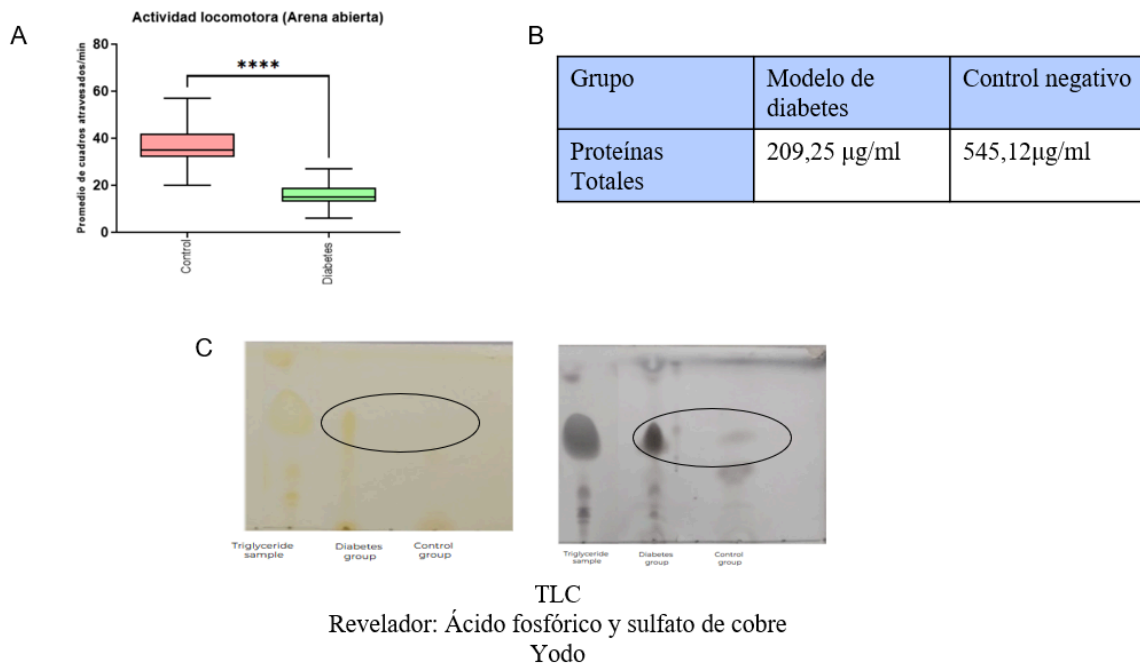
Eje Y indica numeración de los extractos. Eje X indica el puntaje obtenido por cada una de los extractos. Tamaño de punto indica un mejor puntaje con respecto a los demás, entre más grande mejor. El color verde indica que no tiene estudios *in vivo*. El color rojo indica que tiene estudios *in vivo*. Elaborado en GeoGebra.

La matriz de priorización indica que las especies *T. zebrina*, *G. brephogea* y *J. neotropica* que poseen los puntajes más cercanos a cero representan un buen punto de partida para continuar con estudios enfocados a la búsqueda de alternativas terapéuticas para el manejo de la diabetes tipo II. En este contexto, para este estudio se seleccionó a la especie *Juglans neotropica* debido a que obtuvo el puntaje más bajo, consolidándose como el extracto más prometedor. Este puntaje refleja no solo su alta eficacia inhibitoria en ensayos *in vitro*, sino también la ausencia de estudios *in vivo* relacionados con el tratamiento de la diabetes tipo II y la obesidad.

Los resultados obtenidos a partir de la matriz de priorización subrayan la importancia de integrar múltiples criterios objetivos para identificar extractos con el mayor potencial terapéutico y científico. En este análisis, *J. neotropica* se destacó como el extracto más prometedor debido a su sobresaliente capacidad inhibitoria y la ausencia de estudios previos *in vivo*, lo que representa una oportunidad única para caracterizar sus compuestos activos y explorar nuevos mecanismos de acción. Esto contrasta con otras especies altamente promisorias identificadas en el tamizaje *in vitro*, como es el caso de *E. globulos*, *R. officinalis* y *M. alba*, las cuales ya cuentan con estudios químicos, farmacológicos e incluso preclínicos previos. Estas últimas, aunque relevantes, no representarían un aporte significativo al conocimiento en el área de estudio.

### 5.3.2 Establecimiento del modelo

A fin de establecer un modelo experimental de diabetes tipo II en *Drosophila melanogaster* a usar en el presente proyecto se evaluaron diversas metodologías reportadas en la literatura. Con lo cual, se optó por inducir la diabetes mediante dietas sólidas hipercalóricas con un alto contenido de azúcar (32% de sacarosa). Este enfoque proporcionó resultados reproducibles y consistentes con los reportados por Álvarez-Rendón (2011), mostrando alteraciones significativas en la capacidad motora (exploratoria) de las moscas en comparación con el grupo control alimentado con una dieta estándar como se ilustra en la figura 11; sin causar mortalidad significativa durante el ensayo.



**Figura 11.** Resultados del establecimiento del modelo de diabetes en *Drosophila Melanogaster*

**A.** El gráfico de boxplots muestra la distribución de los datos correspondientes a los dos grupos experimentales evaluados. En el eje Y se representa el número de cuadros recorridos por *Drosophila*, mientras que en el eje X se presentan los grupos: control y diabetes. Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba t de Student ( $n = 50$ ). El análisis se realizó utilizando el software GraphPad Prism 9. Las barras en el gráfico indican el error estándar de la media (SEM), y las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos están señaladas con asteriscos ( $p < 0,001$ ). El grupo A presentó una media de 36,70 frente a 16,30 del grupo B, con una diferencia de  $-20,39 \pm 2,072$ . El intervalo de confianza al 95% fue de -24,57 a -16,22, y el análisis estadístico arrojó un valor de  $p = 0,0073$  ( $p < 0,01$ ). La prueba de varianza mostró  $F = 3,285$  y un  $R^2 = 0,6877$ , con un tamaño de muestra de 23 individuos por grupo, confirmando diferencias significativas entre los grupos.

**B.** Resultados cuantificación de proteínas por BCA

**C. Aproximación preliminar lipídica.** Cromatografía en capa delgada de una muestra de triglicéridos (Aceite mineral), extracto del grupo modelo de diabetes y extracto del grupo control negativo. **Fase móvil:** Hexano:Dietil éter:Acido acético (80:20:1). Revelador: Acido fosfórico- sulfato de cobre (2%)/ Cámara de Yodo.

Los resultados del establecimiento del modelo experimental indican que las moscas mantenidas en la dieta alta en glucosa (Agar de diabetes) mostraron una reducción significativa de la actividad locomotora, medida en las arenas de exploración, en comparación con el grupo control. Esto se evidencia como un menor promedio de cuadros recorridos por los individuos en el modelo diabético; lo cual se ha relacionado anteriormente con un deterioro en su capacidad exploratoria y motora como consecuencia a la alteraciones metabólicas y neuromusculares. Considerando la significancia estadística en las diferencias en la actividad locomotora ( $p = 0,0073$ ) se podría especular que el modelo de inducción de diabetes desencadena un importante impacto en el comportamiento de los insectos, lo que servirá como una primera evidencia en el establecimiento del diseño experimental para estudiar los efectos de la hiperglucemia.

Por otro lado, en la cuantificación de proteínas (Figura 11) se encontró que el grupo control presentó un valor promedio de 545,12 µg/mL (equivalente a BSA), mientras que el grupo de diabetes mostró un valor de 209,25 µg/mL (equivalente a BSA). Lo cual demuestra una disminución de más de un 50% del total de la concentración proteica en las moscas diabéticas, lo que podría estar relacionado con procesos de degradación proteica o inhibición en la síntesis de proteínas causada por la exposición prolongada a altos niveles de glucosa (Grifoni, 2018). Este fenómeno ha sido documentado previamente en diferentes estudios, en donde se ha demostrado que la hiperglucemia crónica afecta directamente la homeostasis proteica, promoviendo el estrés oxidativo y la disfunción metabólica en organismos modelo (Álvarez-Rendón, 2018). Estos hallazgos están en concordancia con los cambios comportamentales observados y respaldan el modelo de inducción de diabetes en

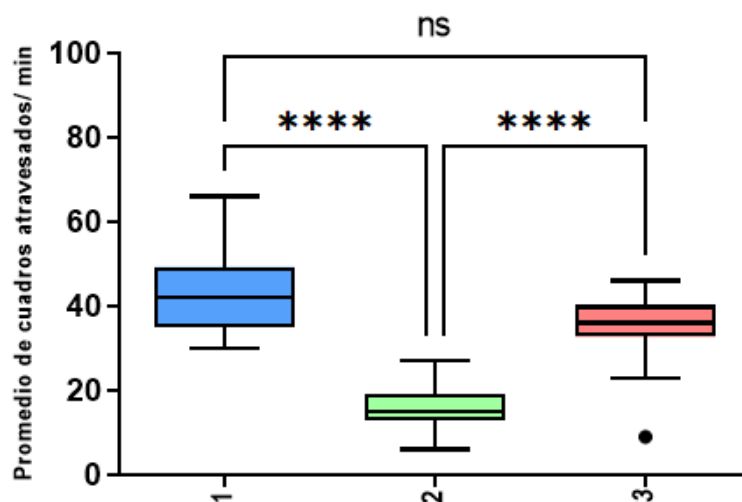
*Drosophila* como una excelente aproximación para el estudio de alteraciones bioquímicas asociadas con la diabetes y la búsqueda de nuevas opciones terapéuticas.

Además en la aproximación preliminar al estudio de los cambios en el perfil lipídico de los dos grupos de tratamiento empleando cromatografía en capa delgada (Figura 11). Se observaron diferencias claves como una banda de lípidos con mayor intensidad y densidad en comparación con el grupo control negativo, lo que indica un incremento significativo en el contenido lipídico. Este aumento sugiere que las moscas sometidas a una dieta rica en glucosa experimentan una acumulación lipídica que podría estar asociada a alteraciones metabólicas propias de estados de hiperglucemia, como la lipogénesis exacerbada o la inhibición de la lipólisis (Armstrong, 2020). En comparación con el estándar de triglicéridos, las bandas de los extractos del grupo diabético muestran patrones de migración similares, lo que confirma la presencia predominante de triglicéridos como componente principal de los lípidos acumulados. Por otro lado, en el grupo control negativo, la banda lipídica es considerablemente menos intensa, lo que refleja una menor acumulación de triglicéridos, consistente con el metabolismo basal normal de las moscas no sometidas a estrés glucémico (Grifoni, 2018).

Los resultados obtenidos respaldan la validez del modelo de inducción de diabetes usando *Drosophila melanogaster* mediante una dieta rica en glucosa, al evidenciar alteraciones significativas tanto a nivel comportamental (motoras) como en los parámetros bioquímicos evaluados. Por lo tanto, se continuó con esta aproximación para evaluar los efectos antidiabéticos del extracto de *J. neotrópica*.

### 5.3.3 Tratamiento con el extracto más promisorio (*Juglans neotrópica*)

En la Figura 12 se presentan los resultados de la actividad exploratoria de *Drosophila* en los tres grupos experimentales, siendo control las moscas mantenidas en dieta estándar durante todo el ensayo, 2 el grupo sometido a la inducción de diabetes y luego sometido a dieta sin tratamiento, y finalmente 3 el grupo que tras la inducción de diabetes fue tratado con el extracto de *J. neotrópica* durante dos días a la concentración de 1000 ppm. Como en la fase preliminar, en el eje Y se representa el promedio de la cantidad de cuadros recorridos por los individuos (durante 1 minuto), indicando su movilidad y capacidad exploratoria.



**Figura 12.** Gráfico de boxplots de los resultados del análisis comportamental en los diferentes grupos de tratamiento.

Eje Y se representa el número de cuadros recorridos por las *D. melanogaster*, eje X grupos de tratamiento: (1) Control positivo; (2) Modelo de diabetes; (3) Tratamiento con *J. neotrópica* a 1000 ppm. Los datos no fueron normales por eso se hizo un Anova no paramétrico con test de Dun. El análisis se realizó utilizando el software GraphPad Prism 9. Las barras en el gráfico indican el error estándar de la media (SEM), y las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos están señaladas con asteriscos. NS: No hay diferencias significativas.

Como se observa en la figura 12, se mantuvo la tendencia observada en la fase de establecimiento del modelo de diabetes con diferencias significativas ( $p = 0,0001$ ) en la capacidad motora de las moscas mantenidas en el agar hipercalórico versus la dieta estándar. Sin embargo, tras el tratamiento con el extracto se observa una recuperación de la habilidad exploratoria de las *Drosophilas* con un aumento en el número de cuadros atravesados en el tiempo del ensayo, aproximadamente 35 en promedio. Estos resultados son un excelente punto de partida, puesto que al comparar con el grupo 2 que solo estuvo expuesto al agar de diabetes hay una mejora estadísticamente significativa ( $p = 0,0552$ ) en la habilidad motora. Lo cual se afianza al contrastar con el control del ensayo (moscas mantenidas bajo condiciones estándar) encontrando que el grupo de tratamiento con el extracto se asemeja más al control lo que indica una recuperación casi total de la capacidad exploratoria.

Los anteriores resultados indican que el extracto seleccionado por su potencial *in vitro* podría estar ejerciendo efectos terapéuticos en el modelo de diabetes en *Drosophila* modulando los efectos metabólicos y a su vez mejorando los efectos conductuales asociados a la diabetes tipo II. Lo anterior teniendo en cuenta que la disminución de la actividad locomotora en *D. melanogaster* en modelos de diabetes tipo II ha sido ampliamente documentada en la literatura como una manifestación fisiológica que refleja alteraciones en vías metabólicas y mecanismos celulares clave. Especialmente en la vía de la insulina, que es evolutivamente conservada entre moscas y mamíferos (Yadai Yu, 2018). De hecho se ha indicado que bajo condiciones de resistencia a la insulina, esta vía se ve comprometida, lo que reduce la capacidad de las células musculares para captar y utilizar glucosa, ocasionando un déficit energético en el tejido muscular afectando directamente la contractilidad y la función motora, lo que se manifiesta como una reducción significativa en la actividad locomotora (Klionsky, 2021).

Además de la disfunción de la señalización de la insulina, otros mecanismos metabólicos y hormonales pueden contribuir a la disminución en la movilidad. Por ejemplo, la alteración de la hormona adipocinética, que en *Drosophila* actúa de manera análoga al glucagón en mamíferos, desempeña un papel crítico en la movilización de reservas energéticas, especialmente en momentos de alta demanda. En estados de resistencia a la insulina, la regulación de esta hormona se ve afectada, lo que impide una movilización eficiente de lípidos y carbohidratos lo que resulta en una incapacidad para sostener la actividad física (Zeng, 2015).

Otro factor importante es la alteración en la señalización de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK), un sensor energético crítico, también contribuye a la disminución de la actividad locomotora. En un estado normal, la AMPK regula la homeostasis energética activando vías catabólicas para generar ATP y suprimen procesos anabólicos que consumen energía. Sin embargo, en la diabetes tipo II, la activación de esta proteína puede estar comprometida, lo que limita la capacidad del organismo para responder a déficits energéticos, afectando aún más la función muscular y locomotora (Zeng, 2015).

Estudios previos han demostrado que las *Drosophilas* sometidas a dietas hipercalóricas presentan una disminución persistente en su actividad locomotora durante al menos 10 días después de la última ingesta, lo que destaca el impacto prolongado de la resistencia a la insulina en el comportamiento motor. Este efecto, además de reflejar una alteración metabólica sistémica, subraya la relevancia del modelo de *Drosophila* para estudiar las consecuencias funcionales de la diabetes tipo II en etapas prolongadas de la vida (MacMillan, 2023).

Esta primera aproximación sugiere que el extracto de *J. neotropica* podría tener un efecto positivo en la regulación de vías metabólicas relacionadas con la diabetes, impactando directamente en la capacidad motora. Además, los resultados indican que el extracto posee cierto nivel de biodisponibilidad, permitiéndole alcanzar sus blancos y ejercer un efecto beneficioso. Estos hallazgos destacan el potencial del extracto como una herramienta prometedora para el tratamiento de alteraciones metabólicas asociadas con la diabetes tipo II pero se requiere estudiar más a profundidad sus efectos a nivel metabólico y celular. En este contexto, en este proyecto se realizó un estudio de algunos parámetros bioquímicos *ex vivo* usando extractos de los diferentes grupos de tratamiento y los resultados se describen a continuación.

### 5.3.3.1 Cuantificación de proteínas

La cuantificación de proteínas en los extractos de *D. melanogaster* mediante el método BCA mostró diferencias entre los tres grupos evaluados, en donde el grupo control (condiciones estándar) presentó el mayor contenido de proteínas totales con una concentración de  $545,12 \pm 13,47 \mu\text{g/mL}$  (Equivalentes BSA). Mientras que el grupo 2, moscas sometidas a la dieta alta en azúcar (32%), mostró una disminución de más de un 50% del total del contenido de proteínas respecto al control, con una concentración de  $209,25 \pm 20,03 \mu\text{g/mL}$ . Este resultado puede ser correlacionado con la disfunción metabólica asociada al estado diabético como se discutió previamente.

Sin embargo, para el grupo de moscas diabéticas posteriormente tratadas con el extracto de *J. neotropica* (1000 ppm), la concentración promedio de proteínas tuvo una mejora significativa en comparación con el estado diabético, alcanzado una concentración de  $446,04 \pm 9,48 \mu\text{g/mL}$ . Además en comparación con el grupo de control, si bien no lograron los mismos valores del contenido proteico se hace evidente que tras el tratamiento hay una mejora notable de parámetros bioquímicos claves. Además los anteriores resultados están en concordancia con lo observado en los estudios comportamentales respaldando que el extracto de *J. neotropica* puede tener un efecto significativo en la restauración del equilibrio bioquímico en el modelo de *Drosophila*.

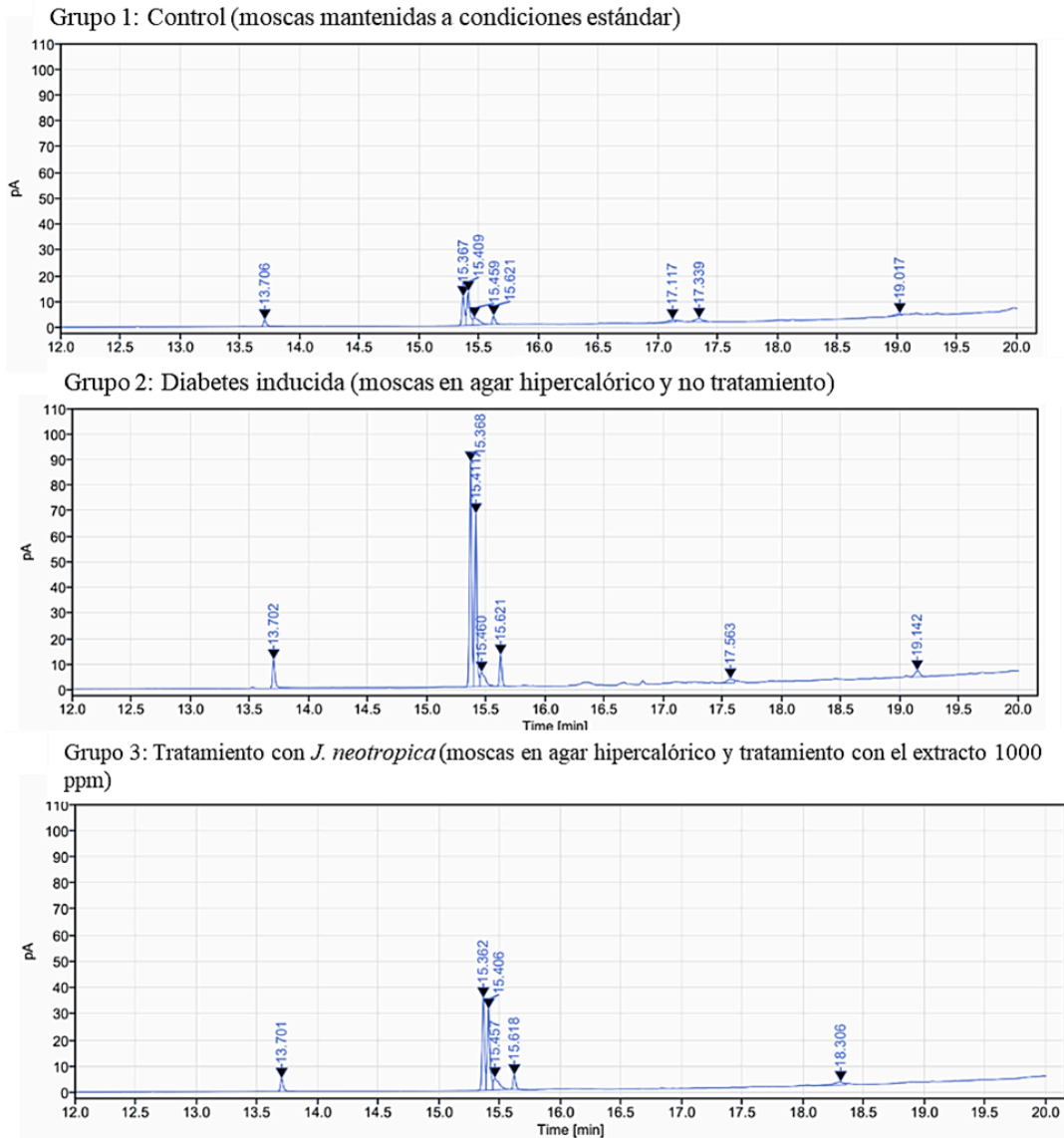
La reducción significativa en la cantidad de proteínas en las moscas diabéticas puede explicarse por la desregulación metabólica que acompaña a la resistencia a la insulina, característica de esta enfermedad. La literatura previa ha demostrado que, en estados diabéticos, la disfunción en la señalización de la vía mTOR, un regulador clave de la síntesis proteica, juega un papel central (Álvarez-Rendón, 2018). La inhibición de mTOR, causada por la resistencia a la insulina y la hiperglucemia, reduce la capacidad de las células para sintetizar proteínas, lo que coincide con los niveles disminuidos observados en el modelo de diabetes.

El tratamiento con *Juglans neotropica* mostró un efecto reparador significativo en las moscas diabéticas, con un aumento en la concentración de proteínas que representa una recuperación parcial hacia los niveles normales. Este resultado sugiere que los compuestos bioactivos presentes en el extracto, pudieron actuar en la regulación de los niveles de azúcares en las moscas modulando vías metabólicas clave, como por ejemplo reactivado la vía mTOR o estabilizado el equilibrio entre síntesis y degradación de proteínas, tal como se ha reportado en estudios previos. Estos resultados se complementaron con la detección y cuantificación de lípidos por medio de cromatografía de gases FID.

### 5.3.3.2 Cuantificación de Lípidos

El análisis cromatográfico de los ácidos grasos esterificados presentes en la fracción hexánica (F3) de los diferentes grupos de tratamiento permitió observar cambios en los perfiles lipídicos de forma semejante a lo encontrado en los análisis anteriores. En la Figura 13, se presentan los cromatogramas FID de la fracción lipídica esterificada para los tres grupos de tratamiento. De forma general, los tres cromatogramas no presentan grandes variaciones en el número de picos, los cuales corresponden a los ésteres metílicos de los ácidos grasos indicando que no hay gran variabilidad química en el modelo. Sin embargo, si se observan cambios importantes en las concentraciones representadas por el área bajo la curva de cada pico, principalmente para el grupo de moscas diabéticas (grupo 2) en comparación con los demás.

Inicialmente el grupo control negativo en la parte superior de la imagen, se observan aproximadamente 8 picos entre 13 y 19 minutos. De los cuales cinco fueron identificados por comparación con los patrones corresponden a el oleato de metilo (13,57%) y el linoleato de metilo (10,52%). equilibrado, con un área total significativamente menor de 160,60 unidades. Este perfil es característico de un estado metabólico saludable, donde los ácidos grasos no esterificados están adecuadamente regulados, favoreciendo la homeostasis lipídica.



**Figura 13.** Resultados del análisis de FAMES por CG-FID de los tres grupos de tratamiento en el modelo de diabetes en *D. melanogaster*.

En el grupo del modelo de diabetes, los niveles de ácidos grasos no esterificados fueron significativamente más elevados, con un área total cuantificada de 304,78 unidades. Este perfil es consistente con un estado de desregulación metabólica característico de la resistencia a la insulina y la acumulación de lípidos. Entre los ácidos grasos predominantes se identificaron el linoleato de metilo (26,74%) y el oleato de metilo (20,05%). La alta proporción de linoleato y oleato podría ser indicativa de una lipólisis aumentada, donde los triglicéridos almacenados en el cuerpo graso de *Drosophila melanogaster* se hidrolizan de manera descontrolada, liberando ácidos grasos al hemolinfa (Brands, 2021). Este perfil lipídico también podría indicar una posible alteración en la oxidación mitocondrial de ácidos grasos, lo que podría contribuir a la acumulación de especies lipídicas no esterificadas en el organismo (L Fisk, 2024).

En el grupo de moscas diabéticas tratadas con *Juglans neotropica*, se observó una reducción significativa en los niveles de ácidos grasos no esterificados en comparación con el grupo de diabetes, con un área total de 192,46 unidades. Este resultado representa una disminución intermedia entre el grupo diabético y el control negativo, indicando que el tratamiento contribuyó a la restauración parcial de la homeostasis lipídica. Los ácidos grasos más abundantes en este grupo incluyeron el linoleato de metilo (17,31%) y el oleato de metilo (16,95%). Aunque el linoleato y el oleato continuaron siendo

prominentes, su proporción disminuyó significativamente en comparación con el grupo diabético no tratado, lo que sugiere una modulación positiva del metabolismo lipídico inducida por el extracto de *J. neotropica*.

Las diferencias en el perfil lipídico de los grupos evaluados podrían correlacionarse con la desregulación de vías metabólicas de la diabetes tipo II. De hecho, diferentes estudios han reportado que los incrementos en los niveles de ácidos grasos son característicos de un estado de resistencia a la insulina. Dicho fenómeno está directamente relacionado con la inhibición de la señalización de la insulina, una vía metabólica crucial en la homeostasis energética (Álvarez-Rendón, 2018). En condiciones normales, la insulina facilita la captación de glucosa y regula el almacenamiento y movilización de lípidos en el cuerpo graso. Sin embargo, en estados de resistencia a la insulina, se produce una alteración en la lipólisis y una mayor acumulación de triglicéridos y ácidos grasos no esterificados en los tejidos (MacMillan, 2023), lo que está en concordancia con los resultados del presente estudio.

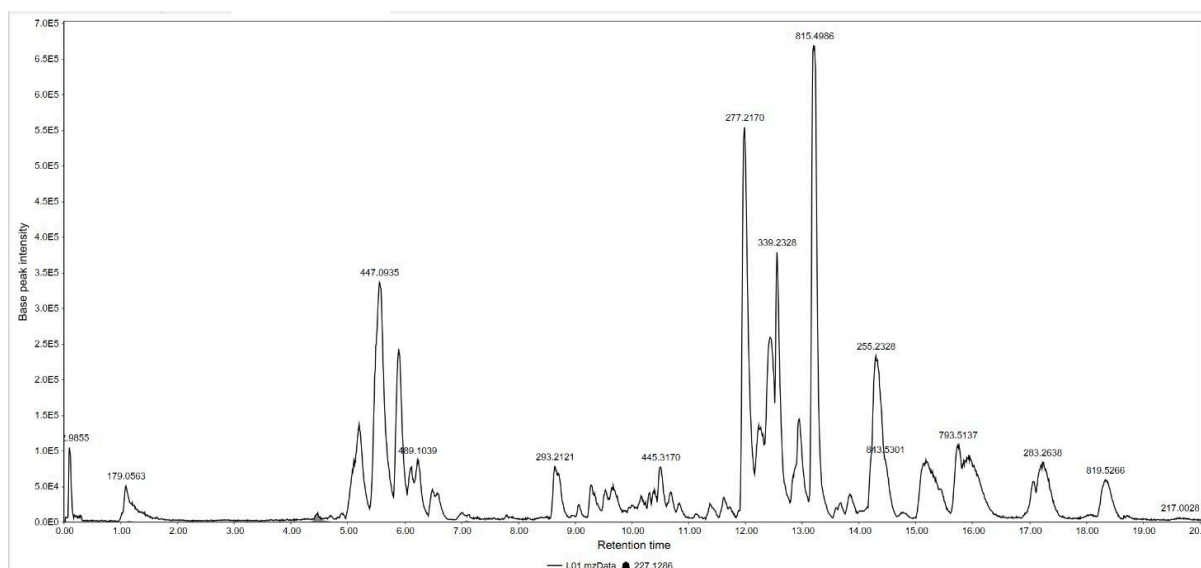
En *Drosophila*, la vía de la insulina interactúa directamente con otras rutas metabólicas afectadas en las moscas diabéticas, como la vía mTOR y la lipogénesis. La desregulación de mTOR, una quinasa clave en la síntesis de proteínas y lípidos, contribuye al desequilibrio en la acumulación y uso de lípidos (Moreno, 2016). Aunque mTOR regula la lipogénesis bajo condiciones normales, su función se ve alterada en la diabetes tipo II, reduciendo la síntesis lipídica eficiente pero favoreciendo una acumulación patológica de triglicéridos en los tejidos adiposos y el cuerpo graso (Wanli W. Smith, 2022). Esta acumulación usualmente puede ser mucho más grave al incrementar la actividad de enzimas lipogénicas, como la acetil-CoA carboxilasa (ACC) y la fatty acid synthase (FASN), relacionadas directamente con la síntesis de ácidos grasos a partir de intermediarios metabólicos como la acetil-CoA (Rendon, 2022). Los anteriores eventos pudieron ser responsables del notable incremento de los lípidos totales en el grupo diabético.

Además, la reducción significativa de los niveles de ácidos grasos no esterificados tras el tratamiento con *J. neotropica* respalda nuevamente los hallazgos a nivel comportamental y en el efecto sobre las proteínas, lo que afianza la hipótesis que el tratamiento puede tener una modulación positiva en el modelo de diabetes estudiado. Este efecto podría explicarse por la acción de compuestos bioactivos presentes en el extracto. Los flavonoides, por ejemplo, pueden inhibir enzimas lipogénicas como la ACC y la FASN, reduciendo la síntesis de lípidos y promoviendo un mayor equilibrio entre almacenamiento y movilización de lípidos (Baenas, 2022).

Los resultados del estudio comportamental y los análisis de parámetros bioquímicos *ex vivo* respaldan lo observado en la actividad *in vitro* del extracto de *J. neotropica*, proporcionando una base científica preliminar que sugiere su potencial antidiabético. Se recomienda realizar estudios complementarios para evaluar cambios en los niveles de azúcares y otros marcadores metabólicos que puedan reforzar estos hallazgos. Además, los datos obtenidos destacan la severa desregulación metabólica en moscas diabéticas lo que posiciona a *J. neotropica* como una intervención terapéutica prometedora en el manejo la diabetes tipo II, siendo un importante punto de partida para explorar el desarrollo de estrategias fitoterapéuticas basadas en este extracto.

#### **5.4 Hacer una aproximación de la composición química del extracto más promisorio por medio de un perfilado metabólico usando cromatografía líquida -acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (HPLC-HRMS/MS).**

En el análisis por HPLC-HRMS del extracto total de *J. neotropica* se evidenció la presencia de metabolitos de polaridad alta y media principalmente, con tiempos de retención (tr) de 5-8 y 12-14 min respectivamente. Para la anotación preliminar de los picos más relevantes en el extracto se realizó una dereplicación manual por medio de búsquedas en bases de datos y comparación de los resultados de los picos de ión molecular y patrones de fragmentación obtenidos en el análisis. Los resultados de esta aproximación llevaron a la anotación tentativa de 10 de los picos presentes en la muestra como se presenta en la tabla 8.



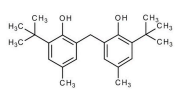
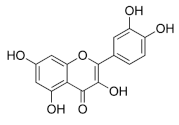
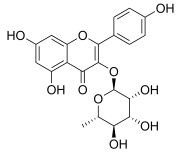
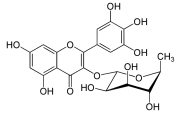
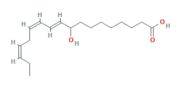
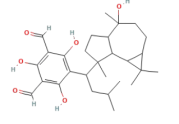
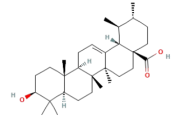
**Figura 14.** Cromatograma TIC del análisis por HPLC-HRMS (ESI-QTOF) del extracto etanólico de *Juglans neotropica*

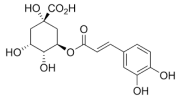
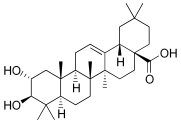
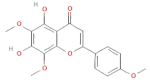
La Tabla 8 y figura 14 detallan los resultados obtenidos del análisis del extracto de *Juglans neotropica* utilizando cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (HPLC-HRMS). Este análisis permitió la anotación preliminar de una variedad de metabolitos secundarios como polifenoles, terpenos y flavonoides con posibles propiedades bioactivas. La tabla incluye datos esenciales como el nombre tentativo del compuesto, su tiempo de retención (en minutos), las masas exactas experimental y calculada (en unidades de masa atómica), y el error en partes por millón (ppm), junto con la fuente de referencia utilizada para la anotación. El error en ppm es un parámetro clave para evaluar la calidad y precisión del análisis de masas, así como la discrepancia entre la masa experimental obtenida por el espectrómetro y la masa teórica. Los errores inferiores a 5 ppm, como lo observado para todos los compuestos reportados en esta tabla 8, indican un nivel de precisión adecuado para análisis de masas respaldando las anotaciones de los metabolitos.

Entre los compuestos anotados, se observan flavonoides como la quercetina, la afzelia y la miricitrina, los cuales presentaron tiempos de retención de 5.53, 5.90 y 5.24 minutos, respectivamente, con errores en ppm que oscilan entre 2.82 y 3.00. Estos flavonoides son conocidos por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y, en algunos casos, antimicrobianas (Hansawasdi, 2019). Su identificación en *J. neotropica* es consistente con estudios previos realizados en otras especies del género *Juglans*, como *Juglans regia* y *Juglans nigra*, en las cuales también se ha reportado una abundancia de metabolitos secundarios bioactivos. La presencia de estos flavonoides en el extracto sugiere un potencial terapéutico significativo, lo que podría estar relacionado al potencial observado en nuestro estudio.

Además, el perfilado permitió la detección de triterpenos como el ácido ursólico y el ácido maslínico, con tiempos de retención de 12.75 y 10.63 minutos, respectivamente. Ambos compuestos son conocidos por sus propiedades farmacológicas, que incluyen actividades antiinflamatorias, hepatoprotectoras y anticancerígenas (Klionsky, 2021). El ácido ursólico, en particular, ha sido objeto de numerosos estudios debido a su versatilidad como agente bioactivo, mientras que el ácido maslínico ha mostrado efectos prometedores en la regulación de procesos metabólicos y en la inhibición del crecimiento de células tumorales, así como efectos antiinflamatorios, hepatoprotectores (Ortiz, 2021). La detección de estos compuestos en *J. neotropica* amplía el espectro de la posible correlación de los metabolitos bioactivos con el potencial antidiabesidad observado, por lo cual sería interesante continuar con los estudios químicos a fin de determinar los compuestos responsables de dicha actividad.

**Tabla 8.** Resultados de masa exacta y tiempo de retención de los metabolitos anotados mediante HPLC-ESI-QTOF en el extracto de *Juglans neotropica*

Nombre tentativo del compuesto	Estructura	Tiempo de retención (min)	m/z experimental	m/z Calculada	ppm (Error)	Fuente de anotación
2,2'-metilenbis (4-metil-6-terc-butilfenol)		12,54	339.23316	340,2	2,81	Bruker MetaboBASE Personal Library 3.0
Quercitrina		5,53	447.09282	448,4	2,92	MoNA-export-MassBank.msp
Afzelina		5,90	431.09900	432,4	3,00	MoNA-export-MassBank.msp
Miricitrina		5,24	463.08794	464,4	2,82	MoNA-export-MassBank.msp
9-HOTrE		8,68	293.21232	294,4	4,03	MassBankEurope_NIST.msp
2,4,6-trihydroxy-5-[1-(4-hydroxy-1,1,4,7-tetramethyl-1a,2,3,4a,5,6,7a,7b-octahydrocyclopropa[h]azulen-7-yl)-3-methylbutyl]benzene-1,3-dicarbaldehyde		9,69	471.27519	472,6	2,80	MoNA-export-GNPS.msp
Ácido ursólico		12,75	455.35251	456,7	2,95	Bruker Sumner MetaboBASE Plant

Ácido clorogénico		1,13	353.08751	354,31	3,45	MoNA-export-MassBank.msp
Ácido maslínico		10,63	471.34795	472,7	2,86	MassBankEurope_NIST.msp
Nevadensina		9,1	343,0826	344,3	3,53	Bruker Sumner MetaboBASE Plant Library - confirmed standards

De forma general los resultados del perfilado metabólico permitieron observar que los metabolitos anotados son predominantemente de tipo polifenólico, flavonoide y/o terpénico. Estos hallazgos son consistentes con estudios previos realizados en otras especies del género *Juglans*, como *Juglans regia* y *Juglans nigra*, donde se ha documentado la abundancia de metabolitos secundarios con propiedades bioactivas. La identificación de flavonoides como la quercetina y la afzelina en *J. neotropica* es particularmente relevante, ya que estos compuestos han sido asociados con diversas actividades biológicas, incluyendo propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. En estudios realizados con *Juglans regia*, se ha demostrado que los extractos ricos en flavonoides exhiben actividad antimicrobiana (Ponce, 2023).

Es importante destacar que, aunque existen estudios sobre las propiedades bioactivas de otras especies del género *Juglans*, la información específica sobre *Juglans neotropica* es limitada. Sin embargo, investigaciones preliminares han demostrado la actividad antifúngica de infusiones de *J. neotropica* contra *Candida albicans*, lo que respalda su uso tradicional en el tratamiento de infecciones (Chuquilin, 2017). Estos datos, junto con nuestros hallazgos, sugieren que *J. neotropica* posee un perfil fitoquímico valioso que merece ser explorado más a fondo para identificar y aislar compuestos con potencial aplicación farmacológica, además de la que se trató en el presente estudio.

## 6. Conclusiones

La evaluación del potencial antidiabético de las 30 plantas medicinales incluidas en este estudio permitió identificar extractos vegetales con actividad inhibitoria sobre las enzimas  $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática. Este hallazgo respalda la importancia de las plantas medicinales como una fuente significativa de compuestos bioactivos para el desarrollo de alternativas terapéuticas frente a la diabetes tipo II y la obesidad, condiciones de alta prevalencia y creciente impacto en la salud pública global. Los resultados *in vitro* mostraron que varias de las plantas estudiadas poseen propiedades relevantes para modular procesos metabólicos clave asociados a la regulación de la glucosa y los lípidos en el organismo. Estas observaciones refuerzan la validez del conocimiento etnobotánico acumulado y abren la puerta a investigaciones más profundas que exploren tanto el mecanismo de acción de los compuestos involucrados como su seguridad y eficacia en modelos más avanzados.

El análisis realizado destacó, entre las 30 especies, la relevancia de *Juglans neotropica* por su capacidad inhibitoria frente a las enzimas mencionadas, así como por sus efectos positivos en el modelo de *Drosophila melanogaster*. Este extracto mostró potencial para revertir alteraciones metabólicas inducidas por una dieta alta en glucosa, incluyendo la reducción de lípidos acumulados, mejora en la actividad locomotora y aumento de proteínas. El perfil metabólico preliminar del extracto permitió identificar la presencia de metabolitos secundarios que podrían estar relacionados

con su actividad, aunque los compuestos anotados no pueden ser asumidos como responsables definitivos de los efectos observados sin estudios adicionales que confirmen su participación. Este aspecto enfatiza la necesidad de integrar análisis químicos más detallados con estudios funcionales que determinen su papel en la regulación de los procesos metabólicos afectados en condiciones como la diabetes tipo II y la obesidad.

El primer objetivo específico del estudio consistió en obtener y seleccionar los extractos con mayor potencial antidiabético a través de un tamizaje *in vitro* frente a  $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática. Este tamizaje permitió determinar que varios extractos poseen una capacidad significativa para inhibir estas enzimas clave, lo que valida su uso tradicional en el tratamiento de afecciones metabólicas. Además, el análisis comparativo entre las especies seleccionadas ofreció una visión del potencial de cada extracto en la modulación de estas rutas metabólicas, sentando las bases para futuros estudios orientados al desarrollo de fitoterapéuticos. Los resultados obtenidos en esta etapa confirman la importancia de las plantas medicinales como una fuente prometedora de compuestos terapéuticos, y que también establecen una metodología replicable para la selección y priorización de extractos vegetales en investigaciones posteriores.

El segundo objetivo específico se centró en evaluar los efectos antidiabéticos del extracto más activo a nivel *in vitro* mediante ensayos *in vivo* utilizando el modelo de *Drosophila melanogaster*. Este organismo, ampliamente reconocido por su homología genética con los humanos y su capacidad para simular procesos metabólicos complejos, permitió evaluar de manera preliminar la eficacia y seguridad del extracto en un sistema biológico. Los ensayos realizados evidenciaron que el extracto seleccionado, correspondiente a *Juglans neotropica*, mostró una capacidad para mitigar los efectos adversos de una dieta rica en glucosa, incluyendo mejoras en la actividad locomotora, una reducción en los niveles de lípidos acumulados y un aumento de proteínas después de una dieta alta en azúcar. Estos resultados refuerzan el valor del extracto como una opción terapéutica potencial, aunque se requiere avanzar hacia modelos más complejos que permitan validar su aplicación en el tratamiento de enfermedades metabólicas en humanos.

El tercer objetivo específico se enfocó en realizar una aproximación a la composición química del extracto más activo mediante el uso de cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (HPLC-HRMS). Este análisis permitió la anotación preliminar de varios metabolitos secundarios presentes en el extracto de *Juglans neotropica*, entre los cuales se identificaron compuestos pertenecientes a las familias de flavonoides, ácidos fenólicos y terpenos, conocidas por su potencial actividad bioactiva en procesos metabólicos. La presencia de estos metabolitos refuerza la hipótesis de que podrían estar implicados en la actividad inhibitoria observada frente a enzimas clave como la  $\alpha$ -glucosidasa,  $\alpha$ -amilasa y lipasa pancreática. Sin embargo, la anotación de estos compuestos no permite asumir de manera definitiva su responsabilidad en los efectos farmacológicos observados, ya que no se realizaron estudios específicos que vinculen su estructura química con los mecanismos de acción involucrados. Este resultado subraya la importancia de continuar con investigaciones dirigidas a la purificación, identificación y validación funcional de estos metabolitos, incluyendo pruebas específicas que permitan esclarecer su rol en la modulación de las rutas metabólicas asociadas a la diabetes tipo II y la obesidad.

En conjunto, este estudio aporta evidencia sobre el potencial terapéutico de las plantas medicinales en el tratamiento de enfermedades metabólicas, resaltando la riqueza de la biodiversidad colombiana y la validez del conocimiento etnobotánico tradicional. La identificación de extractos con actividad antidiabética y la anotación inicial de sus componentes bioactivos constituyen un paso hacia el desarrollo de alternativas terapéuticas naturales, accesibles y efectivas. Asimismo, los resultados obtenidos fortalecen el puente entre la investigación científica básica y la medicina aplicada, respondiendo a la necesidad de explorar opciones innovadoras frente a problemas de salud pública como la diabetes tipo II y la obesidad.

## 7. Bibliografía

- Álvarez-Rendón, J. P. (2018). *Drosophila melanogaster as a Model for Diabetes Type 2 Progression*. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29854726/>
- Armstrong, A. (2020). *Drosophila melanogaster as a model for nutrient regulation of ovarian function*. Bioscientifica. <https://rep.bioscientifica.com/view/journals/rep/159/2/REP-18-0593.xml>
- Assefa, S. T. (2019). *Alpha Glucosidase Inhibitory Activities of Plants with Focus on Common Vegetables*. Alpha Glucosidase Inhibitory Activities of Plants with Focus on Common Vegetables. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7020213/>
- Aguilar. (2020). Production of chlorogenic acid and isoorientin hypoglycemic compounds in *Cecropia obtusifolia* calli and in cell suspension cultures with nitrate deficiency. SCIENSDIRECT. From <https://link.springer.com/article/10.1007/s11738-011-0830-9>
- Almaliti, J. A. (2024). Methods in marine natural product drug discovery: what's new? Expert opinion. From <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17460441.2023.2214360>
- Andrade. (2015). COMPOSICIÓN DE LOS ACEITES ESENCIALES DE LAS HOJAS DE CONYZA BONARIENSIS, GNAPHALIUM PELLITUM Y ACHYROCLINE SATUREIODES. From <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/20619/AndradeBarreiroWilliamAlejandro2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Baenas, N. (2022). *Drosophila melanogaster as a Model Organism for Obesity and Type-2 Diabetes Mellitus by Applying High-Sugar and High-Fat Diets*. MDPI. <https://www.mdpi.com/2218-273X/12/2/307>
- Brands, M. (2021). *Lipid Analysis by Gas Chromatography and Gas Chromatography-Mass Spectrometry*. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34047971/>
- Broughton, B. (2016). *Longer lifespan, altered metabolism, and stress resistance in Drosophila from ablation of cells making insulin-like ligands*. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15708981/>
- B. Dineshkumar. (2023). Antidiabetic and hypolipidemic effects of mahanimbine (carbazole alkaloid) from *murraya koenigii* (rutaceae) leaves. International Journal of Basic & Clinical. Retrieved From [https://www.researchgate.net/publication/242728189\\_Antidiabetic\\_and\\_hypolipidemic\\_effects\\_of\\_mahanimbine\\_carbazole\\_alkaloid\\_from\\_Murraya\\_koenigii\\_Rutaceae\\_Leaves](https://www.researchgate.net/publication/242728189_Antidiabetic_and_hypolipidemic_effects_of_mahanimbine_carbazole_alkaloid_from_Murraya_koenigii_Rutaceae_Leaves)
- Beatrice Mânica da Cruz, I. (2024). *Achyrocline satureioides* infusion, popularly prepared and consumed, has an in vitro protective effect on human neural cells exposed to rotenone. Elsevier. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874124006494>
- Beejmohun, V. B. (2014). Acute effect of Ceylon cinnamon extract on postprandial glycemia: alpha-amylase inhibition, starch tolerance test in rats, and randomized crossover clinical trial in healthy volunteers. From <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25249234/>
- Benavides, M. (2024). Los nuevos antidiabéticos orales para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. ELSEVIER. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-los-nuevos-antidiabeticos-ora-les-el-10022164>

- Bianchi. (2024). Semi-preparative isolation and purification of phenolic compounds from *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C. by high-performance counter-current chromatography. Wiley analytical science. <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pca.2803>
- Bo Ahren. (2009). Clinical results of treating type 2 diabetic patients with sitagliptin, vildagliptin or saxagliptin –diabetes control and potential adverse events. Sciencedirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1521690X09000220>
- Coral G, C. G. (2018). *Using Mouse and Drosophila Models to Investigate the Mechanistic Links between Diet, Obesity, Type II Diabetes, and Cancer*. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30567377/>
- Cortes, J. (2020). *Protein quantification by bicinchoninic acid (BCA) assay follows complex kinetics and can be performed at short incubation times*. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32800701/>
- Cotten, S. W. (2020). *Evaluation of exocrine pancreatic function*. Contemporary Practice in Clinical Chemistry (Fourth Edition). <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128154991000338>
- CARRETERO, M. (2024). Sitagliptina. Antidiabético oral. Elsevier. From <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-sitagliptina-antidiabetico-oral-13126079>
- Centro de información farmacoterapeutico. (2018). Exenatida.pdf. Sergas. <https://www.sergas.es/Asistencia-sanitaria/Documents/385/Exenatida.pdf>
- Cerf, M. E. (2013). Beta cell dysfunction and insulin resistance. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23542897/>
- Christensen, A. (2019). The Beta Cell in Type 2 Diabetes. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31399863/>
- Chunhong Shi. (2019). Efficacy and safety of sitagliptin added to metformin and insulin compared with voglibose in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. 2024, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31038562/>
- Cragg, G. M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17309302/>
- Demir. (2019). Inhibition effects of quinones on aldose reductase: Antidiabetic properties. Elsevier. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1382668919300626>
- Dewick, P. M. D. (2009). Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach (2nd ed.).
- Diego Barioni. (2012). *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. Hydroalcoholic Extract Inhibits Neutrophil Functions Related to Innate Host Defense. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3582058/>
- Fox, G. (2018). *Starch in Brewing Applications*. Science direct. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780081008683000160>
- Farmacéutica CIM del COFBI. (2024). Curso básico sobre diabetes. Tema 1. Clasificación, diagnóstico y complicaciones. ELSEVIER. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-curso-basico-sobre-diabetes-tema-X0213932416474630>

- Federación Colombiana de diabetes. (2020). FDC - Inicio. <https://www.fdc.org.co/site/index.html>
- Fernández. (2021). Antioxidant, Antidiabetic, and Antiobesity Properties, TC7-Cell Cytotoxicity and Uptake of Achyrocline satureioides (Marcela) Conventional and High Pressure-Assisted Extracts. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8073586/>
- Grifoni, D. (2018). *Drosophila melanogaster as a Model for Diabetes Type 2 Progression*. PubMed Central. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5941822/>
- Grifoni, D. (2018). *Drosophila melanogaster as a Model for Diabetes Type 2 Progression*. PubMed Central. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5941822/>
- Gao, B. (2022). Efficacy and safety of alogliptin versus acarbose in Chinese type 2 diabetes patients with high cardiovascular risk or coronary heart disease treated with aspirin and inadequately controlled with metformin monotherapy or drug-naïve: A multicentre ... PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35112779/>
- Garcia, G. (2020) Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus - PMC. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7503727/>
- Gong, D. (2016). Inhibitory mechanism of morin on  $\alpha$ -glucosidase and its anti-glycation properties. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27549567/>
- Hansawasdi, C. (2019). *Alpha-glucosidase inhibitory effect of mulberry (Morus alba) leaves on Caco-2*. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17071014/>
- Hanbing Li. (2017). Coumarins as potential antidiabetic agents. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28675434/>
- Harvey. (2015). The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25614221/>
- Heinrich, M. (2018). Ethnobotany and natural products: the search for new molecules, new treatments of old diseases or a better understanding of indigenous cultures? <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12570770/>
- Hui Cui. (2018). 3-Arylisindolinone and sesquiterpene derivatives from the mangrove endophytic fungi *Aspergillus versicolor* SYSU-SKS025. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0367326X17315253>
- Instituto Alexander von Humboldt. (2003). INFORME TÉCNICO. Repositorio Institucional de Documentación Científica del Instituto Humboldt. [http://repository.humboldt.org.co/bitstream/handle/20.500.11761/32544/informe\\_tecnico\\_medicinales.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repository.humboldt.org.co/bitstream/handle/20.500.11761/32544/informe_tecnico_medicinales.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Irache. (2008). Nanomedicina: nanopartículas con aplicaciones médicas. Nanomedicina: nanopartículas con aplicaciones médicas. [https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1137-66272008000100001&script=sci\\_arttext](https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S1137-66272008000100001&script=sci_arttext)
- Jeong Kim. (2014). Antioxidant effects of fermented red ginseng extracts in streptozotocin-induced diabetic rats. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23717054/>
- Jimenez. (2018). El papel de los productos naturales en el mercado farmacéutico actual. Divulgación de la química. Dialnet-ElPapelDeLosProductosNaturalesEnElMercadoFarmaceut-4335240.

- Kennish, J. M. (2015). *Gas chromatographic quantification of fatty acid methyl esters: flame ionization detection vs. electron impact mass spectrometry*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16028722/>
- Klionsky, D. J. (2021). *Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition)*. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15548627.2020.1797280>
- Kwak, S.-J. (2023). *Drosophila adiponectin receptor in insulin producing cells regulates glucose and lipid metabolism by controlling insulin secretion*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23874700/>
- Koning, (2024, March 5). Digitoxose. Sciencedirect. <https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/digitoxose>
- Kumar. (2014). Euphorbia hirta: Its chemistry, traditional and medicinal uses, and pharmacological activities. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3249903/>
- Kumar, A. (2010). Extraction and characterization of pectin from apple pomace and its evaluation as lipase (steapsin) inhibitor. Elsevier. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0144861710003760>
- L Fisk, H. (2024). *The Use of Gas Chromatography to Analyze Compositional Changes of Fatty Acids in Rat Liver*. PubMed. [https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4151317/#:~:text=Gas%20chromatography%20\(GC\)%20is%20a,high%20accuracy%20and%20high%20reproducibility.](https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4151317/#:~:text=Gas%20chromatography%20(GC)%20is%20a,high%20accuracy%20and%20high%20reproducibility.)
- Langová, L. (2023). Achyrocline satureioides Hydroalcoholic Extract as a Hypoallergenic Antimicrobial Substitute of Natural Origin for Commonly Used Preservatives in Cosmetic Emulsions. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37653944/>
- López, M. A. (2017). Inhibidores del cotransportador de sodio y glucosa tipo 2 (SGLT2), el riñón como objetivo en el control glucémico de la diabetes mellitus tipo 2. SciELO México. [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0186-48662017000300363](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-48662017000300363)
- Lunagariya. (2014). Inhibitors of pancreatic lipase: state of the art and clinical perspectives. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4464291/>
- Lunagariya, L. (2014). Inhibitors of pancreatic lipase: state of the art and clinical perspectives. NCBI. from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4464291/>
- Łysek, R. (2016). Search for alpha-glucosidase inhibitors: new N-substituted valienamine and conduramine F-1 derivatives. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16797996/>
- MacMillan, H. A. (2023). *A high-throughput method of hemolymph extraction from adult Drosophila without anesthesia*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24561358/>
- Miao, Y. (2022). *Drosophila melanogaster diabetes models and its usage in the research of anti-diabetes management with traditional Chinese medicines*. PubMed. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9403128/>
- Moelands, S. V. (2018). *Alpha-glucosidase inhibitors for prevention or delay of type 2 diabetes mellitus and its associated complications in people at increased risk of developing type 2 diabetes mellitus*. PubMed. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6517235/>
- Moreno, D. O.-M. (2016). *Crecimiento y Metabolismo: La regulación y la vía de la Insulina desde la Mosca de la Fruta, drosophila melanogaster*. SciELO México. Retrieved December 26, 2024, from [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-888X2016000200116&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-888X2016000200116&script=sci_arttext)

- Morris, C. (n.d.). *Morris SNS, Coogan C., Chamseddin K., et al. Desarrollo de resistencia a la insulina inducida por la dieta en Drosophila melanogaster adulta*. Pubmed. 2022;1822(8):1230–1237. doi: 10.1016/j.bbadis.2012.04.012.
- Musselman, L. P. (2021). *A high-sugar diet produces obesity and insulin resistance in wild-type Drosophila*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21719444/>
- Maite, A. (2021, April 19). Antioxidant, Antidiabetic, and Antiobesity Properties, TC7-Cell Cytotoxicity and Uptake of
- Manrique, C. (2016). APOPTOSIS DE LAS CÉLULAS BETA DEL PÁNCREAS DURANTE LA DIABETES DE TIPO 1. SciELO Colombia. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-00112006000300004](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112006000300004)
- Mata, C. (2024). Metformin and Type-2 Diabetes Mellitus. ELSEVIER. <https://www.elsevier.es/es-revista-atencion-primaria-27-articulo-metformina-diabetes-mellitus-tipo-2-1311663>
- McClatchey, M. (2009). Ethnobotany as a Pharmacological Research Tool and Recent Developments in CNS-active Natural Products from Ethnobotanical Sources. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2700180/>
- MEGRET, R. M. (2013). Achyrocline satureioides (Lam.) DC. (marcela) reduces brain damage in permanent focal ischemia in rats. SciELO Cuba. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962013000300011&script=sci\\_abstract](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962013000300011&script=sci_abstract)
- Nakamura, S. (2021). *Structure of a bacterial  $\alpha$ -1,2-glucosidase defines mechanisms of hydrolysis and substrate specificity in GH65 family hydrolases*. Journal of biological chemistry. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021925821011728>
- Neu, J. (n.d.). *Overview of Digestion and Absorption*. Gastroenterology and Nutrition: Neonatology Questions and Controversies (Second Edition). <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9781437726039000016>
- Nazzaro, F. (2023). Chemical Characterization of Different Extracts of Justicia secunda Vahl and Determination of Their Antioxidant, Anti-Enzymatic, Anti-Viral, and Cytotoxic Properties. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9952096/>
- Newman, D. (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32162523/>
- Newman, D. J. (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32162523/>
- Oboh, G. (2011). Soybean phenolic-rich extracts inhibit key-enzymes linked to type 2 diabetes ( $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase) and hypertension (angiotensin I converting enzyme) in vitro. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22005499/>
- Okajima, F. O. (2020). Efficacy and Safety of Miglitol- or Repaglinide-Based Combination Therapy with Alogliptin for Drug-Naïve Patients with Type 2 Diabetes: An Open-Label, Single-Center, Parallel, Randomized Controlled Pilot Study. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32475902/>
- OMS. (2021). Informe mundial de la diabetes. OMS. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Park, S. (n.d.). *A genetic strategy to measure circulating Drosophila insulin reveals genes regulating insulin production and secretion*. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25101872/>

- Palanisamy. (2019). Testing edible mushrooms to inhibit the pancreatic lipase activity by an in vitro digestion mode. IFST. <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2621.2011.02934.x>
- Palazzolo, A. M. E. (2017). The natural productome. Wikipedia. Retrieved April 8, 2024, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28533417/>
- Payan, F. (2014). Structural basis for the inhibition of mammalian and insect alpha-amylases by plant protein inhibitors. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14871658/>
- Peréz. (2010). Inhibidores del cotransportador sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2): de la glucosuria renal familiar al tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. Nefrología. <https://www.revistanefrologia.com/es-inhibidores-del-cotransportador-sodio-glucosa-tipo-articulo-X0211699510050989>
- Proença, C. (2017).  $\alpha$ -Glucosidase inhibition by flavonoids: an in vitro and in silico structure-activity relationship study. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28933564/>
- Qiu, P. (2019). Secondary Metabolites with  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activity from the Mangrove Fungus *Mycosphaerella* sp. SYSU-DZG01. MDPI. <https://www.mdpi.com/1660-3397/17/8/483>
- Reiter, L.T. (2021). *A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in Drosophila melanogaster*. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11381037/>
- Rendon, J. P. Á.-R. (2022). *Drosophila melanogaster as a Model for Diabetes Type 2 Progression*. <https://semanticscholar.org/paper/Drosophila-melanogaster-as-a-Model-for-Diabetes-2-%C3%81lvarez-Rend%C3%B3n-Salceda/c2bd48615091d7403bbc09176a8b8bd3e9671853>. <https://semanticscholar.org/paper/Drosophila-melanogaster-as-a-Model-for-Diabetes-2-%C3%81lvarez-Rend%C3%B3n-Salceda/c2bd48615091d7403bbc09176a8b8bd3e9671853>
- Retta. (2012). Determinación de calidad de “marcela” *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Asteraceae). Parámetros Fitoquímicos. Dominguezia. <https://www.dominguezia.org/volumen/articulos/3021.pdf>
- Rios. (2018). Etnobotánica de los recursos vegetales, sus formas de uso y manejo, en Bustamante, Nuevo León. SciELO México. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remcf/v8n44/2007-1132-remcf-8-44-00089.pdf>
- Rios, J. (2016). Productos naturales para el tratamiento de la diabetes (II): Ensayos clínicos. Notables de la Ciencia. [https://notablesdelaciencia.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/48927/CONICET\\_DigitaNr\\_o.a742fd2e-b620-4dd4-bde6-9462884b09b6\\_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://notablesdelaciencia.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/48927/CONICET_DigitaNr_o.a742fd2e-b620-4dd4-bde6-9462884b09b6_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
- Rodelo, C. (2015). Mecanismos Moleculares de la Resistencia a la Insulina: Una Actualización. [www.anmm.org.mx](http://www.anmm.org.mx). [https://www.anmm.org.mx/GMM/2017/n2/GMM\\_153\\_2017\\_2\\_214-228.pdf](https://www.anmm.org.mx/GMM/2017/n2/GMM_153_2017_2_214-228.pdf)
- Rubino, R. (2022). Effect of Weekly Subcutaneous Semaglutide vs Daily Liraglutide on Body Weight in Adults With Overweight or Obesity Without Diabetes: The STEP 8 Randomized Clinical Trial. PubMed. from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35015037/>
- Søndergaard. (2023). *Homology between the mammalian liver and the Drosophila fat body*. Pub med. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8337758/>
- Saber ULA. (2019). Composición química del aceite esencial de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC de los Andes Venezolanos. Saber ULA. from

<http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/44161/articulo4.pdf?sequence=1&isAlloved=y>

- Saenz. (2015). Metformina para la diabetes mellitus tipo 2. Revisión sistemática y metaanálisis. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7684484/>
- Salgueiro, A. (2016). In vitro and in silico antioxidant and toxicological activities of Achyrocline satureioides. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27575777/>
- Sara Elis Bianchi. (2023). Achyrocline satureioides review: From the pharmaco chemical diversity to the technological development of products. Science direct. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0367326X23001120>
- Sastre. (2024). Fisiología de la secreción pancreática. ELSEVIER. <https://www.elsevier.es/es-revista-gastroenterologia-hepatologia-14-articulo-fisiologia-secrecionpancreatica-13071380>
- Shulman, G. (2016). The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4701542/>
- Stumvoll, M. (2015). Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. PubMed. from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15823385/>
- Surendiran. (2014). Influence of CYP2C9 gene polymorphisms on response to glibenclamide in type 2 diabetes mellitus patients. European Journal of Clinical Pharmacology. <https://link.springer.com/article/10.1007/s00228-011-1013-8>
- Tang, W. W. C. (2018). *A Unique Gene Regulatory Network Resets the Human Germline Epigenome for Development*. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26046444/>
- Teleman, A. A. (2020). *Molecular mechanisms of metabolic regulation by insulin in Drosophila*. BIOCHEMICAL JOURNAL. <https://portlandpress.com/biochemj/article-abstract/425/1/13/45375/Molecular-mechanisms-of-metabolic-regulation-by>
- Trindade, M. T. d. P. (2016). *High-Fat Diet Induces Oxidative Stress and MPK2 and HSP83 Gene Expression in Drosophila melanogaster*. Pubmed. <https://www.semanticscholar.org/paper/High-Fat-Diet-Induces-Oxidative-Stress-and-MPK2-and-Paula-Silva/23e524aa771e7e9dd9cd89f1eb8916d2f391d51f>
- Trinh, I. (2019). *An in vivo screen for neuronal genes involved in obesity identifies Diacylglycerol kinase as a regulator of insulin secretion*. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30389349/>
- Trinh, I. T. (2023). *Modeling Obesity and Its Associated Disorders in Drosophila*. Pubmed. <https://journals.physiology.org/doi/full/10.1152/physiol.00025.2012>
- Tiwari, P. (2014). Phytochemical and pharmacological properties of *Gymnema sylvestre*: an important medicinal plant. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24511547/>
- Ugur. (2016). *Drosophila tools and assays for the study of human diseases*. PubMed. Retrieved December 26, 2024, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26935102/>
- Umezawa, K. (2015). Antidiabetic effect of orally administered conophylline-containing plant extract on streptozotocin-treated and Goto-Kakizaki rats. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19217246/>
- Varman, S. (2016, January 4). *The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux*. PubMed. from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26727229/>

- Vangoori, Y., & Anusha, D. (2019). Prominent Pancreatic Lipase Inhibition and Free Radical Scavenging Activity of a Myristica fragrans Ethanolic Extract in vitro. Potential Role in Obesity Treatment. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6861708/>
- VANINI. (2014). plantas medicinales para pacientes oncológicos y familiares en un centro de radioterapia. Scielo. [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1695-61412011000100006](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1695-61412011000100006)
- Villarruel, A. V. (2018). Effect of Moringa oleifera consumption on diabetic rats. NCBI. from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5894151/>
- Von Kempelen, W. (2011). Potential of Sorbus berry extracts for management of type 2 diabetes: Metabolomic Investigation of 1H NMR spectra,  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities, and in vivo anti-hyperglycaemic activity of S. norvegica. PUBMED. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31283956/>
- Wanli W. Smith, W. W. S. (2022). *From fat fruit fly to human obesity*. Sciencedirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031938414000341>
- Worthman, G. M. R. (2020). *Comparative genomics of the eukaryotes*. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10731134/>
- Xuli Wu. (2014). Acteoside: A lipase inhibitor from the Chinese tea Ligustrum purpurascens kudingcha. Elsevier. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814613010005>
- Yadai Yu, C. (2018). *Effect and mechanism of aerial parts of Salvia miltiorrhiza effective constituents on glycolipid metabolism of high sugar-induced Drosophila melanogaster metabolic disorder model*. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29728041/>
- Yan, Y. M. (2020). *Identification of bioactive compounds that contribute to the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of rosemary*. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32037413/>
- Yuan. (2024). *Chronic trans fatty acid consumption shortens lifespan in male Drosophila melanogaster on a high-sugar and high-fat diet*. Pubmed. <https://www.semanticscholar.org/paper/Chronic-trans-fatty-acid-consumption-shortens-in-on-Yuan-Luo/d0acb5b73dce9328a98d7879148e226e0347bebe>
- Zaguri, M. (2021). *Protein quantification in ecological studies: A literature review and empirical comparisons of standard methodologies*. <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/2041-210X.13601>. <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/2041-210X.13601>
- Zeng, Q. (2015). *Proteomic analysis of individual fruit fly hemolymph*. Pubmed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25596379/>

## Anexos

### Anexo 1

**Tabla 9.** Resultados del tamizaje de inhibición de  $\alpha$ -glucosidasa a 500 y 50 ppm

		[50 ppm]	[500 ppm]
#	Nombre científico	Promedio	Promedio

		% Inhibición $\pm$ SD	% Inhibición $\pm$ SD
1	<i>Marrubium vulgare</i>	23,19 $\pm$ 0,72	45,15 $\pm$ 0,63
2	<i>Hymenaea courbaril</i>	15,33 $\pm$ 0,86	44,84 $\pm$ 0,85
3	<i>Petroselinum crispum</i>	6,36 $\pm$ 0,61	16,31 $\pm$ 0,81
4	<i>Lantana camara</i>	20,84 $\pm$ 0,51	31,68 $\pm$ 0,42
5	<i>Manilkara zapota</i>	99,29 $\pm$ 0,39	99,48 $\pm$ 0,68
6	<i>Ambrosia peruviana</i>	17,71 $\pm$ 0,22	85,34 $\pm$ 0,41
7	<i>Bauhinia sp.</i>	21,25 $\pm$ 0,36	97,65 $\pm$ 0,23
8	<i>Juglans neotropica</i>	98,02 $\pm$ 0,35	99,86 $\pm$ 0,20
9	<i>Melicoccus bijugatus</i>	43,30 $\pm$ 0,72	92,54 $\pm$ 9,01
10	<i>Smallanthus sonchifolius</i>	14,26 $\pm$ 0,32	54,81 $\pm$ 0,47
11	<i>Equisetum bogotense</i>	24,05 $\pm$ 0,99	83,93 $\pm$ 0,81
12	<i>Sambucus nigra</i>	24,58 $\pm$ 0,68	42,38 $\pm$ 0,52
13	<i>Achyrocline satureioides</i>	34,60 $\pm$ 0,69	73,84 $\pm$ 0,35
14	<i>Myrcia fallax</i>	98,37 $\pm$ 0,38	97,83 $\pm$ 0,33
15	<i>Desmodium adscendens</i>	26,66 $\pm$ 0,89	44,22 $\pm$ 0,62
16	<i>Rosmarinus officinalis</i>	87,72 $\pm$ 0,69	96,22 $\pm$ 0,71
17	<i>Morus alba</i>	82,84 $\pm$ 0,23	96,92 $\pm$ 0,67
18	<i>Bixa orellana</i>	19,53 $\pm$ 0,59	49,35 $\pm$ 3,69
19	<i>Abelmoschus moschatus</i>	29,49 $\pm$ 0,23	64,86 $\pm$ 0,65
20	<i>Gunnera antioquiensis</i>	44,79 $\pm$ 0,80	98,30 $\pm$ 0,32
21	<i>Eryngium foetidum</i>	18,58 $\pm$ 0,49	34,25 $\pm$ 0,58
22	<i>Brassica oleracea</i>	18,23 $\pm$ 0,67	27,29 $\pm$ 0,59
23	<i>Verbena litoralis</i>	21,98 $\pm$ 0,47	34,24 $\pm$ 0,86
24	<i>Gomphrena globosa</i>	28,00 $\pm$ 0,51	90,85 $\pm$ 0,31
25	<i>Eucalyptus globulus</i>	99,30 $\pm$ 0,77	99,23 $\pm$ 0,48
26	<i>Laurus nobilis</i>	69,96 $\pm$ 0,21	97,57 $\pm$ 0,71
27	<i>Tradescantia zebrina</i>	29,67 $\pm$ 0,32	65,17 $\pm$ 0,36
28	<i>Neurolaena lobata</i>	24,87 $\pm$ 2,79	35,89 $\pm$ 0,87
29	<i>Opuntia ficus-indica</i>	20,69 $\pm$ 0,65	36,42 $\pm$ 0,46
30	<i>Petiveria alliacea</i>	17,25 $\pm$ 0,47	22,99 $\pm$ 0,31
	Acarbosa (Inhibidor del mercado)	12,51 $\pm$ 0,25	15,21 $\pm$ 20

## Anexo 2.

**Tabla 10.** Resultados del tamizaje de inhibición de  $\alpha$ -amilasa a 500 y 50 ppm

		50 ppm	500 ppm
#	Nombre científico	Promedio % Inhibición $\pm$ SD	Promedio % Inhibición $\pm$ SD
1	<i>Marrubium vulgare</i>	61,81 $\pm$ 0,59	97,80 $\pm$ 0,86
2	<i>Hymenaea courbaril</i>	72,00 $\pm$ 0,96	97,52 $\pm$ 1,32

3	<i>Petroselinum crispum</i>	71,18 ± 0,49	96,36 ± 0,65
4	<i>Lantana camara</i>	71,61 ± 0,45	97,61 ± 0,76
5	<i>Manilkara zapota</i>	71,38 ± 0,93	95,84 ± 0,77
6	<i>Ambrosia peruviana</i>	67,64 ± 0,78	98,11 ± 0,79
7	<i>Bauhinia sp.</i>	70,97 ± 0,68	95,03 ± 1,35
8	<i>Juglans neotropica</i>	80,56 ± 0,80	97,98 ± 0,77
9	<i>Melicoccus bijugatus</i>	68,91 ± 0,59	95,38 ± 0,89
10	<i>Smallanthus sonchifolius</i>	69,66 ± 0,47	97,71 ± 0,56
11	<i>Equisetum bogotense</i>	51,21 ± 2,21	94,93 ± 0,49
12	<i>Sambucus nigra</i>	48,20 ± 0,26	51,95 ± 0,21
13	<i>Achyrocline satureioides</i>	76,65 ± 0,48	91,69 ± 0,18
14	<i>Myrcia fallax</i>	87,79 ± 0,24	90,43 ± 0,47
15	<i>Desmodium adscendens</i>	94,73 ± 0,42	99,33 ± 0,30
16	<i>Rosmarinus officinalis</i>	96,48 ± 0,45	97,57 ± 0,76
17	<i>Morus alba</i>	96,59 ± 0,57	98,74 ± 0,57
18	<i>Bixa orellana</i>	90,62 ± 0,50	94,68 ± 0,59
19	<i>Abelmoschus moschatus</i>	80,32 ± 0,73	85,38 ± 0,58
20	<i>Gunnera antioquiensis</i>	79,92 ± 0,43	95,05 ± 0,36
21	<i>Eryngium foetidum</i>	74,43 ± 1,44	81,05 ± 0,49
22	<i>Brassica oleracea</i>	60,96 ± 0,62	80,27 ± 0,53
23	<i>Verbena litoralis</i>	73,53 ± 0,45	90,37 ± 0,24
24	<i>Gomphrena globosa</i>	83,30 ± 8,14	89,01 ± 0,44
25	<i>Eucalyptus globulus</i>	88,97 ± 0,41	88,54 ± 0,36
26	<i>Laurus nobilis</i>	87,11 ± 0,87	88,62 ± 0,13
27	<i>Tradescantia zebrina</i>	89,06 ± 0,66	90,79 ± 0,23
28	<i>Neurolaena lobata</i>	87,50 ± 0,32	92,69 ± 0,71
29	<i>Opuntia ficus-indica</i>	84,64 ± 1,25	98,12 ± 0,84
30	<i>Petiveria alliacea</i>	80,21 ± 0,33	89,92 ± 0,74
	Acarbosa (Inhibidor del mercado)	21,71 ± 0,01	25,20 ± 0,17

### Anexo 3

**Tabla 11.** Porcentajes de inhibición de lipasa pancreática de ensayo two point.

#	Especie	50 ppm	500 ppm
		Promedio % Inhibición ± SD	Promedio % Inhibición ± SD
5	<i>Manilkara zapota</i>	27,55 ± 0,61	21,52 ± 0,35
6	<i>Ambrosia peruviana</i>	15,36 ± 0,50	46,51 ± 0,31
7	<i>Bauhinia sp.</i>	11,55 ± 0,47	21,30 ± 0,25
8	<i>Juglans neotropica</i>	50,61 ± 0,14	10,54 ± 0,30
9	<i>Melicoccus bijugatus</i>	18,67 ± 0,16	44,71 ± 0,19

14	<i>Myrcia fallax</i>	12,53 ± 0,20	38,59 ± 0,39
15	<i>Desmodium adscendens</i>	39,78 ± 0,99	43,61 ± 0,33
16	<i>Rosmarinus officinalis</i>	13,47 ± 0,60	39,69 ± 0,22
17	<i>Morus alba</i>	10,33 ± 0,35	40,57 ± 0,27
18	<i>Bixa orellana</i>	12,16 ± 0,16	36,37 ± 0,36
20	<i>Gunnera antioquiensis</i>	14,09 ± 0,11	20,12 ± 0,10
24	<i>Gomphrena globosa</i>	11,68 ± 0,46	12,93 ± 0,25
25	<i>Eucalyptus globulus</i>	17,56 ± 0,06	17,39 ± 0,72
27	<i>Tradescantia zebrina</i>	31,25 ± 0,34	34,44 ± 0,40

#### Anexo 4.

**Tabla 12.** Matriz detallada de puntajes para selección del extracto más promisorio

Nombre científico	IC <sub>50</sub> Glucosidasa	IC <sub>50</sub> Amilasa	Reportes químicos	Reportes <i>In vivo</i>	Compuestos activo	Reportes glucosidasa	Reportes en amilasa	Reportes en lipasa	Promedio
<i>Juglans neotropica</i>	0	0,5	0	0	0	0,3	0,3	0	0,138
<i>Tradescantia zebrina</i>	0,4	0	0,8	0	0	0	0	0	0,150
<i>Gunnera brephogea</i>	1	0,3	0	0	0	0	0	0	0,163
<i>Melicoccus bijugatus</i>	1	0,3	0,3	0,3	0	0	0	0	0,238
<i>Ambrosia peruviana</i>	1	2	0	0	0	0	0	0	0,375
<i>Bidens pilosa</i>	2	0	1	0	0	0	0	0	0,375
<i>Manilkara zapota</i>	0	0,3	1	1	0,5	0,8	0	0	0,450
<i>Myrcia fallax</i>	0	2	0,8	0	0,5	0,3	0,3	0	}
<i>Sempervivum</i>	0,5	2	1	0	0	0	0	0,8	0,538
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,1	0	1	1	0,8	1	0,3	0,3	0,563
<i>Bauhinia variegata</i>	0,5	0,2	1	0,3	0	1	1	0,8	0,600
<i>Bixa orellana</i>	0	2	1	0	0,8	0,8	1	0,3	0,738
<i>Morus alba</i>	0	0	1	1	1	1	1	1	0,750
<i>Eucalyptus globulus</i>	0	2	1	1	0,3	0,8	1	1	0,888

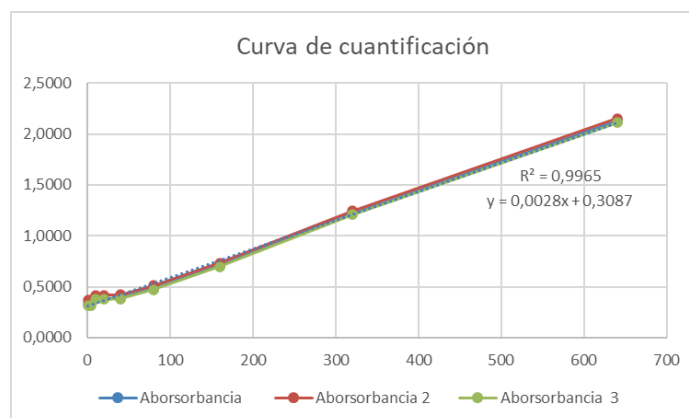
**Tabla 13.** Criterios para la asignación de puntajes para la matriz detallada para la selección del extracto más promisorio

IC <sub>50</sub> Glucosidasa		IC <sub>50</sub> Amilasa	
Puntaje	Criterio	Puntaje	Criterio
0-0.2	1-30 ppm	0-0.2	1-30 ppm
0.3-0,5	31-60 ppm	0.3-0,5	31-60 ppm
0.6-0.8	61-90 ppm	0.6-0.8	61-90 ppm
0.9-1	mayores a 91 ppm	0.9-1	mayores a 91 ppm

**Tabla 14.** Criterios para la asignación de puntajes para la matriz detallada para la selección del extracto más promisorio

Reportes químicos		Reportes <i>In vivo</i>		Reportes <i>Principio activo</i>		Reportes <i>galactosidasa/ lipasa/ amilasa</i>	
Puntaje	Criterio	Puntaje	Criterio	Puntaje	Criterio	Puntaje	Criterio
0-0.2	0 reportes	0-0.2	0 reportes	0-0.2	0 reportes	0-0.2	0 reportes
0.3-0,5	1 reporte/ familia	0.3-0,5	1 reporte/ familia	0.3-0,5	1 reporte/ familia	0.3-0,5	1 reporte/ familia
0.6-0.8	2 reportes	0.6-0.8	2 reportes	0.6-0.8	2 reportes	0.6-0.8	2 reportes
0.9-1	más de 2 reportes	0.9-1	más de 2 reportes	0.9-1	más de 2 reportes	0.9-1	más de 2 reportes

## Anexo 5



**Figura 15.** Curva de calibración para cuantificación de proteínas de *Drosophila melanogaster* por BCA.