



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

Investigación fitofarmacológica preliminar del huazontle (*Chenopodium
berlandieri subsp. nuttalliae*)

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA

EFRAÍN ALEJANDRO PÉREZ MORENO



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX. NOVIEMBRE DE 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

- PRESIDENTE:** Dra. Rachel Mata Essayag
- VOCAL:** Dr. José Pedraza Chaverri
- SECRETARIO:** Dra. Berenice Ovalle Magallanes
- 1er SUPLENTE:** Dr. Mario Alberto Figueroa Saldívar
- 2DO SUPLENTE:** Dra. Ruth Ivonne Téllez Ballesteros

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio 111, Edificio E, Departamento de Farmacia
Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México

TUTORA

Dra. Berenice Ovalle Magallanes

SUSTENTANTE

Efraín Alejandro Pérez Moreno

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por darme las facilidades para llevar a cabo mis estudios de licenciatura.

A las instancias de la UNAM que financiaron estas investigaciones: Dirección General de Asuntos Académicos (DGAPA) con el proyecto PAPIIT-IA205621 y a la Facultad de Química con el proyecto PAIP 5000-9184.

A mi tutora, la Dra. Berenice Ovalle Magallanes por su asesoría en este trabajo.

A la Dra. Rachel Mata Essayag y al Dr. José Pedraza Chaverri por sus correcciones y comentarios al documento de tesis.

Al Dr. José Pedraza Chaverri y al M. en C. Omar Noel Medina Campos del departamento de Biología de la Facultad de Química de la UNAM por todas facilidades brindadas para la realización de los ensayos basados en células hepáticas y musculares.

Al Dr. Manuel Rangel Grimaldo por su colaboración en los ensayos de inhibición de enzimas α -glucosidasas y PTP1B.

A las M. en C. Rosa Isela del Villar Morales y Nayeli López Balbiaux, a la Q. Marisela Gutiérrez Franco, y a la M. en C. Jessica Amacosta Castillo, Técnicos Académicos de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria (USAII) de la Facultad de Química de la UNAM, por el registro de los espectros de resonancia magnética nuclear, infrarrojo, y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, respectivamente.

A la M.V.Z. Lucía Macías Rosales, Técnico Académico de la Unidad de Experimentación Animal (UNEXA) de la Facultad de Química de la UNAM por el apoyo brindado en la realización de los experimentos con animales.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A Berenice Ovalle, por hacer todo en sus manos para hacer mis sueños realidad y su profesionalismo. Por su mentoría, su ejemplo y su conocimiento que guardaré para siempre.

A la Dra. Rachel Mata y el Dr. José Pedraza, por brindar su apoyo y espacios para mi crecimiento profesional. Al Dr. Ruy Pérez M. por darme la confianza y la oportunidad de aprender en su laboratorio, a Nalleli Cabrera y nuevamente a Bere por ser mis maestras.

A mis compañeras del laboratorio 124 que me ayudaron cuando fue necesario y a Alberto por su apoyo personal y ayuda en el desarrollo de este trabajo.

A mis profesores en la Facultad de Química porque dan mucho por su trabajo, agradezco su conocimiento, sus consejos y su amistad. A mis profesores de toda la vida, de la iglesia y al personal de la Secundaria Técnica 29, porque todos ellos me brindaron todas mis buenas aptitudes.

A Arturo, Edwin, Álvaro y Getsemaní, por su techo, por su apoyo cuando lo necesitaba. A Aranza por los pescaditos. A David por las tortas. A Carla por el apoyo. A sus familias por ser una petición cumplida. A Regina, Rosario, Karla y mis colegas QFB que me facilitaron mi paso por la facultad. A todos mis amigos que me dejaron buenos recuerdos y experiencias que durarán para siempre. Es un privilegio conocer gente exitosa alrededor del mundo.

Al Pbro. Salomón García y a Verónica Montoya, a toda mi familia del Monte de los olivos, a Mario, Jazmín y Raquel, a la ICB de Barcelona, a todos los que me permiten hallar casa en todo el mundo.

A mi abuela Victoria por su apoyo, y a mis familiares. A las vecinas de mi calle, a Itzel y toda la gente que en Chihuahua siempre pregunta por mí y me saluda con gusto. A Flor que siempre está para mí y recordarme lo que quiero ser, a Christian y Abigail que siempre me escuchan, a todos mis hermanos, a Blanca, Patty y Christian por acompañarme a crecer, a todos los que en la distancia están conmigo. A mi tío Ever y a mi tía Rosy, porque me alegra haber sido su sobrino.

A mis padres Leo y Efraín, porque es un privilegio ser su hijo, por acompañarme a hacer nuestros sueños realidad.

Antes de perderme ya me habías encontrado,
Antes de existir yo ya era tuyo.

Índice

RESUMEN	XIII
1. ANTECEDENTES	1
1.1. LOS QUELITES: PLANTAS SUBVALORADAS Y SUBUTILIZADAS	1
1.2. EL HUAZONTLE	2
1.2.1. Generalidades botánicas	2
1.2.2. Fitoquímica del huazontle	4
1.3. LAS ALTERACIONES METABÓLICAS COMO AMENAZA PARA LA SALUD	6
1.3.1. Homeostasis de la glucosa	7
1.3.2. Secreción y efectos sistémicos de la insulina	11
1.3.3. Resistencia a la insulina y patologías asociadas	14
1.4. TRATAMIENTO ANTIDIABÉTICO	15
1.5. INVESTIGACIÓN FITOFARMACOLÓGICA DE ETSS	18
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
3. HIPÓTESIS	21
4. OBJETIVOS	21
4.1. OBJETIVO GENERAL	21
4.2. OBJETIVOS PARTICULARES	21
5. DESARROLLO EXPERIMENTAL	23
5.1. MATERIAL VEGETAL Y PREPARACIÓN DE EXTRACTOS	23
5.2. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO	24
5.3. MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS Y ESPECTROMÉTRICOS	24
5.4. FRACCIONAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN PRELIMINAR DEL EXTRACTO ORGÁNICO TOTAL (CH ₃)	25
5.5. EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA	26
5.5.1. Ensayos in vivo	26
5.5.1.1. Pruebas de tolerancia a carbohidratos orales	26
5.5.2. Ensayos in vitro en enzimas aisladas	27
5.5.2.1. Ensayos de inhibición de la enzima α -glucosidasa	27
5.5.2.2. Ensayos de inhibición de la PTP1B	28
5.5.3. Ensayos in vitro basados en células	28
5.5.3.1. Determinación del potencial citotóxico	29
5.5.3.2. Ensayo de captación de glucosa en hepatocitos HepG2 y en miocitos C2C12	29

5.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	30
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
6.1. INOCUIDAD	32
6.2. EVALUACIÓN DE MECANISMOS DE REGULACIÓN DE LA GLUCEMIA	34
6.2.1. Eficacia antihiper glucémica: mecanismos de inhibición de enzimas α -glucosidasas	34
6.2.2. Eficacia antihiper glucémica: mecanismos insulíntrópicos	37
6.2.2.1. Prueba de tolerancia a la glucosa	37
6.2.2.2. Ensayos de captación de glucosa en modelos basados en células	39
6.3. ESTUDIO QUÍMICO	44
7. CONCLUSIONES	60
8. PERSPECTIVAS	61
9. REFERENCIAS.	62

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Significado
ABC	Área bajo la curva
ABTS	Sal de amonio 2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolina 6-sulfónico)
ACA	Acarbosa
AcOEt	Acetato de etilo
AKT/PKB	Proteína cinasa B
AMPK	Proteína cinasa activada por adenosín monofosfato
ANADEVA	Análisis de varianza
ATP	Adenosín trifosfato
CCA	Cromatografía en columna abierta
CCF	Cromatografía en capa fina
CG	Cromatografía de gases
CH	Extracto acuoso por decocción de huazontle
CH1	Fracción de diclorometano de la decocción de huazontle
CH2	Fracción de acetato de etilo de la decocción de huazontle
CH3	Extracto de diclorometano-metanol 1:1 de huzontle
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución
DCB	Extracto acuoso de las inflorescencias del huazontle
DHA	Ácido dehidroascórbico
DM	Diabetes mellitus
DMT1/DMT2	Diabetes mellitus tipo 1/tipo 2
DPP-4	Dipeptidilpeptidasa 4

DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidracil
DMEM	Medio Eagle modificado de Dulbecco
DMSO	Dimetilsulfóxido
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EEM	Error estándar de la media
EM o MS	Espectrometría de masas
ETSS	Especies tradicionales subvaloradas y subutilizadas
FBS	Suero fetal bovino
GLP-1	Péptido similar al glucagón 1
GLUT	Transportador de glucosa
GYS	Enzima glucógeno sintasa
HS	Suero de caballo
INS	Insulina
IR	Receptor de insulina
IR	Espectroscopía de Infrarrojo
IRS	Sustratos del receptor de insulina
K_{ATP}	Canales de potasio sensibles a ATP
LDH	Enzima lactato deshidrogenasa
MeOH	Metanol
MTF	Metformina
OGTT	Prueba de tolerancia a la glucosa oral
OMS	Organización Mundial de la Salud
OSTT	Prueba de tolerancia a la sacarosa oral
PBS	Disolución amortiguadora de fosfatos

PI3K	Fosfatidilinositol-3-cinasa
<i>p</i> -NPG	<i>p</i> -nitrofenol- β -D-glucopiranosido
PPAR	Receptor activado por proliferadores de peroxisomas
PTK	Proteínas Tirosina cinasa
PTP1B	Proteína tirosina fosfatasa 1B
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
SGLT	Cotransportador de sodio y glucosa
Shc	Proteínas con dominios homólogos de Src
STZ	Estreptozotocina
VEH	Vehículo

Índice de Tablas y Esquemas

Tabla 1. Saponinas identificadas en las semillas de <i>Chenopodium berlandieri</i> spp	5
Tabla 2. Fármacos usados en la terapia antidiabética	17
Tabla 3. Ensayos de inhibición sobre enzimas α -glucosidasas	36
Tabla 4. Inhibición <i>in vitro</i> de la enzima PTP1B	38
Esquema 1. Separación de los componentes de CH3	25

Índice de Figuras

Figura 1. El huazontle.	3
Figura 2. Metabolitos secundarios identificados en inflorescencias de <i>C. berlandieri subsp. nutalliae</i>	4
Figura 3. Regulación de la glucemia por el glucagón y la insulina	8
Figura 4. Enzimas que participan en la digestión y absorción de los carbohidratos.	9
Figura 5. Movilización de la glucosa según el estado fisiológico	10
Figura 6. Transporte de glucosa por los transportadores SGLT	11
Figura 7. Secreción de insulina por efecto de la estimulación por glucosa	12
Figura 8. Efectos post-receptor de la insulina	13
Figura 9. Determinación del potencial citotóxico mediante la liberación de LDH.	33
Figura 10. Tolerancia a la sacarosa oral de la decocción de las inflorescencias de huazontle (DCB) en ratones normoglucémicos.	35
Figura 11. Tolerancia a la glucosa oral de la decocción de las inflorescencias de huazontle (DCB) en ratones normoglucémicos.	37
Figura 12. Tolerancia a la glucosa oral de la decocción de las inflorescencias de huazontle (DCB) en ratones hiperglucémicos.	38
Figura 13. Porcentaje de captura de 2-NBDG en hepatocitos HepG2.	41
Figura 14. Porcentaje de captura de 2-NBDG en miocitos C2C12.	43
Figura 15. Espectro IR del sólido obtenido de la fracción XI.	44
Figura 16. Cromatograma iónico total de la fracción XI.	45
Figura 17. Espectro de masas del 1-heptacosanol (16)	46
Figura 18. Espectro ¹ H-RMN de fracción XI en CH ₃ Cl- <i>d</i> (400 MHz).	47
Figura 19. Espectro ¹³ C-RMN de fracción XI en CH ₃ Cl- <i>d</i> (400 MHz).	48
Figura 20. Espectro IR del sólido obtenido de la fracción XII _{12D} .	49
Figura 21. Cromatograma iónico total de la fracción XII _{12D} .	50
Figura 22. Espectros de masas de los componentes de la fracción XII-12D.	51
Figura 23. Espectro ¹ H-RMN de fracción XII _{12D} en CH ₃ Cl- <i>d</i> (400 MHz).	53
Figura 24. Espectro ¹³ C-RMN de fracción XII _{12D} en CH ₃ Cl- <i>d</i> (400 MHz).	54
Figura 25. Cromatograma iónico total de la fracción XII _{13A} .	55
Figura 26. Espectros de masas de los componentes de la fracción XII _{13A} .	55
Figura 27. Espectro ¹ H-RMN de la fracción XII _{13A} en CH ₃ Cl- <i>d</i> (400 MHz).	57

Figura 28. Espectro ^{13}C -RMN de fracción XII_{13A} en $\text{CH}_3\text{Cl-}d$ (400 MHz).

58

Resumen

El huazontle, *Chenopodium berlandieri ssp. nutalliae* (Saff) H. D. Wilson & Heiser, es un quelite ampliamente consumido como alimento en el centro y sur de México. A pesar de ser un alimento muy popular, hay muy pocos estudios que describan su contenido químico y su valor medicinal, por eso se considera como una especie de uso tradicional subvalorada y subutilizada. Este trabajo de investigación consistió en el establecimiento de la eficacia hipoglucemiante y de la inocuidad de las inflorescencias del huazontle en modelos *in vivo* e *in vitro*. De forma paralela se realizó el estudio de la composición química de la planta mediante análisis cromatográficos, espectrométricos y espectroscópicos, con la finalidad de explicar su efecto farmacológico y contribuir al conocimiento fitoquímico de la especie.

La administración aguda de la decocción de las inflorescencias a ratones en dosis entre 31.6 y 316 mg/kg no produjo efectos tóxicos perceptibles ni provocó la muerte, de modo que se consideró inocua en ratones. Por otra parte, las fracciones derivadas de la decocción de diclorometano (CH1) y de acetato de etilo (CH2) mostraron indicios de citotoxicidad en células hepáticas humanas y musculares de ratón a concentraciones variadas (superiores a 56.2 µg/mL), la cual se asoció a daño membranal usando un ensayo de liberación de la enzima lactato deshidrogenasa. Un extracto orgánico total de diclorometano-metanol 1:1 (CH3) resultó ser menos tóxico para las células (concentraciones superiores a 316 µg/mL). La eficacia antihiperglucémica de la decocción se evaluó en varios experimentos *in vitro* e *in vivo*. Los resultados de una prueba de tolerancia a la sacarosa oral en ratones normoglucémicos y los de ensayos de inhibición de enzimas α -glucosidasas de levadura y de raspado intestinal de rata, indicaron que la decocción del huazontle contiene principios activos que previenen la hidrólisis de carbohidratos complejos a nivel intestinal, pero que dicha actividad es moderada. La decocción resultó ser antihiperglucémica en ratones normoglucémicos e hiperglucémicos en una prueba de tolerancia a la glucosa, lo cual dio permiso sugerir que el huazontle posea mecanismos sensibilizantes a la insulina. Esta propuesta se reforzó porque distintos preparados de la especie inhibieron a la proteína tirosina fosfatasa 1B, e incrementaron la captación de glucosa en células hepáticas HepG2 y musculares C2C12 con y sin insulinoresistencia. Las acciones farmacológicas observadas para la especie dieron pauta al estudio químico del extracto orgánico total, cuyos efectos se atribuyeron a la identificación de heptacosanol (**16**) y los esteroides bioactivos estigmaterol (**17**), β -sitosterol (**18**), (3 β , 5 α)-estigmast-7-en-3-ol (**20**), y condriasterol (**21**) cuyos efectos en modelos similares han sido descritos en la literatura y son de amplio interés comercial y en investigación.

Finalmente, la polivalencia farmacológica del huazontle demostrada en esta investigación permite asignarle valor agregado a esta especie vegetal, pues tiene potencial para modular los mecanismos homeostáticos de la glucosa durante los estados previos y de progresión de la prediabetes y el cuadro clínico que acompaña a la obesidad y la diabetes.

1. Antecedentes

1.1. Los quelites: plantas subvaloradas y subutilizadas

La Organización Mundial de la Salud, a través del documento “Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023”, propone el estudio científico de las plantas medicinales de uso tradicional, ya que reconoce la relevancia histórica, cultural, y económica que tiene su consumo. Este documento pretende fortalecer la seguridad, calidad y eficacia de productos herbolarios e integrar la medicina tradicional a los sistemas de salud, aplicando para ello metodologías científicas de las áreas químico biológicas y analíticas (OMS, 2013).

Sin embargo, en la flora mundial también existen otras especies vegetales con potencial terapéutico que no son plantas medicinales, sino alimentos, y dentro de éstos, no son de los más populares. Se trata de las denominadas “especies de uso tradicional subvaloradas y subutilizadas (ETSS)”, plantas que en su conjunto comparten características de cultivo, uso tradicional y alto valor nutrimental, que no son apreciadas por productores o consumidores (Gálvez & Peña, 2015). En México existen más de un centenar de estas ETSS, y que, aunque están descritos sus aportes a nivel nutricional, carecen de estudios encaminados a establecer su composición e identidad químicas, o su potencial aplicación para prevenir, retrasar o tratar patologías. Esta falta de información se debe a que la mayoría de las ETSS son ignoradas por quienes elaboran políticas públicas en materia de salud, y son excluidas de las agendas de investigación y desarrollo por considerarlas como recursos irrelevantes en términos medicinales. Los quelites cumplen con los criterios para ser clasificados como ETSS, dado que en ciertas etapas de la historia de México fungieron como alimentos principales y actualmente su consumo y sistema de producción está relegado a comunidades rurales y marginadas (Linares Mazari & Bye, 2015).

Los quelites son definidos como plantas cuyas hojas, tallos e inflorescencias inmaduras son consumidos como verdura. En náhuatl, *quilitl* es el término que designa a las hierbas comestibles y tiene equivalentes en otras lenguas indígenas, como *guilibá* en rarámuri, *kaka* en totonaco, *yube* en mixteco, o *boh itah* en tzeltal. La diversidad de quelites comercializados es muy amplia, y aunque tienen un valor cultural muy importante, pocos tienen valor económico y agrícola, ya que el cultivo de la mayoría de los quelites se

circunscribe a comunidades donde la agricultura es familiar y de subsistencia, o como producto secundario del cultivo en la milpa. Sin embargo, otros quelites son fáciles de encontrar en los mercados y restaurantes de ciertas regiones, los cuales se consumen crudos, hervidos, fritos, al vapor o asados; inclusive, pueden ser empleados como condimentos. Algunos de los quelites más conocidos son el pápaloquelite (*Porophyllum ruderale ssp. macrocephalum*), el romerito (*Suaeda nigra*), el quelite cenizo (*Chenopodium berlandieri subsp. berlandieri*), el epazote (*Dysphania ambrosioides*), la chaya (*Cnidoscolus aconitifolius*), los chepiles (*Crotalaria spp.*), las verdolagas (*Portulaca oleracea*), los quintoniles (*Amaranthus spp.*), el cilantro (*Coriandrum sativum*), el alache (*Anoda cristata*) y el huazontle (*Chenopodium berlandieri ssp. nutalliae*) (Castro et al., 2011; Linares Mazari & Bye, 2015).

1.2. El huazontle

1.2.1. Generalidades botánicas

Chenopodium berlandieri ssp. nutalliae (Saff.) H. D. Wilson & Heiser, conocida comúnmente como huazontle o huazontle (**Figura 1A**), es una especie nativa de México, del género *Chenopodium*, que incluye más de 200 especies, distribuidas en Europa, Asia y América, y al cual pertenece la quinoa *Chenopodium quinoa* (Nedialkov, Kokanova- Nedialkova, Nedialkov, & Nikolov, 2009). Se trata de una planta herbácea anual de 30 cm a 2 m de alto; con un peciolo de hasta de 13.5 cm de largo, con láminas foliares de hasta de 15 cm de largo y 8.5 cm de ancho, y con las semillas de color anaranjado a rojo (Rzedowski, 2001), que se distribuye ampliamente desde Canadá hasta Guatemala (**Figura 1B**). En el país se encuentra en los estados de Baja California, Campeche, Chihuahua, Ciudad de México, Durango, Nuevo León, Oaxaca, Sonora y Veracruz. Este huazontle es un cultígeno, junto con el quelite cenizo, domesticados a partir de *C. berlandieri* (Palomino, Hernández, & De La CruzTorres, 2008).

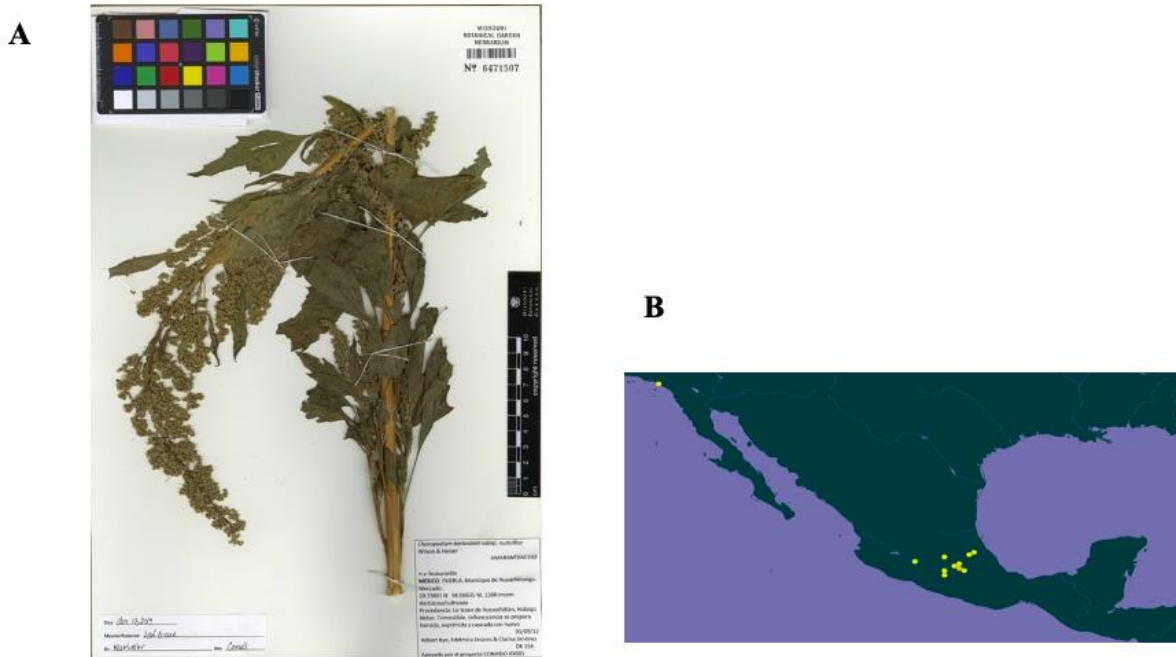


Figura 1. El huazontle

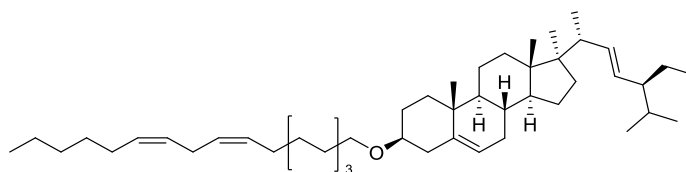
Panel A. Ejemplar de herbario de *C. berlandieri* subsp. *nuttalliae* (tomado de Tropicos ©).

Panel B. Distribución geográfica de *C. berlandieri* subsp. *nuttalliae* (tomado de Global Biodiversity Information Facility).

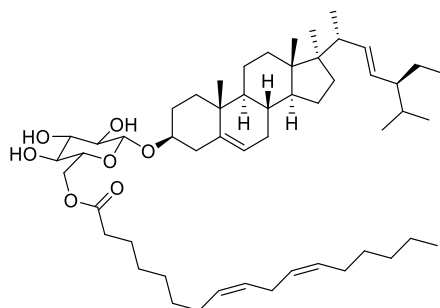
Esta especie tuvo un importante rol como cultivo alimenticio durante el periodo prehispánico. Existen registros sobre el pago de impuestos al gobierno central azteca de un pseudocereal conocido como *huauthli*, el huazontle, el cual, además de poseer un gran valor nutricional, también desempeñó un importante papel en la actividad religiosa, incluyendo los sacrificios humanos ceremoniales. El uso de este cultivo fue suprimido por los españoles durante la colonia y su empleo fue remplazado en medida por pastos domesticados (Wilson, Heiser, & Heiser, 2012). Hoy en día se cultiva en el Valle de México y en otras regiones del país, siendo apreciada por sus inflorescencias comestibles, las cuales se consumen generalmente fritas después de hervirlas en agua (Rzedowski, 2001).

1.2.2. Fitoquímica del huazontle

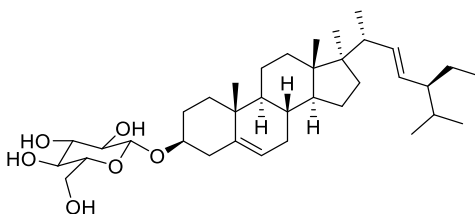
Las investigaciones fitoquímicas del género *Chenopodium* han permitido el aislamiento de distintos tipos de metabolitos secundarios, destacándose los compuestos fenólicos, terpenoides, esteroides y saponinas (Nedialkov et al., 2009). En un estudio previo, a partir de un extracto clorofórmico de las inflorescencias del *C. berlandieri subsp. nutalliae*, Gutiérrez-Martínez (1992) aisló ésteres de sitosterol (**1**, **2**), glucósido de sitosterol (**3**), y mezclas de ácidos grasos y alcoholes lineales saturados (**Figura 2**).



(1) Éster de sitosterol presente en mezcla



(2) 6'-octadecadienoil- β -D-glucopiranosido de β -sitosterol



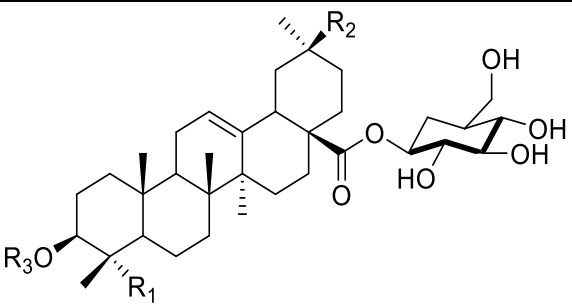
(3) Glucósido de β -sitosterol

Figura 2. Metabolitos secundarios identificados en inflorescencias de *C. berlandieri subsp. nutalliae*

Hay otros informes de la composición química de las semillas de una especie de nombre común huazontle, aunque no se especifica si se trata de *C. berlandieri subsp. nutalliae*. Barrón-Yañez y colaboradores (2009), describieron el contenido total de saponinas (no

identificadas) en *C. nuttalliae* después de una hidrólisis ácida, encontrando un valor de 5280.57 y 2873.23 mg/100 g de materia seca para las semillas y el germinado (Barrón-Yáñez, Villanueva-Verduzco, García-Mateos, & Colinas-León, 2009). Posteriormente, Lazo-Vélez y colaboradores (2016), identificaron las saponinas presentes en las semillas crudas y germinadas de *C. berlandieri* spp. mediante cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (CLAR-EM). La **Tabla 1** presenta los compuestos identificados en las semillas (Lazo-Vélez et al., 2016).

Tabla 1. Saponinas identificadas en las semillas de *Chenopodium berlandieri* spp

	
Ácido oleanólico ($R_1 = R_2 = \text{CH}_3$)	
4	3 β -O-[α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil éster
5	3 β -O-[β -D-hexosa-(1 \rightarrow 3)- β -D-hexosa], 28-O- β -D-glucopiranosil éster
6	3 β -O-[β -D-glucopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil éster
7	3 β -O-[β -D-xilopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil éster
Hederagenina ($R_1 = \text{CH}_2\text{OH}$, $R_2 = \text{CH}_3$)	
8	3 β -O-[β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)- α -L-galactopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil éster
9	3 β -O-[β -D-xilopiranosil-(1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil éster
10	3 β -O-[β -D-hexosa], 28-O- β -D-glucopiranosil éster
Ácido fitolaccagénico ($R_1 = \text{CH}_2\text{OH}$, $R_2 = \text{COOCH}_3$)	
11	28,30-ácido dicarboxílico, 30-metil éster, 3 β -O-[β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)- β -D-galactopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil éster
12	28,30-ácido dicarboxílico, 30-metil éster, 3 β -O-[β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)- β -D-arabinopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil éster
Ácido serjánico ($R_1 = \text{CH}_3$, $R_2 = \text{COOCH}_3$)	
13	28,30-ácido dicarboxílico, 30-metil éster, 3 β -O-[β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil éster
14	28,30-ácido dicarboxílico, 30-metil éster, 3 β -O-[α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil éster
15	28,30-ácido dicarboxílico, 30-metil éster, 3 β -O-[β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)- α -L-arabinopiranosil], 28-O- β -D-glucopiranosil éster

De forma adicional a estos estudios fitoquímicos, Chaires-Martínez y colaboradores (2013), determinaron el contenido total de fenoles y flavonoides, y la capacidad antioxidante de las semillas de huazontle (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*) crudas, germinadas, reventadas y cocinadas, empleando diferentes disolventes para la extracción. Los resultados indican que el contenido de fenoles variaba en las muestras entre 3010 y 710 µg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de muestra seca, mientras que el contenido de flavonoides fue desde 10 a 620 µg eq. de quercetina/g de peso seco. La actividad antioxidante fue evaluada mediante los métodos con 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH) y sal de amonio 2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS). Con el método DPPH se alcanzaron valores mayores al 95.41%, mientras que con el método ABTS, los valores más altos registrados fueron de 2640 mM eq. Trolox/kg de muestra (Martinez, Vargas, Del Angel, Bermudez, & Avalos, 2013). Por otra parte, Santiago-Saenz y colaboradores (2018) caracterizaron a *C. berlandieri* en términos fisicoquímicos y nutrimentales. A partir de esta investigación encontraron un valor para el contenido total de fenoles de 10.24 mg EAG/g de peso seco, para el contenido total de flavonoides un valor de 17.57 mg eq. de quercetina/g de peso seco y para los carotenoides 1.34 mg/g de peso seco (Santiago-Saenz, Hernández-Fuentes, Monroy-Torres, Cariño-Cortés, & Jiménez-Alvarado, 2018). En síntesis, las semillas y germinados del huazontle representan una buena fuente de fenoles con actividad antioxidante, la cual es de utilidad para retrasar el envejecimiento y el avance de enfermedades con una gran carga oxidante, como lo es la diabetes mellitus.

1.3. Las alteraciones metabólicas como amenaza para la salud

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es una condición crónica que se caracteriza resistencia a la insulina e hiperglucemia. La insulina es una hormona esencial con efectos directos en el metabolismo energético y del de proteínas y lípidos; el déficit en la función de la insulina está relacionado con muchas causas de daño en el organismo que comprometen la supervivencia, llevando a varias complicaciones sistémicas y a la discapacidad (Cho, Kirigia, Ogurstova, & Reja, 2021). La gravedad de las complicaciones de la diabetes es tal que en México representó la tercera causa de muerte durante el año 2020, aún en el marco de la

pandemia de COVID-19 (primera causa de muerte), y sólo por debajo de las enfermedades cardiovasculares (INEGI, 2021).

Desde finales del siglo XX y a principios del siglo XXI, las sociedades del mundo experimentaron cambios tecnológicos y económicos que impactaron la forma y la calidad de vida. Las mejoras en la medicina y las condiciones laborales de los países en desarrollo, como México, permitieron el aumento en la esperanza de vida, lo que a su vez se tradujo en el envejecimiento de las sociedades. Por su parte, la industrialización contribuyó a la sobreoferta de productos alimenticios de fácil acceso que poseen altas cantidades de sal, grasas y azúcares. La urbanización generó centros poblacionales con alta incidencia de enfermedades metabólicas relacionadas con el sedentarismo y la dieta hipercalórica, como son la obesidad, las dislipidemias, el hígado graso no alcohólico, y la DMT2 (Deng, Wang, & Yuan, 2020). Para analizar los factores que contribuyen al desarrollo de DMT2 asociados a la dieta se revisarán brevemente los aspectos más importantes de la homeostasis de la glucosa.

1.3.1. Homeostasis de la glucosa

La glucosa es el compuesto central del metabolismo energético. Los carbohidratos complejos, proteínas y lípidos pueden descomponerse formando como productos finales sustratos que alimentan las vías del metabolismo de la glucosa. Además de su función energética, la glucosa y otros azúcares tienen roles en la señalización celular, la regulación génica y como precursores estructurales del glucógeno, los ácidos nucleicos, glicolípidos y glicoproteínas. La oxidación celular de la glucosa tiene como producto final la síntesis de ATP que es el intermediario energético de mayor importancia para el crecimiento y la proliferación celular, la comunicación nerviosa, el transporte membranal de nutrientes y desechos (Nakrani MN, Wineland RH, 2022).

El nivel de la glucosa en la sangre está regulado en un intervalo estrecho de concentración entre 4 y 6 mM (72 y 108 mg/dL) que depende del balance entre la absorción y generación de glucosa por parte del organismo, y aquellos mecanismos existentes para movilizarla de la sangre hacia los tejidos periféricos, en particular la secreción de insulina

por las células β pancreáticas. La glucosa de la sangre proviene principalmente de la dieta, además de la liberación de glucosa a partir de la glucogenólisis en el hígado y la síntesis de glucosa por la gluconeogénesis (Röder, Wu, Liu, & Han, 2016). La **Figura 3** muestra cómo las hormonas pancreáticas glucagón e insulina regulan la glucemia. La primera, es una hormona secretada por las células α pancreáticas con funciones hiperglucémicas; la segunda, es una hormona hipoglucemiante secretada por las células β pancreáticas.

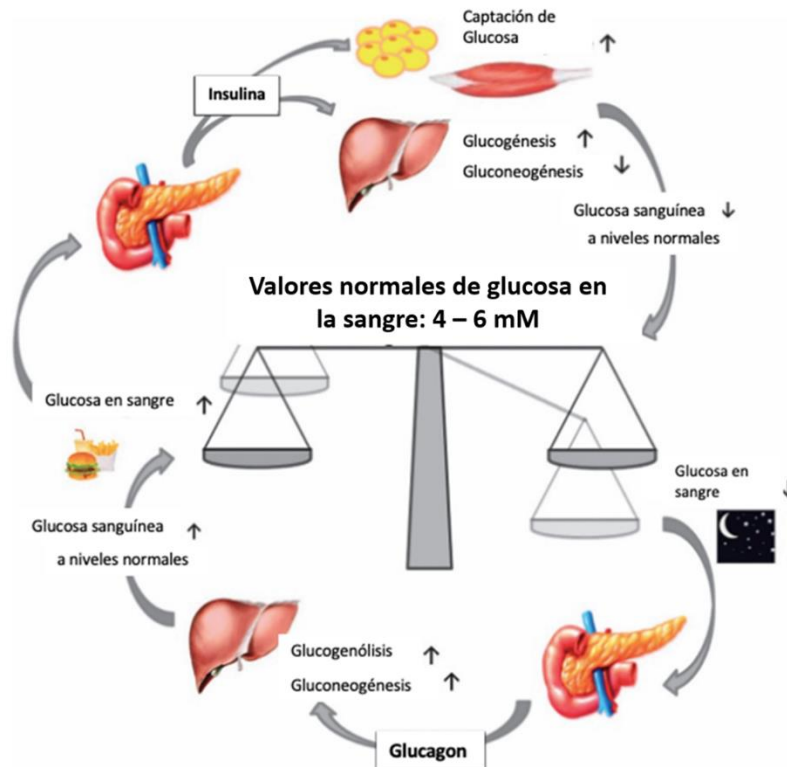


Figura 3. Regulación de la glucemia por el glucagón y la insulina

(Modificado de Röder et al., 2016).

La principal fuente de carbohidratos en la dieta humana son los polisacáridos complejos como el almidón, y disacáridos como la sacarosa, la lactosa y la maltosa. La digestión de los polisacáridos depende de su estructura química, ya que solo los monómeros componentes de los polisacáridos y disacáridos pueden ser transportados hacia la sangre y ser utilizados como fuente de energía (**Figura 4**). Por ello, en los bordes de cepillo de los enterocitos se localizan enzimas cuya función consiste en hidrolizar los enlaces glicosídicos entre los monómeros de los carbohidratos como la sacarasa, maltasa, lactasa, glucoamilasa e isomaltasa, que actúan sobre enlaces α (1 \rightarrow 4) o α (1 \rightarrow 6) presentes en carbohidratos de la dieta. Dada la importancia

de los enlaces α (1 \rightarrow 4) glucosídicos en la dieta humana, su hidrólisis consiste en un paso limitante para la absorción de los carbohidratos, de forma que la inhibición de las enzimas que hidrolizan dichos enlaces es un mecanismo clave para el efecto antidiabético de fármacos y productos naturales bioactivos (Habtemariam, 2019).

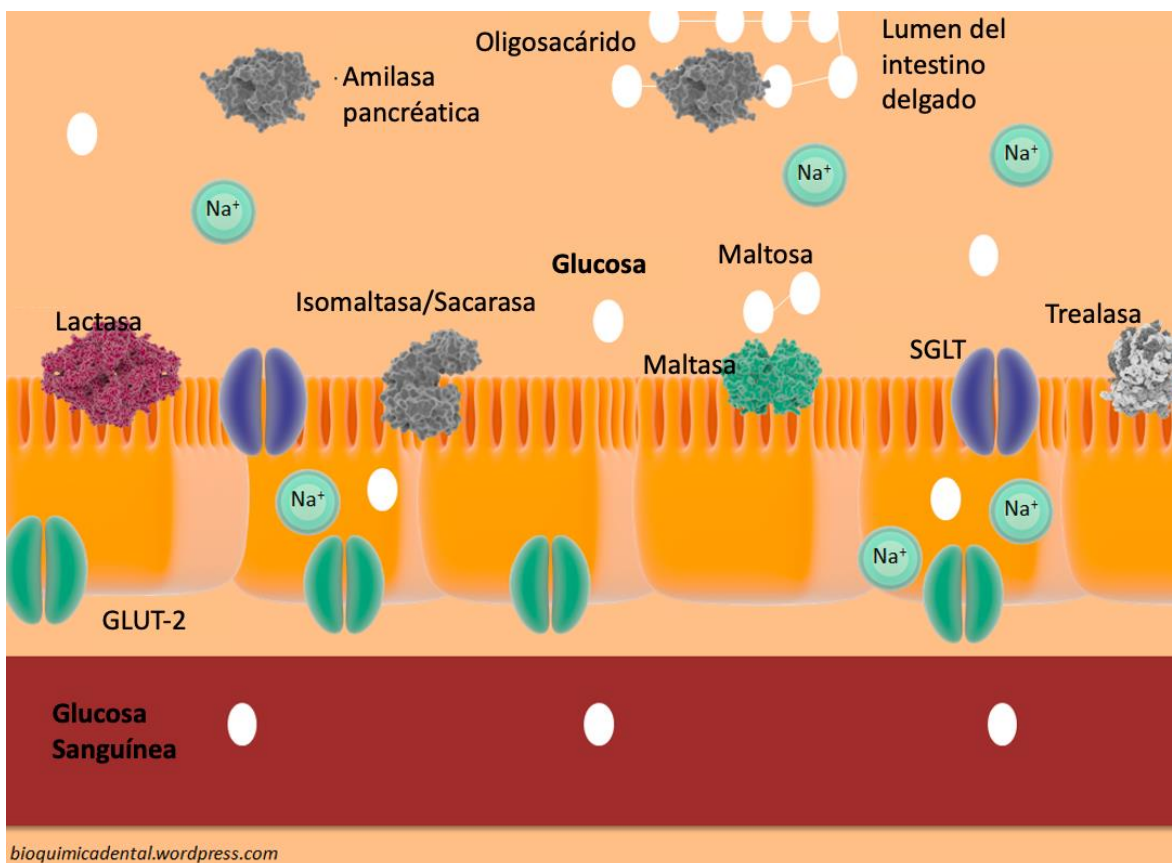


Figura 4. Enzimas que participan en la digestión y absorción de los carbohidratos.

GLUT-2: transportador de glucosa 2, SGLT: contrantransportador de sodio y glucosa (modificada de <https://bioquimicadental.wordpress.com/2015/10/22/digestion-y-absorcion-de-carbohidratos/>).

Los carbohidratos hidrolizados a nivel intestinal son absorbidos por los enterocitos empleando principalmente dos clases de transportadores: los GLUT (*glucose transporters*, transportadores de glucosa) y los SGLT (*sodium-glucose symporters*, cotransportadores de sodio y glucosa) que facilitan la difusión de los monosacáridos y son necesarios debido a la naturaleza de tamaño y cargas de estos que no favorecen cinéticamente su difusión simple. La familia GLUT participa en la difusión facilitada de la glucosa en forma tejido-específica

y su disfunción está relacionada con el desarrollo de DMT2. La afinidad y cinética de transporte de glucosa depende del ambiente fisiológico y la concentración de este monosacárido, tal como señala la **Figura 5**. En el control de la glucemia y transporte en grandes cantidades son esenciales GLUT2 (específico del hígado) y GLUT4 que es el principal efector de la insulina en el músculo esquelético. GLUT1 participa en el transporte basal de glucosa en músculo y tejido adiposo, pero aumenta su actividad en estrés metabólico. GLUT8 es característico de la síntesis de lípidos, en tanto que GLUT10 tiene actividad a nivel mitocondrial para el transporte de DHA y en el estrés oxidante. GLUT5 es muy importante por su alta afinidad para la absorción de fructosa y los efectos nocivos para la salud de dietas con alto contenido de este azúcar (Chadt & Al-Hasani, 2020).

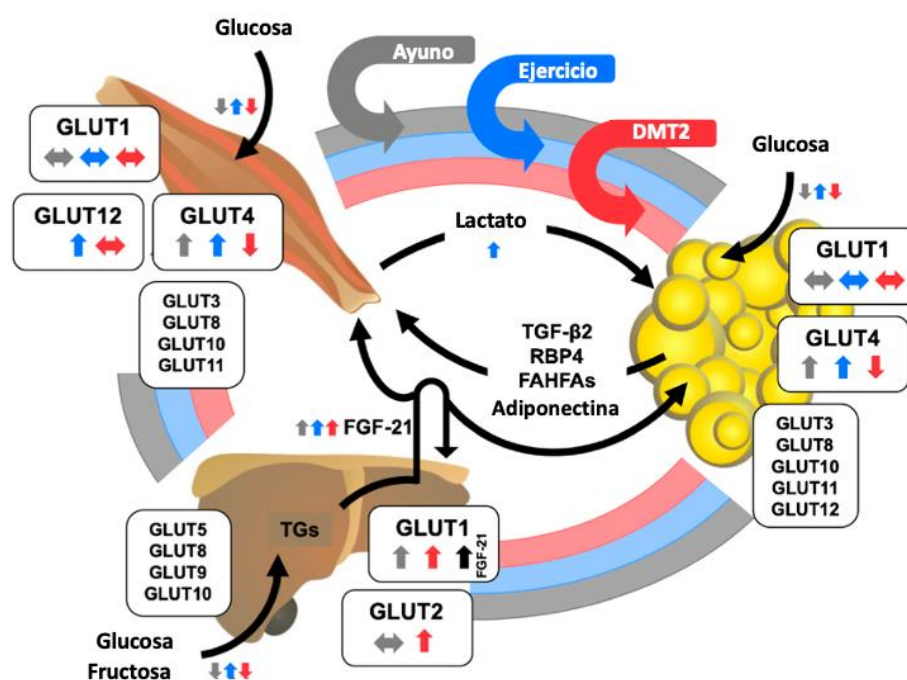


Figura 5. Movilización de la glucosa según el estado fisiológico

(Modificado de Chadt & Al-Hasani, 2020).

A diferencia de la familia GLUT, los transportadores SGLT movilizan glucosa sin importar el gradiente de concentración presente gracias al cotransporte de sodio (**Figura 6**). Se han reportado 6 isoformas diferentes con mayor presencia en túbulos renales y membrana del intestino delgado en humanos. SGLT1 es responsable de la absorción de glucosa en el intestino y SGLT2 de la reabsorción tubular y son blancos terapéuticos en diabetes y

deshidratación. La isoforma SGLT3 está ampliamente distribuida y parece actuar como sensor neuronal de glucosa, no obstante su función junto con los otros SGLT no está bien esclarecida (Sano, Shinozaki, & Ohta, 2020).

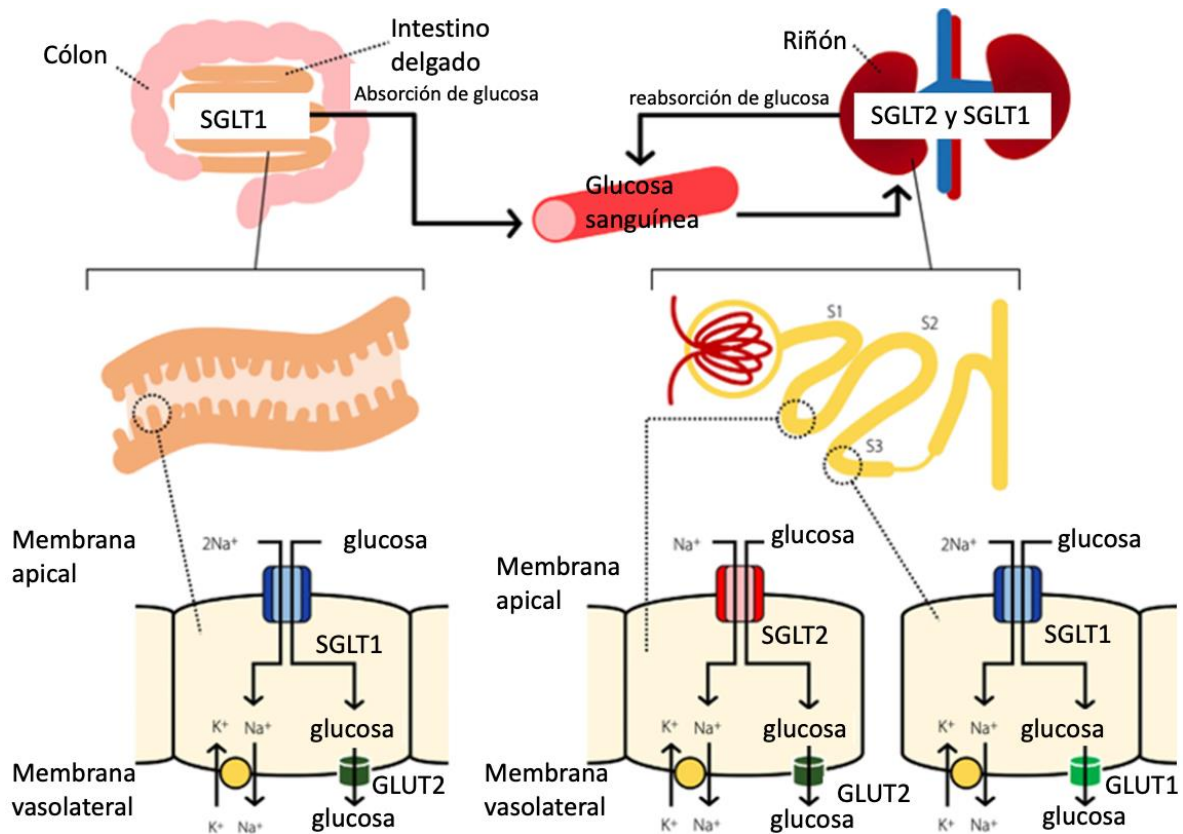


Figura 6. Transporte de glucosa por los transportadores SGLT

GLUT: transportador de glucosa, SGLT: contrantransportador de sodio y glucosa (modificado de Sano et al., 2020).

1.3.2. Secreción y efectos sistémicos de la insulina

El ingreso de la glucosa a las células beta pancreáticas es favorecido por la cinética de los transportadores GLUT2, cuya baja afinidad por la glucosa implica que su actividad sea consecuencia del incremento postprandial de la glucosa. Después de la entrada de glucosa a las células beta, la glucólisis y el ciclo de Krebs en la mitocondria permiten la generación de

ATP. El incremento en la concentración intracelular de ATP provoca el cierre de canales de potasio sensibles a ATP (K_{ATP}). En la ausencia de un eflujo de iones K^+ , la membrana de las células se despolariza y como consecuencia, conduce a la apertura de canales de calcio dependientes de voltaje. El flujo hacia el interior de Ca^{2+} involucra el aumento intracelular de este ion, que además lleva a la liberación de más Ca^{2+} de los almacenamientos intracelulares. Es esa concentración tan alta de Ca^{2+} en el citoplasma la que guía la movilización y exocitosis de los gránulos secretorios, que al fusionarse a la membrana celular liberan a la insulina contenida en ellos (Röder et al., 2016) (**Figura 7**).

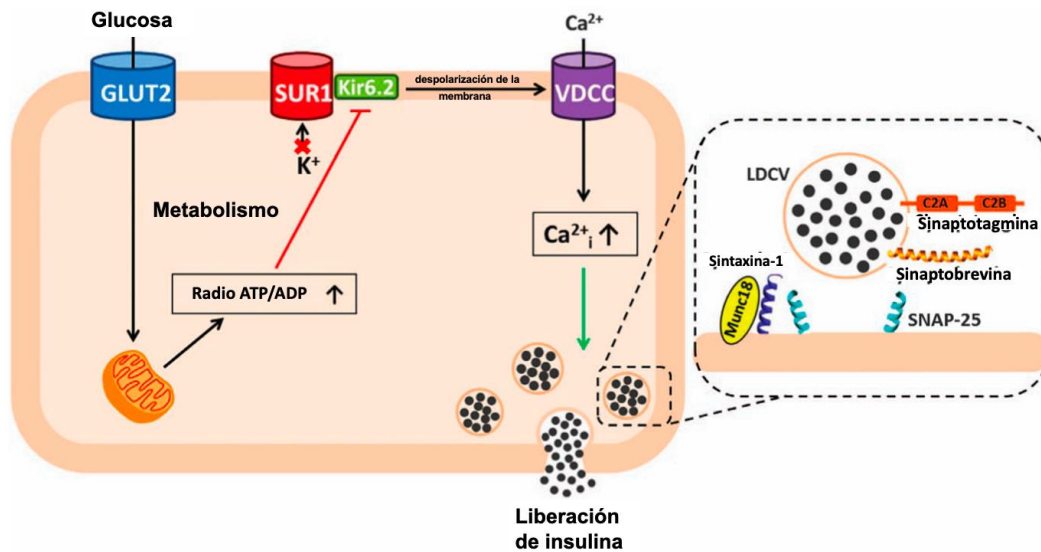


Figura 7. Secreción de insulina por efecto de la estimulación por glucosa
(Modificado de Röder et al., 2016).

En su carácter hormonal, la insulina secretada al torrente sanguíneo ejerce sus efectos sobre tres tejidos clave: el hepático, el músculo esquelético y el adiposo, otorgando a estos tejidos el papel central en la movilización y almacenamiento de la glucosa. La **Figura 8** resume los efectos intracelulares de la insulina. El primer evento en la acción de la insulina involucra la unión de la insulina a su receptor (IR), compuesto por dos subunidades extracelulares α y dos subunidades transmembranales β unidas entre sí por enlaces disulfuro. La subunidad β cuenta con un dominio intracelular que posee actividad intrínseca de tirosina cinasa regulada por la insulina. El cambio conformacional causado por el reconocimiento de la insulina aumenta la actividad tirosina cinasa (PTK) en las subunidades β en forma de

transfosforilación en varios residuos de tirosina. El receptor activado (IR-PTK) también fosforila sus sustratos río abajo en residuos de tirosina, los cuales incluyen los sustratos del receptor de insulina (IRS), proteínas con Shc (dominios homólogos de Src y colágeno) y Gab1. La fosforilación de los IRS ofrece sitios de acoplamiento para Shc, y de esta forma continuar la señalización de la insulina. Adicionalmente, los IRS poseen múltiples residuos de serina y treonina que al fosforilarse evitan este acoplamiento; también en la cara citoplásmica de la membrana celular se pueden encontrar las enzimas PTP1B (proteína tirosina fosfatasa 1B), cuya actividad fosfatasa frena la señalización del IR-PTK, en este sentido finalizando los efectos intracelulares de la insulina (Srivastava, Bajpai, & Jain, 2018). La activación de AKT/PKB es la responsable de los efectos anabólicos de la insulina, como lo son la transcripción génica, la gluconeogénesis, la síntesis de lípidos, la síntesis de glucógeno, síntesis de proteínas, la supervivencia celular y la expresión membranar de GLUT4 (Srivastava et al., 2018).

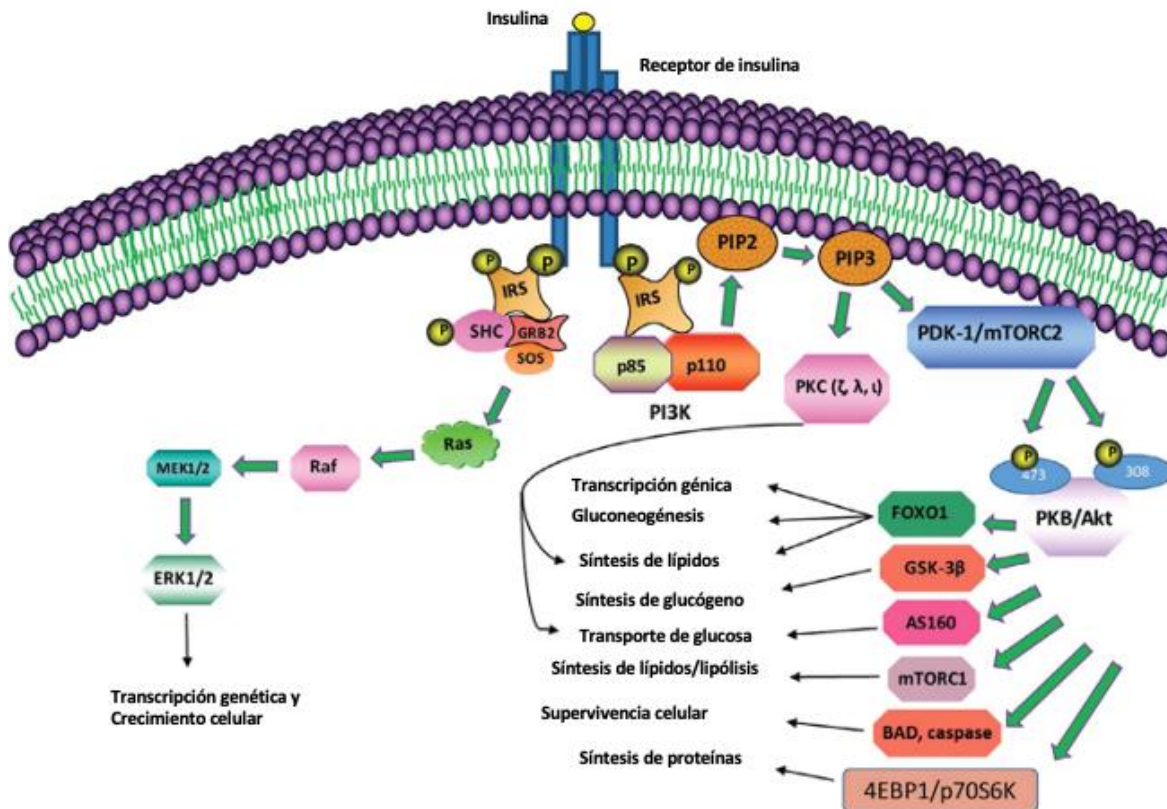


Figura 8. Efectos post-receptor de la insulina

(Modificado de Srivastava et al., 2018).

A nivel hepático, la insulina incrementa la tasa de la glucólisis al aumentar el transporte de glucosa y la actividad de las enzimas hexocinasa y 6-fosfofructocinasa; activa además a la enzima glucógeno sintasa 2 (GYS-2) e inhibe a la enzima glucosa-6-fosfatasa, disminuyendo así la gluconeogénesis y glucogenólisis. En tejido muscular, promueve el ingreso de la glucosa, su almacenamiento como glucógeno por acciones de la GYS-1, y en tejido adiposo, captación similar a la muscular y el cese de la degradación de lípidos. Todas estas acciones tienen como consecuencia inmediata la disminución de la concentración de la glucosa en la sangre. Con el aumento de la glucemia, la insulina promueve la glucólisis hepática y el almacenamiento de glucosa en las reservas de glucógeno, que en ayuno entre comidas es la fuente de energía del SNC. La insulina posee efecto lipogénico en el hígado, incluso mayor que en los adipocitos, en los cuales inhibe la lipólisis y estimula la re-esterificación de ácidos grasos libres en sangre. Finalmente, la insulina también participa en la expresión de proteínas estructurales por su efecto sobre mTOR y Ras promoviendo el crecimiento y la proliferación de tejidos (Petersen & Shulman, 2018).

1.3.3. Resistencia a la insulina y patologías asociadas

La resistencia a la insulina es el rasgo patológico más importante relacionado con la progresión de la DMT2 y corresponde a la disminución de la respuesta de los tejidos a la señalización de la insulina. Las personas prediabéticas suelen manifestar niveles más altos de insulina circulante, aunque sin signos iniciales de la resistencia a la insulina. Se ha demostrado que la hiperinsulinemia y la consecuente resistencia a la insulina deriva en la interrupción de múltiples vías metabólicas que son controladas por dicha hormona, por lo que se observan hiperglucemia, dislipidemias, oxidación y glucosilación de proteínas y valores elevados de citocinas inflamatorias, además de aumentar la incidencia de ovario poliquístico e infertilidad femenina (Entezari et al., 2022).

Los cambios en el estilo de vida que los países en desarrollo experimentaron hace medio siglo permitieron el acceso popular y masivo a alimentos ultra procesados que priorizan el sabor y el precio antes que la nutrición. Las dietas disponibles tienen altos contenidos de sal, grasas saturadas y carbohidratos, pero que son de acceso rápido y de coste bajo. Quienes las consumen tienen acceso limitado o nulo a comodidades deportivas y de

esparcimiento, por lo que la ingesta crónica de estas dietas contribuye a la resistencia a la insulina, la cual implica menos captura de glucosa y síntesis de glucógeno en el músculo esquelético, y la reducción del metabolismo hepático de glucosa. La necesidad de mantener la generación de energía implica que se utilicen lípidos y aminoácidos como fuente de energía, lo que aumenta la circulación de ácidos grasos y la formación de especies químicas que favorecen el estrés oxidante y el estado de inflamación. Los efectos de estos procesos bioquímicos se manifiestan en hipertensión sistémica y dislipidemias aterogénicas, que junto con la obesidad abdominal, representan la definición del síndrome metabólico que suele preceder a la DMT2, cuando ya no hay producción suficiente de insulina que compense la resistencia sistémica a su función (McCracken, Monaghan, & Sreenivasan, 2018).

1.4. Tratamiento antidiabético

El cuidado de los pacientes con diabetes requiere de la evaluación inicial de los factores de riesgo individuales, de la determinación de la presencia o ausencia de complicaciones micro y macrovasculares, y de la revisión de prescripciones previas. Idealmente, el tratamiento debería personalizarse, considerando aspectos genéticos y de estilo de vida, incluidos la dieta y la actividad física realizada. Por ello, el tratamiento antidiabético comienza con ejercicio y de modo concomitante, con farmacoterapia y monitoreo constante de la glucosa sanguínea (Chaudhury et al., 2017; Israili, 2011)

Está demostrado que el ejercicio físico mejora los indicadores de sensibilidad a la insulina. La activación física reduce la liberación de glucosa hepática por la inhibición de la actividad de la enzima glucosa-6-fosfatasa e incrementa la expresión membranar de GLUT4 mediada por AMPK y PI3K (Kirwan, Solomon, Wojta, Staten, & Holloszy, 2009). Por su parte, la terapia farmacológica disponible para disminuir los niveles sanguíneos de glucosa modifica alguno de los ocho procesos fisiológicos afectados en la DMT2: 1) la secreción reducida de insulina por las células β del páncreas, 2) el aumento en la secreción de glucagón por las células β pancreáticas, 3) el aumento de la producción de glucosa hepática, 4) resistencia a la insulina en el cerebro y disfunción de neurotransmisores, 5) lipólisis aumentada, 6) incremento en la reabsorción renal de glucosa, 7) disminución de los efectos de las incretinas en el intestino delgado y 8) disrupciones en la captación de glucosa por los tejidos

periféricos como el hígado, el músculo esquelético y el tejido adiposo. Por tanto, los tratamientos antidiabéticos consisten en la administración exógena de insulina de origen recombinante, o bien, fármaco único o una combinación de dos o más fármacos formada por biguanidas, sulfonilureas, meglitinidas, tiazolidinedionas, inhibidores de la dipeptidilpeptidasa 4 (DPP-4), inhibidores del contrantransportador de sodio y glucosa 2 (SGLT2) y los inhibidores de α -glucosidasas (Chaudhury et al., 2017; Israili, 2011).

La eficacia de los regímenes farmacológicos antidiabéticos puede ser limitada por varios problemas relacionados con el tratamiento, que incluyen efectos secundarios de moderados a graves, interacciones, contraindicaciones y dificultades en la adherencia al tratamiento. Dado que los pacientes de DMT2 generalmente usan múltiples medicamentos, tales problemas suelen ser comunes y pueden complicar el control de la enfermedad, especialmente la ganancia de peso (Van Roozendaal & Krass, 2009). Con excepción de la insulina, todos los tratamientos para la diabetes tienen capacidad limitada para controlar la glucemia, lo cual se explica por su mecanismo de acción que ataja un único aspecto fisiopatológico de los ocho mencionados anteriormente. La **Tabla 2** contiene información comparativa de dichas estrategias farmacológicas.

Como consecuencia de la adherencia deficiente al tratamiento, la progresión de la DMT2 suele acompañarse de otras enfermedades, en particular cardiovasculares como la hipertensión, que también requieren tratamiento específico. Los pacientes diabéticos enfrentan el reto de adaptarse a vivir con las enfermedades crónicas, y son más proclives a desarrollar depresión (Bădescu et al., 2016). Estas enfermedades concomitantes son incapacitantes, por lo que representan un reto a las economías y a la fuerza laboral (McClellan, Haque, & García-Peña, 2021). En México la adherencia al tratamiento se complica porque el acceso al sistema de salud es inequitativo, al igual que tener educación y fuentes de información confiables. La desigualdad social explica que acorde con el ambiente social de desarrollo, exista una predilección en la población a sustituir el tratamiento farmacológico prescrito con otras terapias, en particular con las derivadas de plantas, en el afán de disminuir el temor y los efectos secundarios provocados por el tratamiento polifarmacológico (Argáez-López et al., 2003), lo cual supone una problemática y un reto de investigación para los sistemas de salud. También es cierto que hay una tendencia creciente en incluir en la dieta alimentos de origen vegetal que posean propiedades nutritivas y también

que mejoren la salud, pero cuya investigación química y farmacológica no ha sido conducida bajo los criterios que se aplican para las especies vegetales medicinales, tal como es el caso de los alimentos funcionales, en donde se ubican las ETSS.

Tabla 2. Fármacos usados en la terapia antidiabética (elaborada con información de Chaudhury et al., 2017; Israili, 2011).

Proceso fisiológico afectado	Fármaco	Mecanismo de acción principal	Efectos secundarios
Secreción de insulina	Insulina recombinante	Agonista del RI	Ganancia de peso Hipoglucemia
	Sulfonilureas (glicazida y glibenclamida) Meglitinidas (meglitinida)	Bloqueo de K_{ATP}	Ganancia de peso Hipoglucemia Hiperinsulinemia Isquemia y arritmia Disfunción de las células β pancreáticas
Efectos insulínotropicos de incretinas	Miméticos de GLP-1 (exenatida) Análogos de GLP-1 (liraglutida)	Activación del receptor GLP-1 en páncreas	Nausea Vómito Diarrea
	Inhibidores de DPP-4 (sitagliptina)	Aumento del tiempo de vida media de péptidos insulínotropicos	Intolerancia gastrointestinal Nasofaringitis Infecciones de las vías respiratorias altas y del tracto urinario
Producción de glucosa hepática Captación de glucosa	Metformina (biguanida)	Activación de AMPK	Intolerancia gastrointestinal Acidosis láctica Disminución de niveles de vitamina B12
	Tiazolinedionas (pioglitazona)	Agonistas PPAR	Ganancia de peso Edema Osteoporosis Cáncer hepático
Absorción intestinal de glucosa	Inhibidores de α -glucosidasas (acarbose)	Inhibición competitiva de las enzimas α -glucosidasas	Intolerancia gastrointestinal

Reabsorción renal de glucosa	Inhibidores SGLT2 (dapagliflozina)	Inhibición del cotransporte de sodio y glucosa	Intolerancia gastrointestinal Infecciones del tracto urinario
------------------------------	------------------------------------	--	--

RI: receptor de insulina, K_{ATP} : canales de potasio sensibles a ATP, GLP-1: péptido similar al glucagón 1, DPP-4: dipeptidil peptidasa 4, AMPK: proteína cinasa activada por adenosín monofosfato, PPAR: receptor activado por proliferadores de peroxisomas, SGLT2: cotransportador de sodio y glucosa 2.

1.5. Investigación fitofarmacológica de ETSS

Los alimentos funcionales son aquéllos que además de proporcionar nutrientes, tienen alguna función benéfica para el organismo, por lo que pueden retrasar o prevenir la aparición de enfermedades (Donato-Capel et al., 2014). Bajo esta definición, las ETSS son consideradas alimentos funcionales, pues contienen metabolitos secundarios con actividades farmacológicas demostradas, en particular las que son de interés para prevenir, retrasar e incluso tratar enfermedades crónicas como la obesidad y la diabetes mellitus. Los pseudocereales del género *Chenopodium* tienen un alto valor nutricional debido a su composición de lípidos, proteínas y carbohidratos, además de poseer un índice glucémico bajo. Adicionalmente se ha descrito la presencia de compuestos bioactivos de interés terapéutico en sus inflorescencias y semillas, en particular flavonoides (que son conocidos antioxidantes), y compuestos de naturaleza terpénica, que parecen estar relacionados con la mejora en la función arterial y ósea, así como en procesos de modulación de hormonas y factores de crecimiento (Vega-Gálvez et al., 2010). El contenido metabólico de estas especies les confiere un interés de investigación particular para su inclusión en las dietas de pacientes con riesgo y con presencia de diabetes, o incluso, para la generación de un preparado a base de plantas que complemente la terapia antidiabética. Sin embargo, los productos derivados de alimentos funcionales, como extractos secos, tisanas, infusiones, jugos, o inclusive, formas farmacéuticas que contienen fitoextractos o compuestos bioactivos aislados, son considerados suplementos alimenticios en la mayoría de los países, ya que la legislación existente no considera estándares de investigación que garanticen su seguridad y eficacia,

para asegurar así las propiedades terapéuticas de los productos promocionados (Arihara, 2014; Dudeja & Gupta, 2017; Télessy, 2018).

En este contexto, se pueden aplicar las guías de aseguramiento de la calidad sugeridas por la OMS para plantas medicinales, de modo que se desarrollen protocolos de investigación que permitan fundamentar el uso de ETSS como recursos medicinales y como fuente de obtención de compuestos de interés farmacéutico. La inclusión de las ETSS en estudios guiados por la estrategia de la OMS obedece a la importancia de mantener y valorar el conocimiento ancestral de los pueblos que los consumen, para establecer su potencial farmacológico y agregar un valor económico al cultivo y aprovechamiento de estos recursos. Si se genera información científica sobre dichos recursos, se puede hacer la promoción del uso basado en evidencia e incluir la producción y consumo de estas especies en las políticas nacionales de acceso a la salud (OMS, 2013).

Por otra parte, el tratamiento antidiabético actual refleja la naturaleza multifactorial del origen y progresión de la DMT2. Los signos clínicos de la DMT2 dan cuenta de las perturbaciones en procesos metabólicos interrelacionados, por lo que el control glucémico y la mejora en la resistencia a la insulina no se logra con el uso de un único fármaco; los pacientes con DMT2 suelen ser ejemplos claros de regímenes polifarmacológicos, lo cual supone riesgos en cuanto a interacciones no deseadas y de abandono de la terapia. Por tanto, las nuevas alternativas farmacológicas deben estar orientadas a la generación de preparados que contengan uno o más compuestos bioactivos que ejerzan sus efectos interactuando con los blancos macromoleculares relacionados con la diabetes, esto es, que actúen de forma simultánea en blancos múltiples (la denominada polivalencia farmacológica), de manera tal que los efectos globales reduzcan las manifestaciones de la DMT2 (Wang, Hu, Feng, Wang, & Zhang, 2020).

2. Planteamiento del problema

La población mexicana se puede dividir en dos grandes grupos de acuerdo con su consumo de alimentos: aquella en pobreza alimentaria que no puede costearse la canasta básica, y la que ingiere comida en exceso, en particular de tipo procesado. Ambos grupos coinciden en que no consumen vegetales frescos y en que se posicionan en polos opuestos del estatus metabólico, ya sea en la desnutrición o en la obesidad. En este contexto se plantea la investigación de las “especies de uso tradicional subvaloradas y subutilizadas (ETSS)”, a las cuales pertenecen los quelites. Tales especies tienen reportes sobre sus propiedades nutricionales, pero en su mayoría carecen de estudios que sustenten su eficacia terapéutica. Por lo tanto, no son consideradas como alternativas para remediar el desbalance nutricional de la población. Este es el caso del huazontle (*Chenopodium berlandieri subsp. nuttalliae*, Chenopodiaceae), un quelite de amplio consumo en el centro de México, cuyo potencial para tratar desórdenes metabólicos no ha sido determinado. Por lo tanto, este trabajo de investigación fue desarrollado para establecer la eficacia de las inflorescencias del huazontle en modelos farmacológicos selectos que dieran cuenta de su capacidad para modular la homeostasis de la glucosa a nivel hepático y muscular, de tal manera que se pueda otorgar un valor agregado a la especie para prevenir, retrasar o tratar desórdenes metabólicos como la obesidad y la diabetes.

3. Hipótesis

Los antecedentes fitoquímicos del huazontle, *Chenopodium berlandieri ssp. nutalliae* (Saff). H. D. Wilson & Heiser y de especies relacionadas del género, permiten proponer que los preparados del huazontle tienen actividad antihiper glucémica e insulino trópica en modelos experimentales *in vivo* e *in vitro*.

4. Objetivos

4.1. Objetivo General

Establecer la eficacia del huazontle en modelos *in vivo* e *in vitro* relacionados con la homeostasis de la glucosa, con la finalidad de asignar un valor medicinal agregado a la especie para el tratamiento de prediabetes, la resistencia a la insulina y la diabetes mellitus tipo 2.

4.2. Objetivos particulares

- Establecer la eficacia antidiabética de la decocción de las inflorescencias del huazontle en ratones normoglucémicos e hiper glucémicos mediante pruebas de tolerancia a carbohidratos orales.
- Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* de fracciones orgánicas derivadas de la decocción (AcOEt y CH₂Cl₂) y de un extracto orgánico total de las inflorescencias (CH₂Cl₂:CH₃OH) del huazontle sobre la actividad de las enzimas α -glucosidasa y proteína tirosina-fosfatasa 1B (PTP1B).
- Establecer la citotoxicidad de fracciones orgánicas derivadas de la decocción (AcOEt y CH₂Cl₂) y de un extracto orgánico total de las inflorescencias (CH₂Cl₂:CH₃OH) en células hepáticas (HepG2, hepatocitos humanos) y C2C12 (miocitos de ratón).

- Establecer la capacidad de captación de glucosa de fracciones orgánicas derivadas de la decocción (AcOEt y CH₂Cl₂) y de un extracto orgánico total de las inflorescencias (CH₂Cl₂:CH₃OH) en células hepáticas (HepG2, hepatocitos humanos) y C2C12 (miocitos de ratón) con y sin resistencia a la insulina.
- Establecer la composición química preliminar del extracto orgánico total empleando técnicas fitoquímicas convencionales.

5. Desarrollo experimental

5.1. Material vegetal y preparación de extractos

El huazontle (partes aéreas) fue adquirido comercialmente en el Mercado de La Merced, ubicado en la Avenida Eje 1 Oriente, Anillo de Circunvalación, Zona Centro, Alcaldía Venustiano Carranza en la Ciudad de México en los meses de agosto y noviembre de 2019. El material vegetal se secó a temperatura ambiente durante 12 días y posteriormente se separaron hojas, tallos e inflorescencias para su posterior fragmentación usando un molino de cuchillas Thomas Wiley Model 4 con malla de 2 mm. Sólo las inflorescencias molidas fueron usadas para la generación de extractos.

El extracto acuoso (DCB) se preparó por el método de decocción, calentando a ebullición y durante media hora, 25 g de inflorescencias en 1 L de agua destilada. El extracto se filtró a gravedad para descartar el material vegetal y se concentró a sequedad usando un rotaevaporador acoplado a una bomba de vacío. Este proceso se repitió tres veces hasta obtener 2 g de un extracto seco de color café amarillento que se usó en los ensayos en ratones. Por otra parte, se generaron las fracciones orgánicas de la decocción mediante un proceso de reparto, para lo cual se realizaron extracciones triples y sucesivas con CH_2Cl_2 (CH1) y AcOEt (CH2), empleando 300 mL de decocción y 300 mL de cada disolvente. Las fracciones orgánicas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y finalmente se concentraron al vacío. Este proceso se repitió las veces que fueron necesarias hasta obtener 0.2 g de la fracción CH1 y 0.5 g de la fracción CH2. Finalmente, se obtuvo un extracto orgánico total (CH3) usando maceración exhaustiva a temperatura ambiente. Para ello, 750 g de inflorescencias fueron maceradas con 9 L de una mezcla de CH_2Cl_2 : CH_3OH en proporción 1:1 durante 21 días con tres cambios de disolvente cada 7 días. Al cabo de cada periodo, el extracto orgánico resultante se filtró por gravedad y se concentró al vacío. Se obtuvieron 135 g de un sólido verde oscuro. Los extractos CH1, CH2 y CH3 se evaluaron en ensayos *in vitro* en enzimas aisladas y en células.

5.2. Análisis cromatográfico

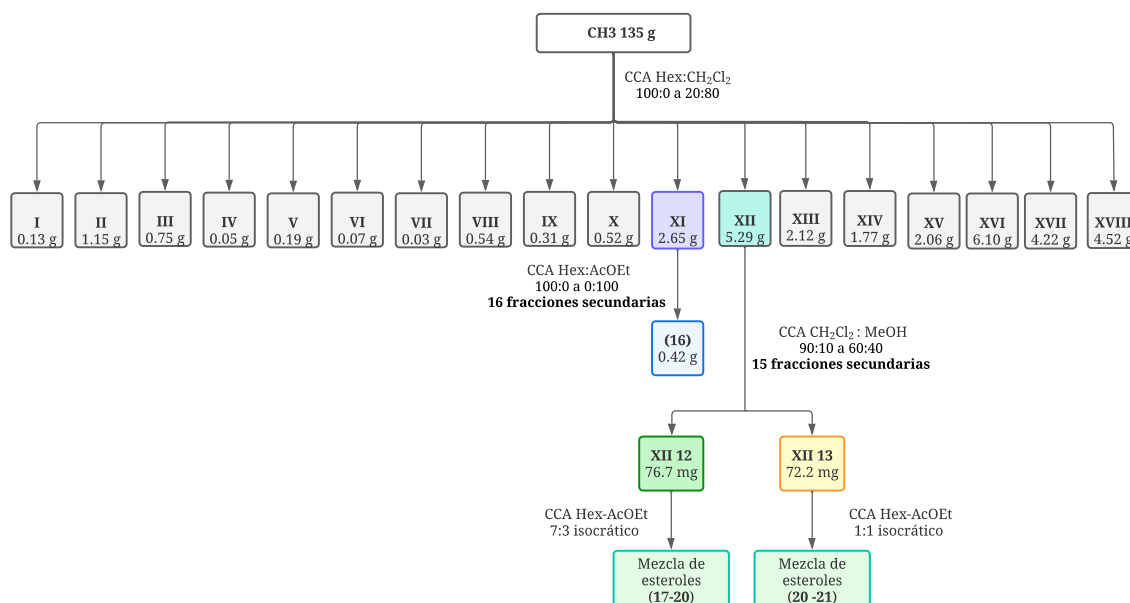
El análisis cromatográfico de extractos y fracciones del huazontle mediante cromatografía en capa fina (CCF) se realizó en placas de aluminio de 0.25 mm de grosor recubiertas de gel de sílice 60 F₂₅₄ de Merck (malla de 3.5 – 7.0 ASTM) de diferentes dimensiones, utilizando diversos sistemas de elución. Como agente cromógeno se empleó solución de sulfato cérico amoniacal en ácido sulfúrico. Para el fraccionamiento se empleó cromatografía en columna abierta (CCA) sobre gel de sílice 60 Merck® (70 – 230 mesh) con sistemas de elución de polaridad creciente; se usaron mezclas de n-hexano, AcOEt, CH₂Cl₂ y CH₃OH.

5.3. Métodos espectroscópicos y espectrométricos

Los espectros de infrarrojo (IR), de resonancia magnética nuclear (RMN) y de masas (EM) fueron adquiridos por personal técnico de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y la Industria (USAII) de la Facultad de Química de la UNAM. Los espectros de IR se obtuvieron en un equipo Perkin-Elmer 1605 (4000 a 400 cm⁻¹). Los espectros de RMN de protón ¹H (400 MHz) y ¹³C (100 MHz) se registraron en cloroformo deuterado (CDCl₃) en un espectrómetro Varian Unity Plus 400, usando tetrametilsilano (TMS) como estándar interno. Los cromatogramas iónicos totales y los espectros de masa se obtuvieron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas usando un cromatógrafo Agilent 6890N, un espectrómetro de masas con un detector de tiempo de vuelo LECO y una energía de ionización de 70 eV. Se utilizó una columna capilar DB-5 de 10 m de longitud y 0.18 mm de diámetro. La temperatura de la columna se estableció en rampa de 40 a 260 °C con una rapidez de calentamiento de 4 °C/min. Se utilizó helio como gas acarreador a una velocidad de 1 mL/min. Se compararon los espectros de masas obtenidos con los reportados en la literatura y en la biblioteca del National Institute of Standards and Technology (NIST).

5.4. Fraccionamiento y caracterización preliminar del extracto orgánico total (CH3)

El extracto orgánico total CH3 (135 g) fue fraccionado mediante CCA sobre 2 kg de gel sílice desactivado con agua desionizada al 10 % p/v, usando para su elución mezclas de polaridad creciente de hexano y CH₂Cl₂ (100:0→20:80). Se obtuvieron 18 fracciones primarias (I – XVIII). El **Esquema 1** muestra el proceso de fraccionamiento seguido para el extracto CH3. Se estudió la fracción primaria XI (2.61 g de un sólido blanco amorfo de p.f. 64-66 °C) usando CCA sobre 100 g de sílice desactivado al 10 %, usando mezclas de hexano y AcOEt (100:0→0:100). De este proceso se obtuvieron 16 fracciones secundarias (XI₁ – XI₁₆). A partir de la fracción secundaria 6 (XI₆) se aisló e identificó al compuesto **16**. Por otra parte, la fracción primaria XII se separó usando CCA (5.29 g de un sólido amarillo sobre 540 g de gel de sílice) empleando mezclas de CH₂Cl₂:MeOH (90:10→ 60:40); del proceso se generaron 15 fracciones secundarias (XII₁ – XII₁₅). La fracción secundaria 12 (XII₁₂, 76.7 mg) se sometió a un fraccionamiento terciario en CCA (75 g de gel de sílice) mediante una elución isocrática con hexano y AcOEt (7:3). De este proceso se generó una fracción que contenía la mezcla de 4 compuestos identificados como **17-20**. La fracción secundaria 13 (XII₁₃, 72.2 mg) se sometió a un fraccionamiento terciario en CCA (55 g de gel de sílice) mediante una elución isocrática con hexano y AcOEt (1:1). De este proceso se generó una fracción que contenía la mezcla de 2 compuestos identificados como **20-21**.



Esquema 1. Separación de los componentes de CH3.

5.5. Evaluación farmacológica

5.5.1. Ensayos *in vivo*

Todos los experimentos se realizaron en ratones macho de la cepa CD1 (25-35 g de peso) adquiridos comercialmente a Círculo ADN S.A. de C.V. Los roedores se albergaron en un ambiente con temperatura controlada ($22\pm 1^{\circ}\text{C}$), ciclo de luz/oscuridad 12 h/12 h, con acceso libre a agua simple y alimento estándar (Rodent LabDiet 5001, LabDiet, EE. UU.) antes de todos los experimentos, conforme a los lineamientos establecidos en la NOM-062- ZOO-1999 (Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio). Las evaluaciones se desarrollaron siguiendo criterios de reducción y refinamiento en el manejo, considerando 6 ratones por cada grupo experimental, con ayunos máximos de 4 h previo al inicio de los experimentos y restricción de consumo de agua en el transcurso de estos (Franco & Olsson, 2014). Los experimentos fueron aprobados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Química, UNAM (FQ/CICUAL/403/20). Al concluir las evaluaciones se aplicó eutanasia a todos los ratones mediante hipoxia en una cámara de CO_2 . Por otra parte, los fármacos controles positivos y la decocción de las inflorescencias del huazontle (DCB) se suspendieron en un vehículo (VEH-solución salina isotónica, NaCl 0.9% – Tween 80 al 0.05%) y se administraron por vía intragástrica (*p.o.*) usando cánulas de acero inoxidable (3.0 × 0.3") acopladas a jeringas de insulina usando un volumen de administración de 0.2 mL del tratamiento por cada 10 g de peso de los ratones.

5.5.1.1. Pruebas de tolerancia a carbohidratos orales

Para determinar la capacidad antihiper glucémica del preparado DCB, se evaluó su efecto en pruebas de tolerancia a carbohidratos (glucosa y sacarosa), en ratones normoglucémicos e hiper glucémicos inducidos con estreptozotocina *i.p.*, (Rebollar-Ramos et al., 2021; Ventura-Sobrevilla et al., 2011). En ambas pruebas, y luego de 4 h de ayuno, se midió la glucemia basal de una muestra obtenida de la vena caudal usando un glucómetro comercial (Gmate® WHeeL, Philsys Co., Ltd., República de Corea). Los animales se distribuyeron en cinco

grupos que recibieron *p.o.* o el vehículo (VEH), o el control positivo (metformina MTF, 200 mg/kg en la tolerancia a glucosa, o acarbosa ACA, 5 mg/kg en la tolerancia a sacarosa), o una de tres dosis logarítmicas de DCB: 31.6, 100 o 316 mg/kg. Media hora después de la administración de los tratamientos, a todos los ratones recibieron por vía intragástrica 0.2 mL/10 g de peso una solución de carbohidrato de prueba (glucosa 1 g/kg o sacarosa 2 g/kg). La glucemia se midió a los 15, 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración del carbohidrato. Se calculó la variación de glucemia (Δ glucemia, mg/dL) en cada tiempo de medición restando a la glucemia de cada tiempo de medición la glucosa basal. Con la variación de glucemia se construyeron los cursos temporales respectivos a cada prueba.

5.5.2. Ensayos *in vitro* en enzimas aisladas

5.5.2.1. Ensayos de inhibición de la enzima α -glucosidasa

En la evaluación de la actividad inhibitoria de las fracciones CH1, CH2 y del extracto total CH3 se utilizaron la enzima α -glucosidasa de *Saccharomyces cerevisiae* y un crudo enzimático obtenido a partir de intestino de rata, siguiendo una técnica descrita previamente en la literatura (Rangel-Grimaldo et al., 2020). Todas las muestras se disolvieron en MeOH a dos concentraciones: 200 ppm y 1000 ppm. Se empleó acarbosa 30 mM como control positivo. Se usaron placas de 96 pozos para los ensayos, en las cuales se colocaron 10 μ L de las soluciones de prueba por triplicado y se incubaron por 10 min a 37 °C con 20 μ L de una solución de la enzima (0.4 U/mL en amortiguador de fosfatos) o del crudo enzimático (40 mg/mL en amortiguador de fosfatos). Transcurrido ese tiempo, se agregaron 10 μ L de una solución del sustrato p-nitrofenol- α -D-glucopiránosido (5 mM para levadura y 10 mM para crudo enzimático) y se incubó a 37 °C. Al paso de este tiempo, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 415 nm usando un espectrofotómetro BioRad® modelo iMark (Hercules, CA, EE. UU.). El manejo de los datos se hizo con el software Microplate Manager® 6 (versión 6.3, BioRad®, Hercules, CA, EE. UU.). El porcentaje de inhibición enzimática se calculó de acuerdo con lo reportado previamente por Rangel-Grimaldo y colaboradores (2020).

5.5.2.2. Ensayos de inhibición de la PTP1B

En la determinación de la actividad inhibitoria de las fracciones CH1, CH2 y del extracto total CH3 sobre la proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP1B) se usó la una metodología previamente reportada (Rangel-Grimaldo et al., 2020). las muestras se disolvieron en una mezcla de DMSO y una solución amortiguadora de Tris (20 mM, pH 6.7), y se evaluaron a 200 ppm y 1000 ppm. Como control positivo se utilizó ácido ursólico 1mM. Se colocaron 10 μ L de las soluciones por triplicado en placas de 96 pozos y se incubaron por 5 min a 37 °C con 20 μ L de una solución la enzima (22 nM en Tris). Después de ese tiempo se agregaron 10 μ L de una solución del sustrato *p*-nitrofenilfosfato (5 mM) y se incubó nuevamente a 25 °C durante 15 min. Al término de ese tiempo se determinó la absorbancia a 415 nm usando el lector de placas y software descritos en el apartado anterior. El porcentaje de inhibición enzimática se calculó de acuerdo con lo reportado previamente.

5.5.3. Ensayos *in vitro* basados en células

Se emplearon hepatocitos humanos (HepG2, ATCC® HB-8065™) y mioblastos de ratón (C2C12, CRL-1772™) adquiridos a The American Type Culture Collection (ATCC, EE. UU.), los cuales se proliferaron en condiciones de cultivo estándar (37 °C en una atmósfera 95%-5% aire humidificado-CO₂), usando medio de cultivo Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) alto en glucosa, con antibióticos (1.0 %; penicilina 100 U/mL, estreptomycin 100 μ g/mL) y suplementado con suero fetal bovino al 10% para los hepatocitos, o bien, con suero fetal bovino al 10% y suero de caballo al 10% para los mioblastos. Para las evaluaciones se usaron placas de 24 o 48 pozos. Cuando los hepatocitos alcanzaron entre 90 y 95% de confluencia se trataron con las muestras a evaluar disueltas en DMEM libre de suero fetal bovino. Por su parte, los mioblastos fueron cultivados hasta que alcanzaron un 60% de confluencia, y luego fueron diferenciados a miotubos durante 6 días con medio de diferenciación (DMEM con suero de caballo al 2% y antibióticos). Al sexto día de diferenciación, los miotubos fueron tratados con las muestras a evaluar disueltas en medio de diferenciación (Ovalle-Magallanes et al., 2019). Las muestras se prepararon

disolviéndolas en DMSO a una concentración stock de 50 mg/mL, para posteriormente esterilizarlas usando una membrana Argos FE12S (0.22 μ m; Argos Technologies, Inc. IL, EE. UU.). Las muestras disueltas se almacenaron a -20 °C hasta su uso.

5.5.3.1. Determinación del potencial citotóxico

Se establecieron las concentraciones máximas no tóxicas de las fracciones CH1, CH2 y del extracto total CH3 aplicando una prueba de citotoxicidad basada en la liberación de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) (Ovalle-Magallanes et al., 2019). Se construyeron curvas concentración-respuesta logarítmicas de las tres muestras usando cinco niveles de concentración final en pozo, desde 10 y hasta 562 μ g/mL. El control de disolvente fue DMSO al 0.1%. Los tratamientos y el control se disolvieron en DMEM libre de suero y se aplicaron a células cultivadas en placas de 48 pozos, ya sea a 90% de confluencia para los hepatocitos HepG2, o en el sexto día de diferenciación para los miocitos C2C12. Transcurrido el tiempo de incubado, se recolectó el medio de cultivo de cada muestra que contenía la LDH liberada por efecto citotóxico (referido como “sobrenadante, SN”) y se procedió a lisar las células con DMEM adicionado con Triton X-100 al 1% por 10 min, para obtener la LDH contenida al interior de las células. Luego de este tiempo, se obtuvo el contenido de cada pozo (referido como “lisado, LIS”). Todas las muestras se centrifugaron a 1200 rpm por 10 min a 4 °C. Finalmente se realizó una reacción con colorimétrica en una placa de 96 pozos con un kit comercial (LDH colorimetric kit, Roche, Alemania) y se midió la absorbancia a 492 nm. Los resultados de este ensayo están expresados como el promedio \pm EEM del porcentaje de muerte calculado como la proporción entre la LDH liberada respecto a la total (LDH liberada + LDH celular) de tres experimentos realizados en pases celulares distintos por triplicado.

5.5.3.2. Ensayo de captación de glucosa en hepatocitos HepG2 y en miocitos C2C12

Luego del análisis de los resultados obtenidos en el ensayo de LDH se establecieron los intervalos de concentración para la construcción de las curvas concentración-respuesta en un

ensayo fluorimétrico de captación de glucosa (Yousof Ali, Jannat, & Mizanur Rahman, 2021). De esta manera se evaluaron las siguientes concentraciones:

Muestra	Intervalo en HepG2	Intervalo en C2C12
CH1	10-100 µg/mL	10-56.2 µg/mL
CH2	10-56.2 µg/mL	10-56.2 µg/mL
CH3	10-562 µg/mL	10-316 µg/mL

Para el ensayo con hepatocitos HepG2 se usaron células sembradas en placas de 96 pozos con una confluencia entre 90-95%; para el experimento con miocitos C2C12, se usaron células en su sexto día de diferenciación sembradas en placas de 24 pozos y confluencia 95%. En ambos casos, las muestras se incubaron durante 18 h en medios de cultivo apropiados, empleando los intervalos de concentración indicados. Como control de disolvente se usó DMSO (entre 0.1 y 0.5 %) y se usaron insulina (100 nM) y metformina (50 µM) como controles positivos. Después del tiempo de incubación se retiró el medio de cultivo y se lavó con PBS 1X frío. Se agregó a todos los pozos una solución 10 µM del análogo de glucosa fluorescente 2-NBDG [(2-(N-(7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol-4-il)amino)-2-deoxiglucosa)] disuelto en PBS 1X frío a todos los pozos y se incubó por 1 h a 37 °C en una atmósfera 95%-5% aire-CO₂ humidificado. Transcurrido el tiempo de incubación se lavó tres veces con PBS 1X frío, para finalmente agregar PBS 1X frío a los pozos y medir la intensidad de la fluorescencia de la 2-NBDG en un lector de microplacas Synergy HT (PerkinElmer), usando las longitudes de 485 nm (excitación) y 528 nm (emisión). Este ensayo se repitió co-incubando las células durante 18 h con los tratamientos y con insulina 100 nM en medio libre de suero, para inducir en las células un estado de resistencia a la insulina.

5.6. Análisis estadístico

Se realizaron análisis estadísticos de tipo paramétrico para todos los datos obtenidos, calculado las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) respecto a un grupo considerado como control, usando el programa GraphPad Prism 8 (GraphPad Inc., EE. UU.). Para los experimentos *in vivo* se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de dos vías con

una prueba *post hoc* Bonferroni; para los ensayos con células se aplicaron ANOVA de una vía seguidos de una prueba *post hoc* Dunnett o de una *post hoc* Tukey.

6. Resultados y discusión

El huazontle es un quelite que se consume en el Valle de México y que no posee estudios científicos que le confieran un valor agregado como especie medicinal útil para el tratamiento de desórdenes metabólicos. Por esta razón, se realizaron distintas pruebas a nivel preclínico de preparados de las inflorescencias de la especie y un estudio químico preliminar de un extracto orgánico, considerando como guía los lineamientos establecidos por la OMS para el estudio de especies vegetales que se usan en la Medicina Tradicional. Los resultados y discusión de esta investigación se presentan de forma integrativa, relacionando la evidencia farmacológica *in vivo* e *in vitro*, para posteriormente complementar con los resultados del estudio químico.

6.1. Inocuidad

El huazontle es un quelite cuyo consumo tradicional se remonta a la época prehispánica, pues se ha documentado que los aztecas comían la planta hervida y que además tenía un uso ceremonial ligado a sacrificios humanos (SIAP, 2017). Los platillos preparados con huazontle son muy populares en el Valle de México, en particular en la época de cuaresma y entre agosto y noviembre, cuando su producción aumenta (Linares Mazari & Bye, 2015). Este uso centenario y la falta de reportes toxicológicos dan cuenta de su seguridad; existe el antecedente del contenido de saponinas semillas y germinados del huazontle (5280.57 y 2873.23 mg/100·g, respectivamente), sin que este contenido represente un riesgo significativo para la salud de los consumidores (Barrón-Yáñez et al., 2009). En las evaluaciones que se realizaron en ratones, la administración aguda de la decocción de las inflorescencias (31.6 a 316 mg/kg) no indujo cambios conductuales perceptibles, signos de toxicidad en sistema nervioso central (convulsiones) ni autónomo (piloerección, midriasis o diarrea), así como tampoco provocó la muerte de ninguno de los animales. Por lo tanto, en esas dosis, la decocción del huazontle resultó ser inocua en ratones.

Por otra parte, las evaluaciones de citotoxicidad que se realizaron con el objetivo de establecer concentraciones máximas no tóxicas (porcentaje de muerte menor o igual a 20%) en líneas celulares presentaron que algunas de las concentraciones de las fracciones orgánicas

derivadas de la decocción CH1 (diclorometano) y CH2 (acetato de etilo) eran citotóxicas en hepatocitos HepG2 y miocitos C2C12 (**Figura 9**). Las concentraciones máximas no tóxicas fueron para CH1: 100 $\mu\text{g/mL}$ (HepG2) y 56.2 $\mu\text{g/mL}$ (C2C12); CH2: 100 $\mu\text{g/mL}$ (HepG2) y 56.2 $\mu\text{g/mL}$ (C2C12); CH3: 562 $\mu\text{g/mL}$ (HepG2) y 316 $\mu\text{g/mL}$ (C2C12). Por tanto, la fracción CH2 (AcOEt) presentó mayor actividad citotóxica respecto a la fracción CH1 (CH_2Cl_2) y al extracto orgánico total (CH3, $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$). Los resultados indican que las fracciones pueden dañar la integridad de las membranas celulares de modo concentración-dependiente y es por ello que se puede cuantificar la enzima citosólica LDH (Aslantürk, 2018).

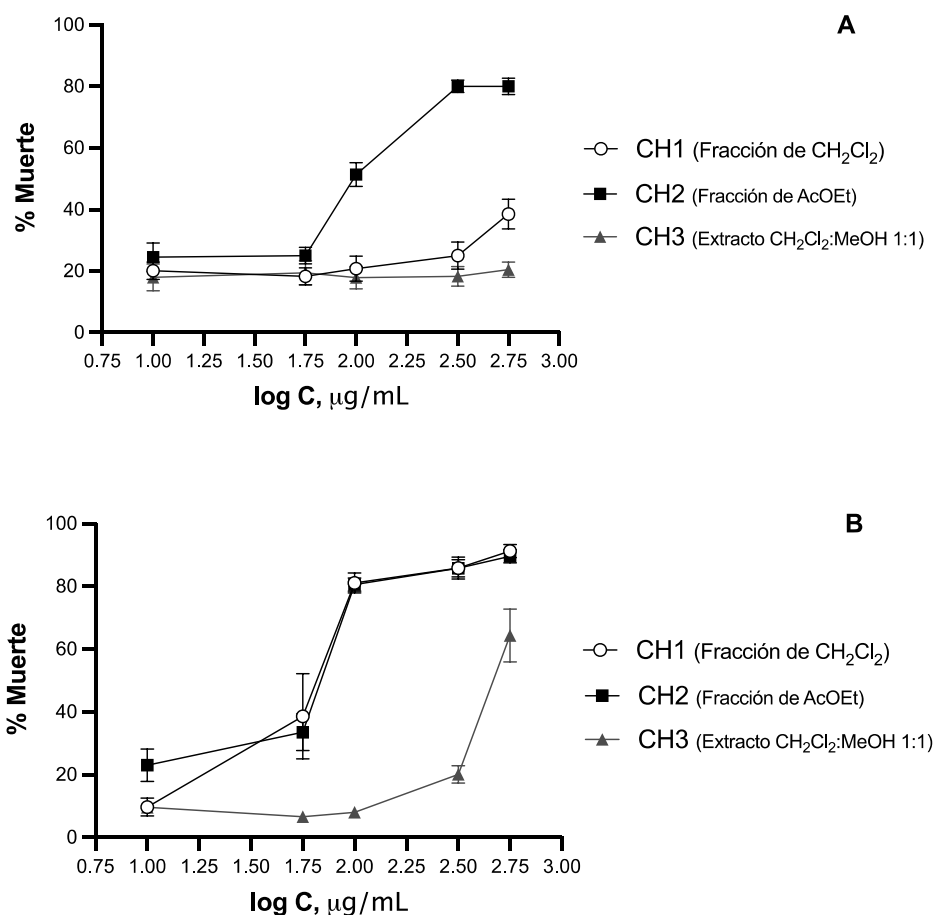


Figura 9. Determinación del potencial citotóxico mediante la liberación de LDH.

Panel A: Línea celular HepG2. **Panel B:** línea celular C2C12. CH1: fracción de CH_2Cl_2 ; CH2: fracción de AcOEt; CH3: extracto orgánico total $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ 1:1. Cada punto es el promedio \pm EEM de tres pases independientes con triplicados.

6.2. Evaluación de mecanismos de regulación de la glucemia

6.2.1. Eficacia antihiper glucémica: mecanismos de inhibición de enzimas α -glucosidasas

Los carbohidratos complejos de la dieta son hidrolizados a nivel intestinal por las enzimas α -glucosidasas presentes en las microvellosidades de los enterocitos, lo cual eleva la glucemia postprandial. En el modelo de tolerancia a la sacarosa oral se imitan las condiciones hiper glucémicas en ratones al suministrar una carga de sacarosa, un sustrato de las enzimas α -glucosidasas. Por tanto, si los preparados de prueba son capaces de reducir la magnitud del pico postprandial generado por el disacárido, dicho efecto se correlaciona con la inhibición de estas enzimas, tal como lo hace la acarbosa, el control positivo del experimento. Como se observa en el curso temporal de la **Figura 10**, sólo la dosis más baja de la decocción de las inflorescencias del huazontle (DCB, 31.6 mg/kg) redujo de forma significativa ($p < 0.05$) el incremento de glucosa asociado con la hidrólisis del disacárido sacarosa en el pico postprandial (15 min). Después de ese tiempo, la glucemia de los animales tratados con las dosis de 31.6 y 100 mg/kg se reduce respecto al control, pero sin una diferencia estadística significativa.

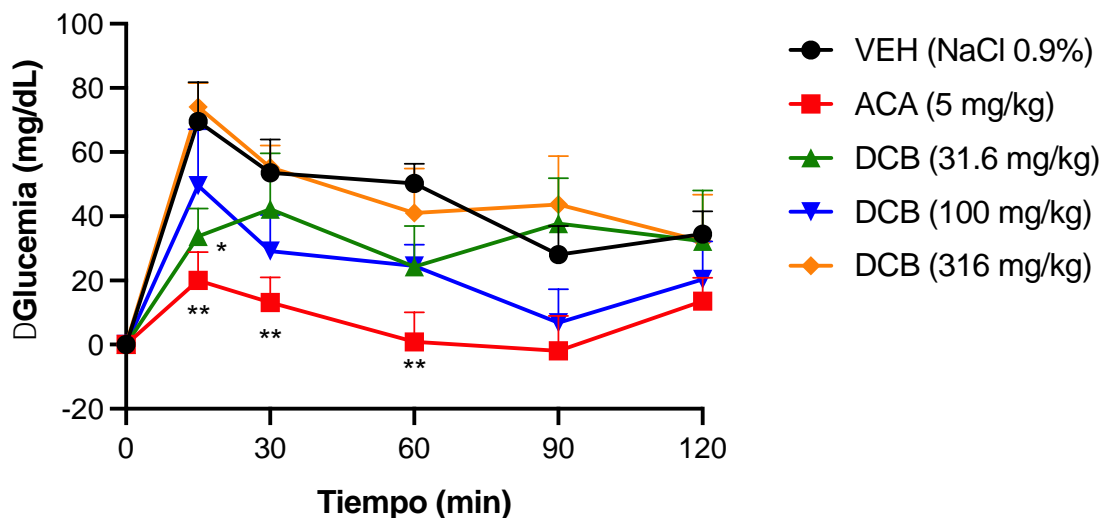


Figura 10. Tolerancia a la sacarosa oral de la decocción de las inflorescencias de huazontle (DCB) en ratones normoglucémicos.

VEH, vehículo (NaCl 0.9 %), ACA, acarbosa 5 mg/kg. Cada punto representa el promedio \pm EEM de $n = 6$. * $p < 0.05$ y ** $p < 0.01$, ANOVA de dos vías, *post hoc* Bonferroni.

La acción antihiper glucémica frente a sacarosa *in vivo* se corroboró con dos ensayos de inhibición de enzimas α -glucosidasas: uno con enzima de levadura y otro, con un crudo enzimático de mamífero. Se evaluaron las fracciones orgánicas de diclorometano (CH1) y acetato de etilo (CH2) derivadas de la decocción. Los resultados que se presentan en la **Tabla 3** indican que las fracciones inhiben entre 27 y 65% a la enzima α -glucosidasa aislada de levadura, y que poseen menor actividad inhibitoria en el crudo enzimático del raspado intestinal de rata (entre 10.5 y 16%), lo cual sustenta las acciones observadas en los ratones: la decocción del huazontle posee una actividad inhibitoria de baja a moderada sobre las enzimas α -glucosidasas intestinales, lo cual constituye un efecto farmacológico inédito para esta especie.

Tabla 3. Ensayos de inhibición sobre enzimas α -glucosidasas

Muestra	α -glucosidasa de levadura		Crudo enzimático de rata	
	Concentración	% Inhibición	Concentración	% Inhibición *
Acarbosa**	10 mM	86.97 \pm 1.79	30 mM	80.35 \pm 3.81
CH1	200 ppm	27.77 \pm 6.21	200 ppm	10.5 \pm 2.5
	1000 ppm	65.35 \pm 12.5	1000 ppm	16.1 \pm 2.3
CH2	200 ppm	66.82 \pm 3.03	200 ppm	13.89 \pm 5.5
	1000 ppm	62.14 \pm 0.81	1000 ppm	12.7 \pm 2.8

* Los valores están expresados como el promedio \pm desviación estándar. **Control positivo.

Se ha reportado que otras especies del género *Chenopodium* poseen capacidad inhibitoria moderada de las enzimas α -glucosidasas *in vitro*. Por ejemplo, las saponinas ácido 2 β -hidroxioleanoico y 2 β -hidroxigipsogenina aisladas de *C. bonus-henricus* L., inhibieron entre 30 y 44% a la enzima α -glucosidasa a una concentración de 625 μ M (Kokanova-Nedialkova, Kondeva-Burdina, & Nedialkov, 2021). Por otra parte, algunos extractos ricos en polifenoles de la especie *C. quinoa* Willd fueron activos a concentraciones altas (concentraciones inhibitorias medias entre 69 y 850 μ g/mL); dichos extractos contenían ácido gálico, ácido ferúlico, rutina y quercetina, los cuales son inhibidores conocidos de la enzima α -glucosidasa (Dong, Hu, Yue, Wang, & Ku, 2021; Han et al., 2019). También se ha descrito que el péptido IQAEGGLT (787.40 Da) identificado en la harina de *C. quinoa* inhibió entre 28 y 55% a la enzima α -glucosidasa (Vilcacundo, Martínez-Villaluenga, & Hernández-Ledesma, 2017).

6.2.2. Eficacia antihiper glucémica: mecanismos insulino trópicos

6.2.2.1. Prueba de tolerancia a la glucosa oral

Se evaluó el efecto antihiper glucémico *in vivo* de la decocción del huazontle (DCB) en una prueba de tolerancia a la glucosa oral en ratones normoglucémicos e hiper glucémicos inducidos con estreptozotocina. Esta prueba permite analizar dos tipos de mecanismos de homeostasis de la glucosa: aquéllos relacionados con la secreción de insulina y los que se deban a la captación de glucosa en tejidos periféricos. Los resultados de la prueba se muestran en las **Figuras 11 y 12**. Las tres dosis evaluadas de la decocción (DCB, 31.6-316 mg/kg) redujeron significativamente la magnitud del pico postprandial debido a la carga de glucosa administrada a los animales de prueba. El efecto antihiper glucémico fue más notorio en los ratones hiper glucémicos (**Figura 12**) que en aquéllos normoglucémicos (**Figura 11**), lo cual dio pauta a proponer que la eficacia de la especie puede estar relacionada con mecanismos insulino trópicos, es decir, que los metabolitos presentes en la especie promueven la secreción de insulina y/o las acciones metabólicas de la hormona, favoreciendo así la captura de glucosa en tejidos periféricos y, en consecuencia, reduciendo la hiper glucemia.

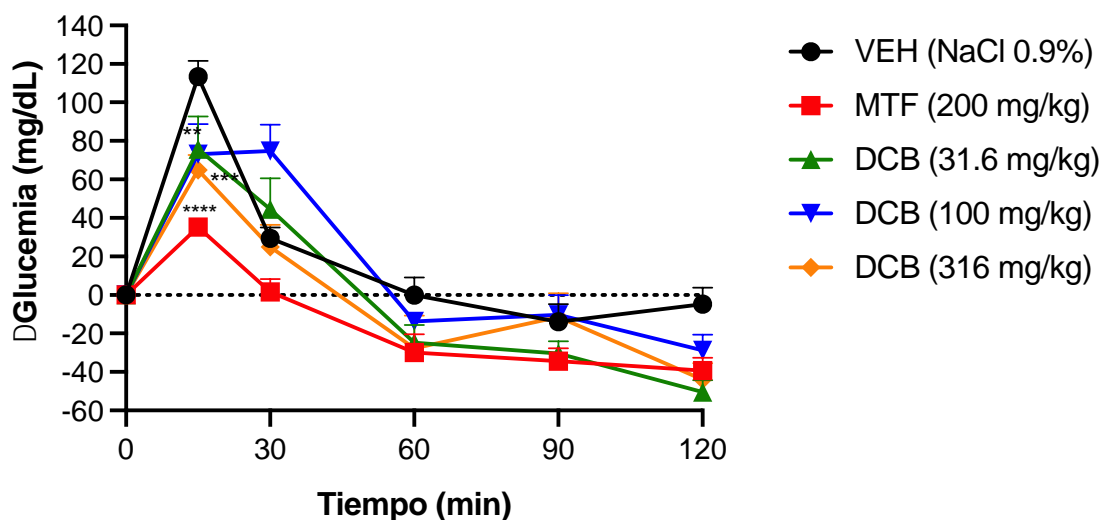


Figura 11. Tolerancia a la glucosa oral de la decocción de las inflorescencias de huazontle (DCB) en ratones normoglucémicos.

VEH, vehículo (NaCl 0.9 %), MTF, metformina 200 mg/kg. Cada punto representa el promedio \pm EEM de $n = 6$. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ y **** $p < 0.0001$. ANOVA de dos vías, *post hoc* Bonferroni.

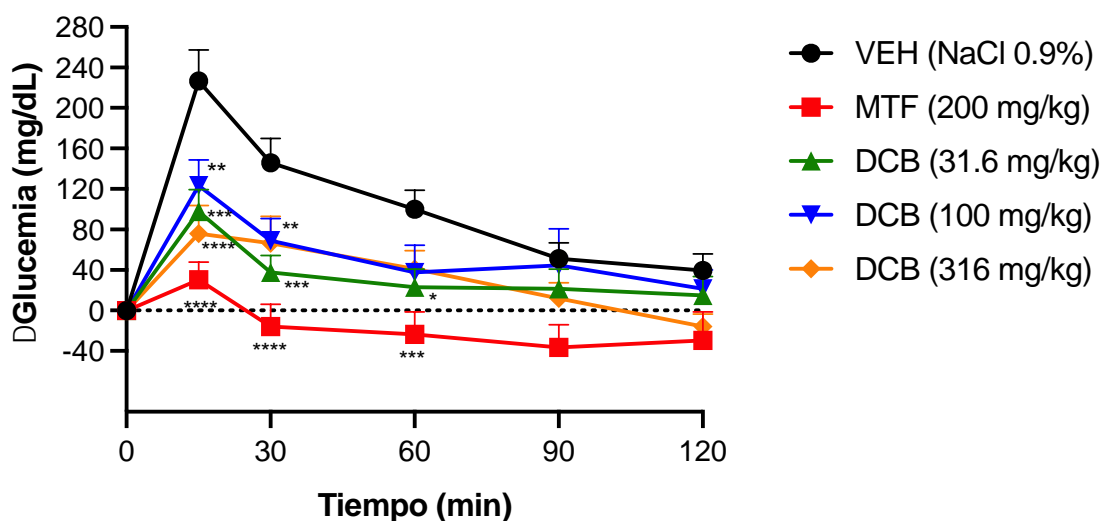


Figura 12. Tolerancia a la glucosa oral de la decocción de las inflorescencias de huazontle (DCB) en ratones hiperglucémicos.

VEH, vehículo (NaCl 0.9 %), MTF, metformina 200 mg/kg. Cada punto representa el promedio \pm EEM de $n = 6$. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ y **** $p < 0.0001$. ANOVA de dos vías, *post hoc* Bonferroni.

Para comprobar la capacidad sensibilizadora a la insulina del huazontle, se determinó la actividad inhibitoria de las fracciones orgánicas derivadas de la decocción (diclorometano, CH1, y acetato de etilo, CH2) y del extracto orgánico total (CH3) sobre la PTP1B, usando ácido ursólico 1 mM como control positivo (CI_{50} 0.038 mM). Los resultados de este experimento se muestran en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Inhibición *in vitro* de la enzima PTP1B

Muestra	Concentración (ppm)	%Inhibición*
CH1	200	96.5 \pm 0.5
	1000	102.7 \pm 1.6
CH2	200	98.15 \pm 0.3
	1000	99.7 \pm 0.7
CH3	200	97.0 \pm 1.2
	1000	100.2 \pm 1.5

* Los valores están expresados como el promedio \pm desviación estándar.

Se pudo determinar que todas las muestras evaluadas inhibían la actividad de la PTP1B casi en su totalidad. Esta acción explica en parte los efectos observados *in vivo* durante la prueba de tolerancia a la glucosa, ya que la inhibición de la PTP1B promueve y da continuidad a los efectos de la insulina y disminuye la resistencia a la hormona. La inhibición de PTP1B contribuye a la reducción de la magnitud del pico postprandial y a la manutención de los niveles de glucemia bajos luego de la desaparición de dicho pico, tal como se observó para los animales hiperglucémicos. Cabe destacar que del huazontle se ha aislado y caracterizado al ácido oleanólico, un inhibidor de la PTP1B (Lazo-Vélez, Guajardo-Flores, Mata-Ramírez, Gutiérrez-Urbe, & Serna-Saldivar, 2016b), por lo que es muy probable que en esta especie existan otros compuestos de tipo triterpénico que sean de inhibidores de la PTP1B.

6.2.2.2. Ensayos de captación de glucosa en modelos basados en células

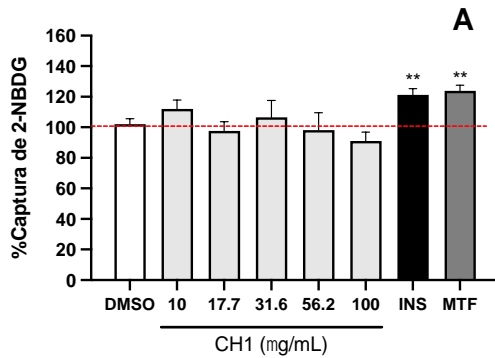
La insulina secretada durante la fase postprandial regula la captación de glucosa en músculos e hígado, pues éstos son tejidos especializados en su almacenamiento en forma de glucógeno. El músculo esquelético es uno de los tejidos con mayores requerimientos de glucosa por su rol principal en la actividad física, en tanto que el hígado es un centro de control sistémico de la glucemia y del anabolismo de múltiples moléculas a partir de la glucosa (Chadt & Al-Hasani, 2020). El equilibrio en la liberación de insulina se ve perturbado en los estados de ingreso muy rápido de glucosa a la sangre, como en comidas altas en carbohidratos, los cuales exigen una producción elevada de insulina para mantener la homeostasis. Cuando persisten, la hiperglucemia y la hiperinsulinemia se retroalimentan de forma positiva. La exposición a concentraciones altas de insulina induce un estado de resistencia a la insulina (insulinorresistencia), que se caracteriza porque los efectos de la insulina no se llevan a cabo correctamente en los tejidos hepático, muscular y adiposo, y es típica de padecimientos como la prediabetes, el síndrome metabólico, la diabetes mellitus tipo 2, la aterosclerosis y enfermedad del hígado graso. La evidencia más reciente señala que dependiendo del tejido afectado, la insulinorresistencia altera distintos mediadores de la cascada de señalización de la insulina, como los IRS o AKT/PKB (Petersen & Shulman, 2018). Existen diversas estrategias farmacológicas y no farmacológicas para revertir la resistencia a la insulina. Por ejemplo, la reducción de carbohidratos en la dieta y el ejercicio promueven los efectos de la

insulina mediante la movilización de la glucosa. Por otra parte, la terapia farmacológica es útil porque incrementa la sensibilidad a la insulina mediante la corrección del funcionamiento de los intermediarios de la señalización de la insulina (como la metformina), mejora los procesos en el metabolismo de la insulina (como las sulfonilureas) o bien, mimetiza los efectos de la insulina (como las insulinas exógenas) sin promover el estado de hiperglucemia y la retroalimentación positiva entre la hiperinsulinemia y la insulinoresistencia (Leclercq, Da Silva Morais, Schroyen, Van Hul, & Geerts, 2007).

En ese sentido, y para complementar los resultados de los ensayos antihiperglucémicos en ratones, se evaluó la capacidad de las fracciones orgánicas derivadas de la decocción (diclorometano, CH1, y acetato de etilo, CH2) y del extracto orgánico total (CH3) para inducir la captación de glucosa en dos líneas celulares: hepatocitos humanos HepG2 (**Figura 13**) y miocitos de ratón C2C12 (**Figura 14**), con o sin resistencia a la insulina.

Los resultados obtenidos en las células hepáticas se muestran en la **Figura 13**. Cuando se evaluaron en células sin resistencia a la insulina, ninguna de las concentraciones de CH1 fue activa (10-100 $\mu\text{g/mL}$; panel A), CH2 sólo incrementó la captación de glucosa de manera significativa ($p < 0.01$) a la concentración de 13.3 $\mu\text{g/mL}$ (panel C), y la concentración de 316 $\mu\text{g/mL}$ de CH3 presentó una tendencia al aumento en la captación de glucosa (panel E). Por otra parte, al repetir el ensayo en células hepáticas insulinoresistentes, sólo la concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ de CH1 aumentó significativamente la captura de glucosa ($p < 0.05$, panel B), y las concentraciones de 31.6 $\mu\text{g/mL}$ de CH2 (panel D), y 100 $\mu\text{g/mL}$ de CH3 (panel F) mostraron una tendencia al aumento en la captación de glucosa en este tipo de células. Adicionalmente, la respuesta de la insulina disminuyó en las células insulinoresistentes respecto a las no insulinoresistentes, mientras que la respuesta de la metformina se mantuvo sin cambio en ambos tipos de células.

Células no insulinoresistentes



Células insulinoresistentes

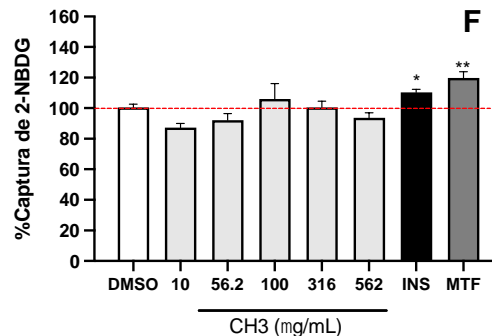
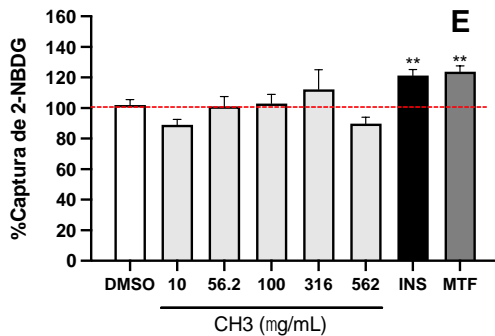
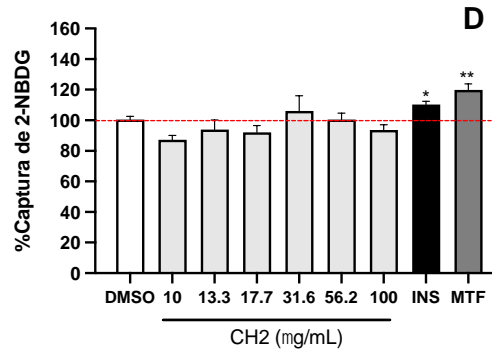
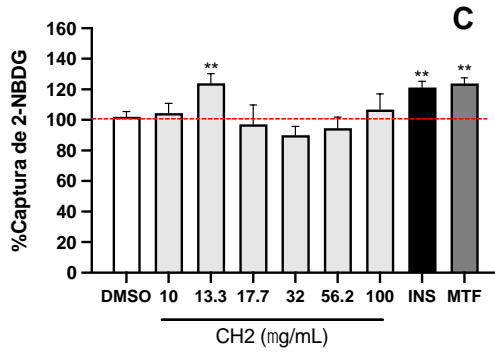
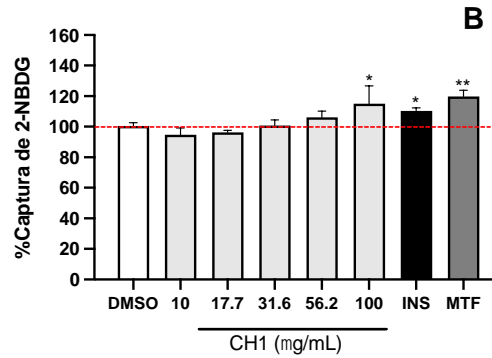


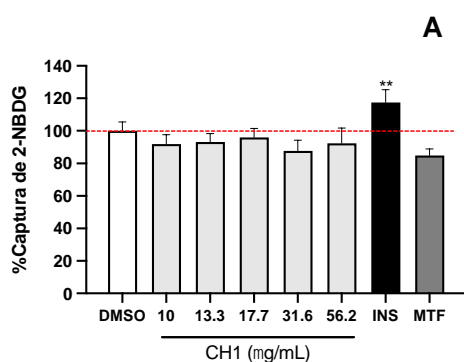
Figura 13. Porcentaje de captura de 2-NBDG en hepatocitos HepG2.

Paneles A y B: CH1, fracción orgánica de CH₂Cl₂; **paneles C y D:** CH2, fracción orgánica de AcOEt; **paneles E y F:** CH3, extracto orgánico total. Cada barra representa el promedio ±EEM de n = 3-5 experimentos con triplicados. **p* < 0.05, ***p* < 0.01. ANOVA de una vía, *post hoc* Dunnett.

Adicionalmente, fue evaluada la captura de glucosa inducida por las fracciones orgánicas derivadas de la decocción (diclorometano, CH1, y acetato de etilo, CH2) y el extracto orgánico total (CH3) en miocitos de ratón. Los resultados obtenidos se muestran en la **Figura 14**. Como puede observarse, a diferencia de la insulina (INS), que sí fue activa, ni la metformina (MTF) ni ninguno de los tratamientos fue activo en células sin resistencia a la insulina, (paneles A, C, y E), pero CH1 (17-56 µg/mL, panel B), CH2 (10-56 µg/mL, panel D) y CH3 (31 y 56 µg/mL) incrementaron de modo significativo la captación de glucosa en las células insulinoresistentes respecto a la condición sin insulinoresistencia. Este mismo efecto se observó para la metformina, cuyo mecanismo de incremento en la captura de glucosa es independiente de la insulina e implica la movilización de glucosa por traslocación de GLUT4 como consecuencia de la activación de AMPK (Ke, Xu, Li, Luo, & Huang, 2018). Por otra parte, la insulina perdió su efecto en las células insulinoresistentes. En conjunto, los resultados sugieren que los metabolitos secundarios presentes en la decocción y en general, en la especie, pudieran aumentar la captura de glucosa en el hígado y músculo esquelético en estadios previos a la insulinoresistencia, y después de que ésta se presenta, contribuyendo así a la reducción de la glucemia observada *in vivo*.

Hay evidencia quimiotaxonómica que apoya esta propuesta, pues otras especies del género *Chenopodium* modifican la resistencia a la insulina. Por ejemplo, el extracto acuoso de las cáscaras de *C. formosanum* Koidz incrementó la captación de glucosa en adipocitos 3T3-L1 (Hsu, Pan, Wu, Ho, & Hwang, 2018). Por su parte, *Chenopodium quinoa* (quinoa) ha sido estudiada en ratones diabéticos y en humanos prediabéticos. En una investigación con ratones diabéticos alimentados con dieta alta en grasa, la harina de quinoa redujo la hiperglucemia y la hiperinsulinemia, sugiriendo un efecto sensibilizante a la hormona (Selma-Gracia, Haros, & Laparra, 2020). En ratas con resistencia a la insulina (inducida con dexametasona), la suplementación con semillas de quinoa redujo la resistencia a la insulina y mejoró parámetros de funcionamiento hepático (transaminasas) y renal (creatinina) alterados por la resistencia a la insulina (Erfidan, Dede, Usta, Yükses, & Çetin, 2022). Finalmente, en humanos prediabéticos, un preparado de quinoa redujo de manera significativa el índice de masa corporal y la hemoglobina glicosilada, manteniendo los niveles de glucemia estables (Abellán Ruiz et al., 2017).

Células no insulinoresistentes



Células insulinoresistentes

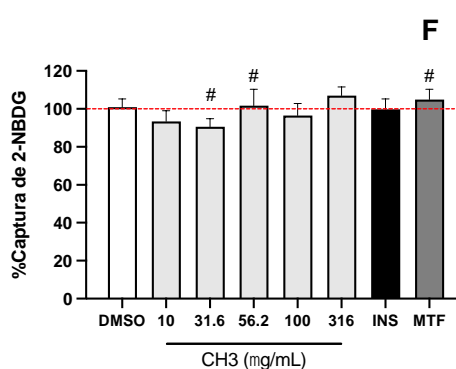
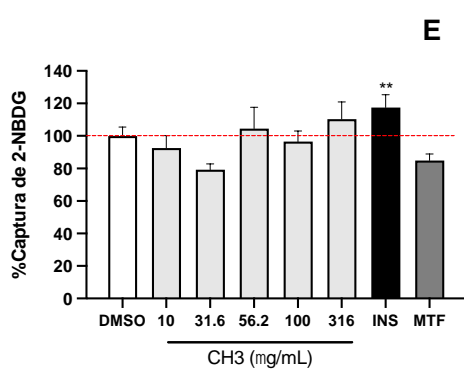
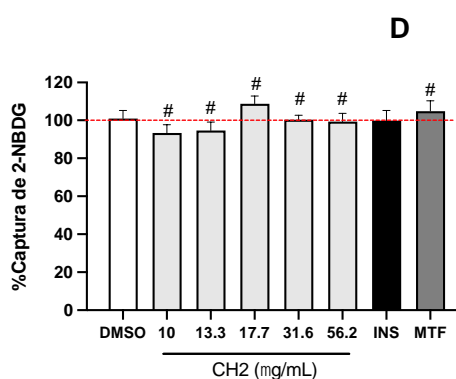
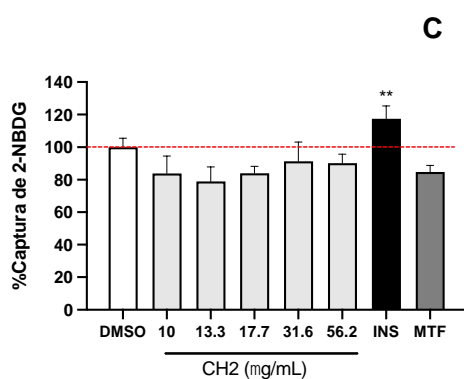
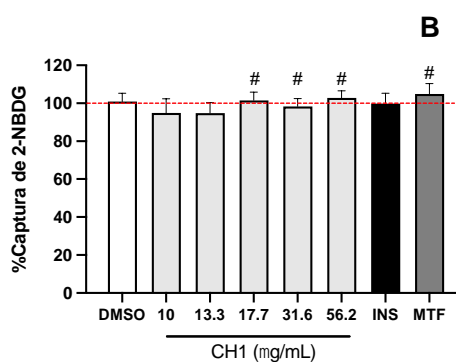


Figura 14. Porcentaje de captura de 2-NBDG en miocitos C2C12.

Paneles A y B: CH1, fracción orgánica de CH₂Cl₂; **paneles C y D:** CH2, fracción orgánica de AcOEt; **paneles E y F:** CH3, extracto orgánico total. Cada barra representa el promedio ± EEM de n = 5-8 experimentos. ***p* < 0.01 respecto al control de DMSO, # *p* < 0.05 respecto a la condición no insulinoresistente. ANOVA de una vía, *post hoc* Dunnett o *post hoc* Tukey.

6.3. Estudio químico

Los estudios farmacológicos *in vivo* e *in vitro* demostraron que las inflorescencias del huazontle contienen principios bioactivos que participan en la homeostasis de la glucosa. Debido al bajo rendimiento (menor a 0.1 g/100 g de material vegetal) de extracción de las fracciones orgánicas de CH₂Cl₂ (CH1) y de AcOEt (CH2) de la decocción, se decidió explorar la composición química del extracto orgánico total de CH₂Cl₂:CH₃OH 1:1 (CH3), que también fue activo en los ensayos de inhibición de la PTP1B y que manifestó actividad promisoriosa en los ensayos de captación de glucosa en hepatocitos y miocitos.

A partir la fracción primaria XI se obtuvieron 420 mg de un sólido blanco amorfo de p.f. 64-66 °C. El espectro de IR evidenció la presencia de bandas intensas en 3273, 2955, 2916, 2848, 1472 y 1462 cm⁻¹ consistentes con la presencia de grupos hidroxilos y alifáticos (Figura 15).

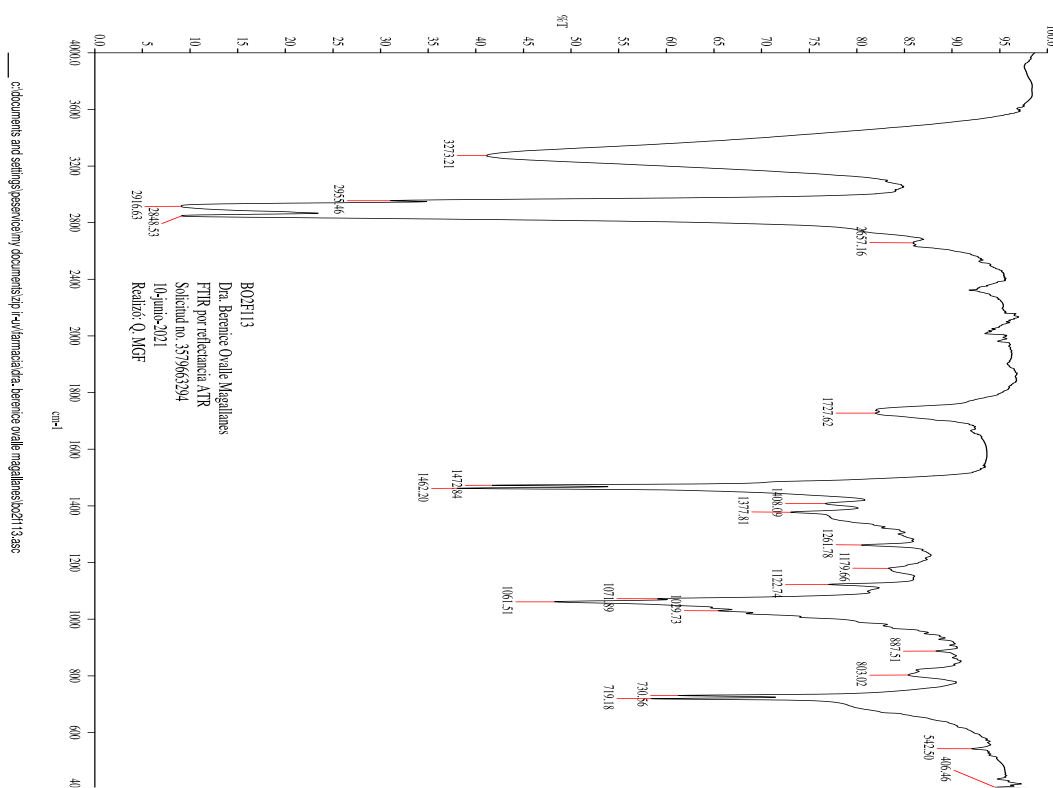


Figura 15. Espectro IR del sólido obtenido de la fracción XI.

El cromatograma iónico total de la muestra, obtenido por cromatografía de gases (**Figura 16**), permitió visualizar la presencia de tres componentes (*a-c*) en los tiempos de retención (t_R) 32.5, 33.76 y 35.48 min, respectivamente, siendo el pico en t_R 33.76 min (*b*) el más abundante.

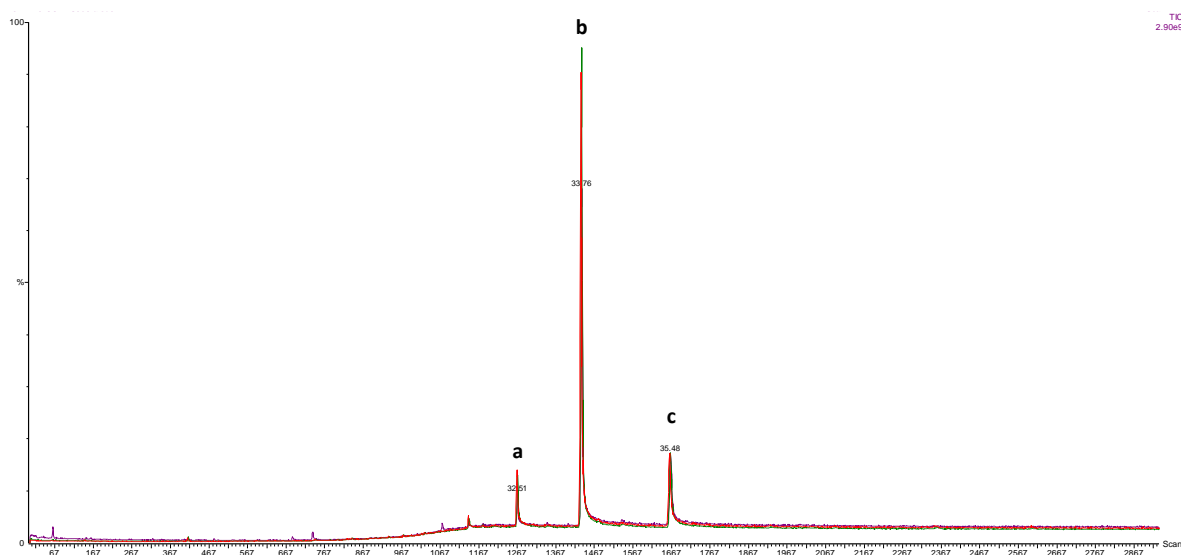
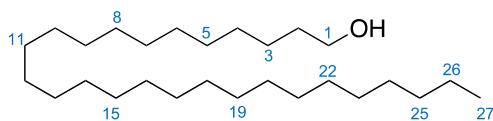


Figura 16. Cromatograma iónico total de la fracción XI.

El espectro de masas (**Figura 17**) obtenido para el compuesto mayoritario mostró el patrón de fragmentación típico de un *n*-alcano, con un pico base en m/z 57, característico del fragmento $[\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2]^+$. La comparación de este espectro con la base de datos del equipo y con los depositados en la biblioteca del National Institute of Standards and Technology (NIST), indicaron que el compuesto mayoritario de la fracción XI era el alcohol primario 1-heptacosanol ($\text{C}_{27}\text{H}_{56}\text{O}$) (**16**).



1-heptacosanol (16)

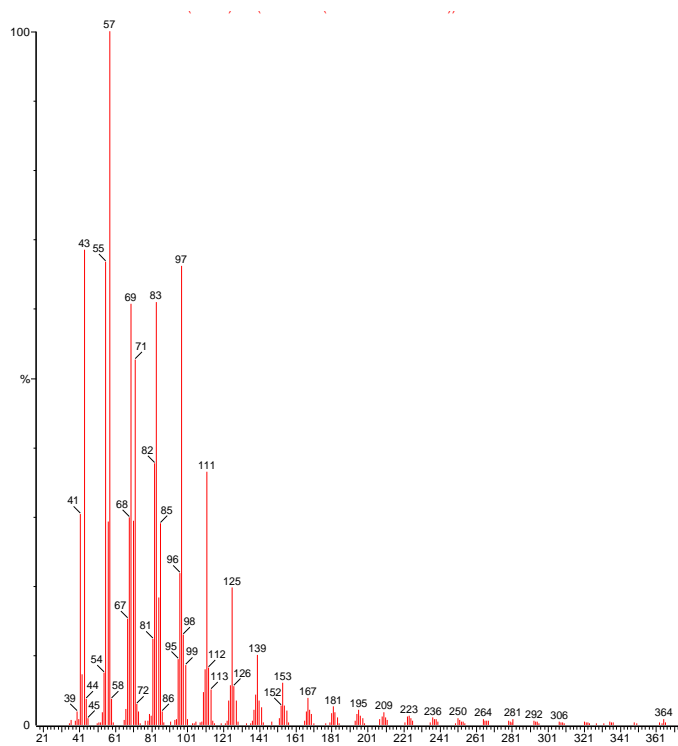


Figura 17. Espectro de masas del 1-heptacosanol (16)

Adicionalmente, el análisis de los espectros de RMN ^1H y ^{13}C (CHCl_3-d) de la fracción XI y su comparación con lo reportado previamente (Gutiérrez-Martínez, 1992; Makhafola et al., 2017) permitió corroborar que efectivamente ésta consistía en una mezcla de alcoholes lineales saturados, y que el 1-heptacosanol (**16**) era el compuesto mayoritario. El espectro de RMN ^1H (**Figura 18**) reveló una señal en δ_{H} 3.64 (t, $J = 6.6$ Hz) atribuible a los hidrógenos del hidroximetileno (H-1), una señal múltiple en δ_{H} 1.57 indicativo de un metileno (H-2), una señal en δ_{H} 1.25 (singulete ancho) debida a los hidrógenos de los metilenos de una cadena alifática (H-3 a H-26), y una señal múltiple centrada en δ_{H} 0.57 generada por el metilo del alcohol (H-27). La integración de estas señales dio cuenta de la presencia de más de un compuesto, pero de la misma naturaleza.

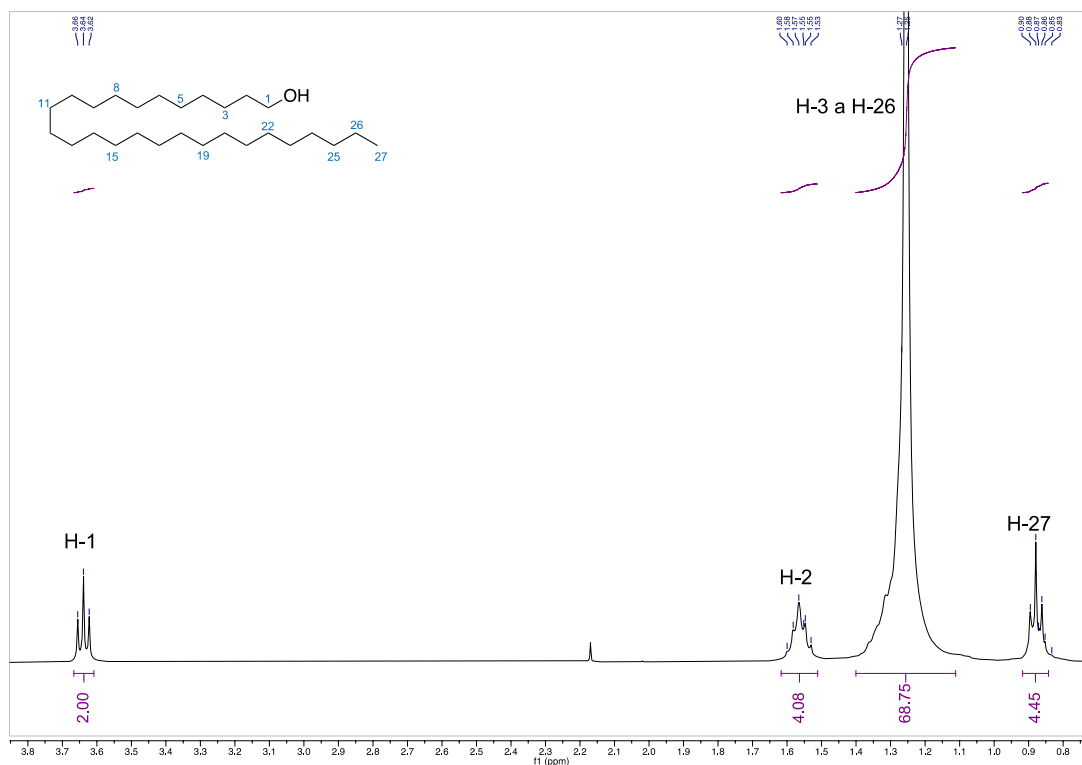


Figura 18. Espectro ¹H-RMN de fracción XI en CH₃Cl-d (400 MHz).

Por otra parte, el espectro de RMN ¹³C (**Figura 19**) presentó características de un derivado de ácido graso, con señales en δ_c 63.3 (carbono base de oxígeno, C-1), δ_c 32.9 (metileno alfa al carbono base de oxígeno, C-2), δ_c 32.1, 29.5, 29.6 y 26 atribuibles a metilenos, δ_c 29.9 asignable a los metilenos de la cadena alifática (C-4 a C-24), δ_c 22.8 correspondiente a un metileno en posición C-26, y δ_c 14.2 asignada al metilo en C-27.

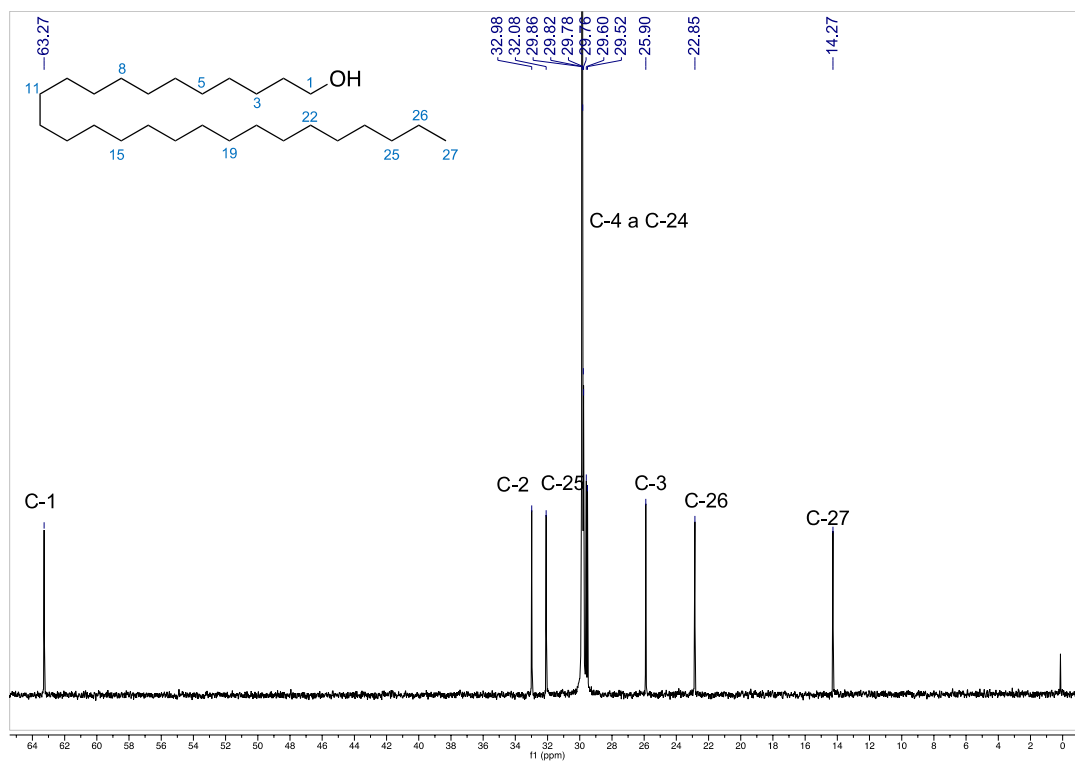


Figura 19. Espectro ¹³C-RMN de fracción XI en CH₃Cl-*d* (400 MHz).

De la fracción XII se analizaron dos fracciones secundarias, XII₁₂ y XII₁₃, cuyos fraccionamientos posteriores resultaron en polvos blancos con p.f. superiores a 150 °C. El espectro de IR de uno de los polvos derivados de la fracción XII₁₂ (XII_{12D}) evidenció la presencia de bandas intensas en 3418, 2933, 2863, 1463 y 1376 cm⁻¹ relacionados con grupos hidroxilos, alquenos y alifáticos (**Figura 20**).

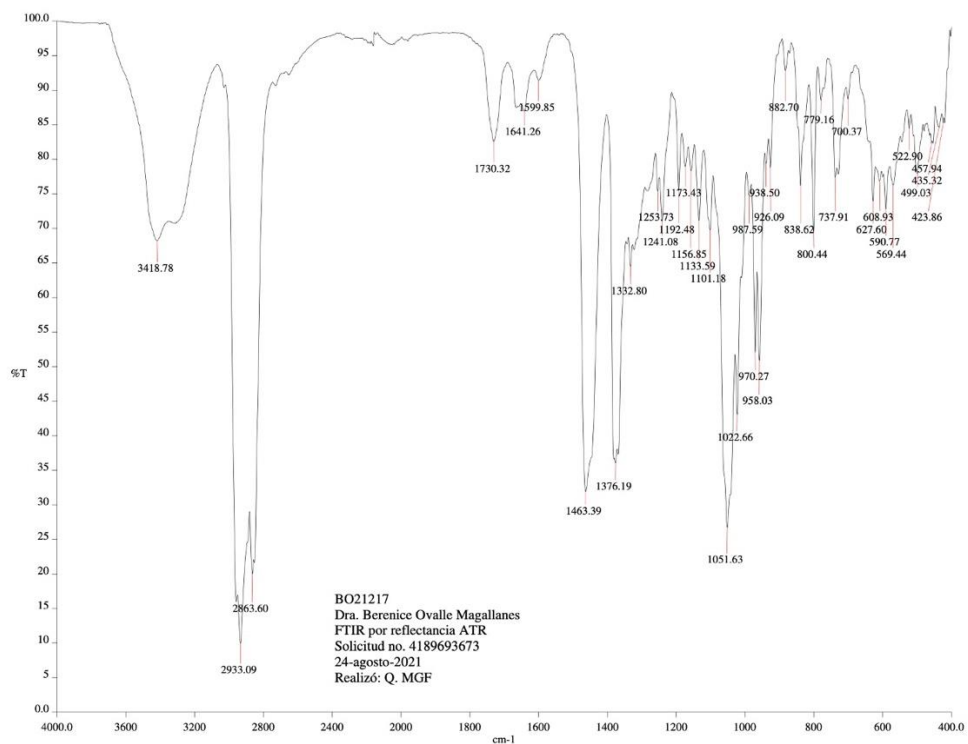


Figura 20. Espectro IR del sólido obtenido de la fracción XII_{12D}.

El cromatograma iónico total de la muestra, obtenido por cromatografía de gases, (**Figura 21**), señala la presencia de cuatro picos (*a-d*) en los tiempos de retención 13.84, 14.11, 14.45 y 14.57 min, respectivamente. El pico en t_R 14.11 min (*b*) resultó ser el más abundante, seguido del pico *d* (t_R 14.57 min), el *a* (t_R 13-84 min), y finalmente, el *c* (t_R 14.45 min).

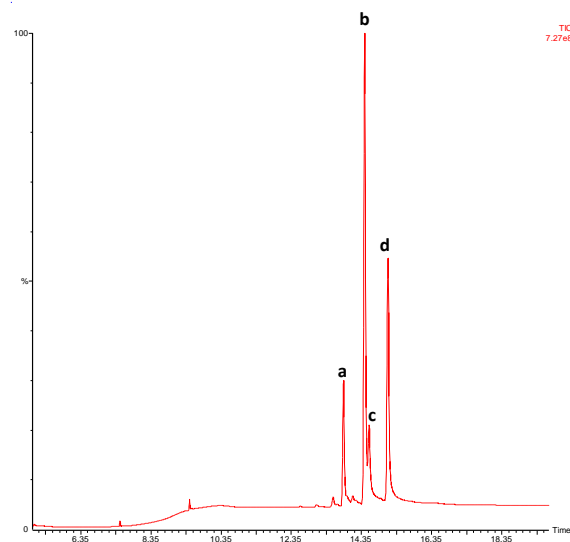


Figura 21. Cromatograma iónico total de la fracción XII_{12D}.

Los espectros de masas obtenidos para los picos de esta fracción y su posterior comparación con la literatura, permitieron identificarlos como esteroides de 29 carbonos (C₂₉) con distintos grados de insaturación: estigmasterol (pico *a*, **17**), β -sitosterol (pico *b*, **18**), estigmastanol (pico *c*, **19**) y (3 β , 5 α)-estigmast-7-en-3-ol (pico *d*, **20**) (**Figura 22**).

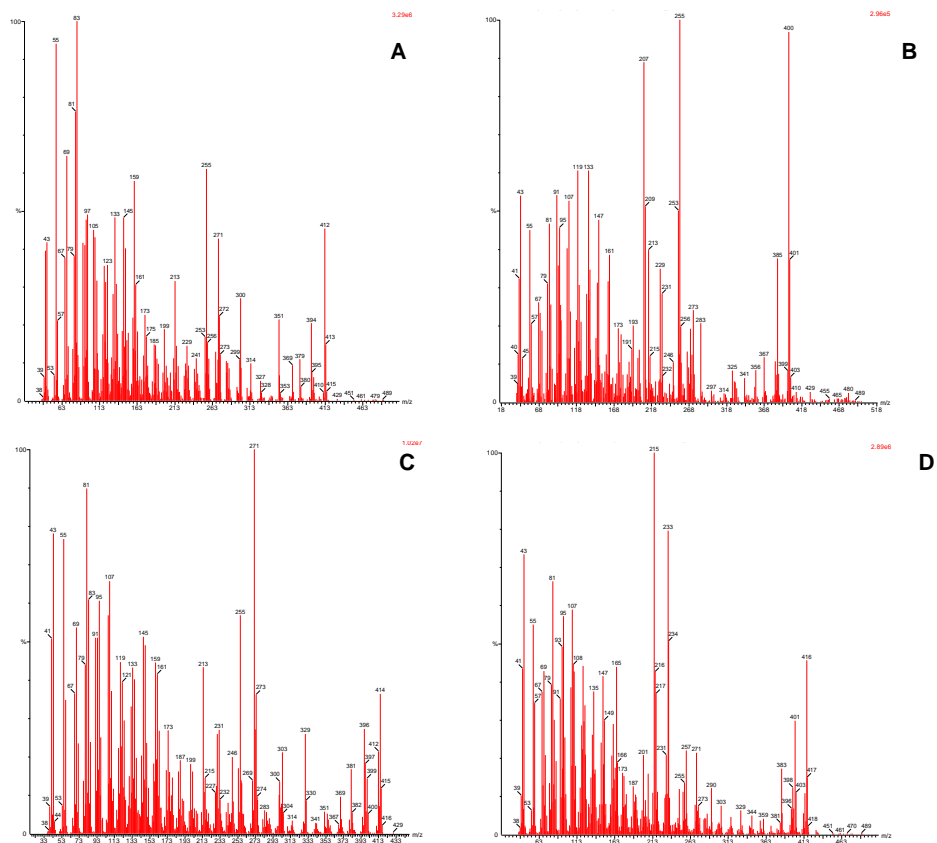
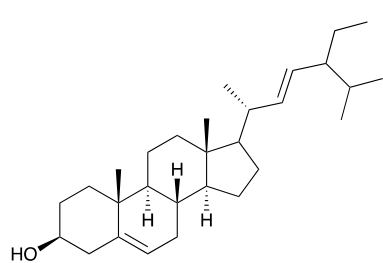
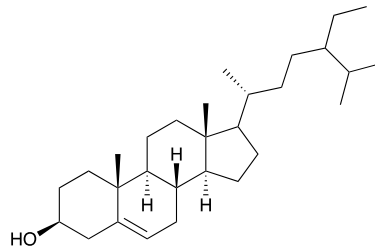


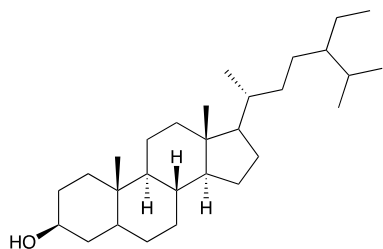
Figura 22. Espectros de masas de los componentes de la fracción XII-12D.



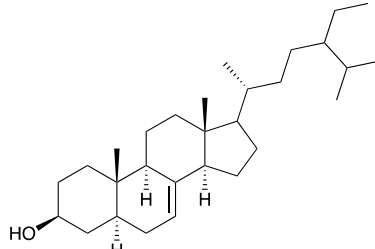
Estigmasterol (17)
C₂₉H₄₈O



β-sitosterol (18)
C₂₉H₅₀O

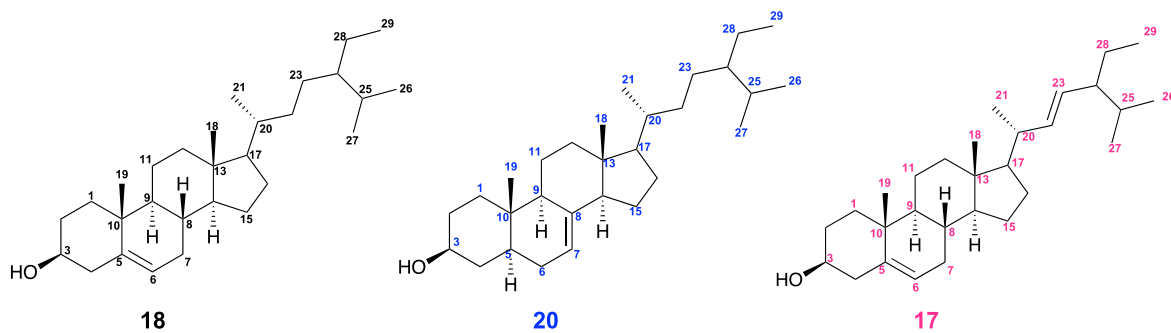


Estigmastanol (19)
C₂₉H₅₂O



(3β,5α)-estigmast-7-en-3-ol (20)
C₂₉H₅₀O

El análisis de los espectros de RMN ^1H y ^{13}C ($\text{CHCl}_3\text{-}d$) de la fracción XII_{12D} y su comparación con lo reportado previamente en la literatura (Delseth, Kashman, & Djerassi, 1979; Garg & Nes, 1984; Giner et al., 2002; Kojima, Sato, Hatano, & Ogura, 1990) dio pauta a la identificación de las señales características del núcleo esterol (como el protón base de oxígeno o las múltiples señales de metilos entre 1.01 y 0.68) y de otras que sirvieron para corroborar la presencia de los componentes *a-c* en la mezcla. En primer lugar, las señales diagnósticas en el espectro ^1H para el compuesto mayoritario β -sitosterol (**18**) se encontraron en δ_{H} 5.35 (*m*) asignable al H-6 vinílico, y en δ_{H} 3.51 (*m*) aquella atribuible a H-3. Por su parte, dos señales en este espectro permitieron identificar al (3 β , 5 α)-estigmast-7-en-3-ol (**20**): δ_{H} 3.59 (*m*, H-3) y δ_{H} 5.15 (*m*) debida al H-7 vinílico. Finalmente, el estigmasterol (**17**) fue identificado con las señales en δ_{H} 5.35 (*m*, H-6), 5.15 (*m*, H-23), y 5.01 (*dd*, H-22). La **Figura 23** muestra las asignaciones de estas señales en distintos colores (negro para **18**, azul para **20**, y rosa para **17**).



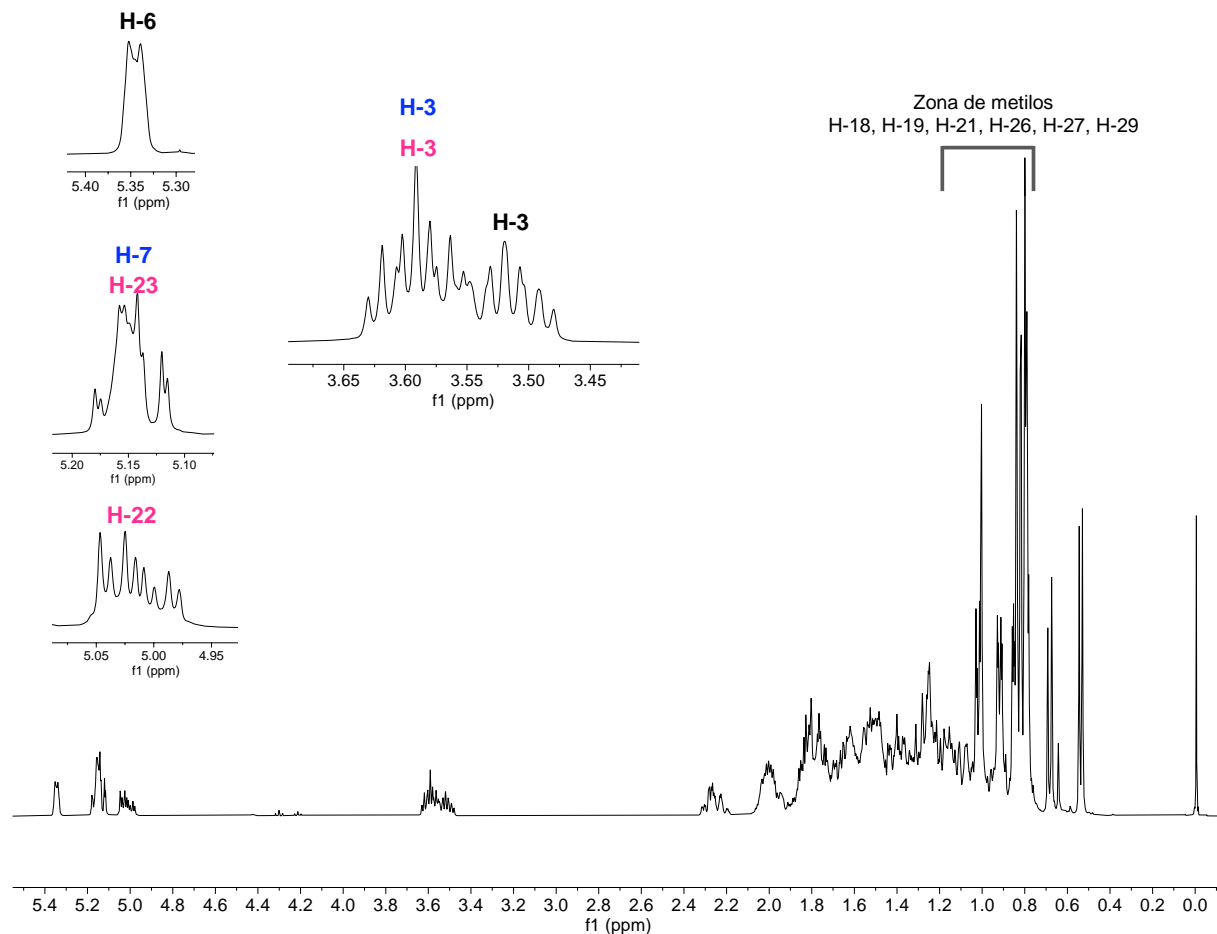


Figura 23. Espectro ^1H -RMN de fracción XII_{12D} en CH_3Cl -*d* (400 MHz).

Se muestran las ampliaciones de las señales diagnósticas. En negro para el para el esteroil **18**, en azul para el esteroil **20**, y en rosa para el esteroil **17**.

De la misma manera, se identificaron señales diagnósticas en el espectro ^{13}C para los esteroides **18**, **20** y **17**. Para el esteroil mayoritario, β -sitosterol (**18**), se asignaron señales en δ_{C} 140.9 (C-5 cuaternario vinílico), 121.9 (C-6 vinílico), 71.9 (C-3, base de oxígeno), 56 (C-17) y 38 (C-1). Luego, las señales determinadas para el (3 β , 5 α)-estigmast-7-en-3-ol (**20**) fueron δ_{C} 139.8 (C-8 cuaternario vinílico), 117.6 (C-7 vinílico), 71.2 (C-3, base de oxígeno), 56.2 (C-17), 49.6 (C-9) y 37.3 (C-1). Por último, las señales asignadas al estigmasterol (**17**) fueron δ_{C} 140.9 (C-5 cuaternario vinílico), 138.5 (C-22 vinílico), 129.4 (C-23 vinílico), 71.9 (C-3, base de oxígeno), 51.4 (C-24), y 37.4 (C-1). La **Figura 24** muestra las asignaciones de estas señales en distintos colores (negro para **18**, azul para **20**, y rosa para **17**).

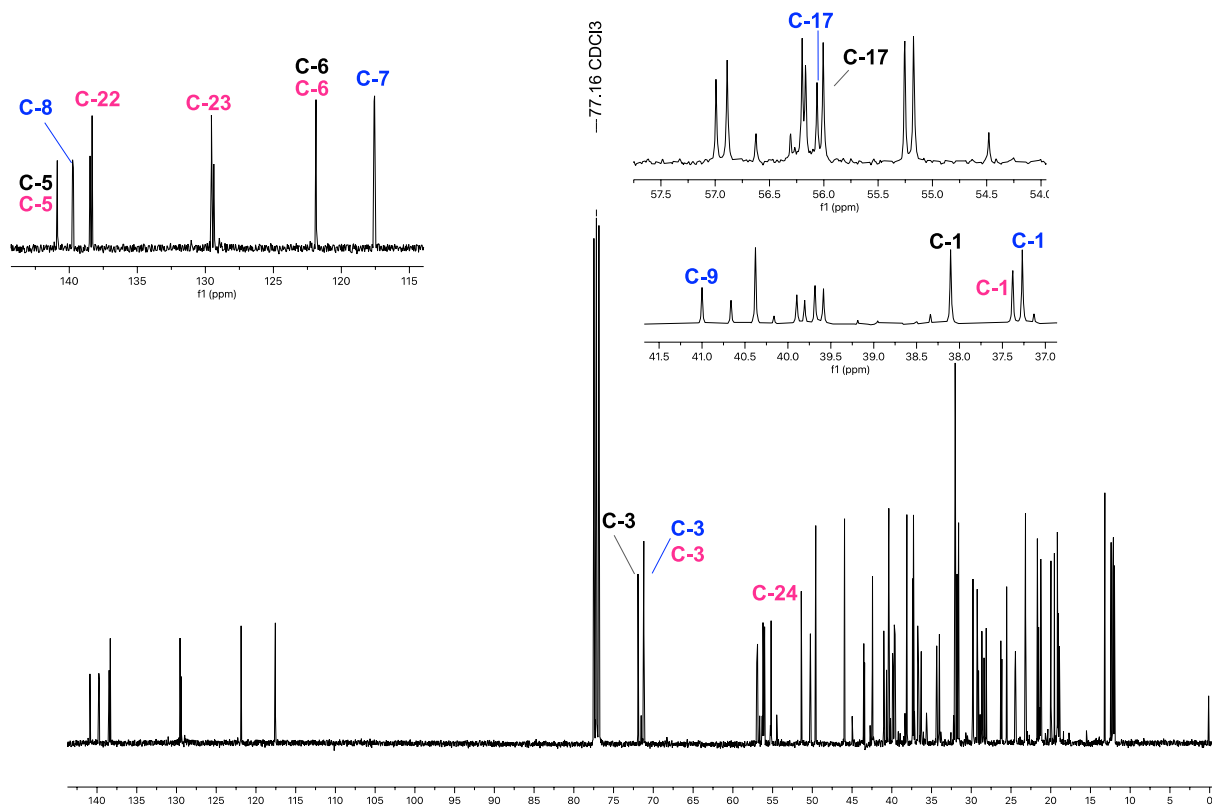


Figura 24. Espectro ^{13}C -RMN de fracción XII_{12D} en CH_3Cl -d (400 MHz).
 En negro se indican las señales para el para el estero 18, en azul para el estero 20, y en rosa para el estero 17.

Por otra parte, el cromatograma iónico total obtenido por la técnica de cromatografía de gases de un polvo blanco derivado de la fracción XII₁₃ (XII_{13A}), presenta tres picos (*a-c*) en los tiempos de retención 13.82, 14.43 y 15.09 min, respectivamente. La abundancia relativa del pico *a* fue la menor de todas, mientras que la del pico *b* fue ligeramente superior a la del pico *c* (**Figura 25**).

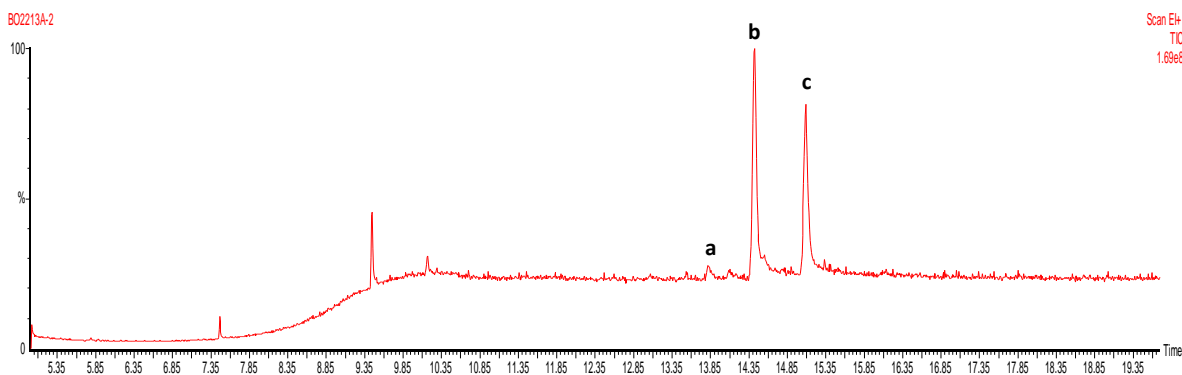
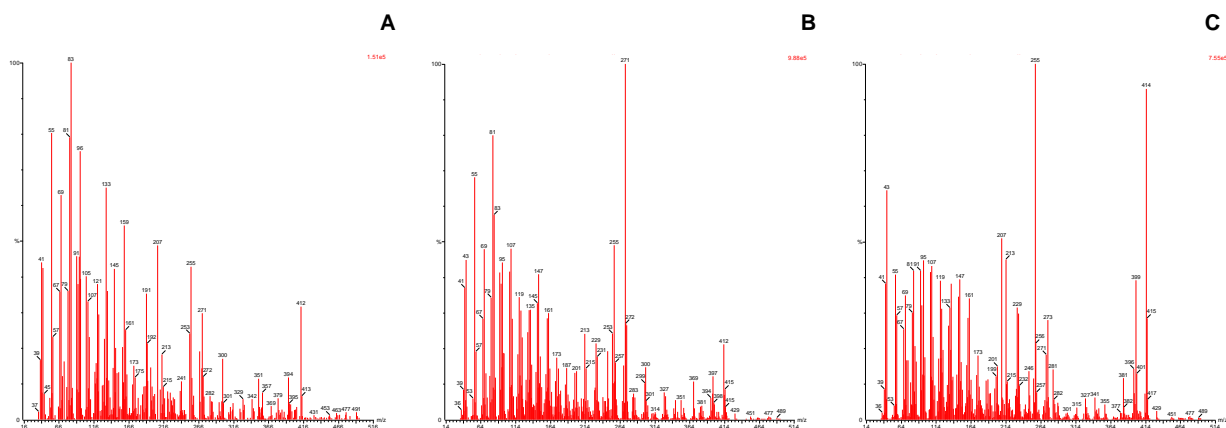
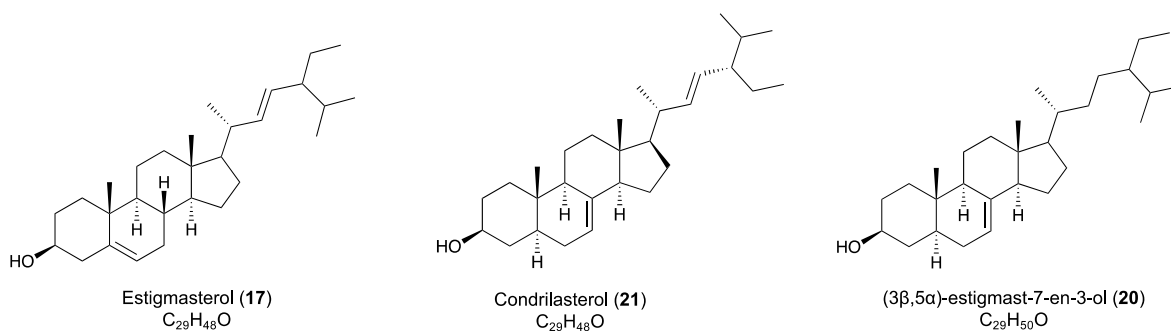


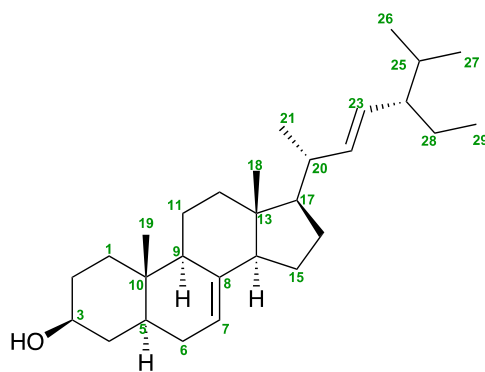
Figura 25. Cromatograma iónico total de la fracción XII_{13A}.

Los espectros de masas obtenidos para los picos de esta fracción se muestran en la **Figura 26**. La comparación de estos espectros con la biblioteca del equipo y con la base de datos de NIST dio pauta a identificarlos como esteroides de 29 carbonos (C₂₉) con distintos grados de insaturación: estigmasterol (pico *a*, **17**), condilasterol (pico *b*, **21**) y (3 β , 5 α)-estigmast-7-en-3-ol (pico *c*, **20**).





En los espectros de RMN 1H y ^{13}C ($CHCl_3$ -d) de la fracción XII_{13A} se identificaron las señales características del núcleo esteroide y las diagnósticas de los esteroides **17** y **20** previamente identificados en la fracción XII_{12D} (Delseth et al., 1979; Garg & Nes, 1984; Giner et al., 2002; Kojima et al., 1990), por lo que a continuación se indican aquéllas que sirvieron para corroborar la presencia del condrilasterol (**21**) como componente mayoritario de esta fracción (Iida, Ishikawa, Tamura, & Matsumoto, 1980; Matsumoto, Hasegawa, Shimizu, & Akihisa, 1985). En el espectro 1H , en δ_H 5.16 (*m*) se encontraban traslapadas las señales para H-7 y H-23 vinílicos; en δ_H 5.02 (*dd*) se ubicó la señal para el protón vinílico de H-22 y en δ_H 3.59 (*m*) se identificó al protón H-3 (**Figura 27**).



21

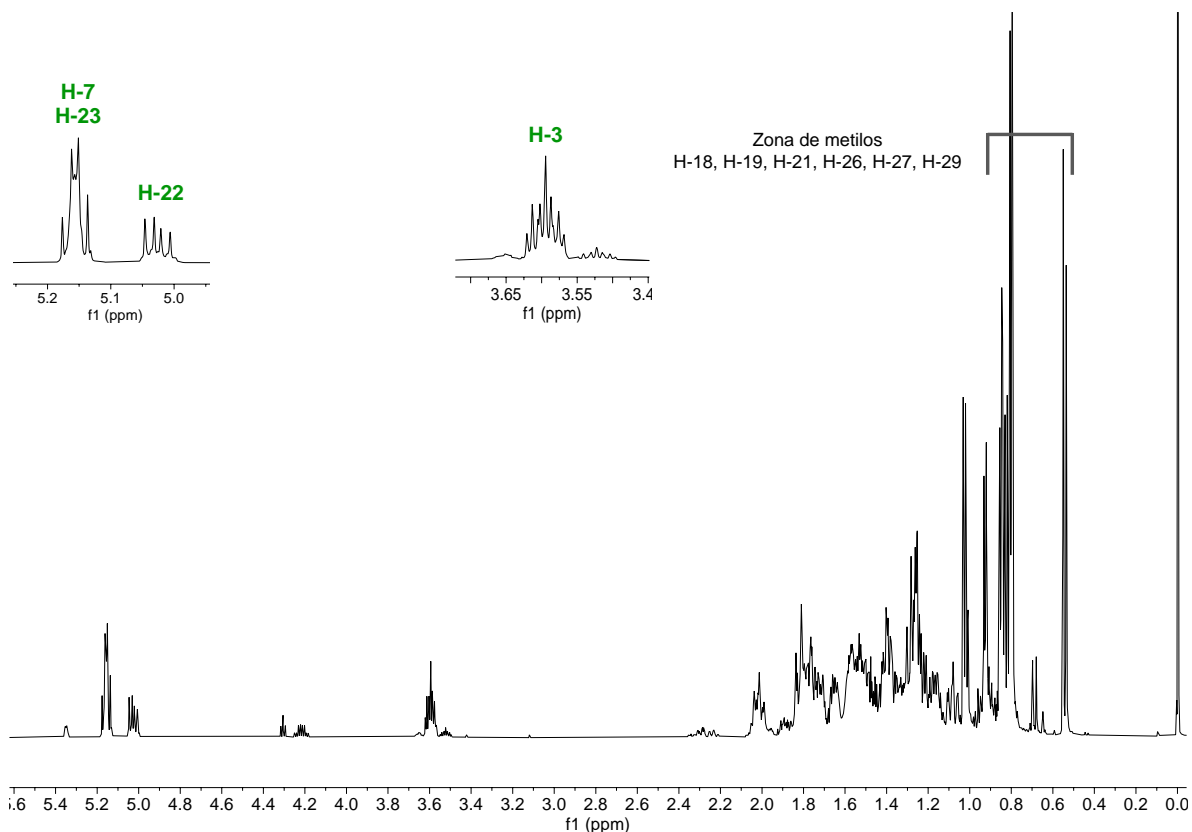


Figura 27. Espectro ^1H -RMN de la fracción XII_{13A} en $\text{CH}_3\text{Cl-d}$ (400 MHz).

Se muestran las ampliaciones de las señales diagnósticas.

También se identificaron señales diagnósticas para el esteroide **21** en el espectro ^{13}C . Se asignaron señales en δ_{C} 139.8 (C-8 cuaternario vinílico), 138.3 (C-22 vinílico), 129.6 (C-23 vinílico), 117.6 (C-7 vinílico), 71.2 (C-3, base de oxígeno), 56 (C-17), 55.3 (C-14), 51.4 (C-24), 49.6 (C-9), 40.4 (C-5), 38.2 (C-4) y 37.3 (C-1). La **Figura 28** presenta las asignaciones de estas señales en color verde.

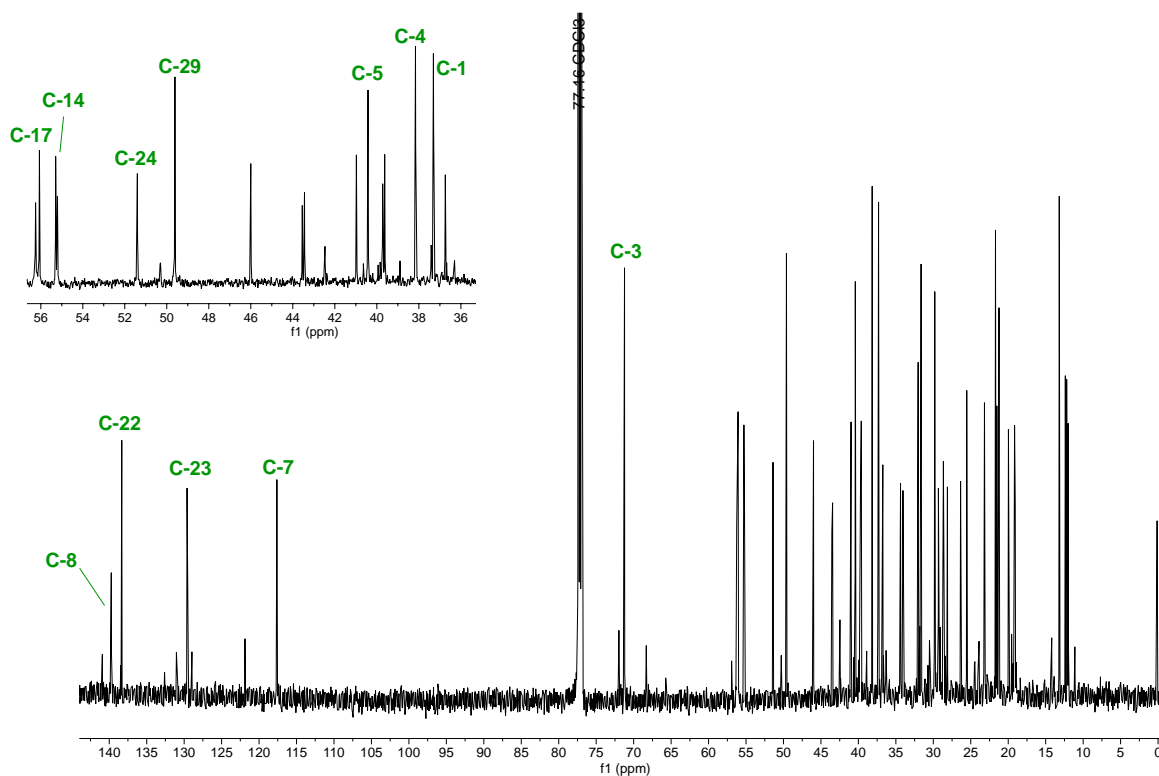


Figura 28. Espectro ^{13}C -RMN de fracción XII_{13A} en $\text{CH}_3\text{Cl-d}$ (400 MHz).

Con la información adquirida a través de las técnicas espectroscópicas y espectrométricas aplicadas se pudo determinar que el huazontle contiene como metabolitos bioactivos al heptacosanol (**16**) y a esteroides del tipo estigmastano (**17-21**), los cuales poseen múltiples reportes de actividad biológica. El heptacosanol (**16**) fue identificado como un metabolito mayoritario de *Turbinaria ornata*, un alga marina con propiedades hipoglucemiantes, ya que manifestó eficacia en ensayos de inhibición enzimática *in vitro* de enzimas involucradas en el metabolismo de la glucosa y en la progresión de la diabetes: α -glucosidasa, α -amilasa y DPP-IV (Unnikrishnan, Suthindhiran, & Jayasri, 2014).

Por su parte, el estigmasterol (**17**) y β -sitosterol (**18**) son dos de los esteroides con más reportes en la literatura, ya que por son moduladores de procesos como el ciclo celular, el crecimiento y la proliferación celular, el metabolismo energético, la inflamación y la angiogénesis. En un estudio en ratones sobre enfermedad del hígado graso no alcohólico, se determinó que el consumo de **17** y **18** en conjunto con dieta alta en grasa, mejoró el metabolismo lipídico y redujo el nivel de colesterol (Feng et al., 2018). También se ha

descrito que *in vitro*, el estigmasterol (**17**) redujo los niveles de colesterol libre al modificar la expresión de los genes que controlan la homeostasis del colesterol, y mejoró la viabilidad celular y disminuyó la apoptosis de células β pancreáticas (Ward, Li, Barbosa-Lorenzi, & Hao, 2017). Este esteroles también inhibió a la enzima α -amilasa *in vitro*, y mejoró los indicadores séricos de glucosa, urea y creatinina en ratas diabetizadas con estreptozotocina (Jessica et al., 2017). Se ha reportado que el β -sitosterol (**18**) ejerce sus efectos antidiabéticos mediante la activación de los IRS y GLUT 4 en el tejido adiposo de ratas con diabetes inducida por dieta alta en grasa y sacarosa (Khan et al., 2022; Saidi, 2015). Estos hallazgos bioquímicos han sido explicados con estudios de acoplamiento molecular (Ponnulakshmi, Shyamaladevi, Vijayalakshmi, & Selvaraj, 2019). Adicionalmente se ha descrito que este esteroles activa a AMPK en ratas con diabetes inducida mediante una dieta hipercalórica, pero que la co-administración con metformina abole los efectos de activación de esta cinasa por **18** y por la metformina, lo cual puede provocar altibajos en la terapia metabólica (Reynés, Palou, Palou, & Serra, 2022). La actividad del esteroles **20**, (3 β , 5 α)-estigmast-7-en-3-ol es muy similar a la de los esteroides **17** y **18**. Cuando un extracto acuoso de *Cucurbita ficifolia* Bouche que contenía al esteroles **20** fue administrado durante 30 días a ratones diabetizados con aloxán, se determinó que **20** inducía la captación de glucosa hepática, pues se incrementó la acumulación de glucógeno hepático debido al incremento de la actividad de la enzima glucógeno sintasa, además de mejorar la arquitectura histológica hepática (Jessica et al., 2017). En la revisión bibliográfica realizada no se identificaron reportes de actividad en el metabolismo de carbohidratos para el condriasterol (**21**), pero sí un reporte que indicaba su efecto antibacterial contra *S. aureus*, *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa* (Mozirandi, Tagwireyi, & Mukanganyama, 2019). Sin embargo, por su similitud estructural con los esteroides **17**, **18** y **20**, es muy probable que tenga acciones parecidas a las descritas para otros esteroides.

En la actualidad y de forma adicional a los preparados farmacéuticos, hay marcas de margarinas, aceites y semillas que se ofrecen enriquecidas en fitosteroides, en particular con β -sitosterol (**18**) (Srividya, Heidorn, & Lange, 2014), lo cual da cuenta del interés del público y de la industria de los alimentos por comercializar productos que contengan estos esteroides. No obstante, y como se ha evidenciado para el esteroles **18**, el uso conjunto de esteroides y medicamentos para tratar desórdenes metabólicos es un reto de investigación pendiente para garantizar el uso racional de especies vegetales que contengan esteroides.

7. Conclusiones

La información farmacológica y química generada en este trabajo de tesis indica que el huazontle es un recurso vegetal comestible que tiene propiedades químicas y biológicas que lo hacen un candidato idóneo para su inclusión en la prevención y el tratamiento de desórdenes metabólicos. Los diferentes ensayos *in vivo* e *in vitro* permitieron establecer que:

- La decocción de los frutos del huazontle reduce la glucemia postprandial en ratones normoglucémicos e hiperglucémicos en pruebas de tolerancia oral a carbohidratos. En el caso de la prueba con sacarosa, el efecto puede explicarse con la inhibición de enzimas α -glucosidasas; para el caso de la prueba con glucosa, el efecto se racionaliza con la capacidad de inhibición de la proteína tirosina fosfatasa 1B.
- Las fracciones orgánicas derivadas de la decocción y el extracto orgánico total del huazontle indujeron la captación de glucosa en modelos basados en células hepáticas y musculares. En el caso del extracto orgánico total, estos efectos se explicaron por la presencia de una mezcla de heptacosanol (**16**) y esteroides bioactivos: estigmasterol (**17**), β -sitosterol (**18**), (3 β , 5 α)-estigmast-7-en-3-ol (**20**) y condilasterol (**21**).
- La polivalencia farmacológica demostrada para el huazontle permite asignar un valor agregado a esta especie de quelite, la cual tiene potencial para modificar los mecanismos homeostáticos de la glucosa en estados de progresión de enfermedades metabólicas como la prediabetes, o bien, en la obesidad y la diabetes.

8. Perspectivas

- Realizar cursos temporales en los ensayos de captación de glucosa con la finalidad de establecer a nivel molecular los mecanismos de acción de las fracciones y extractos del huazontle (incremento de captación de glucosa debido a la activación de AMPK, de la expresión de GLUT4 o a la activación de glucógeno sintasa).
- Estudiar el efecto de la administración subcrónica del extracto acuoso del huazontle sobre la glucemia y el perfil de lípidos en modelos animales adecuados.
- Realizar el estudio químico de las fracciones orgánicas derivadas de la decocción y del resto de fracciones orgánicas del extracto orgánico total, con la finalidad de contribuir al conocimiento químico de la especie.

9. Referencias

- Abellán Ruiz, M. S., Barnuevo Espinosa, M. D., García Santamaría, C., Contreras Fernández, C. J., Aldeguer García, M., Soto Méndez, F., ... López Román, F. J. (2017). Efecto del consumo de quinua (*Chenopodium quinoa*) como coadyuvante en la intervención nutricional en sujetos prediabéticos. *Nutricion Hospitalaria*, 34(5), 1163–1169. <https://doi.org/10.20960/nh.843>
- Argález-López, N., Wachter, N. H., Kumate-Rodríguez, J., Cruz, M., Talavera, J., Rivera-Arce, E., ... Group, F. the D. S. (2003). The Use of Complementary and Alternative Medicine Therapies in Type 2 Diabetic Patients in Mexico. *Diabetes Care*, 26(8), 2470–2471. <https://doi.org/10.2337/diacare.26.8.2470>
- Arihara, K. (2014). Functional foods. *Encyclopedia of Meat Sciences*, 1, 32–36. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00172-0>
- Aslantürk, Ö. S. (2018). In Vitro Cytotoxicity and Cell Viability Assays: Principles, Advantages, and Disadvantages. *Genotoxicity - A Predictable Risk to Our Actual World*, 1–18. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71923>
- Bădescu, S. V., Tătaru, C., Kobylinska, L., Georgescu, E. L., Zăhău, D. M., Zăgrean, A. M., & Zăgrean, L. (2016). The association between Diabetes mellitus and Depression. *Journal of medicine and life*, 9(2), 120–125.
- Barrón-Yáñez, M. R., Villanueva-Verduzco, C., García-Mateos, M. R., & Colinas-León, M. T. (Universidad A. de C. (2009). VALOR NUTRICIO Y CONTENIDO DE SAPONINAS EN FERMINADOS DE HUAUZONTLE (*Chenopodium nuttalliae* Saff.), CANOLA (*Brassica napus* L.) Y AMARANTO (*Amaranthus leucocarpus*. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. Revista Chapingo. Serie horticultura*, 15(3, septiembre-diciembre), 237–243.
- Castro, D., Francisco, L., Peña, B., María, L., Ovando, M., Arthur, R., & Boettler, B. (2011). *Los quelites, tradición milenaria en México SINAREFI Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura*. Mexico.
- Chadt, A., & Al-Hasani, H. (2020). Glucose transporters in adipose tissue, liver, and skeletal muscle in metabolic health and disease. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, 472(9), 1273–1298. <https://doi.org/10.1007/s00424-020-02417-x>
- Chaudhury, A., Duvoor, C., Reddy Dendi, V. S., Kraleti, S., Chada, A., Ravilla, R., ... Mirza, W. (2017). Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management. *Frontiers in Endocrinology*, 8(January). <https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00006>

- Cho, N., Kirigia, J., Ogurstova, K., & Reja, A. (2021). *IDF Diabetes Atlas (Internet)*. Recuperado de www.diabetesatlas.org
- Delseth, C., Kashman, Y., & Djerassi, C. (1979). Ergosta-5,7,9(11), 22-tetraen-3 β -ol and its 24 ξ -Ethyl Homolog, Two New Marine Sterols from the Red Sea Sponge *Biemna fortis*. *Helvetica Chimica Acta*, 62(6), 2037–2045. <https://doi.org/10.1002/hlca.19790620633>
- Deng, X., Wang, P., & Yuan, H. (2020). Epidemiology, risk factors across the spectrum of age-related metabolic diseases. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 61(February), 126497. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126497>
- Donato-Capel, L., Garcia-Rodenas, C. L., Pouteau, E., Lehmann, U., Srichuwong, S., Erkner, A., ... Sagalowicz, L. (2014). Technological Means to Modulate Food Digestion and Physiological Response. *Food Structures, Digestion and Health*, 389–422. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404610-8.00014-1>
- Dong, Q., Hu, N., Yue, H., Wang, H., & Ku, J. (2021). Identification of α -glucosidase inhibitors from the bran of *Chenopodium quinoa* Willd. by surface plasmon resonance coupled with ultra-performance liquid chromatography and quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1181. <https://doi.org/10.1016/J.JCHROMB.2021.122919>
- Dudeja, P., & Gupta, R. K. (2017). Nutraceuticals. *Food Safety in the 21st Century: Public Health Perspective*, 491–496. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801773-9.00040-6>
- Entezari, M., Hashemi, D., Taheriazam, A., Zabolian, A., Mohammadi, S., Fakhri, F., ... Samarghandian, S. (2022). AMPK signaling in diabetes mellitus, insulin resistance and diabetic complications: A pre-clinical and clinical investigation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 146, 112563. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112563>
- Erfidan, S., Dede, S., Usta, A., Yükses, V., & Çetin, S. (2022). The effect of quinoa (*Chenopodium quinoa*) on apoptotic, autophagic, antioxidant and inflammation markers in glucocorticoid-induced insulin resistance in rats. *Molecular Biology Reports*, 49(7), 6509–6516. <https://doi.org/10.1007/S11033-022-07479-X/TABLES/6>
- Feng, S., Dai, Z., Liu, A. B., Huang, J., Narsipur, N., Guo, G., ... Yang, C. S. (2018). Intake of stigmasterol and β -sitosterol alters lipid metabolism and alleviates NAFLD in mice fed a high-fat western-style diet. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1863(10), 1274–1284. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2018.08.004>
- Franco, N. H., & Olsson, I. A. S. (2014). Scientists and the 3Rs: Attitudes to animal use in biomedical research and the effect of mandatory training in laboratory animal science. *Laboratory Animals*,

48(1), 50–60. <https://doi.org/10.1177/0023677213498717>

Gálvez, A., & Peña, C. (2015). Revaloración De La Dieta Tradicional Mexicana: Una Visión Interdisciplinaria. *Revista Digital Universitaria UNAM*, 16(5), 1607–6079. Recuperado de <http://www.revista.unam.mx/vol.16/num5/art33/index.html>

Garg, V. K., & Nes, W. R. (1984). CODISTEROL AND Δ^5 -STEROLS IN THE SEEDS MAXIMA OF CUCURBITA MAXIMA. *Phytochemistry*, 23(12), 2925–2929.

Giner, J. L., Zhao, H., Beach, D. H., Parish, E. J., Jayasimhulu, K., & Kaneshiro, E. S. (2002). Comprehensive and definitive structural identities of *Pneumocystis carinii* sterols. *Journal of Lipid Research*, 43(7), 1114–1124. <https://doi.org/10.1194/jlr.M200113-JLR200>

Gutiérrez-Martínez. (1992). *Aislamiento y caracterización estructural de acil glicosil esteroides y otros constituyentes de Chenopodium nuttalliae (Huauzontle)*. Universidad Nacional Autónoma de México. México.

Habtemariam, S. (2019). Glucose metabolism: Normal physiology, diabetic dysregulation, and therapeutic targets. *Medicinal Foods as Potential Therapies for Type-2 Diabetes and Associated Diseases*, 13–39. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102922-0.00002-x>

Han, Y., Chi, J., Zhang, M., Zhang, R., Fan, S., Huang, F., ... Liu, L. (2019). Characterization of saponins and phenolic compounds: Antioxidant activity and inhibitory effects on α -glucosidase in different varieties of colored quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 83(11), 2128–2139. <https://doi.org/10.1080/09168451.2019.1638756>

Hsu, B. Y., Pan, S. Y., Wu, L. Y., Ho, C. T., & Hwang, L. S. (2018). Hypoglycemic activity of *Chenopodium formosanum* Koidz. components using a glucose uptake assay with 3T3-L1 adipocytes. *Food Bioscience*, 24, 9–16. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2018.05.001>

Iida, T., Ishikawa, T., Tamura, T., & Matsumoto, T. (1980). Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopic Evidence of Chondrillasterol Isolated from Gourd Seed Oil. *Journal of Japan Oil Chemists' Society*, 29(5), 345–346. <https://doi.org/10.5650/jos1956.29.345>

INEGI. (2021). *Características de las defunciones registradas en México durante el 2020*. 1–87. Recuperado de https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2021/EstSociodemo/DefuncionesRegistradas2020_Pre_07.pdf

Israili, Z. H. (2011). Advances in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Therapeutics*, 18(2), 117–152. <https://doi.org/10.1097/MJT.0b013e3181afbf51>

Jessica, G. G., Mario, G. L., Alejandro, Z., Cesar, A. P. J., Ivan, J. V. E., Ruben, R. R., & Javier, A. A. F.

- (2017). Chemical Characterization of a Hypoglycemic Extract From Cucurbita Ficifolia Bouche That Induces Liver Glycogen Accumulation in Diabetic Mice. *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines : AJTCAM*, 14(3), 218–230. <https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i3.24>
- Ke, R., Xu, Q., Li, C., Luo, L., & Huang, D. (2018, abril 1). Mechanisms of AMPK in the maintenance of ATP balance during energy metabolism. *Cell Biology International*, Vol. 42, pp. 384–392. <https://doi.org/10.1002/cbin.10915>
- Khan, Z., Nath, N., Rauf, A., Emran, T. Bin, Mitra, S., Islam, F., ... Thiruvengadam, M. (2022). Multifunctional roles and pharmacological potential of β -sitosterol: Emerging evidence toward clinical applications. *Chemico-Biological Interactions*, 365(August), 110117. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2022.110117>
- Kirwan, J. P., Solomon, T. P. J., Wojta, D. M., Staten, M. A., & Holloszy, J. O. (2009). Effects of 7 days of exercise training on insulin sensitivity and responsiveness in type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 297(1). <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00210.2009>
- Kojima, H., Sato, N., Hatano, A., & Ogura, H. (1990). Sterol glucosides from *Prunella vulgaris*. *Phytochemistry*, 29(7), 2351–2355. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)83073-A](https://doi.org/10.1016/0031-9422(90)83073-A)
- Kokanova-Nedialkova, Z., Kondeva-Burdina, M., & Nedialkov, P. T. (2021). Neuroprotective, anti- α -glucosidase and prolipase active flavonoids from Good King Henry (*Chenopodium bonus-henricus* L.). *Natural Product Research*, 35(23), 5484–5488. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1784172>
- Lazo-Vélez, M. A., Guajardo-Flores, D., Mata-Ramírez, D., Gutiérrez-Uribe, J. A., & Serna-Saldivar, S. O. (2016a). Characterization and Quantitation of Triterpenoid Saponins in Raw and Sprouted *Chenopodium berlandieri* spp. (Huauzontle) Grains Subjected to Germination with or without Selenium Stress Conditions. *Journal of Food Science*, 81(1), C19–C26. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13174>
- Lazo-Vélez, M. A., Guajardo-Flores, D., Mata-Ramírez, D., Gutiérrez-Uribe, J. A., & Serna-Saldivar, S. O. (2016b). Characterization and Quantitation of Triterpenoid Saponins in Raw and Sprouted *Chenopodium berlandieri* spp. (Huauzontle) Grains Subjected to Germination with or without Selenium Stress Conditions. *Journal of Food Science*, 81(1), C19–C26. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13174>
- Leclercq, I. A., Da Silva Morais, A., Schroyen, B., Van Hul, N., & Geerts, A. (2007). Insulin resistance in hepatocytes and sinusoidal liver cells: Mechanisms and consequences. *Journal of Hepatology*, 47(1),

142–156. <https://doi.org/10.1016/J.JHEP.2007.04.002>

- Linares Mazari, E., & Bye, R. (2015). Las especies subutilizadas de la milpa. *Revista Digital Universitaria*, 16(5). Recuperado de <http://www.revista.unam.mx/vol.16/num5/art35/>
- Makhafola, T. J., Elgorashi, E. E., McGaw, L. J., Awouafack, M. D., Verschaeve, L., & Eloff, J. N. (2017). Isolation and characterization of the compounds responsible for the antimutagenic activity of *Combretum microphyllum* (Combretaceae) leaf extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/S12906-017-1935-5/TABLES/3>
- Martinez, L. C., Vargas, M. A. P., Del Angel, A. I. C., Bermudez, F. C., & Avalos, H. A. J. (2013). Total phenolic content and antioxidant capacity of germinated, popped, and cooked huauzontle (*Chenopodium berlandieri* spp. *nuttalliae*) seeds. *Cereal Chemistry*, 90(3), 263–268. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-03-12-0022-R>
- Matsumoto, T., Hasegawa, J., Shimizu, N., & Akihisa, T. (1985). ¹H and ¹³C-NMR spectra of chondrillasterol from seed oil of two *Cucurbita* sp. *Journal of Japan Oil Chemists' Society*, 34(6), 476–478. <https://doi.org/https://doi.org/10.5650/jos1956.34.476>
- McClellan, S. P., Haque, K., & García-Peña, C. (2021). Diabetes multimorbidity combinations and disability in the Mexican Health and Aging Study, 2012–2015. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 93(June 2020). <https://doi.org/10.1016/j.archger.2020.104292>
- McCracken, E., Monaghan, M., & Sreenivasan, S. (2018). Pathophysiology of the metabolic syndrome. *Clinics in Dermatology*, 36(1), 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2017.09.004>
- Mozirandi, W., Tagwireyi, D., & Mukanganyama, S. (2019). Evaluation of antimicrobial activity of chondrillasterol isolated from *Vernonia adoensis* (Asteraceae). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S12906-019-2657-7/FIGURES/7>
- Nakrani MN, Wineland RH, A. F. (2022). Physiology, Glucose Metabolism. En *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560599/>
- Nedialkov, P. T., Kokanova-Nedialkova, Z., Nedialkov, P. T., & Nikolov, S. D. (2009). The genus *Chenopodium*: Phytochemistry, ethnopharmacology and pharmacology ACTIVITY-GUIDED ANALYSIS OF THE ANTICANCER METABOLITES OF UNSTUDIED SPECIES OF THE BULGARIAN FLORA AND CERTIFIED FOREIGN HYBRIDS OF GENUS *JUNIPERUS* L. (CUPRESSACEAE) USING MODERN RE. En *Phcog Rev* (Vol. 3). Recuperado de <https://www.researchgate.net/publication/267030976>
- OMS. (2013). *WHO traditional medicine strategy: 2014-2023* (Vol. 11). <https://doi.org/10.3390/biom11101457>

- Ovalle-Magallanes, B., Navarrete, A., Haddad, P. S., Tovar, A. R., Noriega, L. G., Tovar-Palacio, C., & Mata, R. (2019). Multi-target antidiabetic mechanisms of mexicanolides from *Swietenia humilis*. *Phytomedicine*, 58(January), 152891. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.152891>
- Palomino, G., Hernández, L. T., & De La Cruz Torres, E. (2008). Nuclear genome size and chromosome analysis in *Chenopodium quinoa* and *C. berlandieri* subsp. *nuttalliae*. *Euphytica*, 164(1), 221–230. <https://doi.org/10.1007/s10681-008-9711-8>
- Petersen, M. C., & Shulman, G. I. (2018). Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiological Reviews*, 98(4), 2133–2223. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00063.2017>
- Ponnulakshmi, R., Shyamaladevi, B., Vijayalakshmi, P., & Selvaraj, J. (2019). In silico and in vivo analysis to identify the antidiabetic activity of beta sitosterol in adipose tissue of high fat diet and sucrose induced type-2 diabetic experimental rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 29(4), 276–290. <https://doi.org/10.1080/15376516.2018.1545815>
- Rangel-Grimaldo, M., Macías-Rubalcava, M. L., González-Andrade, M., Raja, H., Figueroa, M., & Mata, R. (2020). α -Glucosidase and Protein Tyrosine Phosphatase 1B Inhibitors from *Malbranchea circinata*. *Journal of natural products*, 83(3), 675–683. <https://doi.org/10.1021/ACS.JNATPROD.9B01108>
- Rebollar-Ramos, D., Ovalle-Magallanes, B., Palacios-Espinosa, J. F., Macías-Rubalcava, M. L., Raja, H. A., González-Andrade, M., & Mata, R. (2021). α -Glucosidase and PTP-1B Inhibitors from *Malbranchea dendritica*. *ACS Omega*, 6(35), 22969–22981. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03708>
- Reynés, B., Palou, M., Palou, A., & Serra, F. (2022). The intake of β -sitosterol partially counteracts metformin beneficial effects in diet-induced obese rats. *Journal of Functional Foods*, 96(August). <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105223>
- Röder, P. V., Wu, B., Liu, Y., & Han, W. (2016). Pancreatic regulation of glucose homeostasis. *Experimental & Molecular Medicine*, 219. <https://doi.org/10.1038/emm.2016.6>
- Rzedowski, G. C. de y J. R. (2001). Flora fanerogámica del Valle de México. En *n Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad* (2a ed). <https://doi.org/10.1201/b22282-12>
- Saidi, N. (2015). B-Sitosterol From Bark of *Artocarpus Camansi* and Its Antidiabetic Activity. *AIC unsyiah*, (2006), 118–124.
- Sano, R., Shinozaki, Y., & Ohta, T. (2020). Sodium–glucose cotransporters: Functional properties and pharmaceutical potential. *Journal of Diabetes Investigation*, 11(4), 770–782. <https://doi.org/10.1111/JDI.13255>

- Santiago-Saenz, Y. O., Hernández-Fuentes, A. D., Monroy-Torres, R., Cariño-Cortés, R., & Jiménez-Alvarado, R. (2018). Physicochemical, nutritional and antioxidant characterization of three vegetables (*Amaranthus hybridus* L., *Chenopodium berlandieri* L., *Portulaca oleracea* L.) as potential sources of phytochemicals and bioactive compounds. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *12*(4), 2855–2864. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9900-7>
- Selma-Gracia, R., Haros, C. M., & Laparra, J. M. (2020). *Potential Beneficial Effects of Chenopodium quinoa and Salvia hispanica L. in Glucose Homeostasis in Hyperglycemic Mice Model. 2.* <https://doi.org/10.3390/proceedings2020053002>
- SIAP. (2017). El huauzontle | Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera | Gobierno | gob.mx. Recuperado el 16 de mayo de 2022, de 2017 website: <https://www.gob.mx/siap/articulos/el-huauzontle-planta-prehispanica-de-importancia-religiosa-y-alimenticia>
- Srivastava, A. K., Bajpai, P., & Jain, A. (2018). Insulin action; post-receptor mechanisms. En *Encyclopedia of Endocrine Diseases* (Vol. 1, pp. 100–104). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.95802-1>
- Srividya, N., Heidorn, D. B., & Lange, B. M. (2014). Rapid purification of gram quantities of β -sitosterol from a commercial phytosterol mixture. *BMC Research Notes*, *7*(1). <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-182>
- Télessy, I. G. (2018). Nutraceuticals. *The Role of Functional Food Security in Global Health*, 409–421. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813148-0.00024-4>
- Unnikrishnan, P. S., Suthindhiran, K., & Jayasri, M. A. (2014). Inhibitory potential of *Turbinaria ornata* against key metabolic enzymes linked to diabetes. *BioMed research international*, *2014*. <https://doi.org/10.1155/2014/783895>
- Van Roozendaal, B. W., & Krass, I. (2009). Development of an evidence-based checklist for the detection of drug related problems in type 2 diabetes. *Pharmacy World and Science*, *31*(5), 580–595. <https://doi.org/10.1007/s11096-009-9312-1>
- Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Uribe, E., Puente, L., & Martínez, E. A. (2010). Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*), an ancient Andean grain: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *90*(15), 2541–2547. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4158>
- Ventura-Sobrevilla, J., Boone-Villa, V. D., Aguilar, C. N., Román-Ramos, R., Vega-Avila, E., Campos-Sepúlveda, E., & Alarcón-Aguilar, F. (2011). Effect of varying dose and administration of streptozotocin on blood sugar in male CD1 mice. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*, *54*, 5–9.

- Vilcacundo, R., Martínez-Villaluenga, C., & Hernández-Ledesma, B. (2017). Release of dipeptidyl peptidase IV, α -amylase and α -glucosidase inhibitory peptides from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) during in vitro simulated gastrointestinal digestion. *Journal of Functional Foods*, 35, 531–539. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.06.024>
- Wang, Y., Hu, B., Feng, S., Wang, J., & Zhang, F. (2020). Target recognition and network pharmacology for revealing anti-diabetes mechanisms of natural product. *Journal of Computational Science*, 45, 101186. <https://doi.org/10.1016/j.jocs.2020.101186>
- Ward, M. G., Li, G., Barbosa-Lorenzi, V. C., & Hao, M. (2017). Stigmasterol prevents glucolipototoxicity induced defects in glucose-stimulated insulin secretion. *Scientific Reports*, 7(1), 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10209-0>
- Wilson, H. D., Heiser, C. B., & Heiser, B. (2012). 'Huauzontle' (*Chenopodium Nuttalliae* Safford), *Domesticated Chenopod of Mexico* 1. 66(2), 198–206.
- Yousof Ali, M., Jannat, S., & Mizanur Rahman, M. (2021). Investigation of C-glycosylated apigenin and luteolin derivatives' effects on protein tyrosine phosphatase 1B inhibition with molecular and cellular approaches. *Computational Toxicology*, 17, 100141. <https://doi.org/10.1016/J.COMTOX.2020.100141>