

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA



Unidad Iztapalapa

División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Caracterización física, química y fisiológica de frutos de Cucurbita ficifolia Bouché (chilacayote) durante su crecimiento y desarrollo, asociada a su capacidad hipoglucemiante

TESIS

Para obtener el grado de

Doctora en Biotecnología

PRESENTA

M. en B. Araceli Moya Hernández

Comité tutorial

Directora: Dra. Elsa Bosquez Molina
Asesor: Dr. José Ramón Verde Calvo
Asesor: Dr. Gerardo Blancas Flores

Iztapalapa, Ciudad de México, diciembre de 2020

“El Doctorado en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluido en el Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, con la referencia 001466”

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Poscosecha de Frutas y Hortalizas, el Laboratorio de Enología y Alimentos Fermentados y en el Laboratorio de Farmacología de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, bajo la dirección de la Doctora Elsa Bosquez Molina.

México D.F. a 10 de diciembre del 2020

El jurado designado por la
División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis

Caracterización física, química y fisiológica de frutos de *Cucurbita ficifolia* Bouché (*chilacayote*) durante su crecimiento y desarrollo, asociada a su capacidad hipoglucemiante

que presentó

M. en B. Araceli Moya Hernández

Comité Tutorial:

Director: Dra. Elsa Bosquez Molina

Asesor: Dr. José Ramón Verde Calvo

Asesor: Dr. Gerardo Blancas Flores

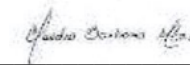


Jurado:

Presidente: Dr. Héctor Bernardo Escalona Buendía



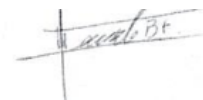
Secretario: Dra. Claudia Barbosa Martínez



Vocal: Dr. José Ramón Verde Calvo



Vocal: Dr. Gerardo Blancas Flores



Agradecimientos

Se agradece el financiamiento de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, ya que la investigación se realizó parcialmente con dicha ayuda.

La autora agradece al CONACyT por la beca otorgada con el número 302053 durante sus estudios del doctorado en Biotecnología.

Se agradece a la Dra. Gloria Maribel Trejo Aguilar por el apoyo brindado para el análisis cuantitativo del D-quiró inositol y al Dr. Raziel Estrada Martínez por el soporte técnico otorgado para dicho análisis.

Se agradece al Dr. Gerardo Cruz Flores, FES Zaragoza UNAM, por el apoyo otorgado para realizar el análisis edafológico.

Se agradece a la Dra. Blanca Pérez García del laboratorio de Biología de Pteridofitas, edificio AS, por brindar un espacio para trabajar debido al daño ocasionado al edificio “S” por el sismo del 19 de septiembre de 2017.

Índice general

Agradecimientos	I
Índice general	II
Índice de figuras	IV
Índice de cuadros	V
Resumen	VI
Abstract	VII
Introducción	I
1. Marco teórico	3
1.1. Síndrome metabólico	3
1.1.1. Diagnóstico	3
1.2. Diabetes mellitus	4
1.2.1. Factores de riesgo, diagnóstico y complicaciones de la DM2	5
1.2.2. Impacto social y económico	6
1.2.3. Tratamiento	7
1.2.4. Etnofarmacología	8
1.3. Cucurbita ficifolia Bouché	9
1.3.1. Descripción	10
1.3.2. Producción	11
1.3.2.1. Exigencias climáticas	12
1.3.2.2. Suelo y fertilización requerido para <i>C. ficifolia</i>	12
1.3.3. Aporte nutrimental	13
1.3.4. Usos	14
1.4. Efecto hipoglucémico de <i>C. ficifolia</i>	14
1.5. Estrés oxidativo y efecto antioxidante	16
1.6. Maduración e índice de madurez	17
1.6.1. Respiración y producción de etileno	19
2. Relevancia de la investigación	21
3. Hipótesis	22
4. Objetivos	22
4.1. Objetivo general	22
4.2. Objetivos particulares	22
5. Material y métodos	23
5.1. Muestreo de suelos y análisis edafológico	23
5.2. Siembra y obtención del material vegetal	24
5.3. Producción de etileno y tasa de respiración	25

5.4. Determinación de parámetros de madurez: dimensiones, peso, volumen, firmeza, humedad, SST, pH, y %AT.....	26
5.5. Evaluación del efecto hipoglucémico de diferentes etapas de desarrollo de frutos de <i>C. ficifolia</i>	28
5.5.1. Preparación del extracto acuoso de <i>C. ficifolia</i>	29
5.5.2. Ensayo biológico en ratones normoglucémicos	29
5.5.3. Ensayo biológico en ratones diabetizados por STZ.....	30
5.5.4. Determinación de glucosa.....	30
5.6. Caracterización química del extracto de <i>C. ficifolia</i>	30
5.6.1. Análisis cuantitativo de DQI contenido en el extracto acuoso de <i>C. ficifolia</i>	31
5.6.2. Análisis cualitativo y cuantitativo de otros compuestos químicos contenidos en el extracto ...	31
5.7. Análisis estadístico	32
6. Resultados	32
6.1. Patrón de respiración, producción de etileno y crecimiento de <i>C. ficifolia</i>	32
6.2. Parámetros físicos y químicos.....	35
6.3. Efecto hipoglucémico del extracto acuoso de frutos de <i>C. ficifolia</i>.....	36
6.3.1. Efecto hipoglucémico en ratones normoglucémicos	36
6.3.2. Efecto hipoglucémico en ratones con diabetes inducida por estreptozotocina	37
6.4. Caracterización química del extracto de <i>C. ficifolia</i>	39
6.4.1. Cuantificación de DQI.....	39
6.4.2. Identificación de compuestos fenólicos	40
7. Discusión.....	42
8. Conclusiones.....	47
9. Perspectivas.....	47
10. Referencias	48

Índice de figuras

Figura 1. Izquierda, frutos de <i>C. ficifolia</i> con diferente color de corteza. Derecha, frutos con semillas de color blancas y negras (Moya–Hernández, 2015).....	9
Figura 2. (A) Flor femenina, (B) flor masculina y (C) hoja con zarcillo de <i>C. ficifolia</i>	10
Figura 3. Madurez hortícola en relación a los estados de desarrollo de los frutos (Kader, 2007)	18
Figura 4. Patrón de crecimiento, respiración y etileno durante el desarrollo, maduración y senescencia de frutos climatéricos y no climatéricos. Tomada y modificada de Wills et al. 2007	21
Figura 5. Patrón de respiración de <i>C. ficifolia</i>	33
Figura 6. Patrón de crecimiento de <i>C. ficifolia</i> durante su crecimiento y desarrollo	34
Figura 7. Forma de <i>C. ficifolia</i> durante el crecimiento y desarrollo.....	34
Figura 8. Frutos de <i>C. ficifolia</i> en diferentes etapas de desarrollo. De izquierda a derecha, 5, 10, 15, 25, 30, 40, 45, 50 y 55 días después de anthesis.	35
Figura 9. Efecto hipoglucémico de los diferentes extractos de <i>C. ficifolia</i> en ratones normoglucémicos	37
Figura 10. Efecto hipoglucémico del extracto de <i>C. ficifolia</i> en diferentes etapas de desarrollo administrado a ratones con diabetes inducida por STZ	38
Figura 11. (A) Estándar de DQI y (B) DQI encontrado en el extracto de 45 DDA	40
Figura 12. Área de los compuestos presentes en los extractos de <i>C. ficifolia</i>	41
Figura 13. Cromatogramas obtenidos por HPLC–DAD de los extractos de frutos de <i>C. ficifolia</i> . A) 15 DDA y B) 25 DDA. 1) ácido gálico, 2) ácido clorogénico, 3) catequina, 4) epicatequina, 5) ácido sirínico, 6) miricetina.	42

Índice de cuadros

Cuadro 1. Criterios de diagnóstico del síndrome metabólico en adultos	3
Cuadro 2. Criterios de diagnóstico para la Diabetes Mellitus tipo 2.....	5
Cuadro 3. Tratamiento farmacológico para la DM.....	7
Cuadro 4. Producción de calabazas 2018 SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera)	12
Cuadro 5 . Análisis químico proximal del fruto y semillas de <i>C. ficifolia</i>	13
Cuadro 6. Contenido de vitaminas y minerales de fruto y semillas del <i>C. ficifolia</i>	13
Cuadro 7. Estudios relacionados con el efecto hipoglucémico de <i>C. ficifolia</i>	15
Cuadro 8. Materia orgánica, macrocomponentes y textura del suelo de diferentes regiones	24
Cuadro 9. Parámetros de calidad durante el crecimiento y desarrollo de <i>C. ficifolia</i>	35
Cuadro 10. Jugo obtenido de frutos de <i>C. ficifolia</i> en diferentes etapas de desarrollo.....	36
Cuadro 11. Desviación estándar y diferencia significativa entre los diferentes tratamientos	37
Cuadro 12. Desviación estándar y diferencia significativa entre los diferentes tratamientos	38
Cuadro 13. Concentraciones de ácido gálico y clorogénico presentes en los extractos de <i>C. ficifolia</i>	41

Resumen

El fruto de *Cucurbita ficifolia* Bouché conocido en México como chilacayote, posee propiedades medicinales tales como antihelmíntico, diurético, tenífugo, entre otros, destacando su efecto hipoglucémico, lo que ha generado gran interés científico de su estudio debido a que su efecto es 12.9% mejor que *Opuntia streptacantha* Lem., especie utilizada para controlar los niveles de glucosa y 14.6% mejor que la tolbutamida, medicamento utilizado para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Sin embargo, se desconoce si dicho efecto varía de acuerdo al estado de desarrollo del fruto y cuál o cuáles son los compuestos presentes en el extracto de *C. ficifolia* que le confieren esta propiedad. Por lo cual, el objetivo de esta investigación fue determinar el efecto hipoglucémico en diferentes etapas de desarrollo de estos frutos y caracterizar los compuestos químicos que pudieran estar involucrados en dicho efecto. Para ello, se estableció una parcela en donde se trasplantaron las plántulas obtenidas previamente en el Laboratorio de Biotecnología Poscosecha de Frutas y Hortalizas de semillas de *C. ficifolia*, posteriormente se marcaron las flores en el momento de antesis y amarre del fruto y se cosecharon 5 frutos (tres replicas) en nueve etapas diferentes de desarrollo. Se determinó la producción de etileno y la tasa de respiración por medio de cromatografía de gases, FID (por sus siglas en inglés Flame Ionization Detector) y TCD (por sus siglas en inglés Thermal Conductivity Detector) respectivamente, se determinaron los índices de madurez como peso, perímetro longitudinal y ecuatorial, volumen, firmeza, materia seca, acidez, pH y SST, se realizó la caracterización química de los extractos acuosos por HPLC (por sus siglas en inglés High Performance Liquid Chromatography), se cuantificó el contenido de D-quiró inositol (DQI) por medio de UFLC (por sus siglas en inglés Ultra-Fast Liquid Chromatography) y se determinó el efecto hipoglucémico en un estudio agudo en ratones machos CD-1 diabetizados con estreptozotocina (STZ) y normoglucémicos. Los resultados de la tasa de respiración y la producción de etileno mostraron un patrón típico para frutos no climatéricos, el patrón de crecimiento presentó una curva sigmoidea simple y los parámetros de calidad no mostraron cambios significativos. Se encontraron compuestos como catequina, ácido gálico, epicatequina, ácido clorogénico, miricetina y ácido siríngico en los extractos acuosos, alcanzando la concentración más alta a los 15 días de desarrollo del fruto, el DQI se encontró únicamente en los frutos de 45 días de desarrollo. Todos los extractos mostraron un efecto hipoglucémico similar a la glibenclamida, sin embargo el correspondiente a los 15 días tuvo un efecto 11% mayor que dicho medicamento en los ratones diabetizados por STZ. Por lo que, el extracto de *C. ficifolia* en esta etapa de desarrollo puede ser una buena alternativa para el tratamiento de la DM2.

Abstract

The fruit of *Cucurbita ficifolia* Bouché is known in Mexico as chilacayote, it has medicinal properties such as anthelmintic, diuretic, taeniafuge, among others, highlighting its hypoglycemic effect, which has generated great scientific interest since its effect is 12.9% better than *Opuntia streptacantha* Lem., a species used to control glucose levels and 14.6% better than tolbutamide, a drug used to treat type 2 diabetes mellitus. However, it is unknown if this effect varies according to the stage of development of the fruit and which compounds are present in the extract of *C. ficifolia* that confer this property. Therefore, the objective of this research was to determine the hypoglycemic effect at different stages of development of these fruits and to characterize the chemical compounds that could be involved. The methodology to achieve this goal was the following: a plot was established where the seedlings obtained of *C. ficifolia* seeds in postharvest Biotechnology laboratory were transplanted, later the flowers were marked at the time of anthesis and after the full flowering (5 days after transplanting) samples of five fruits were harvested (three replicate) at nine different stages. Ethylene production and respiration rate were determined using gas chromatography, using a FID and a TCD respectively, maturity indices such as weight, longitudinal and equatorial perimeter, volume, firmness, dry matter, acidity, pH and SST were determined. The chemical characterization of the aqueous extracts was performed by HPLC, the content of DQI was quantified using UFLC and the hypoglycemic effect was determined in an acute study in male CD-1 mice diabetized with STZ and normoglycemic. The respiration rate and ethylene production results showed a typical pattern for non-climacteric fruits, the growth pattern found was a simple sigmoid curve and the quality parameters did not show significant changes. Compounds such as catechin, gallic acid, epicatechin, chlorogenic acid, myricetin and syringic acid were found in the aqueous extracts, reaching the highest concentration at 15 days of fruit development, the DQI was found only in the fruits of 45 days of development. All extracts showed a hypoglycemic effect similar to glibenclamide, however, the extract of 15 days had an 11% greater effect than this medicine in STZ diabetic mice. Therefore, *C. ficifolia* extract at this stage of development may be a good alternative for the treatment of DM2.

Introducción

De acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes (IDF por sus siglas en inglés International Diabetes Federation), en el mundo hay 463 millones de personas que padecen Diabetes Mellitus (DM) (<https://www.idf.org/>, 2019). México ocupa el sexto lugar con mayor número de diabéticos con 12.805 millones de los cuales del 90–95 % presentan DM2 (<https://www.idf.org/>, 2019), siendo ésta la segunda causa de mortalidad en nuestro país (INEGI, 2018).

La diabetes se presenta cuando el páncreas no produce suficiente insulina o las células del cuerpo no reaccionan a dicha hormona, lo que resulta en hiperglucemia (INEGI, 2018). Actualmente, los medicamentos más utilizados para controlar esta enfermedad son metformina y glibenclamida; sin embargo éstos tienen múltiples efectos secundarios además de un alto costo ya que deben administrarse de por vida (Villarreal-Ibarra et al., 2015), por lo que las personas han optado por utilizar plantas medicinales.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoció el valor del uso de plantas como fuentes medicinales en la atención de la salud y recomendó su incorporación a los sistemas de salud pública (Schlaepfer and Mendoza-Espinoza, 2010), sin embargo aún se desconoce el beneficio de muchas especies o su aprovechamiento adecuado y completo, como es el caso de *C. ficifolia*.

En los últimos 25 años, el fruto de *C. ficifolia* ha adquirido un gran interés científico debido principalmente a su efecto hipoglucémico. Román–Ramos et al. (1995) informaron que el extracto acuoso de esta fruta tiene propiedades hipoglucémicas notables en comparación con otras 11 especies de plantas diferentes del género *Cucurbita L.* e incluso mejores que la tolbutamida o la glibenclamida (Acosta–Patiño et al., 2001; Alarcón–Aguilar et al., 2002).

El efecto hipoglucémico de *C. ficifolia* se ha demostrado de manera consistente y se ha probado tanto en condiciones experimentales *in vitro* como *in vivo*, en las cuales se han informado que el extracto de *C. ficifolia* disminuye significativamente los niveles de glucosa (Acosta-Patiño et al., 2001).

También se encontró que *C. ficifolia* contiene DQI, isómero del inositol que se ha propuesto como mediador para la acción de la insulina, lo que sugiere que el efecto hipoglucémico podría atribuirse a dicho compuesto (Xia and Wang, 2006a). Otros estudios realizados por los mismos autores notifican que el extracto de *C. ficifolia* además de reducir los niveles de glucosa en sangre, aumenta la insulina en plasma y la cantidad de células β , lo que sugiere el modo de acción de este fruto en el tratamiento de la diabetes (Xia and Wang, 2007).

Investigaciones más recientes indican que esta especie presenta efectos antioxidantes y antiinflamatorios (en ratones diabéticos) además de su potencial hipoglucémico, por lo que se sugiere que el DQI actúa en sinergia con otros compuestos como los polifenoles, específicamente los flavonoides, como el ácido gálico y catequinas ya que estos aumentan la sensibilidad a la insulina y estimulan la producción de esta hormona (Díaz–Flores et al., 2012; Fortis–Barrera et al., 2013; Roman–Ramos et al., 2012).

Un estudio reciente demostró que independientemente de la región de México donde se cultivan los frutos de *C. ficifolia* y de sus diferentes características morfológicas, todos poseen propiedades hipoglucémicas, sin embargo los procedentes de Ixtapaluca, Estado de México tienen un mejor efecto (Moya–Hernández et al., 2018).

Todas las investigaciones mencionadas anteriormente destacan sin duda el potencial hipoglucémico de *C. ficifolia*; sin embargo, es importante señalar que en ninguno de esos informes se indica la variedad o estado de madurez de los frutos empleados en esos estudios, refiriéndose a ellos como “mature fruits”, sin caracterización alguna. Por lo tanto, la caracterización precisa de la etapa fisiológica del desarrollo de los frutos se consideró como un parámetro relevante para determinar la etapa de desarrollo de los frutos que tiene mayor efecto hipoglucémico y si esto puede atribuirse a la variedad, grado de madurez u otra característica.

Por lo que, el interés principal de esta investigación se centró en determinar si el efecto hipoglucémico de *C. ficifolia* depende de la etapa de desarrollo del fruto, y de ser así, explicarlo por medio de la caracterización química de los compuestos presentes que pudieran ser los responsables de esta actividad.

1. Marco teórico

1.1. Síndrome metabólico

El síndrome metabólico (SM) es un desorden caracterizado por un conjunto de múltiples factores que están asociados a un mayor riesgo de desarrollar DM y enfermedades cardiovasculares (Hernández Pérez, 2015). De acuerdo con la IDF y la Asociación Estadounidense del Corazón (AHA por sus siglas en inglés American Heart Association), se define como la presencia de tres o más de las siguientes características (Hernández Pérez, 2015; Povel et al., 2013):

- Obesidad abdominal – acumulación de grasa corporal en la circunferencia de la cintura
- Hiperglucemia – alta concentración de glucosa plasmática en ayunas
- Hipertensión – niveles elevados de angiotensina II
- Resistencia a la insulina – baja capacidad de respuesta a la señal de la insulina
- Displidemia – aumento de triglicéridos y/o colesterol LDL (lipoproteínas de baja densidad o low density lipoproteins)

1.1.1. Diagnóstico

Organizaciones como la IDF y el Programa Nacional de Educación en Colesterol: Panel III de tratamiento de adultos (NCEP:ATP III por sus siglas en inglés National Cholesterol Education Program: Adult Treatment Panel III) han determinado diferentes parámetros para el diagnóstico del SM, Cuadro 1, considerando además otros factores como el estrés crónico y factores genéticos (Hernández Pérez, 2015).

Cuadro 1. Criterios de diagnóstico del síndrome metabólico en adultos

Criterios	Parámetro
Circunferencia de la cintura	De acuerdo al grupo étnico*
Glicemia en ayunas	> 100 mg/dL
Triglicéridos	≥ 150 mg/dL
HDL – colesterol	< 40 mg/dL (hombres) < 50 mg/dL (mujeres)
Presión sanguínea	≥ 130/85 mmHg
Criterios a cumplir	≥ tres

*europeos > 94 cm Hombres y > 80cm Mujeres; sud-asiáticos, chinos y japoneses > 90 cm H y > 80 cm M; mexicanos, sur y centroamericanos > 90 cm H y > 80 cm M; árabes y africanos > 94 cm H y > 80 cm M. HDL (lipoproteínas de alta densidad o High Density Lipoprotein) Tomado de (Hernández Pérez, 2015) y modificado.

1.2. Diabetes mellitus

Se denomina DM al grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por concentraciones elevadas de glucosa en la sangre (hiperglucemia), resultante de defectos en la secreción y/o acción de la insulina (Hayes Dorado, 2008; Hernández Pérez, 2015; IMSS, 2012). De acuerdo a la Asociación Americana de Diabetes (ADA por sus siglas en inglés American Diabetes Association) y al IDF, ésta se clasifica en:

- Tipo I o insulino – dependiente – se caracteriza por la destrucción de los islotes pancreáticos de células β e insulinopenia total, deficiencia total de insulina. Se presenta generalmente en niños menores de cinco años y representa entre el 5–10% de los casos de diabetes
- Tipo II o no insulino – dependiente – se caracteriza por concentraciones elevadas de glucosa en sangre debido a la deficiencia en la producción o acción de la insulina y resistencia a ésta. Representa entre el 90–95 % de los casos
- Diabetes gestacional (DMG) – se presenta entre el 3–7 % de los embarazos y se caracteriza por niveles altos de glucosa debido a la resistencia a la insulina durante éste y desaparece al finalizar el embarazo, tanto la madre como el hijo presentan un mayor riesgo de desarrollar DM dentro de los 5 años posteriores al parto (<https://www.diabetes.org/>, 2019; <https://www.idf.org/>, 2019)

Se estima que a nivel mundial hay aproximadamente 463 millones de personas afectadas por esta enfermedad, de las cuales 12 millones son mexicanas. A nivel nacional, es la segunda causa de muerte y se estima que la tasa de mortalidad crece un 3% cada año (IMSS, 2012). De los casos diagnosticados de diabetes, el 90 al 95 % pertenecen a la DM2 (<https://www.idf.org/>, 2019; INEGI, 2018).

1.2.1. Factores de riesgo, diagnóstico y complicaciones de la DM2

Debido al aumento de obesidad, la falta de actividad física y una mala alimentación, es cada vez más común encontrar a niños y adultos jóvenes que padecen DM2; sin embargo, sigue siendo una enfermedad que afecta con mayor frecuencia a los adultos mayores. Además de los factores ya mencionados, existen otros que están asociados a la DM2 tales como antecedentes familiares, hipertensión, grupo étnico e historia de diabetes gestacional (Hernández Pérez, 2015; IDF, 2019).

Los síntomas de esta enfermedad suelen ser imperceptibles o confundidos por lo que pueden pasar varios años antes de que los pacientes sean diagnosticados. Los síntomas son: exceso de sed, boca seca, cansancio, micción frecuente, visión borrosa, entumecimiento de pies y manos, infecciones frecuentes en la piel y lenta cicatrización (Hernández Pérez, 2015; <https://www.idf.org/>, 2019). Para el correcto diagnóstico de la DM2 se requieren hacer diferentes pruebas tanto en orina como en sangre, la ADA ha establecido criterios para el diagnóstico esta enfermedad Cuadro 2 (Hernández Pérez, 2015).

Cuadro 2. Criterios de diagnóstico para la Diabetes Mellitus tipo 2

Criterio	Parámetro
Glucosa en ayuno	≥126 mg/dL
Glucosa plasmática casual*	≥ 200 mg/dL (más la presencia de síntomas)
Glucosa plasmática	≥ 200 mg/dL (dos horas después de una carga de 75 mg de glucosa anhidra en 300 mL de H ₂ O, prueba de tolerancia a la glucosa)
HbA1c (hemoglobina glucosilada)	≥ 6.5 %

* En cualquier hora del día. Tomada de (Hernández Pérez, 2015)

Las personas con esta enfermedad tienen un riesgo de 3–4 veces de padecer diferentes complicaciones crónicas que afectan el corazón, vasos sanguíneos, ojos, riñones, nervios y dientes, éstas se clasifican en:

Microangiopáticas

- Retinopatía diabética – visión reducida o ceguera
- Nefropatía diabética – causa daño a los vasos sanguíneos de los riñones evitando que funcionen adecuada o completamente

- Neuropatía diabética – daño en los nervios de todo el cuerpo provocando problemas de digestión, disfunción eréctil entre otras
- Neuropatía periférica – daño en los nervios de los pies provocando dolor, hormigueo y pérdida de sensibilidad
- Neuropatía autónoma – daño a los nervios que controlan las funciones corporales tales como digestión, transpiración, frecuencia cardíaca entre otras

Macroangiopáticas

- Enfermedad cardiovascular – afecta corazón y vasos sanguíneos causando un ataque cardíaco y accidente cerebrovascular
- Enfermedad cerebrovascular – daño en células cerebrales como consecuencia de falta de oxigenación causada por un coágulo o un vaso sanguíneo roto
- Macroangiopatía periférica – daña vasos sanguíneos provocando principalmente infartos al miocardio y aterosclerosis

Otras

- Complicaciones orales como gingivitis y/o periodontitis
- Complicaciones durante el embarazo causando daño al feto como aumento de peso, hipoglucemia al nacer y mayor riesgo a desarrollar DM2 desde la infancia (Burgos Peláez et al., 2010; <https://www.idf.org/>, 2019)

1.2.2. Impacto social y económico

En los últimos 20 años se ha triplicado la cifra de diabéticos. En el 2010 se estimaba que para el 2025 habría 438 millones de pacientes; sin embargo, en 2019 se superó esa cifra con 25 millones. Este gran aumento se debe a los factores ya mencionados y se estima que seguirá aumentando el número de pacientes con DM2 (<https://www.idf.org/>, 2019). Debido a esta enorme cifra y a las diferentes complicaciones de esta enfermedad se genera un importante efecto económico en los sistemas de salud en todos los países ya que es la causa principal de ceguera, hemodiálisis y amputaciones (Burgos Peláez et al., 2010; <https://www.idf.org/>, 2019). Se estima que el gasto sanitario para diabéticos a nivel mundial es de 760 millones de

dólares y se calcula que aproximadamente el 65% se destina para el tratamiento de las complicaciones originada por la DM, gastos directos y el 35% es de los gastos indirectos, abandono laboral, mortalidad y la disminución de la producción laboral (<https://www.idf.org/>, 2019).

1.2.3. Tratamiento

El tratamiento para la DM2 es una combinación de medicamentos con un cambio de estilo de vida por lo que se clasifica como sigue:

- No farmacológico – disminución de peso, educación terapéutica, alimentación saludable y ejercicio físico
- Farmacológico – medicamentos que en su mayoría se administran por vía oral y algunos por vía subcutánea, todos poseen diferentes mecanismos de acción como se muestra en el Cuadro 3 (Hernández Pérez, 2015; Reyes Sanamé et al., 2016).

Cuadro 3. Tratamiento farmacológico para la DM

Tipo de medicamento	Órgano de acción primaria	Mecanismo de acción	Nombre comercial
Biguanidas	Hígado	Reduce la producción de glucosa Incrementa la sensibilidad a la insulina	Metformina *
Secretagogos de insulina (sulfonilureas)	Páncreas	Estimula la secreción de insulina	Glibenclamida * Tolbutamida
Glitazonas	Músculo Tejido adiposo	Incrementa la sensibilidad a la insulina	Pioglitazona
Inhibidores de alfa glucosidasa	Intestino	Retardan absorción de carbohidratos	Glucobay
Inhibidores de DPP-4	Páncreas Hígado Cerebro	Reduce la producción hepática de glucosa Reduce la resistencia periférica de insulina Retardan el vaciamiento gástrico Promueve saciedad y disminuye apetito	Januvia
Péptido similar al glucagón (GLP-1)	Páncreas Cerebro	Estimula la secreción de insulina Retardan el vaciamiento gástrico Promueve saciedad y disminuye apetito	Liraglutida

* Medicamentos orales más utilizados para la DM2 (<https://www.idf.org/>, 2019). DPP-4 – Dipeptidil Peptidasa – 4, GLP-1 – péptido similar al glucagón o Glucagon Like Peptide –1. Tomada de (Hernández Pérez, 2015) y modificada

La mayoría de los pacientes abandona ambos tratamientos debido al estilo de vida actual y al elevado costo de los medicamentos ya que se recetan de por vida y al menos dos veces por día, agregando que en ocasiones se indica la combinación de dos de ellos como metformina y glibenclamida, situación por la cual optan por buscar alternativas más económicas como los productos naturales, ya sea por tradición y/o recomendación. Éstos, además de ser más económico se considera que no tienen tantos efectos adversos en la salud como los medicamentos (García Luján et al., 2009; Saucedo Tamayo et al., 2006)

Si bien es cierto que las plantas brindan opciones de prevención, mejoría o cura para diversos padecimientos, es necesario identificar científicamente su composición para emplear la dosis correcta ya que de no ser así se puede inducir numerosos efectos adversos (Saucedo Tamayo et al., 2006).

1.2.4. Etnofarmacología

La OMS define a las plantas medicinales o medicamentos herbarios como cualquier especie vegetal que contenga principios activos que ayuden a la prevención y/o tratamiento de diversas enfermedades (Schlaepfer and Mendoza–Espinoza, 2010). Dependiendo del tipo de planta se utilizan diferentes partes como las flores, frutos, semillas, tallos, cortezas, raíces, entre otras, preparándose en jugos, tés, aceites esenciales, vaporizaciones, ungüentos, etc. El uso tradicional de dichas especies es reconocido como inocuo y eficaz, sin embargo deben ser aceptadas y autorizadas por los organismos nacionales de cada país (<https://www.who.int/es>, 2019).

A nivel mundial se estima que existen aproximadamente 35,000 especies vegetales de uso medicinal y cerca del 80% de la población utiliza estas plantas para tratar diversas enfermedades (García de Alba García et al., 2012). México posee 4,000 de estas especies y solo 5% de éstas tiene una validación química, farmacológica y biomédica (Schlaepfer and Mendoza–Espinoza, 2010).

Se estima que cerca de 400 especies de plantas poseen un efecto hipoglucémico, sin embargo solo unas pocas han sido evaluadas científicamente y el resto sólo son confirmadas en las poblaciones en donde se usan y aparentemente son efectivos, éstas especies producen

mínimos efectos secundarios y son de bajo costo comparados con los medicamentos sintetizados (García Luján et al., 2009).

Dentro de las pocas especies que están siendo investigadas científicamente se encuentra *C. ficifolia* la cual posee un importante efecto hipoglucémico.

1.3. *Cucurbita ficifolia* Bouché

Esta especie se encuentra dentro de un grupo conocido como calabazas el cual pertenece al género *Cucurbita L.* Los frutos de esta especie se distinguen por su parecido con las sandías por la forma ovalada y la presencia de semillas negras (Nee, 1990). También se ha encontrado que el color de la corteza puede variar desde blanco–cremoso, verde uniforme, a reticulado o rayado y las semillas pueden ser blancas o negras (Moya–Hernández, 2015).



Figura 1. Izquierda, frutos de *C. ficifolia* con diferente color de corteza. Derecha, frutos con semillas de color blancas y negras (Moya–Hernández, 2015)

Algunos datos reportan que este fruto es de origen Andino, sin embargo debido a su nombre proveniente del *Náhuatl* (*tzilac* 'liso' y *ayotli* 'calabaza') (<http://www.fondodeculturaeconomica.com>, 2017) se cree que es originario de México en donde se conoce como chilacayote (Prohens and Nuez, 2008). Sin embargo, el conocimiento preciso de su origen aún representa un enigma por resolver, al igual que su diversificación, ya que su área de distribución está principalmente en las zonas medias o altas (1000–3000 msnm), desde el norte de México hasta Argentina y Chile, mientras que restos arqueológicos encontrados en Perú, se inclinan hacia esa zona como su centro de origen (CONABIO, 1990).

La clasificación taxonómica de esta especie es la siguiente: (CONABIO, 1990)

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Violales
Familia	Cucurbitaceae
Género	<i>Cucurbita</i> L., 1981
Especie	<i>C. ficifolia</i> Bouché, 1837

1.3.1. Descripción

C. ficifolia es una planta rastrera–trepadora, anual y si no se presentan heladas severas da la impresión de ser perenne, ya que es capaz de sobrevivir por más tiempo. En México se cultiva entre mayo–junio, florece entre julio–septiembre dando frutos de septiembre a enero (CONABIO, 1990; Lira Saade et al., 2009).

Posee zarcillos ramificados, hojas pecioladas de color verde claro a oscuro con nervaduras y márgenes denticulados. Las flores son monoicas, solitarias, axilares y estaminadas, con pedicelos de 8 a 32 cm de largo, presentan pétalos carnosos de corola de hasta 7.5 cm de diámetro. Las flores femeninas tienen pedúnculos de 3–5 cm de largo, ovario ovoide multilocular y las masculinas son largas con cáliz acampanado y con tres estambres, su corola es menor a la de las femeninas, ambas son de color amarillo–anaranjado (CONABIO, 1990, Moya–Hernández 2015).

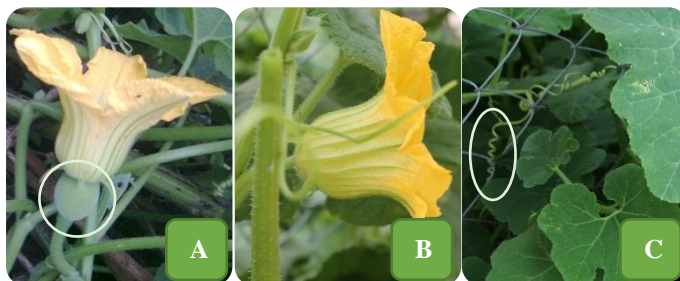


Figura 2. (A) Flor femenina, (B) flor masculina y (C) hoja con zarcillo de *C. ficifolia*

Se cultiva principalmente en climas templados y cálido–húmedos a cielo abierto, requieren de mucha luz ya que la deficiencia de ésta puede provocar un decremento en la cosecha de los frutos y requiere de suelos que retengan humedad. En condiciones favorables puede dar hasta 50 frutos, los cuales inician su desarrollo a partir del tercer mes después de la fecundación y la maduración de éstos se da posterior a los 120 días a partir de la siembra. Sin embargo este lapso puede llegar a variar debido a condiciones ambientales (CONABIO, 1990).

1.3.2. Producción

Dentro del grupo de las calabazas, la especie de *C. ficifolia* es la de menor importancia económica debido al bajo consumo de ésta, por ello su superficie cosechada es menor y el valor que le confieren es baja (Cuadro 4). Comparando con la producción de *C. pepo* o calabacita como se conoce comúnmente, tanto la superficie sembrada como la producción y el valor de la producción del *C. ficifolia*, no llega al 1% y sólo representa el 5.9% y 3.75% de *C. argyrosperma* K. Koch y *C. moschata* Duchesne respectivamente, además éste solo se cosecha en tres estados de la República Mexicana mientras que el resto de las calabazas se cultiva en más de 15 estados (http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp, 2018).

Este fruto es de uso local y se consume principalmente en el valle de México, se utiliza en pequeñas porciones como complementos alimenticios o como platillos especiales para días festivos, además del consumo del fruto, también se consumen las semillas y las flores de esta especie e incluso se llega a utilizar con fines medicinales (Moya–Hernández, 2015). Al ser un fruto de consumo local y poco o no conocido en algunos lugares, no se espera un incremento sustancial en la demanda y cosecha de este producto (Molina Moreno y Córdova Téllez, 2006).

Cuadro 4. Producción de calabazas 2018 SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera)

	Estados en los que se siembra	Superficie cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
<i>Cucurbita ficifolia</i> (chilacayote)	CDMX	7	98	378
	Edo. Méx.	166	2307	9222
	Morelos	6	72	244
	Nacional	179	2477	9844
<i>Cucurbita argyrosperma</i> (chihua)	16	22356	9520	165062
<i>Cucurbita moschata</i> (calabaza)	17	5773	92970	262348
<i>Cucurbita pepo</i> (calabacita)	30	26318	464095	1791080

(http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp, 2018)

1.3.2.1. Exigencias climáticas

En general, las calabazas son hortalizas de clima cálido y generalmente no toleran heladas. La temperatura óptima de germinación de semillas va de 22 a 25°C y la temperatura para su desarrollo es de 18 a 25° C, pueden soportar máximas de 32°C y mínimas de 10°C. Los cultivos resisten la falta temporal de agua, pero no soportan humedad excesiva ya que propician el crecimiento de hongos y otras enfermedades. No necesitan de la luz directa para germinar; sin embargo, a una alta intensidad lumínica se estimula la fecundación de las flores. Crecen en cualquier tipo de suelo, pero se adaptan mejor a los profundos y ricos en materia orgánica (Cerón Gonzáles, 2010).

Se ha encontrado que en particular *C. ficifolia* puede llegar a soportar heladas, no obstante disminuye su producción y generalmente se desarrollan de manera rápida cuando hay humedad relativa (HR) de 60–80 % (Japon Quintero, 2006).

1.3.2.2. Suelo y fertilización requerido para *C. ficifolia*

Aunque no se tiene información específica sobre el manejo agronómico de *C. ficifolia*, se ha visto que su comportamiento es similar al de otras especies pertenecientes a este género. Éstas generalmente se desarrollan en suelos de pH entre 6 y 8, sin embargo resisten suelos más ácidos con pH de 5.5, con un contenido de materia orgánica de 6.26 %, 13.2 µg/mL de P y 9.0 meq/mL de Ca (Bolaños Herrera, 2001). Normalmente se adaptan bien a terrenos

secos y pobres (Japon Quintero, 2006). Aunque son poco exigentes en suelo, dado que se adaptan prácticamente a toda clase de terreno, lo más adecuado para su cultivo son los suelos ricos en materia orgánica, francos y profundos o arcillosos (Japon Quintero, 2006).

1.3.3. Aporte nutrimental

El aporte nutrimental que proporciona la planta de *C. ficifolia* es diferente dependiendo de la estructura vegetal que se consuma, pero en conjunto proporcionan lípidos, carbohidratos y proteínas, además contienen vitaminas A, C, tiamina, riboflavina y niacina, también calcio, hierro, fósforo, zinc y magnesio. En los cuadros 5 y Cuadro 6 se muestra el contenido de estos nutrientes tanto en el fruto maduro como en las semillas crudas y tostadas (Basurto–Peña et al., 2015).

Cuadro 5 . Análisis químico proximal del fruto y semillas de *C. ficifolia*

	Fruto maduro	Semilla tostada	Semilla cruda
Agua (%)	93.6	6.9	7.1
Proteína (g/100 g)	0.80	33	24.5
Grasa (g/100g)	0.10	42.1	45.8
Carbohidratos (g/100 g)	5.10	13.4	17.8
Fibra (g/100g)	—	3.9	3.9
Cenizas (g/100g)	0.40	4.8	4.9

(Menchú and Méndez, 2012)

Cuadro 6. Contenido de vitaminas y minerales de fruto y semillas del *C. ficifolia*

	Fruto maduro	Semilla tostada	Semilla cruda
Calcio (mg)	15	43	43
Fósforo (mg)	19	1172	1174
Hierro (mg)	0.4	14.9	14.9
Manganeso (mg)	—	534	535
Tiamina (mg)	0.04	0.21	0.21
Riboflavina (mg)	0.03	0.32	0.32
Niacina (mg)	0.3	1.74	1.75
Vitamina C (mg)	11	2	2
Vitamina A (mcg)	—	19	19

(Menchú and Méndez, 2012)

1.3.4. Usos

En México, los frutos maduros de esta especie se consumen como dulce o para preparar una bebida tipo agua fresca, los frutos inmaduros como hortaliza ya sea cocinados en algún guisado o en fresco para complementar ensaladas, los tallos jóvenes y las puntas de las guías se consumen como quelites y las flores se consumen como verdura cocida en sopas y como ornamento y/o guarnición en algunos platillos. Las semillas se destinan principalmente a la elaboración de palanquetas o se consumen tostadas (en un comal). Esta especie también se utiliza para tratar algunos malestares médicos, funciona como antihelmíntico, diurético, tenífugo, entre otros, en particular los frutos ayudan a disminuir los niveles de glucosa (Mera Ovando et al cols., 2011; Moya–Hernández, 2015).

1.4. Efecto hipoglucémico de *C. ficifolia*

A pesar de que los frutos de *C. ficifolia* no son ampliamente cultivados como otras calabazas, han adquirido gran importancia científica debido a sus propiedades hipoglucémicas, lo que ha llevado a que varios grupos de investigadores corroboren dicho efecto. Algunos de ellos se mencionan a continuación.

Una de la primeras investigaciones fue realizada por Román–Ramos y cols. (1995) en donde usando conejos de laboratorio, se comparó el efecto hipoglucémico de diferentes especies como *C. ficifolia* Bouché (chilacayote), *Opuntia streptacatha* Lem. (nopal), *Spinacia oleracea* L. (espinaca), *Cucumis sativus* L. (pepino), *Psidium guajava* L. (guayaba), *Allium cepa* L. (cebolla), *Allium sativum* L. (ajo), entre otras. En dicho estudio se encontró que los frutos de *C. ficifolia* son los que presentaron un mejor efecto hipoglucémico, incluso disminuyeron la glucosa 12.9% más que el nopal, la cual es una especie utilizada para controlar los niveles de glucosa y 14.6% más que la tolbutamida que fue usada como control. Este descubrimiento motivó a otros grupos de científicos a ratificar el efecto hipoglucémico de *C. ficifolia*, estas investigaciones se muestran de manera resumida en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Estudios relacionados con el efecto hipoglucémico de *C. ficifolia*

Investigadores	Dosis de <i>C. ficifolia</i>	Población de estudio	Procedencia y/o tamaño del fruto	Resultado
Acosta–Patiño et al., 2001	4 mL de jugo de <i>Cf</i> /kg de peso corporal	Hombres y mujeres diabéticos (Se suspendió el tratamiento médico) 35–59 años	Puebla 8 cm \emptyset ne	Disminución significativa
Alarcón–Aguilar et al., 2002	500 mg de extracto de <i>Cf</i> /kg de peso corporal	Ratones machos sanos 25–35g	Acolman, Edo. Mex. Fruto maduro	Mejor efecto que la tolbutamida
Xia and Wang, 2006b	600 mg de extracto de <i>Cf</i> /kg de peso corporal	Ratas Wistar diabetizadas con STZ 150–180 g	Shanghai, China Tamaño s/e	Mismo efecto que la tolbutamida
Xia and Wang, 2007	300 mg de extracto de <i>Cf</i> /kg de peso corporal	Ratas Wistar diabetizadas con STZ 150–180 g	Shanghai, China Tamaño s/e	Disminución significativa en comparación con placebo
Díaz–Flores et al., 2012	200 mg de extracto de <i>Cf</i> /kg de peso corporal	Ratones macho diabetizados con STZ 25–35g	Acolman, Edo. Mex. Tamaño s/e	Mismo efecto que la pioglitazona
Roman–Ramos et al., 2012	200 mg de extracto de <i>Cf</i> /kg de peso corporal	Ratones macho diabetizados con STZ 25–35g	Acolman, Edo. Mex. 18–20 cm \emptyset ne	Mejor efecto que la pioglitazona
García Gonzalez et al., 2017	200 mg de extracto de <i>Cf</i> /kg de peso corporal	Ratones macho diabetizados con alloxan Peso s/e	Acolman, Edo. Mex. Fruto maduro	Mismo efecto que la glibenclamida
Jain et al., 2018	4 mL de jugo/kg de peso corporal	Hombres y mujeres de ~45 años entre 45 y 80 kg	Madhya Pradesh, India 12 cm \emptyset ne	Disminución significativa

Cf – *Cucurbita ficifolia*, s/e – sin especificar, \emptyset – diámetro, STZ – estreptozotocina, ne – no especifica si es diámetro ecuatorial o longitudinal

El estudio publicado más reciente fue el realizado por Moya–Hernández et al., (2018) en el que se evaluó el efecto hipoglucémico de frutos de *C. ficifolia* (con aparente madurez fisiológica) procedentes de diferentes regiones de México, los resultados mostraron que todos poseen dicho efecto, sin embargo los de Ixtapaluca, Edo. Mex. tuvieron un mejor efecto, siendo éste similar a la glibenclamida (usada como control).

Algunos investigadores han indicado que el D-quiró inositol (DQI), isómero del inositol (Larner, 2002), es un mediador importante para la acción de la insulina ya que éste ayuda a disminuir la glucosa en sangre (Farias et al., 2011; Fonteles et al., 2000; Larner, 2002, 2001; Ostlund et al., 1993), por lo cual algunos investigadores reportan que dicho compuesto es uno de los principales componentes de *C. ficifolia* y que éste es el responsable de su efecto hipoglucémico (Xia and Wang, 2006a). Sin embargo, este mismo grupo de científicos al comparar el efecto hipoglucémico de *C. ficifolia* con DQI sintetizado encontraron que el extracto de estos frutos posee un efecto mejor, por lo que se cree que este compuesto actúa en sinergia con otros compuestos presentes en este fruto.

1.5. Estrés oxidativo y efecto antioxidante

Las reacciones de óxido-reducción son muy importantes para los seres vivos ya que a partir de ella se obtiene la mayoría de la energía libre, en estas reacciones se pierden electrones (oxidación) o se ganan electrones (reducción) (Elejalde Guerra, 2001). Sin embargo el oxígeno puede llegar a reaccionar con otros elementos y producir radicales libres (RL), átomos con un electrón desapareado que tienden a captar electrones de moléculas estables para obtener su estabilidad electroquímica (Avello and Suwalsky, 2006).

Todas las moléculas como los RL u otras que son agentes oxidantes o que pueden convertirse fácilmente a radicales se les conoce como Especies Reactivas de Oxígeno (EROs) (Avello and Suwalsky, 2006). El organismo posee un sistema de defensa antioxidante para eliminar los RL y mantener un equilibrio entre la generación y degradación de éstos (Cuerda et al., 2011). Cuando hay un exceso de EROs o disminuye el sistema de defensa, se rompe dicho equilibrio teniendo como resultado el Estrés Oxidativo (EO), éste generalmente se presenta en diversos estados patológicos en los cuales se altera la funcionalidad celular contribuyendo al desarrollo de algunas enfermedades degenerativas, algunas de ellas, arterosclerosis, cardiomiopatías, cáncer y DM2 (Avello and Suwalsky, 2006; Elejalde Guerra, 2001). Específicamente en la DM2, el EO produce resistencia a la insulina y contribuye a la disfunción de las células β del páncreas, esto se debe a que el incremento de las EROs es causada por la acumulación de grasa, una de las principales causas de esta enfermedad (Cuerda et al., 2011; Hernández Pérez, 2015).

Existen compuestos llamados antioxidantes los cuales son capaces de interactuar de forma segura para neutralizar la oxidación causada por los RL y terminar con la reacción en cadena antes de que moléculas vitales sean dañadas (Avello and Suwalsky, 2006; Oroian and Escriche, 2015). Algunos de ellos son; vitaminas C y E, carotenoides y polifenoles, de estos últimos existen varios grupos como: flavonoides (flavonas, flavanonas, flavonoles, flavanoles o catequinas, antocianidinas e isoflavonas), ácidos fenólicos, alcoholes fenólicos, estilbenos y lignenos (Oroian y Escriche, 2015). Los compuestos fenólicos se encuentran en frutas, hortalizas y semillas, estos son una buena fuente de antioxidantes por lo que se recomiendan en la dieta diaria (Martínez–Flórez et al., 2002), sobre todo en personas que padecen DM2.

Algunas investigaciones reportan que el extracto de *C. ficifolia* contiene polifenoles, (especialmente flavonoides) y que disminuye el estrés oxidativo, esto ha sido evaluado por marcadores generales de EO en ratones obesos y diabetizados (Díaz–Flores et al., 2012; Fortis–Barrera et al., 2016; Garcia Gonzalez et al., 2017; Roman–Ramos et al., 2012).

1.6. Maduración e índice de madurez

Todas las frutas y hortalizas pasan por tres etapas fisiológicas: crecimiento, maduración y senescencia. La maduración se define como la etapa de desarrollo que lleva a la madurez fisiológica, sensorial y hortícola (comercial) (Angón–Galván et al., 2006), éstos se definen a continuación:

- Madurez fisiológica – estado llamado también sazón o mature, etapa en la que el fruto se encuentra fisiológicamente en su máximo tamaño de crecimiento y desarrollo, generalmente comienza poco antes de que termine el crecimiento y termina cuando las semillas están maduras y aptas para la propagación de la especie (Angón–Galván et al., 2006; Kader, 2007)
- Madurez de consumo – es el proceso por el cual los frutos alcanzan las características de color, textura, aroma y sabor, entre otros; que los define como comestibles. Este proceso se inicia en las etapas finales de maduración fisiológica del fruto y constituye el comienzo de la senescencia, proceso durante el cual tienen lugar una serie de cambios físicos, bioquímicos y fisiológicos determinantes de la calidad de la vida en

poscosecha (Figura 3). Entre estos cambios están: cambio de color, composición de proteínas, carbohidratos, ácidos orgánicos, polifenoles, producción de aromas, incremento en la actividad respiratoria y producción de etileno (Marín-López et al., 2003)

- Madurez hortícola – es el estado de desarrollo en el que se reúnen todas las características sensoriales como el sabor, color, aroma, textura y consistencia, para ser utilizado por el consumidor con un propósito en particular, por lo que un producto dado puede estar en este tipo de madurez en cualquier estado de desarrollo (Angón-Galván et al., 2006; Kader, 2007)

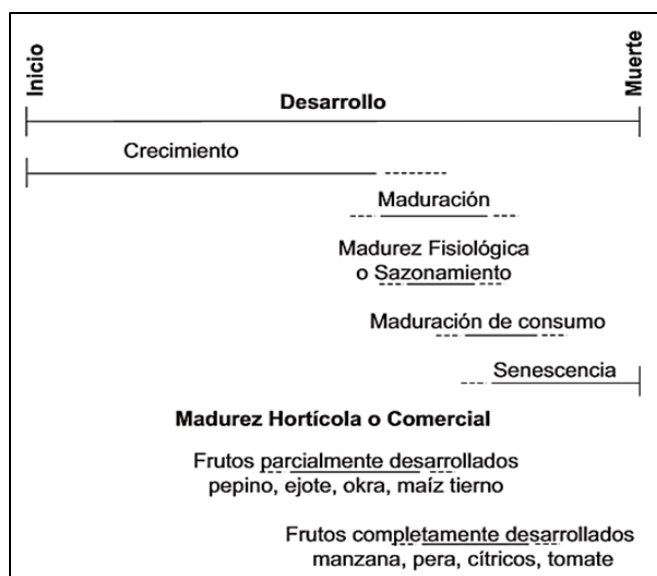


Figura 3. Madurez hortícola en relación a los estados de desarrollo de los frutos (Kader, 2007)

Debido a que la madurez hortícola y fisiológica tienen una estrecha relación y pueden llegar a coincidir con cualquier etapa del desarrollo, no es fácil distinguirlas, por lo que se requiere tener una medida o conjunto de medidas de preferencia objetivas que puedan utilizarse para determinar la madurez requerida en cada fruto u hortaliza para ser comercializado, a estas medidas se les llama índices de madurez (Angón-Galván et al., 2006; Kader, 2007). Estos deben ser consistentes con la calidad y vida poscosecha de cada producto y preferentemente no destructivo (Kader, 2007).

Una forma de medir la madurez es cronológicamente en términos de los días transcurridos desde la plantación y/o floración (antesis) hasta la cosecha (Kader, 2007). Sin embargo, los

índices más utilizados son; tamaño, firmeza, forma, capa de abscisión, color, textura, contenido de sólidos solubles totales (SST), almidón y acidez (Angón–Galván et al., 2006; Kader, 2007).

1.6.1. Respiración y producción de etileno

Todas las frutas y hortalizas son órganos vegetales vivos por lo que respiran y transpiran, tanto en su fase de desarrollo en la planta como durante la maduración y senescencia, posterior a su cosecha. La respiración es el proceso metabólico mediante el cual se genera energía a través de la oxidación de las propias reservas de almidón, azúcares y otros metabolitos del fruto una vez cosechado (Wills et al., 2007) y esta es un excelente indicador de la actividad metabólica de los órganos de la planta por lo que sirve como una guía muy útil para la vida potencial de los productos hortícolas. La tasa de respiración varía según la etapa del desarrollo, y su medición es de suma importancia debido a su asociación con el metabolismo celular, ya que la energía derivada de la respiración impulsa todas las demás reacciones dentro de una célula. Del mismo modo, parece que existe una correlación entre el nivel de etileno producido por la fruta y su maduración y descomposición poscosecha (Yokotani et al., 2003; Yoo et al., 2009; Zheng and Wolff, 2000). Por lo tanto, la vida poscosecha de un fruto u hortaliza está estrechamente relacionado con su respiración y la producción de etileno (Paul et al., 2012). El etileno es una hormona vegetal que acelera la maduración y senescencia, éste puede ser producido por el propio metabolismo del fruto o puede aplicarse de manera exógena para la comercialización de ciertos productos (<https://www.intagri.com/articulos>, 2019; Kader, 1992).

En general, los frutos muestran dos patrones clásicos diferentes de respiración durante la etapa de maduración (Figura 4), esto permite clasificarlos en los siguientes dos grupos (<https://www.intagri.com/articulos>, 2019; Kader, 1992; Paul et al., 2012):

Climatéricos

- Presentan un incremento tanto de la tasa de respiración como de la producción de etileno durante la maduración

- Después de la cosecha continúan fisiológicamente activos produciendo cambios bioquímicos, físicos y sensoriales para alcanzar la madurez de consumo por lo cual se pueden cosechar antes de que la producción de etileno aumente
- Los cambios de color, aroma, textura y sabor son rápidos, intensivos y variados
- Algunos ejemplos son: *Malus domestica* (Suckow) Borkh (manzanas), *Prunus armeniaca* L. (chabacano), *Persea americana* Mill. (aguacate), *Cucumis melo* L. (melon cantaloupe), *Actinidia deliciosa* (A. Chev.) (kiwi), *Prunus persica* var. *Nucipersica* Dippel (nectarinas), *Prunus persica* (L.) Stokes (duraznos), *Pyrus communis* Huds. (peras), *Prunus domestica* L. (ciruelas) y *Passiflora edulis* Sims (maracuya)

No climatéricos

- La tasa de respiración y producción de etileno se mantienen bajas durante la maduración
- Deben alcanzar su madurez de consumo antes de la cosecha ya que posterior a ésta no hay cambios que contribuyan a su maduración
- En estos frutos el proceso de madurez es un proceso gradual y continuo
- Ejemplo de frutos no climatéricos son: *Prunus cerasus* L. (cereza), *Citrus limon* (L.) Osbeck (limón), *Cucumis sativus* L. (pepino), *Litchi chinensis* Sonn. (litchi), *Fragaria* L. (fresa), *Cucurbita pepo* L. (calabaza), *Ananas comosus* (L.) Merr. (piña), *Citrus X sinensis* (L.) Osbeck (naranja), *Citrullus lanatus* (Thumb.) Matsum. & Naka (sandía) y *Citrus reticulata* Blanco (mandarina)

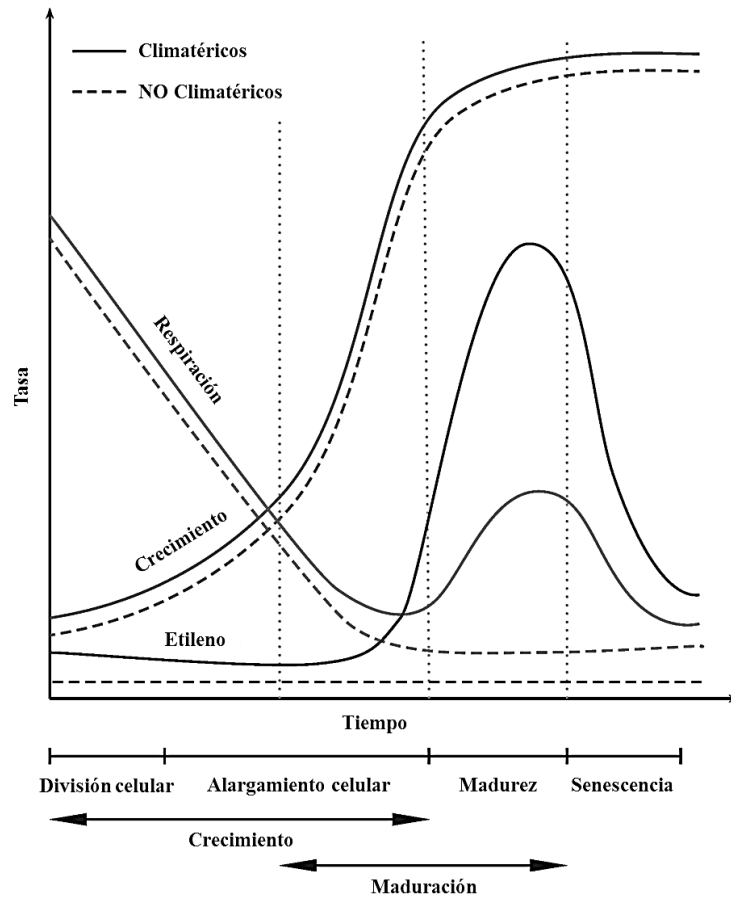


Figura 4. Patrón de crecimiento, respiración y etileno durante el desarrollo, maduración y senescencia de frutos climatéricos y no climatéricos. Tomada y modificada de Wills et al. 2007

2. Relevancia de la investigación

La DM2 es la segunda causa de muerte en México y quienes la padecen están predispuestos a sufrir numerosas enfermedades crónicas, además tienen un menor rendimiento en su trabajo e incluso llegan a abandonarlo, lo que se traduce en una pérdida económica y un aumento significativo en el gasto del sector de salud pública. Tomando en cuenta lo anterior y que la cifra de casos de DM2 aumenta rápidamente en personas de todas las edades, es de suma importancia poder prevenir el mayor número de casos posibles. Ésto se podría lograr desde que se diagnostique a los pacientes con SM, quienes son más vulnerables de padecer DM2, mediante el control de los niveles de glucosa ya que la hiperglucemia es la principal característica que tienen en común.

Dado que las plantas medicinales se están volviendo una buena opción para el tratamiento de diversas enfermedades, entre ellas la DM2, es indispensable llevar a cabo estudios científicos. Una de las especies utilizadas para el control de la DM2 es *C. ficifolia* la cual ha adquirido gran importancia en los últimos años, sin embargo a pesar de los numerosos estudios que demuestran su significativo efecto hipoglucémico, ninguno de ellos menciona el estado de desarrollo preciso del fruto, información de suma importancia, ya que las propiedades de esta especie pueden estar relacionadas con la edad fisiológica de los frutos, además aún no se sabe con certeza qué compuesto o compuestos son los responsables de dicha actividad. Para ello es importante realizar una caracterización física, química y fisiológica de este fruto y poder conocer cuáles son los posibles compuestos que estén involucrados en el efecto hipoglucémico y si éste se encuentra asociado a su estado de madurez, además hasta el momento no hay reportes que indiquen si este fruto es climatérico o no climatérico y tampoco si existen cambios significativos en los atributos de calidad y composición química.

3. Hipótesis

- La capacidad hipoglucemiante del *C. ficifolia* depende de su estado de desarrollo
- El D-Quiro inositol en sinergia con los flavonoides, están relacionados con la capacidad hipoglucémica del *C. ficifolia*

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

- Caracterizar física, química y fisiológicamente frutos de *C. ficifolia* (chilacayote) durante su crecimiento y desarrollo, asociada a su capacidad hipoglucemiante

4.2. Objetivos particulares

- Determinar el patrón de crecimiento de los frutos de *C. ficifolia*
- Determinar el patrón de respiración y de producción de etileno en dichos frutos
- Cuantificar el contenido de DQI y flavonoides durante el crecimiento y desarrollo del *C. ficifolia*

- Determinar la capacidad hipoglucémica durante el desarrollo de este fruto
- Correlacionar el contenido de DQI y flavonoides con la capacidad hipoglucémica

5. Material y métodos

5.1. Muestreo de suelos y análisis edafológico

Antes de realizar cualquier tipo de siembra se requiere conocer las características y composición del suelo, por lo que es necesario realizar un análisis edafológico. Para ello se realizó un adecuado y representativo muestro de suelo, el cual consiste en tomar de 10–30 muestras por parcela (haciendo un recorrido de zig-zag) a una profundidad de 0–30 cm 2 o 3 meses antes de la siembra o trasplante (<https://inta.gob.ar/documentos/muestreo-de-suelos-0>, 2019).

Debido a que se tenía que supervisar la siembra de *C. ficifolia* para asegurar la fecha exacta de anthesis y así saber la edad exacta de los frutos para poder realizar su caracterización química, física y fisiológica, además de llevar el control de temperatura y humedad, se requirió sembrar en una parcela de 9x4 m² ubicada en las instalaciones de la UAM Iztapalapa (19° 21' 34.8'' N 99° 4' 27.2'' W). Para saber si el suelo de este lugar tenía condiciones similares a las de los lugares en donde se han encontrado estos frutos, se realizó un análisis edafológico de tres regiones: Ixtapaluca, Estado de México; Iztapalapa, Ciudad de México y Atitalaquia, Hidalgo. Se tomaron muestras de un área de aproximadamente 40m² de cada región y fueron analizadas para determinar materia orgánica (MO), nitrógeno total (N-total), potasio (K), fósforo (P) y textura.

Se utilizó el método de combustión húmeda de Walkley-Black para la determinación de materia orgánica (MO) (Prat Perez and Sanchez, 1973), la determinación de N-total por el método de Kjeldhal modificado para incluir nitratos (Carreira, 2011), la determinación de K por el método de acetato de amonio (de la Horra et al., 1993), la determinación de P disponible y la determinación de textura del suelo por el método de Bouyoucos (Medina González et al., 2007). En el **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se muestra la composición del suelo de las tres regiones.

Cuadro 8. Materia orgánica, macrocomponentes y textura del suelo de diferentes regiones

	Ixtapaluca, Edo. Méx.	Atitalaquia, Hidalgo	Iztapalapa, Ciudad de México
MO %	4,44	2,68	2,63
N total %	0,23	0,11	0,13
Fósforo disponible mg/kg	22,8	12,43	12,17
Potasio intercambiable cmol kg ⁻¹	0,14	0,11	0,11
Textura	Franco-arcilloso	Franco-arcillo-limoso	Franco-arcillo-arenoso

Ya que tanto el suelo de Iztapalapa y Atitalaquia tienen una composición similar, se tomó la decisión de sembrar sin realizar algún cambio al suelo en donde se ubicó la parcela.

5.2. Siembra y obtención del material vegetal

Para lograr obtener suficientes frutos en sus diferentes etapas de crecimiento y desarrollo se utilizaron 144 semillas viables obtenidas de frutos de *C. ficifolia* provenientes de Ixtapaluca, Edo. Méx. (19° 19'23 " N 98° 45'38 " O), ya que en el estudio realizado por Moya–Hernández et al., 2018 se encontró que estos frutos tienen un mejor efecto hipoglucémico, con número de AMH Voucher 84029 depositado en el Herbario Metropolitano de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.

Se sembraron dos semillas en cada pozo de un semillero de 12 x 6 pozos y se utilizó como sustrato una mezcla de 50% de tierra negra, 25% de vermiculita y 25% de agrolita. El semillero se mantuvo en el Laboratorio de Biotecnología de Poscosecha de Frutas y Hortalizas (UAM-I) hasta el día del trasplante con una temperatura promedio de 23.1°C y 65% de HR, regando lo necesario por capilaridad para mantener la humedad del sustrato en todo el semillero y exposición a la luz solar de manera gradual.

La germinación fue del 90% y ocurrió aproximadamente a los 6 días. Cuando las plántulas alcanzaron una altura alrededor de 20–25 cm, lo cual ocurrió en 15 días, se trasplantaron a la parcela ubicada en el campus universitario (19° 21 '34.8' 'N 99° 4' 27.2 ' ' W). Durante los 85 días del crecimiento del cultivo la temperatura promedio fue de 23.5±2.2°C y HR 63.5±7.5%, con un fotoperíodo de luz/oscuridad de 15/9 h aproximadamente, se regó dos o tres veces por semana, según los requerimientos para mantener húmeda la tierra.

La antesis ocurrió a los 45 días después del trasplante, en ese momento se marcaron las flores y el amarre del fruto se dio ocho días después. A partir de este momento se cosecharon muestras de 5 frutas por triplicado a los 5, 10, 15, 25, 30, 40, 45, 50 y 55 días de desarrollo para determinar la producción de etileno, la tasa de respiración y parámetros de calidad como se indica en las siguientes secciones. Para realizar los ensayos biológicos y la caracterización de los compuestos hipoglucémicos se ocupó el extracto de los frutos en las etapas de 10, 15, 25, 30, 40 y 45 días los cuales fueron congelados y almacenados a -80°C para su análisis posterior.

5.3. Producción de etileno y tasa de respiración

Para determinar éstos parámetros fisiológicos se llevó a cabo el método de sistema cerrado (Bosquez Molina et al., 2015; Kader, 2002; Wills et al., 2007) en donde se utilizaron los frutos intactos en cada etapa de muestreo. De acuerdo con el tamaño y peso de los frutos se ocuparon diferentes contenedores herméticos; para los frutos de los primeros estados de desarrollo se utilizaron contenedores de vidrio con capacidad de 1 y 4 L, posteriormente se utilizaron contenedores de 11 L y finalmente en las últimas etapas de desarrollo se usaron contenedores de 20 L, estos últimos se diseñaron en la UAM Iztapalapa ya que los frutos llegan a crecer hasta 21 x 27 cm de diámetro ecuatorial y longitudinal respectivamente. En todos los casos se utilizó aire como atmósfera inicial y se mantuvieron a 20°C durante 1 h. Transcurrido este tiempo se tomaron muestras por triplicado de gas del espacio de cabeza de cada uno de los contenedores para su análisis.

Las muestras tomadas se analizaron para determinar la concentración de dióxido de carbono (CO_2) y etileno (C_2H_4) utilizando un cromatógrafo Varian Star (Walnut Creek, CA, EE. UU.), con dos series de detectores: detector de conductividad térmica (TCD por sus siglas en inglés Thermal Conductivity Detector) para la determinación de CO_2 y detector de ionización de llama (FID por sus siglas en inglés Flame Ionization Detector) para determinar la cantidad de C_2H_4 , equipado con una columna megaboro de 15 m, Porapak Q (Santa Clara, CA, EE. UU.), utilizando helio como gas portador. Las temperaturas del método de trabajo utilizadas fueron las siguientes; temperatura de la columna: 8°C , temperatura del inyector: 120°C , la temperatura del detector FID fue de 230°C y para el detector TCD de 210°C .

Para determinar la tasa de respiración se cuantificó el CO₂ utilizando la siguiente Ecuación 1:

Ecuación 1

$$\text{mL de CO}_2 \text{ kg h}^{-1} = \frac{(\Delta \% \text{ CO}_2 \times 10)(\text{volumen del espacio libre del contenedor en litros})}{(\text{peso fresco del producto en kg})(\text{tiempo que estuvo cerrado el contenedor en h})}$$

En donde

$\Delta\% \text{CO}_2$ = concentración de CO₂ en el t₂ – concentración de CO₂ en el t₁ para un sistema cerrado
CO₂ a t₁ = 0.03%

Para convertir de mL a mg se utilizó la corrección por temperatura de 20°C = 546 mL CO₂/1000mg y se sustituyó en la Ecuación 2.

Ecuación 2

$$\begin{aligned} 546 \text{ mL CO}_2/1000\text{mg} &= \text{mL determinados de la muestra} /x \\ x &= \text{mL determinados de la muestra}/0.546 \\ x &= \text{Peso del gas de la muestra de respiración en mg} \end{aligned}$$

Para cuantificar la producción de C₂H₄ se elaboró una curva estándar de dicho gas, R²=0.9991, y se utilizó la Ecuación 3 para calcular las concentraciones de C₂H₄ las cuales son reportadas en µL.

Ecuación 3

$$y = mx + b$$

5.4. Determinación de parámetros de madurez: dimensiones, peso, volumen, firmeza, humedad, SST, pH, y %AT

Después de la determinación de CO₂ y C₂H₄, los frutos se lavaron y desinfectaron con plata ionizada estable de nombre comercial Microdyn (de acuerdo con las instrucciones de uso) y se secaron para realizar los siguientes análisis. Todo se realizó por triplicado y de acuerdo a la guía (OECD, 2009, 2006).

Primero se realizaron las pruebas que no son destructivas para los frutos:

- Forma del fruto – se estableció a través de la determinación de los perímetros ecuatorial y longitudinal, para lo cual se utilizó una cinta métrica y se reportó como coeficiente de esfericidad expresado como se indica en la Ecuación 4.

Ecuación 4

$$\varepsilon=L/a$$

En donde

ε = esfericidad

L = perímetro longitudinal

a = perímetro ecuatorial

- Peso y volumen – el peso, reportado en g, se determinó utilizando una balanza electrónica OHAUS con legibilidad de 0.1 g (Parsippany, NY, EE. UU.). El volumen se midió por desplazamiento de agua utilizando la Ecuación 5, reportado en cm³.

Ecuación 5

$$\Delta V=V_f- V_i$$

En donde

ΔV = diferencia de volumen = volumen del fruto

V_f = volumen final

V_i = volumen inicial

Posteriormente se realizaron las pruebas destructivas en el siguiente orden:

- Firmeza – se midió la firmeza del mesocarpo en tres lugares diferentes del fruto, para ello se eliminó previamente el exocarpo con un pelador de frutas y hortalizas. Se utilizó un penetrómetro Effegi (Milán, Italia) con punta de 8 mm de diámetro y la medida se expresó en unidades de newton (N).
- Contenido de humedad y materia seca – se tomó muestra tanto de las semillas como del exocarpo y del mesocarpo, se determinó con un analizador de humedad estándar OHAUS MB35 y se obtuvo el porcentaje con la Ecuación 6.

Ecuación 6

$$\% = \frac{\text{peso inicial} - \text{peso final}}{\text{peso inicial}} * 100$$

Para los siguientes análisis se extrajo el jugo únicamente del mesocarpo utilizando un extractor de jugo Breville JE95XL (Gardena, CA, EE. UU.). Antes de realizar los análisis, el jugo se filtró con estameña (tela para colar) para eliminar la fibra y se midió usando probetas de acuerdo a la cantidad de jugo:

- SST – se midieron usando un refractómetro ATAGO (Tokio, Japón) y se expresaron como porcentaje.
- pH del jugo – se midió con un medidor HANNA E1023 (Ciudad de México, México).
- Acidez titulable (AT) – se determinó como porcentaje del equivalente de ácido málico usando la Ecuación 7.

Ecuación 7

$$\% \text{ acidez} = \frac{V_{\text{NaOH}} (\text{mL}) * N_{\text{NaOH}} \left(\frac{\text{meq}}{\text{mL}} \right) * \left(\frac{\text{g}}{\text{meq}} \text{ ácido málico} \right)}{(\text{mL muestra})} * 100$$

En donde

V_{NaOH} = mL gastados para la titulación

N_{NaOH} = normalidad del NaOH = 1

g/meq ácido málico = 0.067

El jugo restante se dividió en alícuotas de 100, 200 o 250 mL dependiendo de la cantidad de jugo obtenido por muestra para almacenarse a -80°C .

*5.5. Evaluación del efecto hipoglucémico de diferentes etapas de desarrollo de frutos de *C. ficifolia**

Como ya se ha mencionado, el efecto hipoglucémico de *C. ficifolia* se ha corroborado tanto en pacientes diabéticos como en modelos experimentales normoglucémicos y diabetizados con STZ o alloxan. En esta investigación se pretende saber en qué etapa de desarrollo del

fruto existe un mejor efecto, por lo que éste se evaluó en seis etapas de desarrollo, antes mencionadas, en ratones normoglucémicos y diabetizados con STZ.

Ambos experimentos fueron agudos y siguen la metodología descrita por Alarcón-Aguilar et al., 2002 y Moya-Hernández et al., 2018. Todos los tratamientos fueron vehiculados en 4 mL/kg de SSI.

El manejo de animales de laboratorio se realizó de acuerdo con la guía de los Institutos Nacionales de Salud para el cuidado y uso de animales de laboratorio (NIH, 2015) y la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO, 1999). El comité interno de la Universidad Autónoma Metropolitana aprobó el protocolo y manejo experimental de los animales para el ensayo biológico.

En ambos estudios se utilizaron ratones macho de la cepa CD-1 nacidos en el banco de genes UPEAL-Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco con el número de verificación BOO.02.03.02.01.281/07 Ministerio de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA).

*5.5.1. Preparación del extracto acuoso de *C. ficifolia**

Para preparar el extracto acuoso primero se descongeló el jugo obtenido de cada una de las muestras, posteriormente se filtró a vacío usando papel filtro Whatman de 90 mm y 45 µm de poro y se midió nuevamente con una probeta para calcular el rendimiento. El filtrado se vertió en bandejas de vidrio dejándolo en capas delgadas para facilitar su secado y se colocaron en una campana de flujo laminar a 25°C durante 48h. El extracto seco se pesó y se almacenó en viales color ámbar de 25 mL a 25°C, este extracto se utilizó para la caracterización química de *C. ficifolia*.

5.5.2. Ensayo biológico en ratones normoglucémicos

Se utilizaron 24 ratones con un peso de 33-40 g, los cuales se mantuvieron en el Bioterio de la UAM-Iztapalapa con una dieta básica para roedores, una temperatura ambiente de 22-25 °C y ciclos de luz-oscuridad de 12 h. Ocho horas antes del estudio y durante éste, los ratones se mantuvieron en ayuno con agua *ad libitum*.

Se formaron ocho grupos de tres ratones cada uno y se administraron los tratamientos por vía intraperitoneal de la siguiente manera: grupo 1 o control, únicamente recibió 4 mL/kg de solución salina isotónica (SSI); grupo 2 o control positivo, recibió glibenclamida en una dosis de 10 mg/kg; grupo 3-8, se les administró una dosis 500mg_{de extracto de Cf/kg}peso corporal de cada uno de los diferentes extractos.

5.5.3. Ensayo biológico en ratones diabetizados por STZ

Setenta y dos ratones macho de 33-46 g se dividieron en nueve grupos de ocho animales y se mantuvieron en el Bioterio con las condiciones antes mencionadas. Se indujo diabetes a los roedores de los grupos 1-8 con una dosis única de 135 mg/kg de STZ Sigma–Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.) en tampón de citrato 0,1 M y pH de 4,5 preparado en el momento de su uso. El grupo nueve solo recibió 4 mL/kg de SSI.

Después de una semana de administrar los tratamientos se midió la glucosa y se seleccionaron cinco ratones de cada grupo con glucemia superior a 200 mg/dl. Después de 24 h se administraron los siguientes tratamientos: grupos 1-6 recibieron 500mg_{de extracto de Cf/kg}peso corporal de cada extracto de *C. ficifolia*, el grupo siete recibió una dosis de glibenclamida de 10 mg/kg y los grupos ocho y nueve recibieron 4mL/kg de SSI.

5.5.4. Determinación de glucosa

Antes de administrar los tratamientos y al finalizar cada ensayo biológico se midieron los niveles de glucosa de cada uno de los ratones mediante el método de glucosa deshidrogenasa utilizando un glucómetro Accu–Chek Performa, ROCHE (Mannheim, Alemania).

Las muestras de sangre se obtuvieron de la vena caudal y se tomaron por intervalos de 120 min hasta alcanzar los 360 min. El efecto sobre la glucemia se obtuvo restando la glucemia basal (t=0) de la glucemia a los 120, 240 y 360 min.

5.6. Caracterización química del extracto de C. ficifolia

Para saber si existe una relación entre la etapa de desarrollo del fruto y su efecto hipoglucémico, se realizó un análisis cuantitativo de DQI, compuesto que se sabe está

presente en el extracto del *C. ficifolia* y una caracterización química para saber qué otros compuestos están presentes y en qué cantidad.

5.6.1. Análisis cuantitativo de DQI contenido en el extracto acuoso de C. ficifolia

El contenido de DQI en el extracto acuoso de *C. ficifolia* se determinó utilizando cromatografía líquida ultrarrápida (UFLC por sus siglas en inglés Ultra-Fast Liquid Chromatography), con un detector de índice de refracción SHIMADZU (Tokio, Japón) y una columna SPHERISORB NH2 (5 μ m, 4.6 \times 250 mm) (Kildare, Irlanda). La fase móvil fue una mezcla isocrática de acetonitrilo/agua (90:10), la velocidad de flujo se mantuvo a 1 mL/min durante 30 min a una temperatura de 30°C.

Tanto el estándar comercial de DQI Sigma–Aldrich (St Louis, MO, EE. UU.) y las muestras de *C. ficifolia* fueron inyectadas en alícuotas de 20 μ L, disueltas en una solución igual a la fase móvil. El DQI se identificó en el extracto por su tiempo de retención (13,8 min) y se corroboró por el método de estándar agregado. Para cuantificar el contenido de DQI se realizó una curva estándar de dicho compuesto, $R^2 = 0.9993$ y se utilizó la Ecuación 3.

5.6.2. Análisis cualitativo y cuantitativo de otros compuestos químicos contenidos en el extracto

Otros compuestos químicos presentes en *C. ficifolia* se caracterizaron mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC por sus siglas en inglés High Performance Liquid Chromatography), que consistió en un módulo de separación Agilent Serie 1100 (Manhattan, NY, EE. UU.), equipado con un detector de arreglo de diodos (DAD). Se usó una columna Zorbax C18 (Darmstadt, Alemania) de 250 mm x 4,6 mm de diámetro y un tamaño de partícula de 5 μ m. Las fases móviles fueron (A) agua / ácido acético (CH₃CO₂H) 96:4 y (B) acetonitrilo (CH₃CN) 100%. El sistema de elución fue con el siguiente gradiente: 0 min 5% B, 10 min 25% B, 30 min 35% B, 40 min 40% B y 45 min 10% B con un flujo de 0.5 mL/min, en un total de 35 min.

Se pesaron 20 mg de cada muestra y se disolvieron en 5 mL de fase móvil A. Se inyectaron alícuotas de 20 μ L tanto de las muestras como de los siguientes estándares comerciales

Sigma–Aldrich (Missouri, EE. UU) (disueltos en la misma fase): catequina, ácido cumárico, ácido ferúlico, quercitina, ácido gálico, ácido cafeico, epicatequina, ácido siríngico, ácido sinápico, ácido clorogénico, kaempferol, miricetina, isorhamnetina, taxifolina y vitexina. Únicamente se cuantificaron el ácido gálico y el ácido clorogénico ya que son los que se encontraron en mayor concentración, para ello se construyó una curva de estándar de cada uno con $R^2 = 0.9951$ y 0.9944 respectivamente y se usó la Ecuación 3.

5.7. Análisis estadístico

Para los parámetros fisiológicos se calculó la media y la desviación estándar en cada etapa de desarrollo considerando cinco réplicas. Se utilizó el software Statgraphics versión 5.1 Manugistic Inc. (Rockville, MD, EE. UU.) para realizar un ANOVA con $p \leq 0.05$ de significancia y un Tukey–Kramer complementario para determinar las diferencias significativas entre la media de cada uno de los parámetros de calidad. En este caso, cada fruta se consideró una unidad experimental.

Los datos de glucosa en sangre se corrigieron restando el nivel inicial de cada animal para eliminar las variaciones entre los individuos y reflejar el efecto real de cada tratamiento. Por lo tanto, la variable de respuesta se definió como $\Delta G = \text{glucosa en sangre en } t_i - \text{glucosa en sangre en } t_0$, donde t_i es cualquiera de los niveles de tiempo del estudio y t_0 es el tiempo inicial del experimento (Box, 1950). Se utilizó el mismo programa estadístico para realizar un ANOVA a $p \leq 0.05$ de significancia y una prueba complementaria de Tukey–Kramer para determinar las diferencias significativas entre las concentraciones medias de ΔG de todos los grupos tratados. Se realizó un ANOVA para cada uno de los tiempos experimentales después de la administración de los tratamientos.

6. Resultados

6.1. Patrón de respiración, producción de etileno y crecimiento de *C. ficifolia*

En la Figura 5 se puede observar que la respiración de los frutos de *C. ficifolia* fue más alta en las primeras dos etapas de desarrollo, 10 y 15 días. La producción de CO_2 en estas etapas fue de 131 y 115 mg de $\text{CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ respectivamente. Posteriormente se observó una

acelerada disminución hacia los 25 y 30 días, a partir de dicha etapa se observó una disminución lenta pero gradual hasta el final de su desarrollo, la cual ocurrió a los 55 días.

En la misma figura se muestra que la producción de etileno de estos frutos fue muy baja durante todo el desarrollo ya que las concentraciones encontradas fueron de 0.1 a 1 $\mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ a 20°C aproximadamente.

Con base a los resultados obtenidos de la tasa respiración y la producción de etileno de *C. ficifolia*, se considera que este es fruto es no climatérico ya que los patrones observados son típicos de dichos frutos. El patrón de respiración de frutos climatéricos y no climatéricos se muestra en la Figura 4.

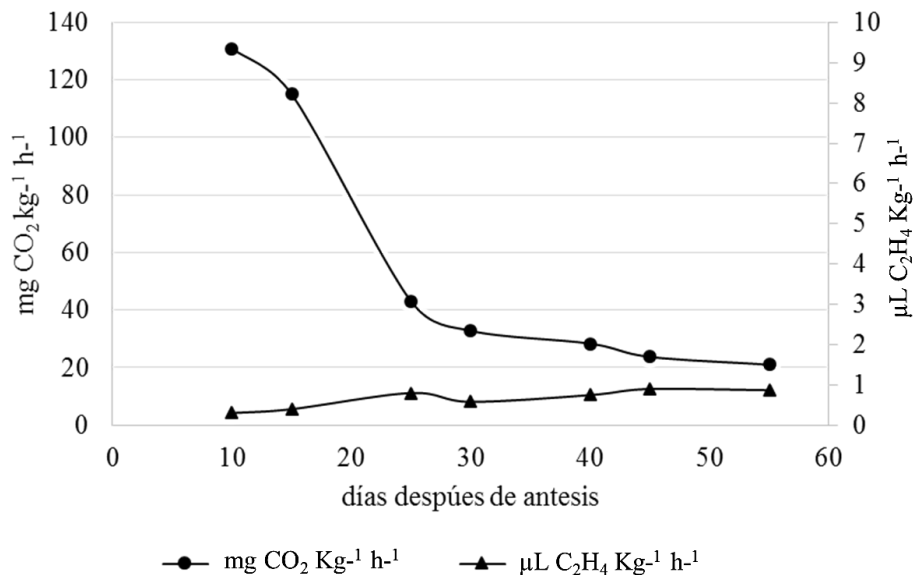


Figura 5. Patrón de respiración de *C. ficifolia*

El patrón de crecimiento y desarrollo de *C. ficifolia* se muestra en la Figura 6, este se encuentra expresado en términos de peso y volumen, ambos patrones exhiben una forma sigmoideal simple en la que se observan tres etapas. En la primera se muestra una fase de crecimiento lento que va de los 5 a 15 días después de antesis; la segunda, muestra una tasa de crecimiento exponencial que abarca de los 20 a 45 días y en la última etapa que duró aproximadamente 10 días se observó una disminución en la velocidad de crecimiento, siendo el periodo en el que el fruto alcanzó su completo tamaño y desarrollo.

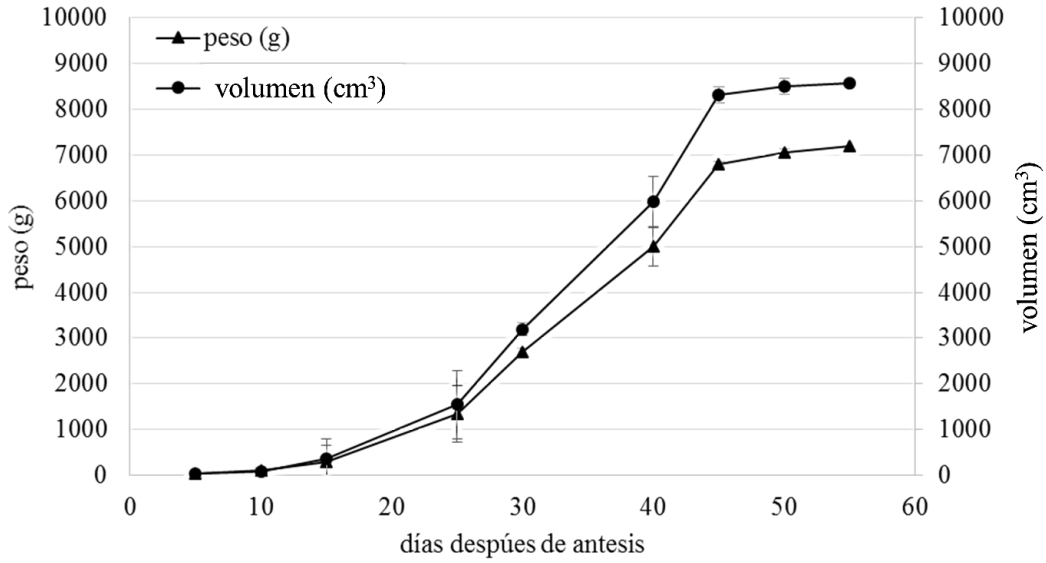


Figura 6. Patrón de crecimiento de *C. ficifolia* durante su crecimiento y desarrollo

Durante el desarrollo de estos frutos se registraron valores 0.67 a 0.83 de coeficiente de esfericidad (ϵ). Éstos pertenecen a una forma ovalada, ya que los valores de uno corresponden a una forma esférica y aquellos mayores o menores a este valor se consideran ovals. En la Figura 7 se muestra el crecimiento de *C. ficifolia* de acuerdo con su perímetro longitudinal, ecuatorial.

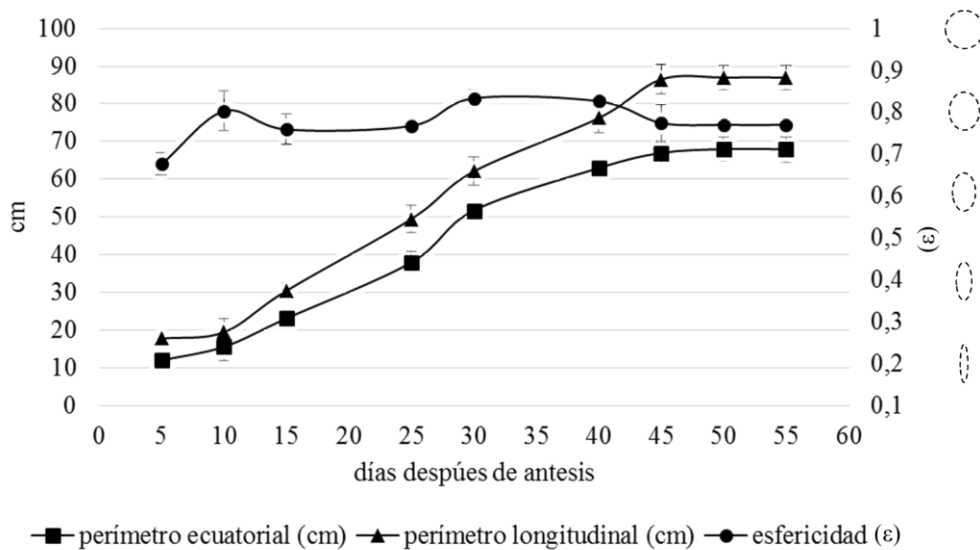


Figura 7. Forma de *C. ficifolia* durante el crecimiento y desarrollo

En la Figura 8 se muestran imágenes de los frutos cosechados en las diferentes etapas de desarrollo. Como se puede observar, los frutos más pequeños (5, 10, 15 y 25 días después de anthesis) presentan un color verde uniforme en diferentes tonos, a partir de los 25 días éste va cambiando hacia un verde reticulado el cual también se presenta en diferentes tonalidades.



Figura 8. Frutos de *C. ficifolia* en diferentes etapas de desarrollo. De izquierda a derecha, 5, 10, 15, 25, 30, 40, 45, 50 y 55 días después de anthesis.

6.2. Parámetros físicos y químicos

En el Cuadro 9 se muestran los parámetros de calidad de los frutos de *C. ficifolia* a través de su desarrollo. Los principales cambios se observaron en la firmeza, ya que ésta fue aumentando de tal manera que se observaron diferencias significativas de los 15 a 25 y de los 40 a 45 días de desarrollo. En cuanto al porcentaje de AT, este parámetro fue disminuyendo lenta y progresivamente de 3,4 a los 10 días y 1,8 a los 55, mientras que el porcentaje de materia seca, SST y pH se mantuvieron prácticamente constantes.

Cuadro 9. Parámetros de calidad durante el crecimiento y desarrollo de *C. ficifolia*

DDA	firmeza (N)	SST	pH	% materia seca	% AT
10	33,7 ± 0,9 ^a	5,6 ± 0,1 ^c	5,4 ± 0,2 ^a	7,4 ± 1,7 ^{ab}	3,4 ± 0,3 ^c
15	32,8 ± 0,4 ^a	6,0 ± 0,0 ^d	5,9 ± 0,0 ^b	7,8 ± 0,5 ^{ab}	2,7 ± 0,3 ^b
25	51,1 ± 8,1 ^b	5,8 ± 0,2 ^{cd}	6,1 ± 0,0 ^{bc}	8,1 ± 1,3 ^{ab}	2,1 ± 0,8 ^{ab}
30	59,4 ± 6,8 ^b	5,7 ± 0,2 ^{ab}	6,4 ± 0,3 ^d	8,8 ± 0,5 ^{ab}	1,6 ± 0,3 ^a
40	64,5 ± 4,3 ^b	5,5 ± 0,0 ^a	6,0 ± 0,1 ^{bc}	8,5 ± 0,0 ^b	1,9 ± 0,1 ^{ab}
45	81,8 ± 7,8 ^c	5,0 ± 0,0 ^b	6,1 ± 0,0 ^{cd}	8,6 ± 0,2 ^b	1,7 ± 0,2 ^a
55	81,9 ± 9,2 ^c	5,0 ± 0,2 ^b	6,1 ± 0,3 ^{cd}	8,5 ± 0,4 ^b	1,8 ± 0,1 ^a

DDA – días después de anthesis, diferentes letras significan que existe una diferencia significativa entre las etapas de desarrollo ($p < 0.05$)

El volumen obtenido de los frutos en sus diferentes etapas de desarrollo se muestra en el Cuadro 10. Después de dejar secar el jugo en la campana de flujo laminar se obtuvieron los

extractos acuosos (EA) en las cantidades descritas en el mismo cuadro. Se reporta el rendimiento obtenido del EA con respecto al volumen de jugo y con respecto al peso total de los frutos.

Cuadro 10. Jugo obtenido de frutos de *C. ficifolia* en diferentes etapas de desarrollo

DDA	volumen de jugo (mL)	mg de EA	rendimiento del EA respecto a (mL)	peso del fruto (g)	rendimiento del EA respecto a (g)
10	51	1,24	2,43	99,65	1,46
15	168	10,27	6,11	301,70	3,14
25	760	34,05	4,48	1334,25	0,57
30	1620	40,50	2,50	2696,00	0,05
40	2375	53,83	2,27	4997,85	0,07
45	2050	84,53	4,12	6792,20	0,08

6.3. Efecto hipoglucémico del extracto acuoso de frutos de *C. ficifolia*

6.3.1. Efecto hipoglucémico en ratones normoglucémicos

Las concentraciones de glucosa a los 120, 240 y 360 min posteriores a la administración de los diferentes extractos de frutos de *C. ficifolia* a ratones normoglucémicos se muestran en la Figura 9 en términos de ΔG , ya antes explicado.

Se puede observar que todos los extractos de las diferentes etapas de desarrollo presentaron efecto hipoglucémico, sin embargo, los extracto de los días 10, 15, 25 y 30 redujeron la glucosa desde los 120 min, mientras que los extractos de los 40 y 45 días disminuyeron los niveles de glucosa hasta los 360 min, mismo tiempo en el que estadísticamente presentaron un comportamiento similar a la glibenclamida.

Los extractos de 10, 15, 25 y 30 DDA presentaron un comportamiento similar al medicamento en los tres tiempos analizados siendo el de mejor efecto el de los 15 días ya que mostró una diferencia significativa con respecto al control de SSI en los tres períodos (Cuadro 11).

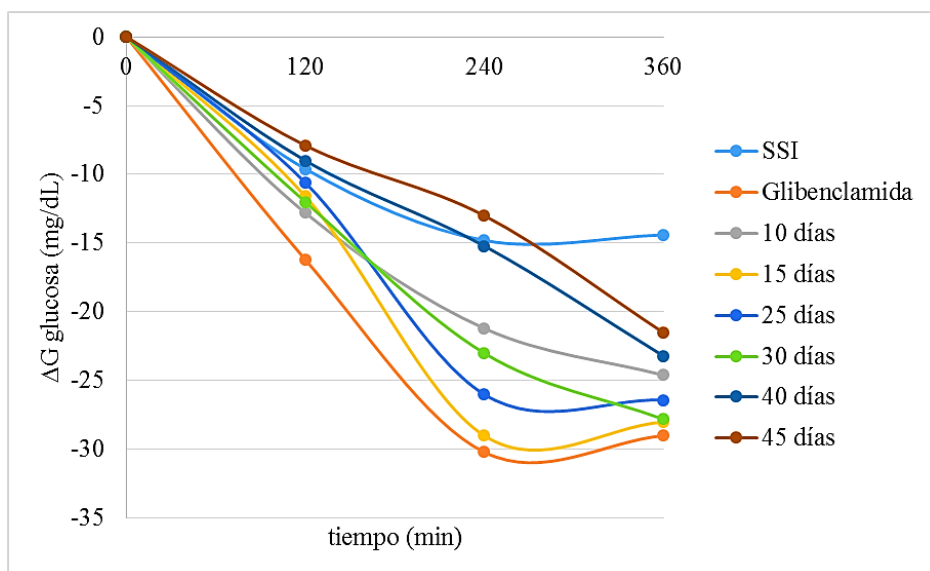


Figura 9. Efecto hipoglucémico de los diferentes extractos de *C. ficifolia* en ratones normoglucémicos

Cuadro 11. Desviación estándar y diferencia significativa entre los diferentes tratamientos

	$\Delta G = \text{Glucosa en sangre a } t_i - \text{Glucosa en sangre a } t_0 \text{ (avg } \pm \text{ std)}$		
	$t_i = 120 \text{ min}$	$t_i = 240 \text{ min}$	$t_i = 360 \text{ min}$
SSI	$-9,6 \pm 1,3^b$	$-14,8 \pm 4,1^b$	$-14,4 \pm 3,8^b$
Glibenclamida	$-16,2 \pm 6,8^a$	$-30,2 \pm 7,4^a$	$-29,0 \pm 4,9^a$
10 días	$-12,8 \pm 3,7^{ab}$	$-21,2 \pm 2,3^{ab}$	$-24,6 \pm 5,9^{ab}$
15 días	$-11,6 \pm 6,9^a$	$-29,0 \pm 9,7^a$	$-28,0 \pm 8,7^a$
25 días	$-10,6 \pm 5,0^a$	$-26,0 \pm 1,9^a$	$-26,4 \pm 4,5^{ab}$
30 días	$-12,0 \pm 4,5^{ab}$	$-23,0 \pm 3,3^{ab}$	$-27,8 \pm 4,3^a$
40 días	$-9,0 \pm 4,6^b$	$-15,2 \pm 4,3^b$	$-23,2 \pm 6,6^{ab}$
45 días	$-7,9 \pm 4,6^b$	$-13,0 \pm 4,1^b$	$-21,5 \pm 9,4^{ab}$

Diferentes letras significan diferencia significativa entre tratamientos ($p < 0.05$)

6.3.2. Efecto hipoglucémico en ratones con diabetes inducida por estreptozotocina

En el estudio agudo con ratones diabéticos inducida por STZ (Figura 10. Efecto hipoglucémico del extracto de *C. ficifolia* en diferentes etapas de desarrollo administrado a ratones con diabetes inducida por STZ (Figura 10, Cuadro 12), se muestra que a los 120 min posteriores al tratamiento todos los extractos tuvieron una conducta similar a la glibenclamida y conforme avanzó el estudio cada uno de los tratamientos mostraron comportamientos diferentes. Al tiempo de 240 min se observó que los extractos de 15, 25 y 30 DDA adquirieron un efecto similar al control positivo (estos extractos se comportaron estadísticamente igual a la glibenclamida en los tres tiempos en que se midió la glucosa) y el

resto de los extractos se mantuvo igual al control diabético. Al final del estudio, 360 min, los extractos de los 10, 15, 25 y 30 días disminuyeron la glucosa con un comportamiento similar a la glibenclamida siendo el extracto de 15 días de desarrollo el que mostró mejor efecto hipoglucémico que la glibenclamida, aproximadamente un 11% más.

De acuerdo con el grado del efecto hipoglucémico, los extractos se pueden ordenar de mayor a menor de la siguiente manera: 15 días > 25 días > 30 días > 10 días > 40 días > 45 días.

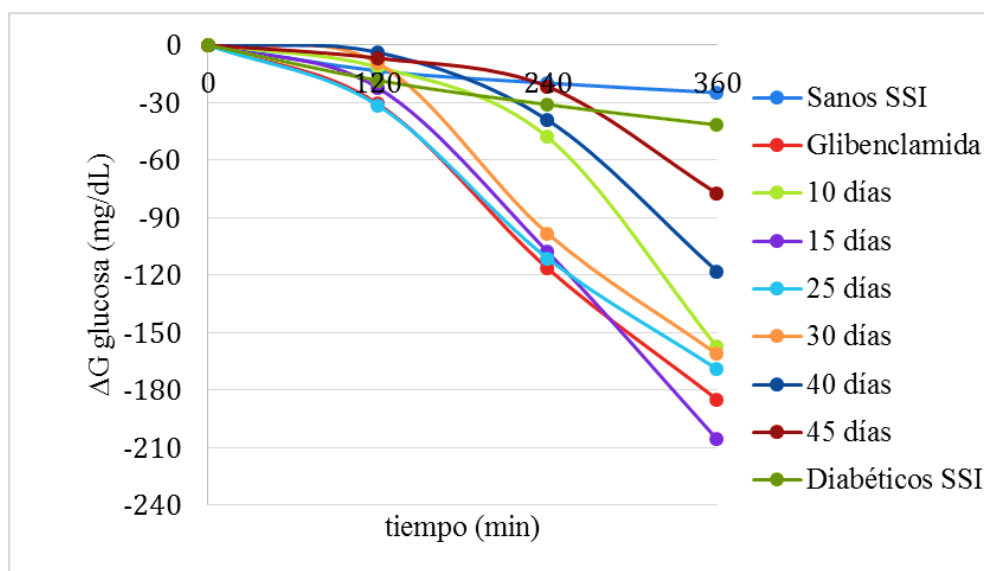


Figura 10. Efecto hipoglucémico del extracto de *C. ficifolia* en diferentes etapas de desarrollo administrado a ratones con diabetes inducida por STZ

Cuadro 12. Desviación estándar y diferencia significativa entre los diferentes tratamientos

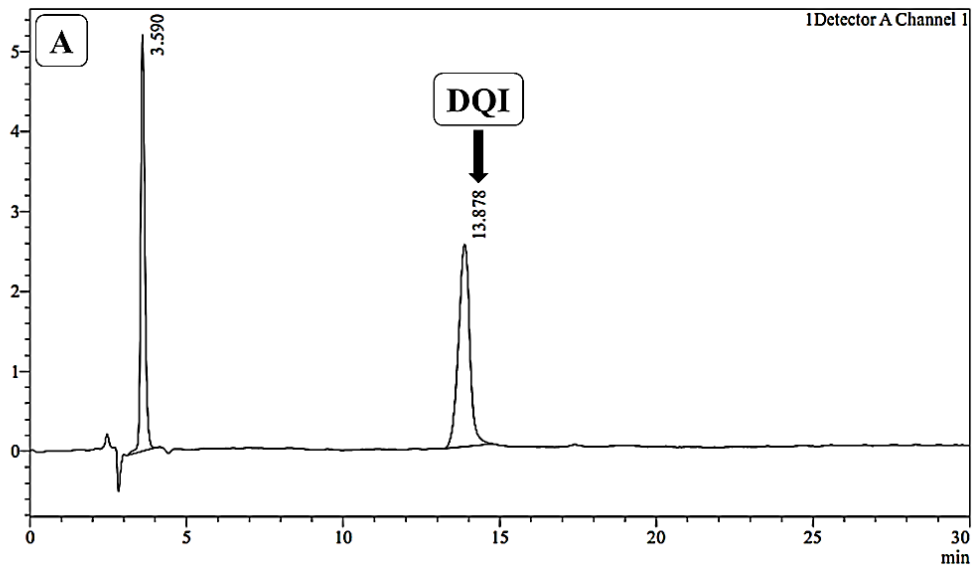
	$\Delta G = \text{Glucosa en sangre a } t_i - \text{Glucosa en sangre a } t_0 \text{ (avg } \pm \text{ std)}$		
	$t_i = 120 \text{ min}$	$t_i = 240 \text{ min}$	$t_i = 360 \text{ min}$
SSI	$-13,4 \pm 5,18^a$	$-19,8 \pm 5,22^d$	$-24,8 \pm 7,19^d$
Glibenclamida	$-30,6 \pm 1,13^a$	$-116,4 \pm 7,95^a$	$-184,8 \pm 4,93^{ab}$
Diabéticos SSI	$-18,4 \pm 1,80^a$	$-31,0 \pm 8,80^d$	$-41,6 \pm 1,19^d$
10 días	$-11,4 \pm 2,25^a$	$-48,0 \pm 2,66^{bcd}$	$-157,4 \pm 2,11^{ab}$
15 días	$-22,2 \pm 2,55^a$	$-107,8 \pm 5,71^{ab}$	$-205,6 \pm 6,05^a$
25 días	$-31,4 \pm 3,60^a$	$-111,2 \pm 9,64^a$	$-169,0 \pm 7,34^{ab}$
30 días	$-9,4 \pm 3,90^a$	$-98,2 \pm 9,78^{abc}$	$-161,2 \pm 3,95^{ab}$
40 días	$-3,8 \pm 1,30^a$	$-39,0 \pm 9,24^{cd}$	$-118,0 \pm 3,44^{bc}$
45 días	$-6,8 \pm 6,26^a$	$-21,6 \pm 1,93^d$	$-77,4 \pm 2,25^{cd}$

Diferentes letras significan diferencia significativa entre tratamientos ($p < 0.05$)

6.4. Caracterización química del extracto de *C. ficifolia*

6.4.1. Cuantificación de DQI

En la Figura 11 se muestran los cromatogramas de la identificación y cuantificación de DQI. En la Figura 11-A se observa el estándar de dicho compuesto en su tiempo de retención 13.878 y en la Figura 11-B el extracto acuoso de *C. ficifolia*. Sorprendentemente, este compuesto se encontró únicamente en la muestra de 45 días de desarrollo con una concentración de 42,77 mg/g de extracto seco.



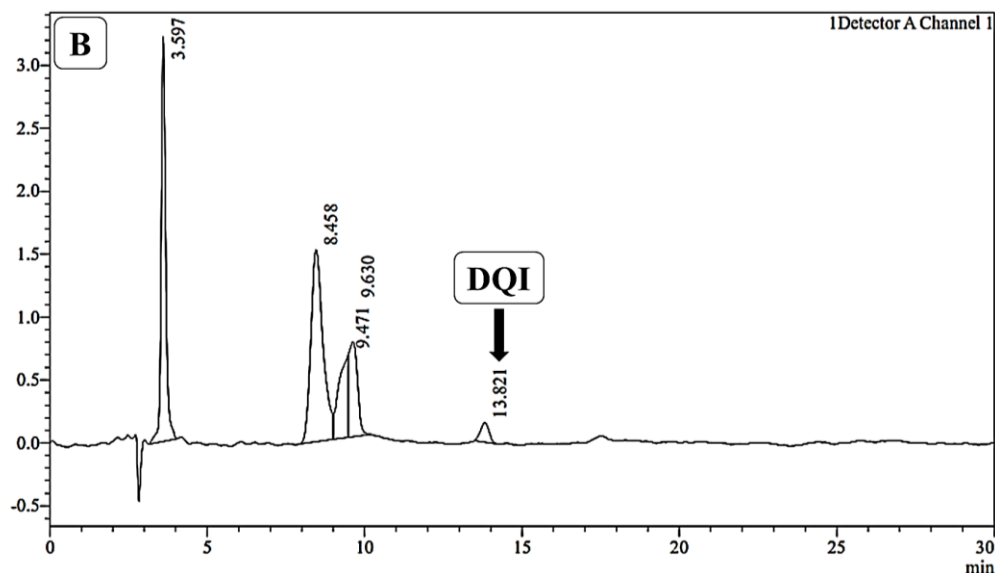


Figura 11. (A) Estándar de DQI y (B) DQI encontrado en el extracto de 45 DDA

6.4.2. Identificación de compuestos fenólicos

Después de inyectar las muestras de *C. ficifolia* se obtuvieron los cromatogramas por HPLC–DAD (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**), estos mostraron diferentes compuestos dependiendo de las etapas de desarrollo del fruto. Se detectaron aproximadamente 16 compuestos los cuales se encontraron en menor proporción a los 10 días, posteriormente aumentaron a los 15 días y a partir de esa edad fueron disminuyendo a medida que el fruto se fue desarrollando. En términos de área, la mayor concentración de dichos compuestos se encontró en los extractos de los 15 y 25 DDA, Figura 12. Entre estos compuestos se identificaron y corroboraron por estándar añadido los siguientes seis: ácido gálico, ácido clorogénico, catequina, epicatequina, ácido sirínico y miricetina. Estos se encontraron en las diferentes muestras como sigue: ácido gálico en las muestras de los 15, 25, 30, 40 y 45 días y el resto de los compuestos únicamente en los extractos de 15 y 25 DDA.

Los dos compuestos con mayor concentración fueron el ácido gálico y el ácido clorogénico y como ya se había mencionado, son los únicos que se cuantificaron. En el Cuadro 13 se muestran las cantidades de ambos compuestos y se observa que ambos tuvieron su concentración más alta a los 15 DDA.

Cuadro 13. Concentraciones de ácido gálico y clorogénico presentes en los extractos de *C. ficifolia*

	ácido gálico	ácido clorogénico
DAA	[mg/g*]	[mg/g*]
10	ne	ne
15	16.97	1.59
25	15.62	0.07
30	12.81	ne
40	1.28	ne
45	0.24	ne

*g de extracto seco; ne – no encontrado

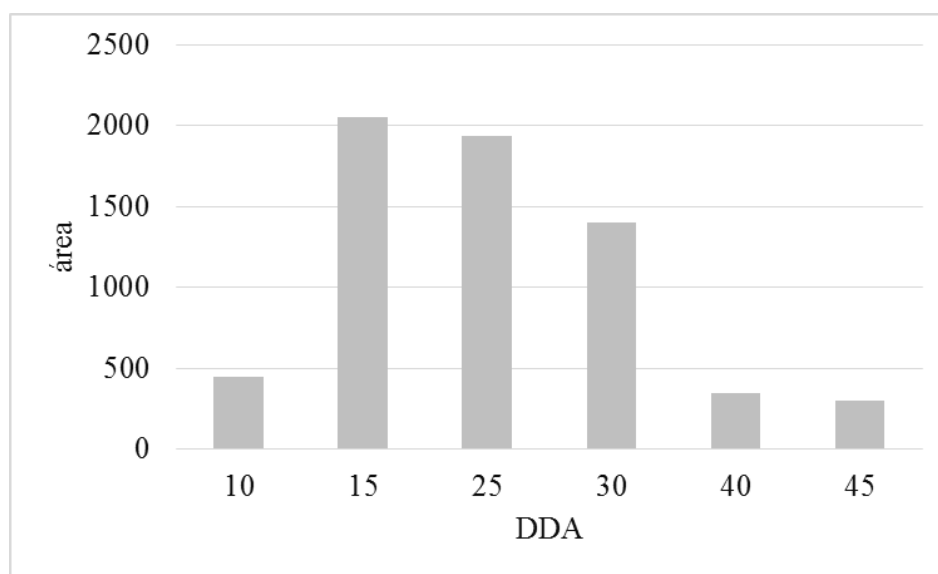
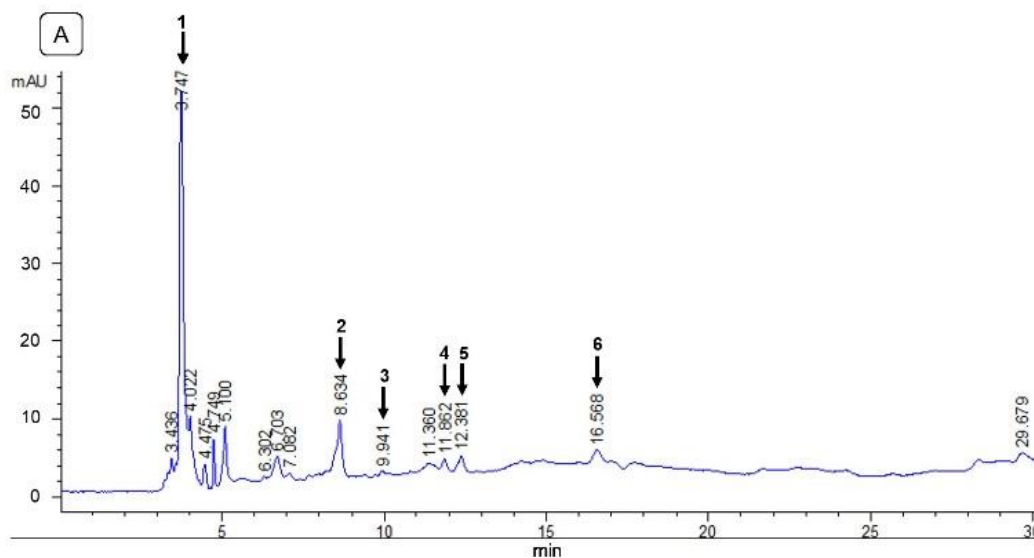


Figura 12. Área de los compuestos presentes en los extractos de *C. ficifolia*



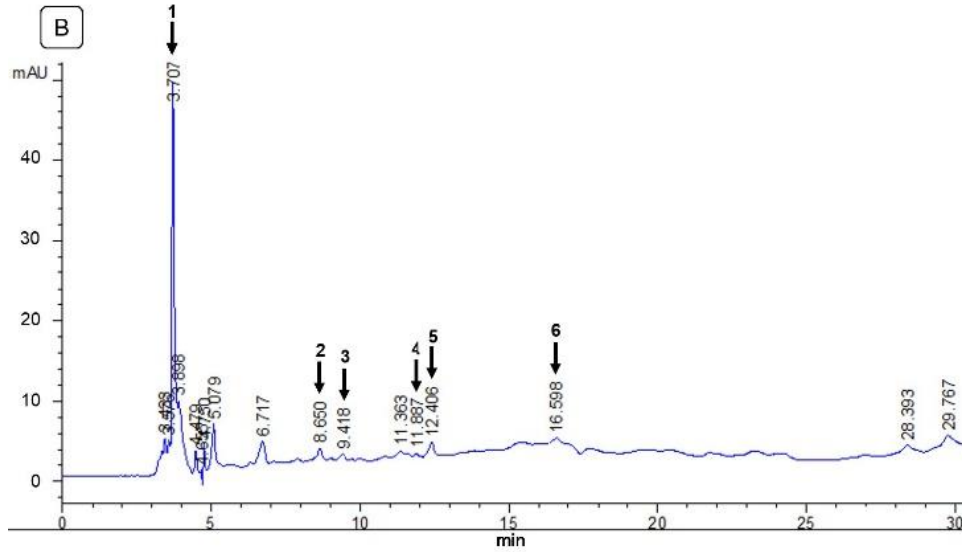


Figura 13. Cromatogramas obtenidos por HPLC–DAD de los extractos de frutos de *C. ficifolia*. A) 15 DDA y B) 25 DDA. 1) ácido gálico, 2) ácido clorogénico, 3) catequina, 4) epicatequina, 5) ácido siríngico, 6) miricetina.

7. Discusión

Con base en la velocidad de producción de CO₂ de los frutos respecto al tiempo de desarrollo, Kader, 2002 y Wills et al., 2007 los clasifican en climatéricos y no climatéricos, estos últimos se caracterizan por presentar un patrón de respiración en donde la producción de CO₂ se mantiene con niveles bajos durante la maduración, mientras que en los climatéricos va aumentando al igual que la producción de etileno, en los no climatéricos el etileno se mantiene en bajas concentraciones durante todo el crecimiento.

De acuerdo con lo descrito anteriormente y los patrones de respiración y etileno que se muestran en la Figura 4, los frutos de *C. ficifolia* presentan un comportamiento no climatérico. Además las concentraciones de CO₂ de este fruto que van de 21–131 mg CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ son similares a las que se han reportado para otros frutos de la familia Cucurbitaceae, específicamente del grupo de calabazas al cual pertenece *C. ficifolia*, como la calabaza de invierno o la calabaza de verano cuyos valores oscilan de 61-121 y 153-175 mg de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ respectivamente (http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/, 2019).

De igual forma, los bajos niveles de etileno de *C. ficifolia* concuerdan con los valores reportados de frutos de este grupo hortícola, por ejemplo se ha informado que la calabaza de invierno produce concentraciones de etileno inferiores a $0.1 \mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$, es decir únicamente trazas (Brecht, 1997); asimismo, estos valores coinciden con otros frutos de la familia Cucurbitaceae (Bartz and Brecht, 2003; Hyodo et al., 1993; Mccollum, 1998; Saltveit, 1997). Estas bajas concentraciones también se han citado en frutos que no pertenecen a la familia pero sí al grupo de los frutos no climatéricos como algunos cítricos como los limones (Gross and Smilanick, 1998). Por otro lado, los cambios mínimos observados en los parámetros de calidad también son indicativos de un fruto no climatérico (Kader, 2002; Wills et al., 2007).

Es importante señalar que las frutas climatéricas y no climatéricas pueden diferenciarse aún más por su respuesta al etileno externo. En frutos no climatéricos, el etileno externo induce un aumento transitorio en su tasa de respiración y la magnitud del aumento depende de la concentración de etileno (Wills et al., 2007). Por otro lado, la evidencia de investigaciones recientes sugiere que la sensibilidad al etileno difiere según el tipo de tejido y/o la etapa de desarrollo debido a las interacciones de señalización de esta fitohormona con otras hormonas vegetales, metabolitos y señales ambientales (Paul et al., 2012).

En cuanto al patrón de crecimiento de un fruto es importante señalar que este no solo es útil para fines comerciales sino también para estudios de investigación, como es el caso, ya que permite identificar una etapa de madurez específica con mayor actividad hipoglucémica. En el caso de *C. ficifolia* su patrón de crecimiento, curva sigmoidea, corresponde a una típica baya pepónide cuya corteza es dura y el receptáculo encierra completamente al ovario. El cambio de color, apariencia verde moteada que apareció desde los 25 DDA y se definió completamente hasta el final del crecimiento, y la forma ovalada de estos frutos son características diagnósticas de esta especie (Mera Ovando et al., 2011; Moya-Hernández, 2015; Villanueva Verduzco, 2007).

Por lo anterior, se considera que esta caracterización fisiológica es una contribución relevante en el ámbito de la investigación ya que este fruto ha adquirido un gran interés debido a su efecto hipoglucémico. Respecto a esto, se encontró que los extractos de *C. ficifolia* en todas las etapas de desarrollo analizadas reducen los niveles de glucosa tanto en ratones

normoglucémicos como en ratones diabetizados por STZ; sin embargo, en estos últimos se observaron los mejores resultados.

En los bioensayos con ratones normoglucémicos se encontró que los extractos correspondientes a los frutos de los 10, 15, 25 y 30 días poseen un efecto similar a la glibenclamida durante todo experimento pero no mejor que ésta, mientras que los extractos de los 40 y 45 días mostraron un efecto hipoglucémico similar al medicamento a los 360 minutos posteriores a la administración.

En estudios similares se ha informado que el extracto de los frutos maduros de *C. ficifolia*, de aproximadamente 40-45 días de desarrollo, tienen un mejor efecto que la tolbutamida (Alarcón-Aguilar et al., 2002; Román-Ramos et al., 1995), sin embargo se ha reportado que este medicamento es 100 veces menos potente que la glibenclamida (<https://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/g006.htm>, 2019). Por lo tanto, los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que los extractos de frutas más jóvenes tienen un mejor efecto hipoglucémico.

En el caso de los ratones diabetizados por STZ, el extracto de 15 días fue el único que presentó mejor efecto que la glibenclamida, esto a los 360 min después de la administración, de aproximadamente 11% más. Este resultado puede coincidir con lo reportado por Jain et al., 2018, ya que aunque estos investigadores no compararon frutos de diferentes estados de desarrollo, usaron frutos de 12 cm de Ø, (medida que coincide con los frutos de 15 DDA) encontrando un decremento significativo de la glucosa en pacientes con DM2. Al comparar el efecto hipoglucémico proporcionado por los frutos jóvenes, 15 DDA, y los frutos maduros, 40 y 45 DDA, la disminución de la glucosa es cuatro, tres y dos veces mejor a los 120, 240 y 360 min, respectivamente. Por lo tanto, los frutos de *C. ficifolia* en esta etapa de desarrollo podrían ser la mejor alternativa para futuros estudios orientados a reducir los niveles de glucosa ya que en las investigaciones anteriores no se reportó la etapa precisa de desarrollo con la que estaban trabajando y tampoco que produjera el mejor efecto hipoglucémico. Otro hecho interesante es que los frutos de 15 días de desarrollo poseen 14% más jugo que los frutos maduros, 40-45 días, lo que está condicionado con un mayor rendimiento y por ende mayor cantidad de materia prima a obtener ya sea para tomar como jugo, que de acuerdo a la

dosis administrada por Acosta-Patiño et al., 2001 y Jain et al., 2018 es de 280 mL para una persona de 70 kg, cantidad que se cubre con dos de estos frutos, o para la elaboración de un futuro nutraceutico.

Una posible explicación con respecto a las diferentes respuestas del efecto hipoglucémico en los diferentes bioensayos, normoglucémicos y diabetizados, se puede deber a que en el caso de los ratones normoglucémicos, en general, no se encontró un efecto hipoglucemiante significativo en comparación con la glibenclamida, esto concuerda con lo informado por Xia and Wang (2007). Por otro lado, el efecto hipoglucémico que se encontró se debe a que en estos animales el páncreas funciona correctamente, por lo que se libera glucagón (hormona que estimula la liberación de insulina) de manera normal, según lo informado por Miranda-Perez et al., 2016, la acción de *C. ficifolia* tiene un efecto como secretagogo para la insulina a través de un aumento en la concentración de calcio intracelular del depósito de calcio en el retículo endoplásmico, lo que sugiere que su mecanismo de acción es diferente al de los fármacos hipoglucemiantes. También se ha informado que el extracto de *C. ficifolia* puede tener un papel en la renovación de las células β o incluso puede permitir la recuperación de las células que has sido parcialmente destruidas (Xia and Wang, 2007).

Con respecto al tema del DQI, los resultados obtenidos en esta investigación mostraron que éste únicamente se encuentra presente en los extractos de los frutos de 45 días de desarrollo. La presencia de este compuesto se ha mencionado en diversos trabajos previos, sin embargo en ninguno se había mencionado el estado de madurez preciso (Banderas-Dorantes et al., 2012; Fortis-Barrera et al., 2013; Garcia Gonzalez et al., 2017). Cabe señalar que no se encontró DQI en los frutos más jóvenes de *C. ficifolia*, sin embargo éstos fueron son los que exhibieron el mejor efecto hipoglucémico. Este resultado respalda lo informado por Xia and Wang (2006a), quienes mencionan que el extracto de *C. ficifolia* tiene un efecto hipoglucémico significativo en comparación con el DQI sintético. Por lo tanto, puede no ser el principal compuesto hipoglucemiante activo del fruto.

Los resultados de la caracterización química de los extractos de frutos de *C. ficifolia* en cada etapa de desarrollo mostraron que la mayor concentración de los compuestos fenólicos identificados se encuentra en los primeros estados de desarrollo y esto es consistente con el

efecto hipoglucémico, particularmente con la presencia de ácido gálico y ácido clorogénico. Cabe señalar que este es el primer informe sobre el contenido de dichos compuestos presentes en los frutos de *C. ficifolia*.

Se ha informado que en las ratas diabéticas inducidas por STZ aumentan los niveles de peróxidos lipídicos, lo que eventualmente conduce a daños en la membrana (Xia and Wang, 2007). Por lo tanto, los flavonoides presentes en los extractos de los frutos actúan como componentes antioxidantes, además tanto el ácido gálico como el ácido clorogénico son potentes antioxidantes. Se ha informado que el ácido gálico reduce los niveles de glucosa en ratas diabéticas debido a su efecto como liberador de insulina, efecto que ha sido corroborado en líneas celulares (Idowu Kazeem and Clavell Davies, 2016). De igual forma se ha demostrado que este compuesto disminuye los niveles de glucosa en pacientes diabéticos (Zuñiga et al., 2018), mejora la sensibilidad a la insulina (Alonso-Castro et al., 2008; Ferrare et al., 2018; Rodriguez De Sotillo et al., 2006) y ayuda a bajar los niveles de triglicéridos y colesterol (Shu-Yuan et al., 2009), por lo tanto, este compuesto se considera un agente multitarget que ayuda en el tratamiento de la DM2 (Becerra Sanchez et al., 2017).

Por otro lado, se ha demostrado que el ácido gálico mejora la tolerancia a la glucosa, disminuye el estrés oxidativo cerebral, promueve la homeostasis de glucosa e insulina en estados de obesidad y ayuda a controlar la hiperglucemia y la hiperlipidemia (Abdel-Moneim et al., 2017; Bak et al., 2013; Doan et al., 2015; Patel and Goyal, 2011).

Acerca de los compuestos encontrados y sus mecanismos de acción, se podría sugerir que el extracto de frutos de *C. ficifolia* tienen un papel relevante a nivel celular, ya que ambos actúan sobre las células beta ayudando a liberar insulina. Específicamente, el ácido clorogénico actúa sobre las células aumentando la actividad catalítica o el número de receptores ya que estas son las alteraciones más comunes de la resistencia a la insulina (Gutiérrez-Rodelo et al., 2017).

Con respecto a las propiedades antiinflamatorias, los estudios indican que el extracto de *C. ficifolia* modula las citosinas inflamatorias, lo que sugiere que el extracto puede prevenir la obesidad y el desarrollo de patologías asociadas como la glucemia, los triglicéridos y el colesterol los cuales son factores de riesgo para inducir resistencia a la insulina (Becerra

Sanchez et al., 2017). Además, recientemente se descubrió que *C. ficifolia* aumenta la secreción de insulina en las células pancreáticas RINm5F (Miranda-Perez et al., 2016). Estos hallazgos explican parcialmente las propiedades hipoglucémicas de esta especie.

8. Conclusiones

Tanto los índices de calidad como la determinación de la producción de CO₂ y C₂H₄ de los frutos mostraron que *C. ficifolia* pertenece al grupo hortícola de frutos no climatéricos, se encontró que la forma del fruto es ovalada durante todo su desarrollo y se obtuvo una curva sigmoideal simple en el patrón de crecimiento. Se corroboró la presencia de DQI en el fruto de *C. ficifolia*, sin embargo solo se encontró este compuesto en los frutos de 45 días de desarrollo. Por otro lado, se encontraron seis compuestos fenólicos de los cuales se cuantificaron los de mayor concentración aparente (área obtenida en los cromatogramas); ácido gálico, el cual fue disminuyendo a medida que creció el fruto y ácido clorogénico, el cual solo estuvo presente en los frutos de 15 y 25 DDA. Los otros cuatro compuestos encontrados en el extracto de estos frutos se encuentran en concentraciones menores 0.036 mg por g de extracto seco, que fue la concentración menor de los compuestos que fueron cuantificados.

Esta investigación muestra que los frutos de *C. ficifolia* poseen propiedades hipoglucémicas en todas las etapas de desarrollo estudiadas siendo más altas en los frutos jóvenes, 15 y 25 DDA, mismas etapas en las que se encontró la mayor concentración de ácido gálico y ácido clorogénico. Mientras que los frutos maduros son los de menor efecto hipoglucémico, 40 y 45 días. Con estos resultados obtenidos se concluye que los compuestos fenólicos son los principales responsables de este efecto y no el DQI como se pensaba anteriormente. Además, estos compuestos proporcionan una acción antioxidante, en particular, el ácido gálico y el ácido clorogénico demuestran una acción orientada al control de la diabetes.

9. Perspectivas

En esta investigación se concluye que los frutos de *C. ficifolia* juegan un papel importante en el control de la hipoglucemia, específicamente los frutos jóvenes de 15 y 25 días de desarrollo son los que presentan los mejores efectos hipoglucémicos.

C. ficifolia es un fruto no climatérico con presencia de compuestos antioxidantes como el ácido gálico y el ácido clorogénico, los cuales ayudan a liberar insulina y mejorar la resistencia a dicha hormona.

Dado que el fruto de *C. ficifolia* tiene una amplia distribución desde México hasta Argentina y Chile, se recomienda en un futuro hacer investigaciones más integrales tomando como base los frutos de 15 a 25 DDA de esta especie a fin de encontrar una mejor alternativa médica, con casi nulos efectos secundarios y más económica que se podrá aplicar después de muchos estudios y análisis en beneficio de la alta comunidad diabética; así como, fomentar su uso en la medicina tradicional y someterla a una evaluación farmacológica. Para ello, se recomienda una caracterización química más detallada como espectrometría de masas y comparar con un mayor número de estándares y así poder determinar cuáles son los compuestos que están presentes pero que no se lograron identificar, ya que estos serán de gran importancia para conocer la composición exacta de *C. ficifolia*.

Sería conveniente realizar un estudio crónico en ratones diabetizados y administrar el extracto de 15 y 25 DDA en dosis diferidas de tal manera que simule al medicamento como es comúnmente recetado a los pacientes con DM2 y de ser posible, realizar el estudio con pacientes para comparar dichos resultados con los obtenidos por Jain et al., 2018, teniendo en cuenta las diferencias que existen entre la población de la India y la población de México, en cuanto a alimentación y el estilo de vida. Además, como se ha comprobado, el efecto hipoglucémico puede variar dependiendo de la región de producción. Aunado a dicho estudio, se podría realizar otro en donde se pruebe una mezcla de ácido clorogénico y ácido gálico en cultivos de células pancreáticas.

Y por supuesto, elaborar un jugo o algún otro nutracéutico a base de jugo de chilacayote de frutos entre 15 y 25 días de desarrollo y probarlo en animales y pacientes

10. Referencias

Abdel-Moneim, A., Yousef, A.I., Abd El-Twab, S.M., Abdel Reheim, E.S., Ashour, M.B., 2017. Gallic acid and p-coumaric acid attenuate type 2 diabetes-induced neurodegeneration in rats. *Metab. Brain Dis.* 32, 1279–1286. doi:10.1007/s11011-017-

- Acosta-Patiño, J.L., Jiménez-Balderas, E., Juárez-Oropeza, M.A., Díaz-Zagoya, J.C., 2001. Hypoglycemic action of *Cucurbita ficifolia* on Type 2 diabetic patients with moderately high blood glucose levels. *J. Ethnopharmacol.* 77, 99–101.
- Alarcón-Aguilar, F.J., Hernández-Galicia, E., Campos-Sepúlveda, A.E., Xolalpa-Molina, S., Rivas-Vilchis, J.F., Vasques-Carrillo, L.I., Román-Ramos, R., 2002. Evaluation of the hypoglycemic effect of *Cucurbita ficifolia* Bouché (Cucurbitaceae) in different experimental models. *J. Ethnopharmacol.* 82, 185–189.
- Alonso-Castro, A.J., Miranda-Torres, A.C., González-Chávez, M.M., Salazar-Olivo, L.A., 2008. *Cecropia obtusifolia* Bertol and its active compound, chlorogenic acid, stimulate 2-NBDglucose uptake in both insulin-sensitive and insulin-resistant 3T3 adipocytes. *J. Ethnopharmacol.* 120, 458–464. doi:10.1016/j.jep.2008.09.019
- Angón-Galván, P., Santos-Sánchez, N.F., Hernández-Carlos, G., 2006. Índices para la determinación de las condiciones óptimas de maduración de un fruto. *Temas Cienc. Y Tecnol.* 10, 3–8.
- Avello, M., Suwalsky, M., 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea.* doi:10.4067/s0718-04622006000200010
- Bak, E.J., Kim, J., Jang, S., Woo, G.H., Yoon, H.G., Yoo, Y.J., Cha, J.H., 2013. Gallic acid improves glucose tolerance and triglyceride concentration in diet-induced obesity mice. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 73, 607–614. doi:10.3109/00365513.2013.831470
- Banderas-Dorantes, T.R., Román-Ramos, R., Zamilpa, A., García-Macedo, R., Diaz, M., Campos, M.G., Tortoriello, J., Alarcón-Aguilar, F.J., 2012. Influence of two hypoglycemic Cucurbitaceae (*Cucurbita ficifolia* Bouché and *Ibervillea sonorae* Greene) on ATP-sensitive potassium channels in rat aortic rings. *Boletín Latinoam. y del Caribe Plantas Med. y Aromáticas* 11, 510–519. doi:10.1111/jphp.12119
- Bartz, J.A., Brecht, J.K., 2003. *Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables*, 2nd ed. Marcel, Dekker, Inc, New York.
- Basurto-Peña, F., Castro-Lara, D., Mera-Ovando, L.M., Juárez-Castro, T., 2015. *Etnobotánica de las calabazas cultivadas (Cucurbita spp.) en valles centrales de Oaxaca*,

- México. *Agro Product*. 8, 47–53.
- Becerra Sanchez, M., Miranda-Perez, E., Gomez Verjan, Juan Carlos Fortis Barrera, M. de los A., Perez-Ramos, J., Alarcon-Aguilar, F.J., 2017. Potential of the chlorogenic acid as multitarget agent: Insulin-secretagogue and PPAR α/γ dual agonist. *Biomed. Pharmacother.* 94, 169–175. doi:10.1016/j.biopha.2017.07.086
- Bolaños Herrera, A., 2001. *Introducción a la olericultura*, Primera. ed. Universidad Estatal a Distancia, Costa Rica.
- Bosquez Molina, E., Pelayo Zaldívar, C., Yáñez López, M. de L., 2015. *Estudio fisiológicos y tecnología poscosecha de fruta y hortalizas*, 1st ed. México.
- Box, G.E.P., 1950. Problems in the Analysis of Growth and Wear Curves. *Int. Biometric Soc.* 6, 362–389.
- Brecht, J.K., 1997. *Pumpkin and Winter Squash*. Gainesville, FL. doi:10.1007/978-0-387-30443-4_10
- Burgos Peláez, R., Joaquim, C., Puiggrós Llop, C., Chicharro Serrano, L., 2010. Diabetes mellitus tipo 2 crónica. *Nutr. Hosp.* 3, 35–45.
- Carreira, D., 2011. *Cuantificación de la Materia Orgánica del suelo. Método de WALKLEY & BLACK*.
- Cerón Gonzáles, L., 2010. *Caracterización de calabaza (Cucurbita spp) mexicanas como fuente de resistencia al Cucumber mosaic virus (CMV)*. Univ. Auton. Chapingo. Universidad Autónoma de Chapingo.
- CONABIO, 1990. *Fig leaf squash Cucurbita ficifolia*. México.
- Cuerda, C., Luengo, L.M., Valero, M.A., Vidal, A., Burgos, R., Calvo, F.L., Martínez, C., 2011. Antioxidantes y diabetes mellitus: Revisión de la evidencia. *Nutr. Hosp.* 26, 68–78. doi:10.3305/nh.2011.26.1.5115
- de la Horra, A.M., Conti, M.E., Defrieri, R.L., 1993. Potasio disponible, utilización de los extractantes acetato de amonio y Bray-Kurtz. *Cienc. del Suelo* 10–11, 107–112.
- Díaz-Flores, M., Angeles-Mejia, S., Baiza-Gutman, L. a., Medina-Navarro, R., Hernández-Saavedra, D., Ortega-Camarillo, C., Roman-Ramos, R., Cruz, M., Alarcon-Aguilar,

- F.J., 2012. Effect of an aqueous extract of *Cucurbita ficifolia* Bouché on the glutathione redox cycle in mice with STZ-induced diabetes. *J. Ethnopharmacol.* 144, 101–108. doi:10.1016/j.jep.2012.08.036
- Doan, K. V., Ko, C.M., Kinyua, A.W., Yang, D.J., Choi, Y.H., Oh, I.Y., Nguyen, N.M., Ko, A., Choi, J.W., Jeong, Y., Jung, M.H., Cho, W.G., Xu, S., Park, K.S., Park, W.J., Choi, S.Y., Kim, H.S., Moh, S.H., Kim, K.W., 2015. Gallic acid regulates body weight and glucose homeostasis through AMPK activation. *Endocrinology* 156, 157–168. doi:10.1210/en.2014-1354
- Elejalde Guerra, J.I., 2001. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *An. Med. Interna* 18, 326–335. doi:10.4321/s0212-71992001000600010
- Farias, V.X., Macêdo, F.H.P., Oquendo, M.B., Tomé, A.R., Bão, S.N., Cintra, D.O.S., Santos, C.F., Albuquerque, A.A.C., Heimark, D.B., Larner, J., Fonteles, M.C., Leal-Cardoso, J.H., Nascimento, N.R.F., 2011. Chronic treatment with d-chiro-inositol prevents autonomic and somatic neuropathy in STZ-induced diabetic mice. *Diabetes, Obes. Metab.* 13, 243–250. doi:10.1111/j.1463-1326.2010.01344.x
- Ferrare, K., Bidel, L.P.R., Awwad, A., Poucheret, P., Cazals, G., Lazenec, F., Azay-Milhau, J., Tournier, M., Lajoix, A.D., Tousch, D., 2018. Increase in insulin sensitivity by the association of chicoric acid and chlorogenic acid contained in a natural chicoric acid extract (NCRAE) of chicory (*Cichorium intybus* L.) for an antidiabetic effect. *J. Ethnopharmacol.* 215, 241–248. doi:10.1016/j.jep.2017.12.035
- Fonteles, M.C., Almeida, M.Q., Larner, J., 2000. Antihyperglycemic effects of 3-O-Methyl-D-Chiro-inositol and D-Chiro-inositol associated with manganese in streptozotocin diabetic rats. *Horm. Metab. Res.* 32, 129–132. doi:10.1055/s-2007-978606
- Fortis-Barrera, Á., Alarcón-Aguilar, F.J., Banderas-Dorantes, T., Díaz-Flores, M., Román-Ramos, R., Cruz, M., García-Macedo, R., 2013. *Cucurbita ficifolia* Bouché (Cucurbitaceae) and D-chiro-inositol modulate the redox state and inflammation in 3T3-L1 adipocytes. *Pharm. Pharmacol.* 65, 1563–1576. doi:10.1111/jphp.12119
- Fortis-Barrera, Á., García-Macedo, R., Almanza-Perez, J.C., Blancas-Flores, G., Zamilpa-Alvarez, A., Flores-Sáenz, J.L., Cruz, M., Román-Ramos, R., Alarcón-Aguilar, F.J., 2016. *Cucurbita ficifolia* (Cucurbitaceae) modulates inflammatory cytokines and IFN- γ

- in obese mice. *Physiol. Pharmacol.* 00, 1–8.
- García de Alba García, J., Ramírez Hernández, B.C., Robles Arellano, G., Zañudo Hernández, J., Salcedo Rocha, A.L., García de Alba Verduzco, J., 2012. Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. *Desacatos* 29–44. doi:10.29340/39.238
- García Gonzalez, J., García Lorenzana, M., Zamilpa, A., Almanza Perez, J.C., Jasso, V.E.I., Roman Ramos, R., Alarcon-Aguilar, F.J., 2017. Chemical Characterization of a Hypoglycemic Extract From Cucurbita ficifolia Bouche That Induces Liver Glycogen Accumulation in Diabetic Mice. *African J. Tradit. Complement. Altern. Med.* 14, 218–230. doi:10.21010/ajtcam.v14i3.24
- García Luján, C., Pérez Hernández, B.E., Martínez Romero, A., Castro Barraza, F., 2009. Uso de plantas medicinales y suplementos dietéticos para el control glucémico de la diabetes. *Rev. Chapingo Ser. Zo. Arid.* 8, 229–239.
- Gross, K.C., Smilanick, J.L., 1998. *Lemon*. USDA/ARS, Beltsville, MD; USDA/ARS, Fresno, CA.
- Gutiérrez-Rodelo, C., Roura-Guiberna, A., Olivares-Reyes, J.A., 2017. Mecanismos moleculares de la resistencia a la insulina: una actualización. *Gac Med Mex* 153, 214–242.
- Hayes Dorado, J.P., 2008. Diabetes mellitus tipo 1. *Rev. la Soc. Boliv. Pediatría* 47, 90–96.
- Hernández Pérez, E., 2015. *Síndrome Metabólico*, 1st ed. Universidad Autónoma Metropolitana, México, D.F.
- http://infosiap.siap.gob.mx/aagricola_siap_gb/icultivo/index.jsp, 2018. No Title [WWW Document].
- http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/, 2019. Postharvest Center University of California [WWW Document]. URL http://postharvest.ucdavis.edu/Commodity_Resources/Fact_Sheets/ (accessed 8.20.19).
- <http://www.fondodeculturaeconomica.com>, 2017. No Title [WWW Document].
- <https://inta.gob.ar/documentos/muestreo-de-suelos-0>, 2019. No Title [WWW Document].

- <https://www.diabetes.org/>, 2019. No Title [WWW Document].
- <https://www.idf.org/>, 2019. No Title [WWW Document].
- <https://www.intagri.com/articulos>, 2019. No Title [WWW Document].
- <https://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/g006.htm>, 2019. Vademecum [WWW Document]. URL <https://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/g006.htm> (accessed 8.20.19).
- <https://www.who.int/es>, 2019. No Title [WWW Document].
- Hyodo, H., Hashimoto, C., Morozumi, S., Ukai, M., Yamada, C., 1993. Induction of ethylene production and lignin formation in wounded mesocarp tissue of *Cucurbita maxima*. *Acta Hortic.* 92, 264–269.
- IDF, 2019. IDF Diabetes Atlas, 9th ed, International Diabetes Federation. International Diabetes Federation, Bruselas, Bélgica.
- Idowu Kazeem, M., Clavell Davies, T., 2016. Anti-diabetic functional foods as sources of insulin secreting, insulin sensitizing and insulin mimetic agents. *J. Funct. Foods* 20, 122–138. doi:10.1016/J.JFF.2015.10.013
- IMSS, 2012. Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2.
- INEGI, 2018. Principales causas de muerte en México, Estadísticas de Mortalidad.
- Jain, A., Mishra, M., Yadav, D., Khatarker, D., Jadaun, P., Tiwari, A., Katare, C., Prasad, G., 2018. Evaluation of the antihyperglycemic, antilipidemic and antioxidant potential of *Cucurbita ficifolia* in human type 2 diabetes. *Prog. Nutr.* 20, 191–198. doi:10.23751/pn.v20i1-S.6654
- Japon Quintero, J., 2006. Cultivo De Calabaza, Hojas divulgadoras. Madrid, España.
- Kader, A.A., 2007. Tecnología postcosecha de cultivos hortofrutícolas, 3rd ed. California.
- Kader, A.A., 2002. Postharvest Technology of Horticultural Crops, 3rd ed. University of California, USA.
- Kader, A.A., 1992. *Biología y Tecnología de Postcosecha: Una Revisión General*.
- Larner, J., 2002. D-Chiro-Inositol – Its Functional Role in Insulin Action and its Deficit in Insulin Resistance. *Int. J. Exp. Diabetes Res.* 3, 47–60. doi:10.1080/15604280212528

- Larner, J., 2001. D -Chiro-Inositol in Insulin Action and Insulin Resistance — Old-Fashioned Biochemistry Still at Work 139–148.
- Lira Saade, R., Eguiarte Fruns, L., Montes Hernández, S., 2009. Recopilación y análisis de la información existente de las especies de los géneros Cucurbita y Sechium que crecen y/o se cultivan en México. UNAM, México.
- Marín-López, S.M., Arcila-Pulgarín, J., Montoya-Restrepo, E.C., Oliveros-Tascón, C.E., 2003. Cambios físicos y químicos durante la maduración del fruto de café (*Coffea arabica* L. var Colombia). *Cenicafe* 54, 208–225.
- Martínez-Flórez, S., Gonzáles-Gallego, J., Culebras, J.M., J., T.M., 2002. Flavonoids: Properties and antioxidizing action. *Nutr. Hosp.* 6, 271–278.
- Mccollum, T.G., 1998. Squash. USDA-ARS, Orlando, FL.
- Medina González, H., García Coronado, J., Nuñes Acosta, D., 2007. El método del hidrómetro: base teórica para su empleo en la determinación de la distribución del tamaño de partículas de suelo. *Rev. Ciencias Técnicas Agropecu.* 16, 19–24.
- Menchú, M., Méndez, H., 2012. Tabla de composición de alimentos de Centroamérica, 3rd ed, Tabla de Composición de Alimentos de Centroamérica. INCAP, Guatemala.
- Mera Ovando, L.M., Bye Boettler, R.A., Villanueva Verduzco, C., Luna Mera, A., 2011. Documento de diagnóstico de las especies cultivadas de Cucurbita L., 1st ed. UNAM, México, D.F.
- Miranda-Perez, M.E., Ortega-Camarillo, C., Escobar-Villanueva, M.D.C., Blancas-Flores, G., Alarcon-Aguilar, F.J., 2016. Cucurbita ficifolia Bouché increases insulin secretion in RINm5F cells through an influx of Ca²⁺ from the endoplasmic reticulum. *J. Ethnopharmacol.* 188, 159–166. doi:10.1016/j.jep.2016.04.061
- Molina Moreno, J.C., Córdova Téllez, L., 2006. Recursos fitogenéticos de México para la alimentación y la agricultura: Informe nacional 2006., primera. ed. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación y Sociedad Mexicana de Fitogenética, A. C., México.
- Moya-Hernández, A., 2015. Caracterización Molecular de Frutos de Chilacayote (*Cucurbita ficifolia* Bouché) Mediante la Técnica AFLP. Universidad Autónoma Metropolitana.

- Moya-Hernández, A., Bosquez-Molina, E., Serrato-Díaz, A., Blancas-Flores, G., Alarcón-Aguilar, F.J., 2018. Analysis of genetic diversity of *Cucurbita ficifolia* Bouché from different regions of Mexico, using AFLP markers and study of its hypoglycemic effect in mice. *South African J. Bot.* 116, 110–115. doi:10.1016/j.sajb.2018.02.409
- Nee, M., 1990. The Domestication of *Cucurbita* (Cucurbitaceae). *Econ. Bot.* 44, 56–68.
- NIH, 2015. Public Health Service Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals. Off. Lab. Anim. Welf.
- NOM-062-ZOO, 1999. Norma Oficial Mexicana, NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. México.
- OECD, 2009. Guidance on Objective Tests To Determine Quality of Fruits and Vegetables and Dry and Dried Produce. OECD.
- OECD, 2006. OECD guidance on objective testing to determine the ripeness of fruit. *J. Fruit Ornam. Plant Res.* 14, 101–112.
- Oroian, M., Escriche, I., 2015. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Res. Int.* 74, 10–36. doi:10.1016/j.foodres.2015.04.018
- Ostlund, R.E., McGill, J.B., Herskowitz, I.A.N., Kipnis, D.M., Santiago, J. V, Sherman, W.R., 1993. D-chiro-Inositol metabolism in diabetes mellitus. *Med. Sci.* 90, 9988–9992.
- Patel, S.S., Goyal, R.K., 2011. Cardioprotective effects of gallic acid in diabetes-induced myocardial dysfunction in rats. *Pharmacognosy Res.* 3, 239–245. doi:10.4103/0974-8490.89743
- Paul, V., Pandey, R., Srivastava, G.C., 2012. The fading distinctions between classical patterns of ripening in climacteric and non-climacteric fruit and the ubiquity of ethylene—An overview. *J. Food Sci. Technol.* 49, 1–21. doi:10.1007/s13197-011-0293-4
- Povel, C.M., Beulens, J.W., Van Der Schouw, Y.T., Dollé, M.E.T., Spijkerman, A.M.W., Monique Verschuren, W.M., Feskens, E.J.M., Boer, J.M.A., 2013. Metabolic syndrome model definitions predicting type 2 diabetes and cardiovascular disease. *Diabetes Care* 36, 362–368. doi:10.2337/dc11-2546
- Prat Pérez, L., Sánchez, B., 1973. Contribucion al estudio de la tecnica de Walkley y Black para la determinacion de carbono organico de suelos. *An. Edafol. y Agrobiol.* 9–10, 16.

- Prohens, J., Nuez, F., 2008. Handbook of plant breeding. Vegetable 1. Springer Science, Spain.
- Reyes Sanamé, F.A., Pérez Álvarez, M.L., Alfonso Figueredo, E., Ramírez Estupiñan, M., Jiménez Rizo, Y., 2016. Tratamiento actual de la diabetes mellitus tipo 2. *Correo Científico Médico de Holguin* 20, 98–121.
- Rodriguez De Sotillo, D. V., Hadley, M., Sotillo, J.E., 2006. Insulin receptor exon 11+/- is expressed in Zucker (fa/fa) rats, and chlorogenic acid modifies their plasma insulin and liver protein and DNA. *J. Nutr. Biochem.* 17, 63–71. doi:10.1016/j.jnutbio.2005.06.004
- Roman-Ramos, R., Almanza-Perez, J.C., Fortis-Barrera, A., Angeles-Mejia, S., Banderas-Dorantes, T.R., Zamilpa-Alvarez, A., Diaz-Flores, M., Jasso, I., Blancas-Flores, G., Gomez, J., Alarcon-Aguilar, F.J., 2012. Antioxidant and anti-inflammatory effects of a hypoglycemic fraction from *Cucurbita ficifolia* Bouché in streptozotocin-induced diabetes mice. *Am. J. Chin. Med.* 40, 97–110. doi:10.1142/S0192415X12500085
- Román-Ramos, R., Flores-Sáenz, J.L., Alarcón-Aguilar, F.J., 1995. Anti-hyperglycemic effect of some edible plants. *Ethno Pharmacol.* 48, 25–32.
- Saltveit, M.E., 1997. Cucumber. Davis, CA.
- Saucedo Tamayo, M. del S., Bañuelos Flores, N., Cabrera Pacheco, R.M., Ballesteros Vásquez, M.N., 2006. La práctica de la medicina alternativa una realidad en el paciente diabetico en Hermosillo, Son., México. *RESPYN* 12.
- Schlaepfer, L., Mendoza-Espinoza, J.A., 2010. Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. *Rev. Mex. Ciencias Farm.* 41, 18–27.
- Shu-Yuan, L., Cui-Qing, C., Fu-Ying, M., Chang-Long, Y., 2009. Modulating effects of chlorogenic acid on lipids and glucose metabolism and expression of hepatic peroxisome proliferator-activated receptor- α in golden hamsters fed on high fat diet. *Biomed. Environ. Sci.* 22, 122–129. doi:10.1016/S0895-3988(09)60034-9
- Villanueva Verduzco, C., 2007. Calabazas cultivadas. Identificación de especies, caracterización y descripción varietal., 1st ed. UACH, México.
- Villarreal-Ibarra, E.C., Lagunes-Espinoza, L.D.C., López, P.A., García-López, E., Palma-López, D.J., Ortiz-García, C.F., Oranday-Cárdenas, M.A., 2015. Evaluación

- etnofarmacológica de plantas con propiedades hipoglucémicas usadas en la medicina tradicional del sureste de México. *Bol. Latinoam. y del Caribe Plantas Med. y Aromat.* 14, 99–112.
- Wills, R.H., Lee, T.H., Graham, D., Glasson, W.B.M., Hall, E.G., 2007. Postharvest: an introduction to the physiology and handling of fruits and vegetables. University of New South Wales Press Ltd., Sidney, Australia., in: University of New South Wales Press Ltd., Sidney, A. (Ed.), . Australia, pp. 33–59.
- Xia, T., Wang, Q., 2007. Hypoglycaemic role of *Cucurbita ficifolia* (Cucurbitaceae) fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Sci. of Food Agric.* 87, 1753–1757. doi:10.1002/jsfa
- Xia, T., Wang, Q., 2006a. D-chiro-Inositol found in *Cucurbita ficifolia* (Cucurbitaceae) fruit extracts plays the hypoglycaemic role in streptozotocin-diabetic rats. *Pharm. Pharmacol.* 58, 1527–1532. doi:10.1211/jpp.58.10.0014
- Xia, T., Wang, Q., 2006b. Antihyperglycemic effect of *Cucurbita ficifolia* fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Fitoterapia* 77, 530–533. doi:10.1016/j.fitote.2006.06.008
- Yokotani, N., Tamura, S., Nakano, R., Inaba, A., Kubo, Y., 2003. Characterization of a novel tomato EIN3-like gene (LeEIL4). *J. Exp. Bot.* 54, 2775–2776. doi:10.1093/jxb/erg308
- Yoo, S.D., Cho, Y., Sheen, J., 2009. Emerging connections in the ethylene signaling network. *Trends Plant Sci.* 14, 270–279. doi:10.1016/j.tplants.2009.02.007
- Zheng, X.Y., Wolff, D.W., 2000. Ethylene production, shelf-life and evidence of RFLP polymorphisms linked to ethylene genes in melon (*Cucumis melo* L.). *Theor. Appl. Genet.* 101, 613–624. doi:10.1007/s001220051523
- Zuñiga, L.Y., Aceves-De La Mora, M.C.A. De, González-Ortiz, M., Ramos-Núñez, J.L., Martínez-Abundis, E., 2018. Effect of Chlorogenic Acid Administration on Glycemic Control, Insulin Secretion, and Insulin Sensitivity in Patients with Impaired Glucose Tolerance. *J. Med. Food* 21, 469–473. doi:10.1089/jmf.2017.0110



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No 00234

Matricula: 2153806129

Caracterización física, química y fisiológica de frutos de Cucurbita ficifolia Bouché (chilacayote) durante su crecimiento y desarrollo, asociada a su capacidad hipoglucemiante



Con base a la Legislación de la Universidad Autónoma Metropolitana, en la Ciudad de México se presentaron a las 11:00 horas del día 10 del mes de diciembre del año 2020 POR VIA REMOTA ELECTRÓNICA, los suscritos miembros del jurado designado por la Comisión del Posgrado:

DR. HECTOR BERNARDO ESCALONA BUENDIA
DRA. CLAUDIA BARBOSA MARTINEZ
DR. GERARDO BLANCAS FLORES
DR. JOSE RAMON VERDE CALVO

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTORA EN BIOTECNOLOGIA
DE: ARACELI MOYA HERNANDEZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

ARACELI MOYA HERNANDEZ
ALUMNA

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORADE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. B. ALÚCIA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTE

DR. HECTOR BERNARDO ESCALONA BUENDIA

VOCAL

DRA. CLAUDIA BARBOSA MARTINEZ

VOCAL

DR. GERARDO BLANCAS FLORES

SECRETARIO

DR. JOSE RAMON VERDE CALVO

El presente documento cuenta con la firma -autógrafa, escaneada o digital, según corresponda- del funcionario universitario competente, que certifica que las firmas que aparecen en esta acta - Temporal, digital o dictamen- son auténticas y las mismas que usan los c.c. profesores mencionados en ella