



**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA,
A.C.**

DIVISIÓN DE MATERIALES AVANZADOS

**Efecto del extracto de *Aloe vera* en la diabetes mellitus
usando un biopolímero de pectina como vehículo de
administración.**

Tesis que presenta

Adrián Alberto Avitu Huerta

Para obtener el grado de

Maestro en Nanociencias y Materiales

Co-directores de tesis

Dra. Alethia Muñoz Ramírez

Dr. Armando Encinas Oropesa

San Luis Potosí, S.L.P, julio de 2023



CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE LA TESIS

La tesis “**Efecto del extracto de *Aloe vera* en la diabetes mellitus usando un biopolímero de pectina como vehículo de administración**” presentada para obtener el Grado de Maestro en Nanociencias y Materiales fue elaborada por **Adrián Alberto Avitu Huerta** y aprobada el **11 de julio de 2023** por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Materiales Avanzados del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Dra. Alethia Muñoz Ramírez
Director de la tesis

Dr. Armando Encinas Oropesa
Codirector de la tesis

Dr. Vladimir Alonso Escobar Barrios
Miembro del Comité Tutorial

Dr. Daniela Joyce Trujillo Silva
Miembro del Comité Tutorial



CRÉDITOS INSTITUCIONALES

Esta tesis fue elaborada en el Laboratorio de Química de Productos Naturales y en el Laboratorio de Nanoestructuras Magnéticas.

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías, No. de registro: 1150548 y el Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

DEDICATORIAS

A mi sobrina, Romina que es mi corazón

A mis padres, Carmen y Adrián, por querer para mí lo mejor y ser una guía en el mundo.

A mis hermanas, Karen y Fernanda, por ser lo más valioso que la vida me ha dado

A mis amigos que conocí en cada una de mis etapas de mi vida hasta el momento.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Alethia Muñiz Ramírez y al Dr. Armando Encinas Oropesa por la supervisión y dirección en el desarrollo de este trabajo.

A mis sinodales por sus valiosos comentarios y consejos, a la Dra. Daniela Joyce Trujillo Silva y el Dr. Vladimir Alonso Escobar Barrios.

Al Dr. Vicente Rodríguez González por el apoyo en el uso de sus instalaciones

Al Dr. Vladimir Alonso Escobar Barrios y el Laboratorio de Polímeros Avanzados por el apoyo en el uso de sus instalaciones.

Al grupo de Laboratorio de Productos Naturales: Liz, Brenda, Coral, Daniela; por su valioso apoyo en el transcurso de la realización de esta tesis.

Al CONAHCYT por la beca otorgada: 1150548 para el estudio de Maestría.

ÍNDICE

CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE LA TESIS	ii
CRÉDITOS INSTITUCIONALES	iii
DEDICATORIAS	v
AGRADECIMIENTOS	vi
ÍNDICE	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv
1 INTRODUCCIÓN	1
2 MARCO TEÓRICO	4
2.1 Diabetes mellitus	4
2.1.1 Diabetes mellitus tipo 2	4
2.1.2 Síntomas y complicaciones	4
2.1.4 Tratamientos y farmacología	7
2.2 <i>Aloe vera</i>	8
2.2.1 Composición química del <i>Aloe vera</i>	9
2.2.2 <i>Aloe vera</i> y sus beneficios medicinales	10
2.2.3 Metabolitos secundarios	11
2.2.4 Diabetes y <i>Aloe vera</i>	12
2.3 Modelos animales	13
2.3.2 Pez cebra y diabetes	15
2.3.3 PC como modelo experimental	16
2.4 Vías de administración de fármacos	16
2.4.1 Sistemas matriciales como vía de administración de fármacos	17
2.4.1.1 Matrices hidrofílicas	17
2.5 Biopolímeros	18
2.5.1 Biopolímeros como vía de administración de fármacos	18
2.5.2 Pectina	19
2.5.3 Plastificantes	20
3 JUSTIFICACIÓN	22

4 HIPÓTESIS.....	23
5 OBJETIVO GENERAL.....	23
5.1 Objetivos específicos.....	23
6 DESARROLLO EXPERIMENTAL	24
6.1. Obtención del extracto de <i>Aloe vera</i>	24
6.1.1 Determinación de compuestos bioactivos por CG-MS	24
6.2. Funcionalización del biopolímero adicionado con extracto de <i>Aloe vera</i>	24
6.3. Caracterización fisicoquímica del biopolímero adicionado con extracto de <i>Aloe vera</i>	25
6.3.1 Espesor.....	25
6.3.2 Contenido de humedad	25
6.3.3 Absorción de agua.....	26
6.3.4 Solubilidad en agua.....	26
6.3.5 Opacidad	27
6.3.6 Espectroscopía UV-Vis.....	27
6.3.7 Espectroscopía FTIR-ATR.....	27
6.4 Ensayos <i>in vivo</i>	28
6.4.1 Aclimatación del pez cebra.....	28
6.4.2 Prueba toxicológica de los de los biopolímeros funcionalizados con extracto de <i>Aloe vera</i> y el biopolímero	28
6.4.3 Inducción diabética a pez cebra	29
6.4.4 Tratamiento antidiabético con biopolímeros adicionados con extracto de <i>Aloe vera</i>	30
6.4.5 Evaluación de niveles de glucosa y triglicéridos	31
6.4.6 Evaluación inhibitoria de los productos finales de glicación avanzada.....	32
7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
7.1 Compuestos bioactivos del extracto de <i>Aloe vera</i>	33
7.2 Formulación del biopolímero y de los biopolímeros adicionados con extracto de <i>Aloe vera</i>	34
7.3 Caracterización fisicoquímica del biopolímero y los biopolímeros adicionados con extracto de <i>Aloe vera</i>	37
7.3.1 Espesor y opacidad.....	38
7.3.2 Contenido de humedad, absorción de agua y solubilidad	39
7.3.3 Espectroscopia UV-Vis del extracto de <i>Aloe vera</i> , el biopolímero y el biopolímero adicionado con extracto de <i>Aloe vera</i> en medio acuoso.....	41

7.3.4 Identificación de grupos funcionales por FTIR-ATR.....	42
7.4 Ensayos <i>in vivo</i>	45
7.4.1 Aclimatación del pez cebra.....	45
7.4.2 Prueba toxicológica del biopolímero adicionado con extracto de <i>Aloe vera</i>	46
7.4.3 Evaluación de niveles de glucosa	46
7.4.4 Evaluación de niveles de triglicéridos.....	48
7.4.5 Evaluación inhibitoria de los productos finales de glicación avanzada.....	49
8 CONCLUSIONES	51
9 PERSPECTIVAS	52
10 BIBLIOGRAFÍA	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
Tabla 1.	Síntomas comunes de DMT2.	4
Tabla 2.	Complicaciones agudas y crónicas de la DMT2.	5
Tabla 3.	Tratamientos antidiabéticos orales	7
Tabla 4.	Constituyentes principales de las hojas de AV.	10
Tabla 5.	Propiedades terapéuticas del AV o de sus extractos derivados.	11
Tabla 6.	Identificación de compuestos bioactivos presentes en el extracto de AV por CG-MS-CG.	34
Tabla 7.	Espesor y opacidad de los BAV's y BP.	38
Tabla 8	Registro de las muertes en la prueba toxicológica del PC.	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
Figura 1.	Formación de AGE's.	7
Figura 2.	Planta de AV y sección transversal de la hoja de AV.	9
Figura 3.	PC macho adulto con aletas etiquetadas.	14
Figura 4.	Representación esquemática del proceso de liberación desde una matriz hidrofílica.	18
Figura 5.	Estructura típica del polímero de PA.	20
Figura 6.	Estructuras del a) GLI y el b) AC.	21
Figura 7.	Funcionalización del BP adicionado con extracto de AV (BAV).	25
Figura 8.	Prueba toxicológica de los BAV's y BP usando PC.	29
Figura 9.	Preparación y adición al medio de una solución de GLU a los lotes con PC.	29
Figura 10.	Diseño experimental del tratamiento antidiabético.	31
Figura 11.	Anestesia y evaluación de niveles de GLU y TGL en el PC	32
Figura 12.	Cromatograma del extracto de AV por CG-MS-CG.	33
Figura 13.	Estructuras químicas de los metabolitos secundarios encontrados en el extracto de AV.	34

Figura 14.	a) BAV's y BP y b) diagrama de la formación del BAV.	36
Figura 15.	a) Interacción del GLI y PA, b y c) esterificación de los grupos hidroxilo del GLI y carboxilo de la PA.	37
Figura 16.	Esquema de la esterificación del almidón con el AC.	37
Figura 17.	Gráfica de contenido de humedad en los BAV's y BP.	39
Figura 18.	Gráfica de absorción de agua en los BAV's y BP.	40
Figura 19.	Gráfica de solubilidad de los BAV's y BP.	41
Figura 20.	Espectros de absorción del UV-Vis del extracto de AV, el BP y el BAV.	42
Figura 21.	Espectro FTIR-ATR del BP.	43
Figura 22.	Espectro FTIR-ATR del extracto de AV.	44
Figura 23.	Espectro FTIR-ATR de extracto de AV, BAV's y BP.	45
Figura 24	Gráfica del efecto de los BAV's en los niveles de GLU en sangre en el PC.	47
Figura 25	Gráfica del efecto de los BAV's en los niveles de TGL en sangre en el PC.	48
Figura 26	Gráfica del efecto de los BAV's, en la inhibición de AGE's en los ojos de los PC.	49

RESUMEN

La diabetes mellitus se caracteriza por niveles elevados de glucosa en la sangre, así como por el incremento de los niveles de triglicéridos y los productos finales de glicación avanzada. Estos factores contribuyen a la aparición de diversas complicaciones en las personas que tienen diabetes. En este estudio, se presenta el desarrollo de un biopolímero a base de pectina como vehículo de administración del extracto de *Aloe vera*, junto con la evaluación de su efecto antidiabético.

Se llevó a cabo una caracterización fisicoquímica del biopolímero, que incluyó la medición del espesor, opacidad, contenido de humedad, absorción de agua y solubilidad. Además, se utilizaron técnicas de espectroscopia de UV-Vis para identificar las longitudes de onda del biopolímero, el extracto de *Aloe vera* y la combinación de ambos. Para identificar los grupos funcionales presentes en los biopolímeros funcionalizados y el extracto de *Aloe vera*, se utilizó la técnica de FTIR-ATR.

Con el fin de evaluar el efecto antidiabético *in vivo* de los biopolímeros adicionados con extracto de *Aloe vera*, se utilizaron peces cebras diabéticos. Se observó que los biopolímeros funcionalizados redujeron los niveles de glucosa y triglicéridos, además de reducir la formación de los productos finales de glicación avanzada. Además, se lograron identificar diferentes metabolitos secundarios presentes en el extracto de *Aloe vera*, con actividad, hipoglucemiante, antiglicación y antioxidante. Para su identificación, se utilizó la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

Teniendo en cuenta los hallazgos mencionados, este estudio muestra el potencial que tiene el extracto de *Aloe vera* como coadyuvante en el tratamiento de la diabetes mellitus, utilizando un biopolímero a base de pectina como vehículo de administración. No obstante, se recomienda llevar a cabo investigaciones adicionales con el fin de comprender mejor los mecanismos de acción involucrados.

Palabras clave: *Aloe vera*, diabetes, biopolímero, pez cebra

ABSTRACT

Diabetes mellitus is characterized by elevated blood glucose levels, as well as increased levels of triglycerides and advanced glycation end products. These factors contribute to the development of various complications in people who have diabetes. In this study, the making and development of a pectin-based biopolymer as a vehicle for the administration of *Aloe vera* extract is presented, together with the evaluation of its antidiabetic effect.

A physicochemical characterization of the biopolymer was carried out, which included measurement of thickness, opacity, moisture content, water absorption, and solubility. In addition, UV-Vis spectroscopy techniques were used to identify the wavelengths of the biopolymer, the *Aloe vera* extract and the combination of both. To identify the functional groups, present in the biopolymer, functionalized biopolymers, and the *Aloe vera* extract, the FTIR-ATR technique was used.

To evaluate the in vivo antidiabetic effect of biopolymers added with *Aloe vera* extract, diabetic zebrafish were used. It was observed that the functionalized biopolymers reduced glucose and triglyceride levels, in addition to reducing the formation of advanced glycation end products. In addition, it was possible to identify different secondary metabolites present in the *Aloe vera* extract, with hypoglycemic, antiglycation and antioxidant activity. For its identification, the technique of gas chromatography coupled with mass spectrometry was used.

Considering the findings, this study shows the potential of *Aloe vera* extract as an adjuvant in the treatment of diabetes mellitus, using a pectin-based biopolymer BP as an administration vehicle. However, further research is recommended in order to better understand the mechanisms of action involved.

Keywords: *Aloe vera*, diabetes, biopolymer, zebrafish

1 INTRODUCCIÓN

La diabetes es una enfermedad endocrina/metabólica crónica con etiologías, síntomas clínicos y complicaciones asociadas y heterogéneas. Su sello bioquímico es la hiperglucemia (HGL), causada principalmente por deficiencia y/o resistencia de insulina (Reddy & Tan, 2020). El cuadro clínico clásico es; sed excesiva (polidipsia), micción frecuente (poliuria) y pérdida de peso.

Se estima que entre un tercio y la mitad de las personas con diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) puede no estar diagnosticada. Si el diagnóstico se retrasa por un tiempo prolongado y no se cuenta con tratamiento oportuno de la enfermedad, las complicaciones como discapacidad visual, úlceras en las extremidades inferiores con mala cicatrización, enfermedades cardíacas o accidentes cerebrovasculares pueden conducir a un incremento en los costos del tratamiento, mala calidad de vida y la muerte (Webber, 2013).

En 2021 se estimó que 537 millones de adultos en el rango de edad 20 a 79 años en todo el mundo (10.5 % de todos los adultos en este grupo de edad) tenían diabetes. Para el año 2030, se prevé que 643 millones adultos en el mismo rango de edad vivan con diabetes y para el 2045, 783 millones de personas; estas cifras engloban las diabetes Tipo 1 (DMT1) y DMT2 (Webber, 2013).

Según la Federación Internacional de Diabetes, en el 2021 México registro 14 millones de personas con diabetes y se estima que para el año 2030 aumente a 17 millones de personas (Webber, 2013). En el año 2021, 142,546 personas fallecieron a causa de la diabetes mellitus, según el INEGI, lo cual equivale a 13 % del total de las defunciones (1,093,210) ocurridas en el país; 72,324 defunciones en hombres (50.7 %) y 70,219 en mujeres (49.3 %) (INEGI, 2021). Actualmente en el estado de San Luis Potosí, el Sistema de Información de Enfermedades Crónicas cuenta con un registro de 23,988 pacientes en tratamiento de DMT2, en pacientes de 20 años y más (Pérez, 2020).

La HGL es el resultado inicialmente, de la incapacidad de las células del cuerpo para responder completamente a la insulina, hormona encargada de transportar la

glucosa (GLU) hacia la célula, una condición denominada resistencia a la insulina. Con el inicio de la resistencia a la insulina, la hormona es menos efectiva, provocando un aumento en la producción de insulina. Con el tiempo, puede desarrollarse una producción inadecuada de insulina, que da como resultado la falla de las células β pancreáticas, productoras de la insulina.

La forma de reducir la HGL es con ayuda de tratamientos farmacológicos, la glibenclamida, es un fármaco ampliamente usado en la práctica clínica. Sin embargo, en la actualidad se buscan nuevas alternativas terapéuticas de origen natural, que ayuden a reducir la HGL.

El *Aloe vera* (AV) tiene amplios usos en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética. La parte que más se usa de esta planta es el gel, debido a sus propiedades funcionales, antioxidantes y terapéuticas. Un adecuado aprovechamiento de la planta está asociado al contenido de sus componentes bioactivos, microestructura y los métodos para preservar y estabilizar los productos obtenidos a partir del gel (Domínguez-Fernández et al., 2012).

En las últimas dos décadas se han publicado varios informes científicos basados en los diferentes compuestos bioactivos presentes en AV, relacionados con las propiedades benéficas atribuidas, como son polisacáridos bioactivos, en particular, el polímero de almacenamiento conocido como acemanano y diferentes compuestos fenólicos parecen ser los componentes clave para explicar la mayor parte de las propiedades farmacológicas, atribuidas a esta planta (Minjares-Fuentes & Femenia, 2018), además los terpenoides y esteroides, junto con una gama de otros componentes orgánicos e inorgánicos (Brahmachari, 2019), estos metabolitos promueven el efecto hipoglucémico, a través de normalizar las actividades de las enzimas fosfatasa e hidrasa unidas a la membrana celular haciendo que aumente el metabolismo de la glucosa (Tewari & Tiwari, 2018).

Por lo tanto, en la actualidad se buscan alternativas de administración novedosas que ayuden al principio activo a llegar al sitio de acción. Por lo que en el presente proyecto se desarrolló un biopolímero (BP) de pectina (PA) capaz de servir como vehículo de administración de los principios activos presentes en el AV.

Por lo anterior existe un gran interés en desarrollar BP ya que pueden ser obtenidos a partir de materias primas renovables, abundantes y de bajo costo. Sin embargo, el costo, las propiedades y el desempeño del biopolímero pueden variar significativamente dependiendo del proceso de fabricación y los productos químicos necesarios para lograr las propiedades deseadas. En el caso del desarrollo del BP a base de PA que se realizara en el presente trabajo es de fácil acceso y producción a nivel investigación (Shlush & Davidovich-Pinhas, 2022).

La PA, un polisacárido natural y renovable, tiene la función de mejorar peristalsis gastrointestinal y promover la absorción de nutrientes, también puede reducir el riesgo de obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares (Cai et al., 2023); ha ganado mucha atención como material base, para desarrollar comestibles, plásticos biodegradables y renovables (Oliva-Moreno & Encinas, 2021). Las aplicaciones potenciales de la PA son numerosas e involucran diferentes campos como fibras para la industria textil, productos médicos, cosméticos, bioimplantes, suministro de fármacos, herbicidas y fungicidas (Pasini Cabello et al., 2015).

En el presente trabajo se busca formular un biopolímero a base PA adicionado con extracto de AV. El papel del BP fue el de transportar y liberar el extracto, esto para ser más eficiente su absorción. Para realizar las pruebas *in vivo* de este BP se usó el modelo experimental de pez cebra (PC) diabético.

El PC es un modelo vertebrado establecido para el estudio de enfermedades como la diabetes mellitus (DM), este modelo experimental se está utilizando cada vez más para estudios preclínicos y toxicológicos. El PC requiere alojamiento relativamente económico, haciéndolos muy rentables, y son de tamaño pequeño (Haque & Ward, 2018). Por su genética y similitudes fisiológicas con los humanos, el PC ha sido estudiado durante mucho tiempo como modelo de investigación utilizando tanto embriones como peces adultos.

También ofrece la opción de facilidad y repetibilidad de experimentos, el PC se han utilizado previamente en la investigación de la neurociencia clínica para llevar a cabo estudios sobre enfermedades de Alzheimer, Parkinson, cerebrovasculares, deterioro cognitivo, demencia vascular, ansiedad, entre otras (Chavda et al., 2021).

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Diabetes mellitus

La DM es una enfermedad metabólica, su sello bioquímico es la hiperglucemia (Reddy & Tan, 2020). Hay varios tipos de diabetes, la DMT2 la cual es la más predominante entre la población adulta (90 % a 95 %) y está estrechamente relacionada con la obesidad, particularmente la adiposidad troncal (Lui & Ip, 2023). En este trabajo se abordó la DMT2, por ser la de mayor prevalencia.

2.1.1 Diabetes mellitus tipo 2

Este complejo trastorno metabólico es la forma más común de diabetes, se asocia con disfunción de las células- β pancreáticas, distribución de grasa ectópica asociada con diversos grados de resistencia a la insulina y alteración de la supresión posprandial de glucagón. La resistencia a la insulina también se encuentra en otras condiciones metabólicas, como la hipertensión, la obesidad y el síndrome de ovario poliquístico que pueden coexistir en personas con DMT2 (Egan & Dinneen, 2018).

2.1.2 Síntomas y complicaciones

Los síntomas típicos de la DMT2 se muestran en la Tabla 1. Sin embargo, algunas personas con DMT2 tienen síntomas tan leves que pasan desapercibidos. La detección temprana y el tratamiento de la diabetes pueden disminuir el riesgo de desarrollar las complicaciones de la diabetes (Vinet & Zhedanov, 2011).

Tabla 1. Síntomas comunes de DMT2 (Zeliger, 2023).

Micción frecuente

Sed intensa

Hambre severa, a pesar de comer

Fatiga extrema

Visión borrosa

Cortes o moretones que tardan en sanar
Hormigueo, dolor o entumecimiento en las extremidades

Las complicaciones asociadas con la DMT2 se clasifican en agudas y crónicas, estas complicaciones (Tabla 2), están asociadas con los mecanismos impulsados por el estrés oxidativo que se dan en la DMT2 (Zeliger, 2023).

Tabla 2. Complicaciones agudas y crónicas de la DMT2 (Zeliger, 2023)

Agudas
Infección
Cetoacidosis diabética
Coma hiperglucémico, hiperosmolar, no cetónico
Polidipsia
Poliuria
Fatiga
Visión borrosa
Ataque
Hipertensión
Cardiopatía
Enfermedad vascular periférica
Llagas en los pies y otros problemas
Cetoacidosis diabética
Crónicas
Infección
Ceguera
Retinopatía
Cataratas
Neuropatía
Aterosclerosis

Enfermedad vascular periférica
Amputación
Enfermedad cerebrovascular
Retinopatía
Cataratas
Enfermedad renal
Llagas en los pies y otros problemas

2.1.3 Productos finales de glicación avanzada

La glicación deteriora la función fisiológica y la integridad estructural en múltiples órganos, y desempeña un papel patogénico en numerosos trastornos, en primer lugar, la diabetes. Uno de los principales mecanismos de etiopatogenia de diabetes y complicaciones diabéticas es un aumento en el nivel de glicosilación no enzimática de proteínas y otros compuestos (ácidos nucleicos y lípidos) debido al aumento de los niveles de GLU, y en consecuencia de otros metabolitos reactivos (Sadowska-Bartosz & Bartosz, 2016).

La reacción química inicial denominada glicación temprana, ocurre entre azúcares reductores o sus productos derivados y los grupos amino de las proteínas, lípidos o ácidos nucleicos. Los compuestos originados en esta reacción reversible son inestables y se denominan bases de Schiff. Posteriormente se someten a un reordenamiento estructural para formar productos de Amadori, siendo los más conocidos la hemoglobina glucosilada y la fructosamina. Sin embargo, ninguno de estos son AGE; para que esto ocurra, los productos de Amadori deben someterse a una mayor deshidratación, oxidación, reacciones de transposición y de fragmentación. Algunos de los AGE mejor caracterizados son carboximetil, carboximetil-lisina y pentosidina (Figura 1) (Díaz-Casasola, L., 2016).

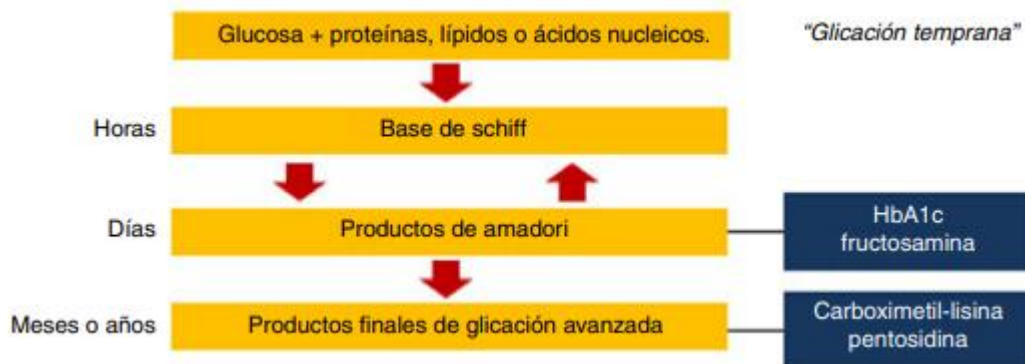


Figura 1. Formación de AGE's.

2.1.4 Tratamientos y farmacología

Los pacientes con DMT2, aparte de dieta y ejercicio, se tratan con hipoglucemiantes orales como la metformina, pudiéndose agregar un segundo medicamento dependiendo de las necesidades del paciente, en la Tabla 3, se muestran algunos tratamientos antidiabéticos orales, el efecto antidiabético y sus efectos secundarios (Reddy & Tan, 2020).

Tabla 3. Tratamientos antidiabéticos orales (Alcántara & Pérez, 2016).

Medicamento	Efecto	Efectos secundarios
Sulfonilureas	Estimulación de secreción de insulina	- Hiperinsulinemia - Aumento de peso - Hipoglucemia
Biguanidas	- Disminución de glucogénesis - Disminución de neoglucogénesis	- Diarrea, dolor abdominal, náuseas y vómitos - Alteraciones del gusto - Malabsorción de la vitamina B12

		• Acidosis láctica que puede llegar a ser mortal
Inhibidores de la alfa-glucosidasa	Retraso de absorción de polisacáridos complejos	• Dolor abdominal, • Meteorismo • Diarrea
Tiazolidinedionas	• Disminución de la resistencia a la insulina • Disminución de la producción hepática de glucosa	• Aumento de peso, • Retención de líquidos • Hemodilución

Debido a que el consumo de hipoglucemiantes trae consigo diversos efectos secundarios, se busca en la medicina tradicional metabolitos secundarios antidiabéticos que ayuden a disminuir la glucosa en sangre y presenten menos efectos secundarios.

2.2 *Aloe vera*

El género *Aloe* pertenece a la familia botánica Liliaceae y comprende más de 360 especies que crecen en regiones cálidas, desérticas, semiáridas, tropicales y subtropicales, siendo originaria de África oriental y meridional. La Figura 2, muestra la planta de AV, la cual es perenne, de porte más o menos arborescente, con una raíz fibrosa gruesa, con tronco de 30-50 cm, hojas en una roseta densa, en la parte apical del tronco, gruesas y carnosas, anchas en la base. Dependiendo de la especie, éstas son alargadas, de color verde en ambas caras y con dientes espinosos en los márgenes. La mayor parte del año presenta flores amarillas, que crecen en un racimo largo sobre un escapo floral erguido, formado desde el centro de las hojas basales. El escapo floral puede crecer hasta una altura de 60 cm. El fruto es una cápsula triangular que contiene numerosas semillas (Ángel M., 2006).

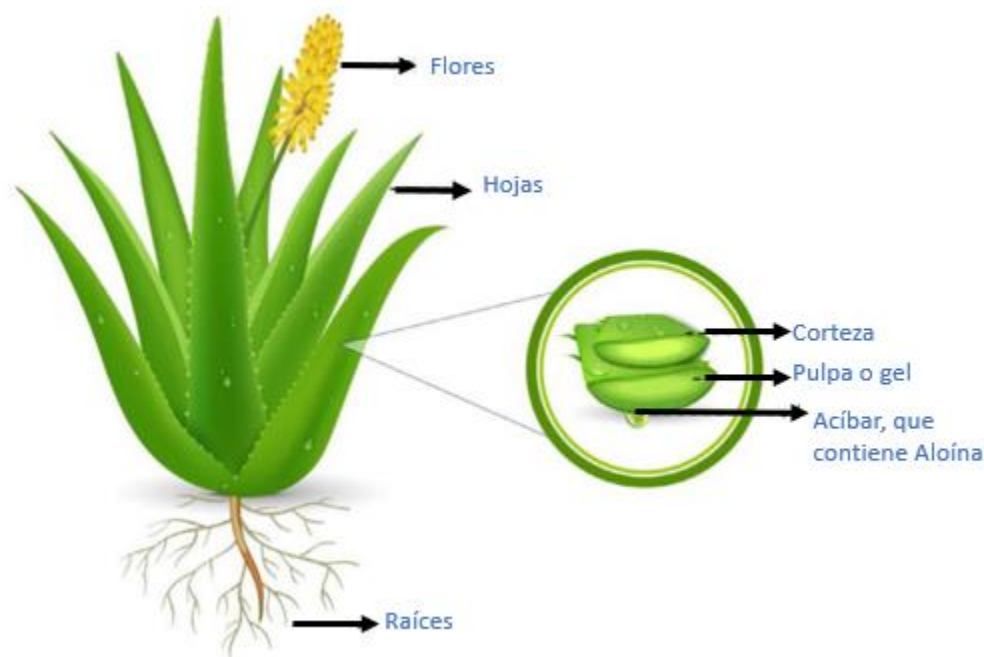


Figura 2. Planta de AV y sección transversal de la hoja de AV (Martínez-burgos et al., 2022).

2.2.1 Composición química del *Aloe vera*

La composición química del AV ha sido ampliamente estudiada y se conoce su composición química en detalle. Está compuesta por una mezcla compleja de compuestos biológicos, y se han identificado una gran variedad de estructuras químicas (monosacáridos, polisacáridos, proteínas, aminoácidos, esteroides, antraquinonas, fenólicos, hormonas, vitaminas y minerales). Los carbohidratos y el agua son sus principales componentes en las hojas (Martínez-burgos et al., 2022), los principales polisacáridos son antraquinonas, glucomanano y acemanano, además contienen sacáridos, vitaminas, aminoácidos, minerales, enzimas, ácidos grasos (Tabla 4) y otros compuestos de acción emoliente, cicatrizante, coagulante, hidratante, antialérgica, desinfectante, antiinflamatoria, astringente, colerética, laxante, entre otros (Imery & Ozols, 2018).

Tabla 4. Constituyentes principales de las hojas de AV (Imery & Ozols, 2018).

Antraquinonas	Elementos	Enzimas
Ácido aloético	Aluminio	Amilasa
Ácido crisofánico	Bario	Carboxipeptidasa
Aloe-emodina	Boro	Catalasa
Aloina	Calcio	Ciclooxigenasa
Antranol	Cloro	Fosfatasa alcalina
Barbaloina	Cobre	Lipasa
Emodina	Cromo	Oxidasa
Éster de ácido cinámico	Estroncio	
Isobarbaloina	Fósforo	Compuestos misceláneos
Resistanol	Hierro	2(3H)-benzotiazolona
	Magnesio	Ácido araquidónico
Vitaminas	Manganeso	Ácido deshidroabiético
B ₁ (Tiamina)	Sodio	Ácido esteárico
B ₂ (Riboflavina)	Sorbato de potasio	Ácido láurico
B ₆ (Piridoxina)	Zinc	Ácido linoleico
B ₇ (Colina)		Ácido margárico
B ₉ (Ácido fólico)	Aminoácidos esenciales	Ácido metilhexadecanóico
C (Ácido ascórbico)	Fenilalanina	Ácido mirístico
E (alfatocoferol)	Isoleucina	Ácido octadecanóico
Betacaroteno	Leucina	Ácido palmítico
	Lisina	Ácido palmitoléico
Monosacáridos	Metionina	Ácido pentadecanóico
Aldopentosa	Treonina	Ácido salicílico
Arabinosa	Valina	Ácido úrico
Celulosa		Betasitosterol
Fucosa	Aminoácidos no esenciales	Colesterol
Galactosa	Ácido aspártico	Dioctil ftalato
Glucosa	Ácido glutámico	Esteroides
Manosa (más común)	Alanina	Giberelinas
Ramnosa	Arginina	Lectinas
Xilosa	Glicina	Ligninas
	Histidina	Monooctil ftalato
	Hydroxiprolina	Triglicéridos
	Prolina	
	Tirosina	

2.2.2 Aloe vera y sus beneficios medicinales

Las culturas antiguas, como egipcios, chinos, indios y japoneses utilizaron esta planta como ingrediente de la medicina tradicional, hoy en día, esta planta es un componente importante en la medicina moderna (Martínez-burgos et al., 2022). El AV se ha usado en la medicina tradicional por sus propiedades terapéuticas como en el tratamiento de quemaduras y heridas, antibacterial, antiviral, antioxidante, antidiabético, laxativo, como protección contra la radiación, antialérgico, antiinflamatorio, contra el cáncer e inmuno-estimulación (Tabla 5), entre otras (Bendjedid et al., 2021).

En el campo médico, sus efectos terapéuticos son diversos, se ha demostrado que posee componentes que ayudan a tratar el síndrome metabólico, incluidos los efectos contra la hiperglucemia, dislipidemia, hipertensión, obesidad, actividad antiinflamatoria, actividad inmunomoduladora, antidiabética y propiedades cicatrizantes y laxantes (Martínez-burgos et al., 2022).

Tabla 5. Propiedades terapéuticas del AV (Imery & Ozols, 2018).

Uso
Actividad antitóxica
Actividad bacteriagénica y mejor producción de ácidos grasos de cadena corta por la flora intestinal
Analgésico sistémico y tópico
Antibacterial (<i>Shigella</i> , <i>Streptococcus</i>)
Anticancer o paliativo de enfermedades cancerígenas
Antiinflamatorio, cicatrizante, tratamiento de hemorroides y fisuras anales
Antiparasitario, antiasmático, contra hepatitis, inflamación pélvica, artritis, candida, desordenes digestivos, fatiga, acné, psoriasis, herpes genitales, hipertensión,
Antitumoral, estimulación de la proliferación de células T y B
Antitusígeno, expectorante
Antiviral e immunoestimulante
Cicatrizante óseo
Disminución de los niveles de glucosa en sangre y control de la glicemia para el tratamiento de la Diabetes
Estimulación del sistema hematopoyético
Gastroprotector y el tratamiento de úlceras gastroduodenales
Materia prima para alimentos
Mejora de la viscosidad y conductividad del apósito de gasa sobre heridas y quemaduras
Protección de la piel contra quemaduras e infecciones

2.2.3 Metabolitos secundarios

Los MS son compuestos derivados del metabolismo primario, con una elevada distribución en el reino de las plantas, y en algunos casos restringidos a un grupo taxonómico particular. Los MS no tienen una función aparente en el metabolismo

primario, pero sí tienen una implicación ecológica como defensa contra herbívoros, virus, hongos, bacterias, como sustancias alelopáticas, fitoalexinas o disuasorios nutritivos. Otros tienen una función fisiológica, por ejemplo, los alcaloides, que pueden servir para el transporte de nitrógeno tóxico y compuestos de almacenamiento, mientras los compuestos fenólicos como los flavonoides realizan una función como protectores de rayos ultravioletas. Además, son una fuente importante de principios activos de medicamentos y de valiosos productos químicos. Las plantas son fuente de un gran número de productos metabólicos de importancia comercial y son usados en la industria farmacéutica, alimenticia, cosmética y como fuentes de numerosas sustancias de interés agroquímico. Se estima que más de 100,000 MS son producidos por las plantas (Naivy Pérez-Alonso, 2009).

2.2.4 Diabetes y *Aloe vera*

Se ha reportado que los efectos hipoglucemiantes del AV se ven mediados, al menos parcialmente, por su potente efecto antioxidante. Los enfoques recientes sugieren que el tratamiento de la diabetes no solo debe centrarse en la secreción de insulina, sino también en la protección antioxidante de las células β . Esto puede facilitar la reparación de células β que sufren daño por estrés oxidativo secundario a HGL (Abo-Youssef & Messiha, 2013).

El AV consta de varios fitoconstituyentes y se sabe que éstos presentan varios efectos terapéuticos. Los carbohidratos, péptidos y polipéptidos son algunos de los constituyentes que ejercen propiedades antidiabéticas. Últimamente, las investigaciones se ha enfocado en comprender el mecanismo de acción involucrado en el tratamiento de la diabetes a través de la medicina herbal y en encontrar cualquier biomarcador implicado en la progresión de la diabetes. La HGL es un sello distintivo de la diabetes y es bien sabido que una HGL prolongada causa daño a los órganos y también conduce a otras complicaciones diabéticas como miopatía, nefropatía, etc. (Babu et al., 2021).

Las investigaciones fitoquímicas reportadas hasta ahora han indicado la presencia de constituyentes químicos activos en el AV, como compuestos fenólicos, terpenoides y esteroides, junto con una gama de otros componentes orgánicos e inorgánicos (Brahmachari, 2019). Estos compuestos promueven el efecto hipoglucémico, al normalizar las actividades de las enzimas fosfatasa e hidrasa unidas a la membrana celular haciendo que aumente el metabolismo de la glucosa. (Tewari & Tiwari, 2018).

Para evaluar el potencial terapéutico de las plantas medicinales se requieren realizar estudios *in vivo*, para ello se pueden utilizar diferentes modelos animales.

2.3 Modelos animales

Un organismo modelo se refiere a aquellas especies que han sido intensamente estudiadas y que se usan para investigar múltiples aspectos de la biología. Es decir, un organismo es un modelo que está siendo usado como un análogo al ser suficientemente similar como para realizar en él una investigación extrapolable a la totalidad de un grupo de animales. El uso de estos organismos ha permitido disponer de recursos importantes para el desarrollo de investigaciones.

Los modelos animales pueden ser extremadamente valiosos en la comprensión de varias enfermedades y los tratamientos para estas mismas. Los modelos tienen algunos, si no todos, de los siguientes atributos: (1) similitudes fisiopatológicas con enfermedades humanas, (2) una coincidencia fenotípica con el estado de la enfermedad, (3) replicabilidad y/o reproducibilidad, y (4) rentabilidad. Los dos primeros criterios abordan directamente la validez del modelo (es decir, cómo se relaciona con la enfermedad que se supone debe modelar) (Geiger & Pothos, 2019).

Recientemente el PC (*Danio rerio*) se ha convertido en un modelo emergente en la investigación biomédica, observándose un aumento exponencial en publicaciones en las revistas científicas más prestigiosas. Su pequeño tamaño, transparencia embrionaria, rápido desarrollo, su alta homología anatómica y genética con los seres humanos junto con otras características, es la base para que se haya

establecido rápidamente como un modelo para la investigación en salud humana y animal, así como en agroalimentación (Armengol, 2017).

2.3.1 Pez cebra

El PC es nativo del sureste asiático y su rango de distribución natural incluye las cuencas del Ganges y el Brahmaputra y las aguas dulces tropicales de las regiones monzónicas de la India, Bangladesh, Nepal, Pakistán, Bután, Tailandia y el norte de Myanmar. Los ejemplares de esta especie tienen una coloración verde aceitunada o dorada, con tonalidades marrones, y hacia el vientre se intensifica el color blanco; cuatro líneas de color azul, que van desde los opérculos hasta la aleta caudal, estas recorren los costados longitudinalmente, siendo las responsables de que se le conozca como PC (Armengol, 2017).

El PC es un pez pequeño (Figura 3), el peso suele rondar entre 0.5 y 0.9 g y una longitud de la punta de la boca a la bifurcación de la cola de 22 y 38 mm. Las hembras suelen ser más grandes que los machos y tienen el vientre abultado debido a la acumulación de óvulos. En cambio los machos son más alargados y tienen unas aletas más vistosas de coloración dorada o amarilla (Ponce-palomera et al., 2023)

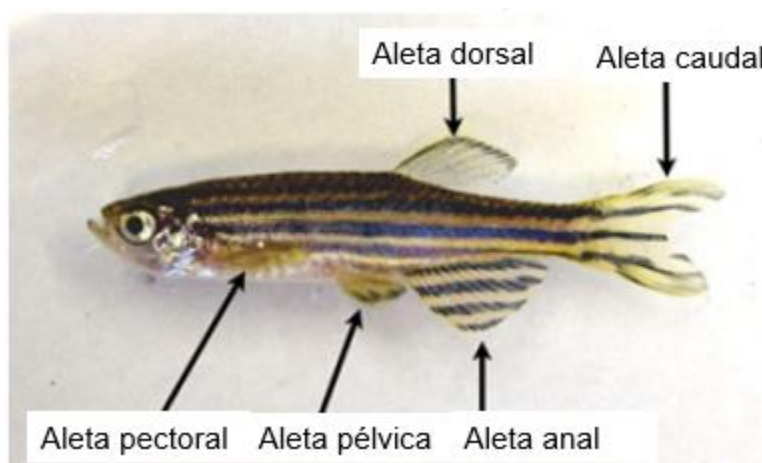


Figura 3. PC macho adulto con aletas etiquetadas (Gupta & Mullins, 2010).

2.3.2 Pez cebra y diabetes

Se han utilizado numerosos modelos animales para estudiar la diabetes mellitus utilizando: 1) derivación genética espontánea o planificada; 2) inducción dietética/nutricional; 3) inducción química; 4) manipulación quirúrgica; 5) manipulación transgénica; o 6) una combinación de los anteriores. La mayoría de los modelos disponibles están basados en roedores, que tienen inconvenientes en que requieren mucha mano de obra y debido a cuestiones éticas, solo se pueden utilizar pequeños grupos de animales. Para superar estas limitaciones, el PC ha sido cada vez más utilizado para estudiar la diabetes y sus enfermedades relacionadas, elegido debido a la alta similitud en cuanto a la fisiología de los órganos (páncreas) y metabolismo entre el PC y los mamíferos (DMT2) (Zang et al., 2017).

Estudios recientes han identificado al PC como un excelente sistema para el descubrimiento y caracterización de nuevas dianas terapéuticas para enfermedades metabólicas, incluyendo adiposidad visceral, esteatohepatitis no alcohólica, aterosclerosis y diabetes (Zang et al., 2017).

En el PC, la exposición a niveles altos de GLU estimula la expresión de insulina y regula negativamente la gluconeogénesis. Estudios previos han determinado que el PC responde de manera eficiente a los medicamentos antidiabéticos que reducen los niveles GLU en sangre; esto se debe a que el páncreas del PC consiste en dos tipos de tejidos endocrinos y exocrinos que son responsables de la regulación del metabolismo de la glucosa a través de la secreción de glucagón, somatostatina e insulina directamente al torrente sanguíneo.

Por lo anterior, el PC proporciona un modelo atractivo para estudiar las enfermedades humanas y se utiliza ampliamente para estudios de toxicología y desarrollo de fármacos debido a sus correlaciones anatómicas y genéticas con los humanos. El PC adulto absorbe fácilmente las moléculas del agua, debido a su capacidad para regular las concentraciones de solutos totales (Campoy et al., 2018).

2.3.3 PC como modelo experimental

La investigación biomédica básica es una necesidad en el campo de la salud, pues muchas sustancias y procedimientos son evaluados para garantizar el beneficio en los pacientes, en quienes finalmente serán empleados. El desarrollo de estas investigaciones empleando modelos animales tradicionales, pueden conllevar varias limitaciones. Esto debido a la alta inversión que demanda, especialmente en la infraestructura y el cuidado que los modelos animales empleados requieren, los cuales deben cumplir con normas bioéticas específicas, por lo que el contar con un modelo animal de bajo costo y alta versatilidad puede fomentar la investigación preclínica.

El PC es un modelo animal emergente con muchas cualidades que lo posicionan como una alternativa atractiva para realizar investigación biomédica básica: tiene alta fecundidad, posee un desarrollo rápido desde el estadio embrionario hasta adulto y el costo de la infraestructura, los insumos y los reactivos necesarios para su crianza y reproducción son bajos (Vargas, 2017).

Sin embargo, como con cualquier modelo, hay limitaciones para el uso de PC, en particular, el tratamiento farmacológico a menudo se realiza mediante la solubilización de los tratamientos en agua del medio en el tanque, pero muchas drogas son insolubles en agua (Geiger & Pothos, 2019).

2.4 Vías de administración de fármacos

La administración de fármacos puede definirse como un proceso/método de administración de formulaciones de compuestos químicos o bioquímicos para lograr un efecto terapéutico en humanos o animales. Estos pueden ser controlados y dirigidos usando tecnologías de ingeniería o sistemas de administración de fármacos (Ghosh et al., 2023).

Las principales vías de administración son: oral, parenteral, tópica (mucosas): bucal, sublingual, bucofaríngea, ocular, ótica, nasal, pulmonar, rectal, vaginal y tópica cutánea. La vía oral brinda ventajas ya que es fácil y de cómoda administración,

además de que permite la administración de dosis elevadas del principio activo. Pero por otra parte también presenta inconvenientes como son: el riesgo de alteración de principios activos por parte de las secreciones del tubo digestivo, problemas de sabor, olor, y problemas relacionados con la absorción de los principios activos (Vásquez et al., 2006).

2.4.1 Sistemas matriciales como vía de administración de fármacos

Los sistemas matriciales pueden ser considerados actualmente como una de las formas más fáciles y menos costosas de controlar la liberación de los principios activos. Estos sistemas retardan y regulan la liberación del principio activo, mediante un proceso que sigue las leyes de difusión (Costa et al., 2004).

Según sus características, se pueden distinguir tres tipos de matrices:

1. Matrices inertes, plásticas o insolubles.
2. Matrices hidrofílicas.
3. Matrices lipídicas

2.4.1.1 Matrices hidrofílicas

Estas son obtenidas por la compresión de una mezcla que contiene un principio activo relativamente soluble y un polímero no digerible que actúa como un agente gelificante. Este polímero se hidrata e hincha cuando entra en contacto con los líquidos digestivos. De esta manera hay formación de una capa gelificada, cuyo espesor aumentará con el tiempo. El fármaco se difunde progresivamente a través de esta capa gelificada. La liberación del principio activo puede describirse en cuatro pasos no consecutivos (Figura 4):

- a) La difusión del líquido del medio de disolución o del tracto gastro-intestinal en el comprimido junto con la disolución simultánea de una cantidad pequeña de fármaco que se encuentra en la superficie externa de la forma farmacéutica.
- b) Hinchamiento del polímero hidrófilo por adsorción de agua y formación de una barrera gelificada.

- c) Difusión de los líquidos circundantes en la profundidad de los comprimidos por difusión a través de la capa de gel y disolución del fármaco.
- d) Difusión del fármaco disuelto a través de la barrera gelificada.

Este tipo de matriz presenta las siguientes ventajas:

1. La liberación del fármaco es poco o no influenciada por las variaciones de las condiciones fisicoquímicas y fisiológicas en el tracto gastro-intestinal.
2. El proceso de manufactura es a menudo simple, barato y existen numerosos excipientes muy conocidos que pueden usarse por su buena tolerancia (Costa et al., 2004).

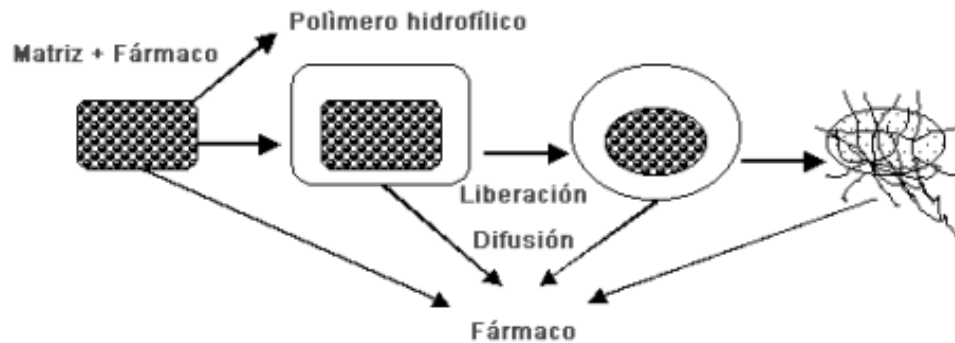


Figura 4. Representación esquemática del proceso de liberación desde una matriz hidrofílica (Costa et al., 2004).

2.5 Biopolímeros

Los polímeros biodegradables están hechos de almidón, celulosa, quitosano o proteína extraída de biomasa renovable. Se ha descrito que el uso de biopolímeros reduce el uso de combustibles fósiles, y residuos plásticos, así como las emisiones de dióxido de carbono (Marichelvam et al., 2019).

2.5.1 Biopolímeros como vía de administración de fármacos

Los vehículos de administración de fármacos preparados a partir de macromoléculas biocompatibles han llamado mucho la atención en los últimos años.

La PA, es un polisacárido que se encuentra ampliamente en las paredes celulares de las plantas terrestres, es también la principal fuente de fibra en la dieta humana. Las principales aplicaciones de la PA son como gelificante, espesante, estabilizador y emulsionante; la PA también proporciona una fuente importante de fibra dietética, que puede tener efectos terapéuticos. Además de su importancia en la industria alimentaria, la PA tiene usos potenciales en muchos otros campos, como la medicina, como portador de fármacos controlados o liberación bioactiva, por ejemplo, en formulaciones nasales, administración ocular y oral de fármacos y cicatrización de heridas (Lara-Espinoza et al., 2018). Además de la matriz polimérica principal, es necesaria la incorporación de algunos aditivos como agentes de entrecruzamiento y plastificantes (Sánchez Aldana et al., 2015).

En particular, los vehículos de reparto de principios activos a base de PA se han investigado con frecuencia por su biodegradación, su potencial prebiótico y la nula toxicidad que demuestran, con el objetivo de desarrollar un sistema confiable de liberación controlada *in vivo* (Guan et al., 2022).

2.5.2 Pectina

La PA es un heteropolímero lineal donde el componente principal de su estructura es el ácido D-galacturónico (Figura 5), este ácido se encuentra unido por enlaces $\alpha(1-4)$ glucosídico con algunos grupos carboxilo modificados con metanol (cerca del 75%), presenta cantidades variables de L-ramnosa, D-galactosa, L-arabinosa, y ocasionalmente trazas de otras unidades de azúcar. El peso molecular de PA comercial se encuentra en el orden de 100,000 Da. Comercialmente es obtenida a partir de cascaras de cítricos (limos, toronja, naranja, lima) provenientes de la industria alimentaria. La cascara fresca contiene del 2 al 4% de PA, mientras que seca se llega a obtener del 20-40% (Elizabeth, 2017).

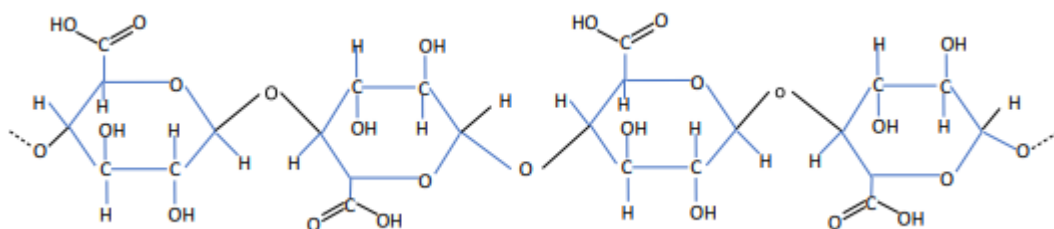


Figura 5. Estructura típica del polímero de PA (Sharma et al., 2021).

2.5.3 Plastificantes

Un plastificante es un material incorporado al material para mejorar su flexibilidad, trabajabilidad o distensibilidad, además disminuye la temperatura de transición vítrea (T_g) del polímero. Es capaz de proporcionar una mejor resistencia a la fractura, constante dieléctrica y flexibilidad incluso a bajas temperaturas de trabajo. El grado de plastificación depende de la formulación estructural, grupos funcionales y peso molecular del plastificante (Hassan et al., 2019).

El glicerol (GLI) (Figura 6.a) es el plastificante más utilizado en las formulaciones a base de polisacáridos y proteína. Aumenta la flexibilidad de los recubrimientos al aumentar el volumen libre o la movilidad molecular de los polímeros ya que reduce los enlaces de hidrogeno internos entre las cadenas de polímeros. Los polímeros afectan la capacidad de atracción de agua al sistema y generalmente suelen aumentar la permeabilidad al oxígeno en los recubrimientos comestibles. El GLI es un compuesto químico, también llamado glicerina. Es un líquido viscoso, sin olor ni color y ampliamente usado en la industria farmacéutica. El GLI posee tres grupos hidroxilos que son responsables de su solubilidad en agua y su naturaleza hidroscofia. (Elizabeth, 2017).

El ácido cítrico (AC) (Figura 6.b) es un agente de reticulación para películas de polisacáridos, con la ventaja de que el ácido cítrico es alimentariamente aceptable y también puede actuar como plastificante. El mecanismo de entrecruzamiento se atribuye a las fuerzas intermoleculares de los enlaces covalentes diéster entre el

grupo hidroxilo del polisacárido y los dos grupos carboxilo del reticulante (Azeredo et al., 2016).

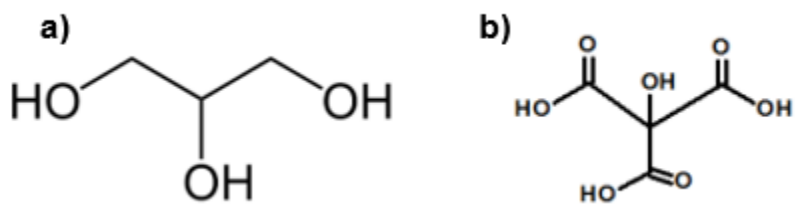


Figura 6. Estructura del GLI (a) y el AC (b)

3 JUSTIFICACIÓN

La DMT2 se caracteriza por niveles de glucosa elevados en sangre, debido a la resistencia o deficiencia de insulina, por lo que el organismo no lleva a cabo una función eficaz de dicha hormona; la cual transporta la GLU desde la sangre hacia las células del organismo para poder generar energía.

La forma de reducir la hiperglucemia es con ayuda de tratamientos farmacológicos, como lo es la glibenclamida sin embargo, en la actualidad se buscan nuevas alternativas terapéuticas de origen natural y de administración de bioactivos, que ayuden a reducir la sintomatología diabética, tal es el caso del AV, el cual en estudios previos realizados al AV se demostró que presenta MS capaces de disminuir los niveles de GLU y TGL en sangre *in vivo*.

En este sentido los polímeros naturales se han modificado para obtener nuevos biomateriales para la liberación controlada de fármacos. Los polisacáridos naturales se han investigado para su aplicación en la administración de fármacos, así como en los campos biomédicos.

La PA es un polisacárido natural que es fácil de adquirir y producir, en los últimos años ha tomado un auge en múltiples aplicaciones como bio-implantes, herbicidas, cosméticos, liberación de medicamentos, etc. Cabe mencionar que los BP's a base de PA presentan bajo costo, biodegradabilidad, solubilidad en agua y no presentan toxicidad.

Por lo que en el presente proyecto se desarrolló un BP de PA capaz de servir como vehículo de los principios activos presentes en el AV.

Para evaluar el efecto terapéutico del BP se usó al PC como modelo experimental. El PC comparte el 85% de los genes que codifican para diversas enfermedades humanas incluida la DMT2, lo cual lo ha convertido en un modelo alternativo para realizar ensayos farmacológicos enfocados a la evaluación de nuevos agentes terapéuticos.

4 HIPÓTESIS

El biopolímero a base de pectina que contiene el extracto de *Aloe vera* tendrá un efecto antidiabético en un modelo de pez cebra, reduciendo los niveles de glucosa y triglicéridos, así como la formación de productos finales de glicación avanzada.

5 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar y caracterizar un biopolímero a base de pectina, adicionado con un extracto de *Aloe vera* como vehículo de administración, auxiliar en el tratamiento de la diabetes mellitus, usando un modelo de pez cebra diabético.

5.1 Objetivos específicos

- Desarrollar una formulación con un biopolímero a base de pectina adicionado con extracto de *Aloe vera*.
- Caracterizar un biopolímero a base de pectina adicionado con extracto de *Aloe vera* mediante técnicas de solubilidad en agua, absorción de agua, cantidad de humedad, y espesor.
- Determinar la toxicología del biopolímero con base a pectina adicionado con extracto de *Aloe vera* en pez cebra.
- Evaluar la capacidad hipoglucemiante del biopolímero adicionado con un extracto polar de *Aloe vera*, mediante un modelo de pez cebra diabético.
- Evaluar la actividad reductora de los niveles triglicéridos en sangre usando un biopolímero adicionado con extracto polar de *Aloe vera*.

6 DESARROLLO EXPERIMENTAL

6.1. Obtención del extracto de *Aloe vera*

Se colectaron las plantas de AV, en el municipio de Armadillo de los Infantes, San Luis Potosí, estas fueron cortadas y secadas en una estufa de corriente de aire a 37°C, una vez seca la planta se molió y se le realizó una maceración fraccionada, con hexano, cloroformo y metanol; para concentrar los diferentes extractos se usó un Rotavapor (BUCHI R100).

6.1.1 Determinación de compuestos bioactivos por CG-MS

Condiciones de espectrometría de masas

Los parámetros de ionización fueron los siguientes: voltaje capilar 4000 V, voltaje de placa terminal -500 V; gas nebulizador de nitrógeno a 35.0 psi; gas de secado 10L/min de nitrógeno a 350 °C. Analizador de masas escaneadas de 15 a 1000 u. El espectro MS-MS se registró en modo automático GC-MS-MS. La amplitud de fragmentación se fijó en 1.0 V. El espectro de masas se adquirió simultáneamente usando ionización por electropulverización en modo de ionización negativa.(El Sayed et al., 2016).

6.2. Funcionalización del biopolímero adicionado con extracto de *Aloe vera*

Se calentaron en un vaso de precipitado 98 mL de agua desionizada a 90 °C, después se le agregaron 7 g de GLI agitando magnéticamente, una vez disuelto el glicerol se añadieron 3 g de PA poco a poco para evitar grumos, después de que se disolviera la PA se agregó 1 g de AC, dejando la agitación por 10 min más, finalmente se añadió el extracto de AV; se pesó la cantidad necesaria para obtener concentraciones de 90 µg AV/mg BAV, 60 µg AV/mg BAV y 30 µg AV/mg BAV, (BAV's) previamente se disolvió el extracto en agua desionizada, posteriormente se agito la solución y se vació el BP en un recipiente para dejarlo secar (Figura 7) (Oliva-Moreno & Encinas, 2021).

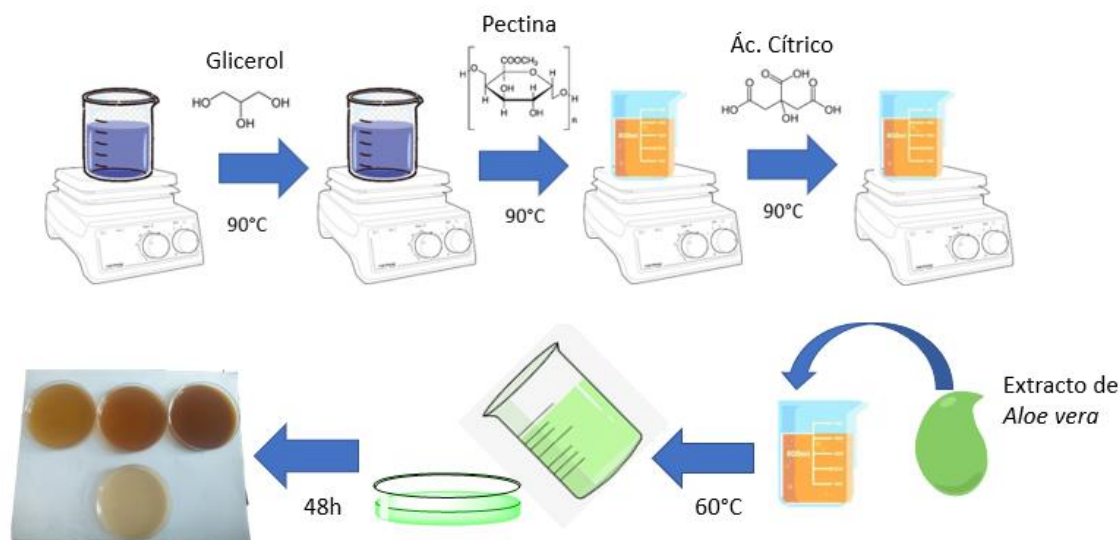


Figura 7. Funcionalización del BP adicionado con extracto de AV (BAV).

6.3. Caracterización fisicoquímica del biopolímero adicionado con extracto de *Aloe vera*

6.3.1 Espesor

La determinación del espesor del BP y BAV's adicionado y sin adicionar el extracto de AV, se llevó a cabo tomado 15 medidas en diferentes puntos del BP utilizando un calibrador digital Vernier. Se obtuvo un promedio de las mediciones, usando la ecuación 1 (Oluwasina et al., 2021).

$$(1) \quad \text{Espesor} = \frac{\text{suma de valores medidos}}{15}$$

6.3.2 Contenido de humedad

Se cortaron tres trozos de BP y BAV's de dimensión 2 cm por 2 cm, se pesaron en una balanza analítica siendo esta la masa inicial (W_1) después se secaron a 60 °C en una estufa de corriente de aire por 3 h, finalmente transcurrido el tiempo, se pesaron las películas, este peso se consideró la masa final (W_2) del proceso de secado y el porcentaje del contenido de humedad se calculó con ayuda de la ecuación 2 (Krishnamurthy & Amritkumar, 2019).

$$(2) \quad \%C = \frac{W_1 - W_2}{W_1} * 100$$

6.3.3 Absorción de agua

Se cortaron tres trozos de BP y BAV's de 2 cm por 2 cm se pesaron en una balanza analítica siendo esta la masa inicial (W_1) después se llevaron a secar a 60 °C en una estufa de corriente de aire por 3 h, transcurrido el tiempo, se sumergieron las películas en 20 mL de agua, se les retiró el excedente de agua, finalmente se pesaron las películas siendo esta la masa final (W_2). El porcentaje de absorción de agua se calculó con ayuda de la ecuación 3 (Krishnamurthy & Amritkumar, 2019).

$$(3) \quad \%A = \frac{W_2 - W_1}{W_1} * 100$$

6.3.4 Solubilidad en agua

Se cortaron tres trozos de BP y BAV's de 2 cm por 2 cm, se secaron a 60 °C durante 2 h y se pesaron siendo esta la masa inicial (W_0). Los BP secos se sumergieron en 20 mL de agua destilada en una caja petri por 30 min. Los residuos se secaron a 60 °C durante 2 h y luego se pesaron siendo esta la masa final (W_1), para calcular el porcentaje de solubilidad de las películas se usó la ecuación 4 (Krishnamurthy & Amritkumar, 2019).

$$(4) \quad \%S = \frac{W_0 - W_1}{W_0} * 100$$

6.3.5 Opacidad

Se cortaron porciones de BP y BAV's de 0.8 cm por 4 cm y se colocó directamente la película en una celda de espectrofotómetro y se midió la absorbancia a 600 nm utilizando un espectrofotómetro Cary Series UV-Vis-NIR (Spectrophotometer Agilent Technologies), se usó de referencia una celda vacía. El índice de opacidad (O) se calculó con ayuda de la ecuación 5. Siendo Abs_{600} la absorbancia de la película a 600nm y x el espesor de esta (Giménez et al., 2009).

$$(5) \quad O = \frac{Abs_{600}}{x}$$

6.3.6 Espectroscopía UV-Vis

Se analizaron las muestras del extracto de AV, el BP y los BAV's, utilizando un espectrofotómetro Cary Series UV-Vis-NIR (Spectrophotometer Agilent Technologies) cada muestra se disolvió en 20mL de agua destilada (Gansukh et al., 2018).

6.3.7 Espectroscopía FTIR-ATR

Se realizó espectroscopía FTIR en un Shimadzu IRTracer-100, de los BP, los BAV's y el extracto de AV, se usó un accesorio de Reflectancia Total Atenuada (ATR). Se cortaron muestras de BP de dimensiones de 2 cm por 2 cm, para el extracto de AV fue colocado directamente en el equipo sin ningún tratamiento previo (Oliva-Moreno & Encinas, 2021).

6.4 Ensayos *in vivo*

6.4.1 Aclimatación del pez cebra

Se aclimataron PC adultos de 3-5 cm de longitud de ambos sexos durante 10 días. Luego se alojaron en grupos de 17 peces en tanques de 6 L ($28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$), con filtración y aireación de agua ($7,19\text{ mgO}_2/\text{L}$). Los peces fueron mantenidos en un ciclo de fotoperiodo de 14 h de luz /10 h de oscuridad y se alimentaron tres veces al día con pellets comerciales. Este estudio se llevó a cabo de acuerdo con las recomendaciones de la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio del Institutos Nacionales de Salud (OECD, 2019). El protocolo numero 11 fue revisado y aprobado por el Comité de Ética Institucional del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica.

6.4.2 Prueba toxicológica de los de los biopolímeros funcionalizados con extracto de *Aloe vera* y el biopolímero

Para determinar la toxicidad (Figura 8), se formaron cinco lotes de 10 peces, cuatro de los lotes se sometieron a la prueba de toxicidad semi-estática. Durante cuatro días, se les administro el BP en concentraciones de 540 mg AV/3g BAV/L, 360 mg AV/3g BAV/L, 180 mg AV/3g BAV/L y 3 gBP/L por un periodo de 24, 48, 72 y 96 h, evaluando constantemente signos de estrés, como nado errático, agresividad, movimiento de branquias, y mortalidad. Al quinto lote de peces no se le suministro BP y este se usó como control negativo (CM). Durante esta prueba los peces no fueron alimentados (OECD, 2019).

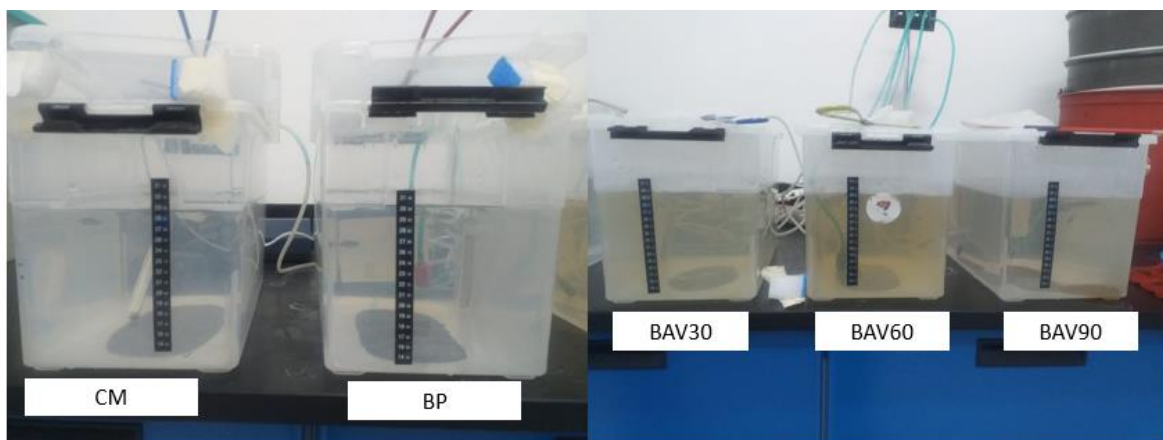


Figura 8. Prueba toxicológica de los BAV's y BP usando PC.

6.4.3 Inducción diabética a pez cebra

Se colocaron siete grupos de 11 peces adultos en peceras de 6 L que contenían una solución de glucosa 111 mM, las soluciones de glucosa se intercambiaron cuatro veces por semana para evitar la contaminación por microorganismos. Se mantuvo un monitoreo para detectar signos de estrés, incluido el movimiento excesivo de las branquias y la dificultad para nadar (Figura 9). Los animales del grupo control se mantuvieron en medio sin glucosa (Campoy et al., 2018).

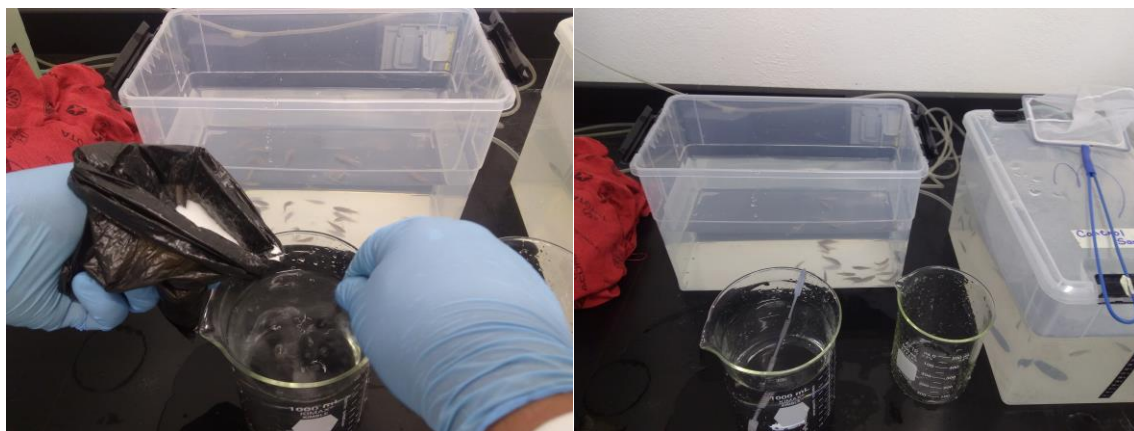


Figura 9. Preparación y adición al medio de una solución de GLU a los lotes con PC..

6.4.4 Tratamiento antidiabético con biopolímeros adicionados con extracto de *Aloe vera*

Diseño experimental (Figura 10)

- Grupo 1. Control sano (CS): peces sanos con agua de medio.
- Grupo 2. Control diabético (CD): peces diabéticos.
- Grupo 3. Control farmacológico (CF): peces diabéticos tratados con glibenclamida (5mg/L).
- Grupo 4. BAV30: peces diabéticos tratados con BAV a una concentración de 30mg/L del extracto de AV.
- Grupo 5. BAV60: peces diabéticos tratados con BAV a una concentración de 60mg/L del extracto de AV.
- Grupo 6. BAV90: peces diabéticos tratados con BAV a una concentración de 90mg/L del extracto de AV.
- Grupo 7. AV60: peces diabéticos tratados con BAV a una concentración de 60mg/L de extracto de AV sin BP.

Los diferentes tratamientos se administraran durante 15 días a la misma hora, de forma alternada (Campoy et al., 2018).

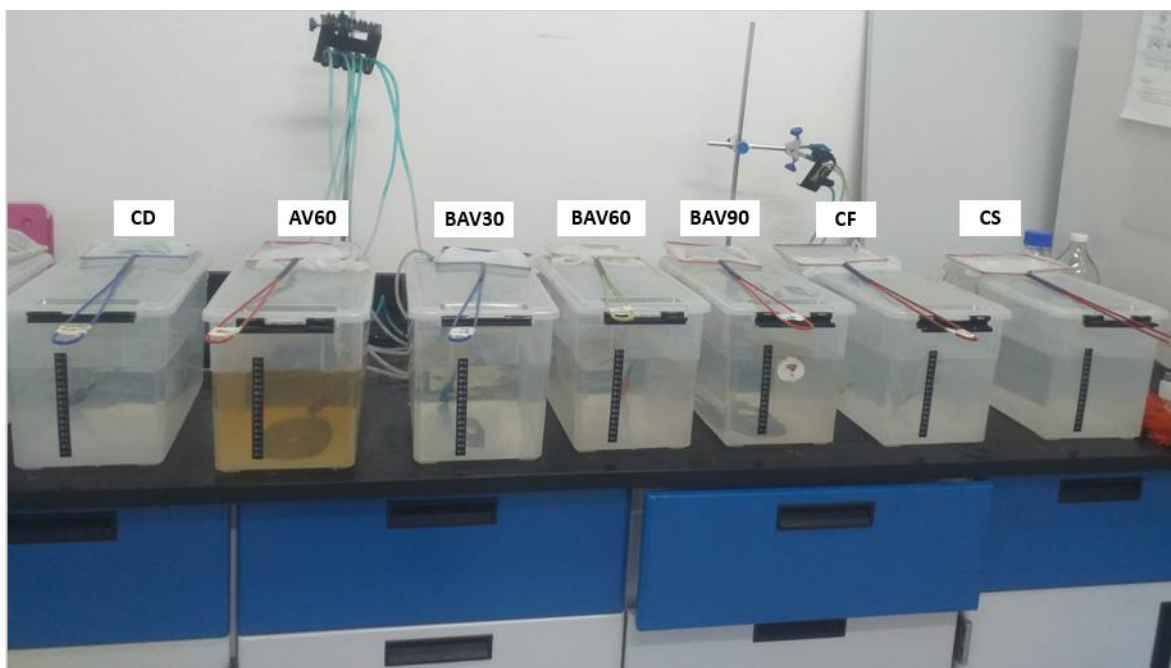


Figura 10. Diseño experimental del tratamiento antidiabético.

6.4.5 Evaluación de niveles de glucosa y triglicéridos

Transcurridos los 15 días de tratamiento se procedió a sacrificar a los peces de todos los lotes. Para ello los peces se anestesiaron (Figura 11); poniendo los PC de cada grupo en agua a 4 °C. Una vez que el pez se encontró anestesiado se procedió a realizar un corte en la parte superior de la cola para así obtener una muestra de sangre, la cual se colocó en tiras reactivas para medir glucosa y triglicéridos, para ello se utilizó un glucómetro (Accu-Chek) y un medidor colesterol y triglicéridos (Accutrend Plus) respectivamente (Campoy et al., 2018). Los análisis se realizaron por triplicado y para el análisis estadístico se usó ANOVA de una vía con una significancia $p < 0.5$.

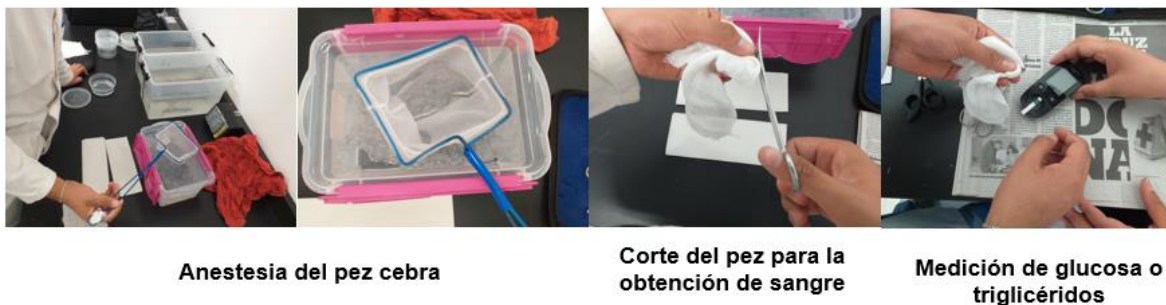


Figura 11. Anestesia y evaluación de niveles de GLU y TGL en el PC.

6.4.6 Evaluación inhibitoria de los productos finales de glicación avanzada

La actividad inhibitoria de AGE's se evaluó en los ojos de los peces cebra de cada uno de los lotes. Una vez que se realizaron las mediciones de GLU y TGL, los ojos fueron obtenidos y colectados en tubos eppendorf, y se les añadieron 2 mL de una solución buffer de fosfatos. Posteriormente se molieron en un mortero y se centrifugaron a 9000 rpm durante 15 min. Se tomó una alícuota de la fase liquida, y se colocó en una placa de 96 pozos. Las muestras se leyeron en un fluorómetro (excitación:360nm y emisión:460nm) (Perez Gutierrez & Velazquez, 2020).

7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Compuestos bioactivos del extracto de *Aloe vera*

En la figura 12, se muestra el cromatograma realizado al extracto de *Aloe vera*, en el cual se enumeran del 1 al 6 las señales correspondientes a metabolitos secundarios de interés para este proyecto como lo son: el **(1)** gliceraldehído, el cual se ha reportado que tiene propiedad inhibitoria de AGE's (Kitahara et al., 2008), la **(2)** L-glutamina la cual ha mostrado efecto antioxidante y antiinflamatorio (Glass, 2017), el **(3)** ácido n-hexadecanoico presenta propiedades antioxidantes, y hipocolesterolémicas (Mazumder et al., 2020), el **(4)** L-(+)-Ácido ascórbico 2,6-dihexadecanoato tiene un efecto hipercolesterolémico (Kumar & Sati, 2021), el **(5)** estearato de metilo, regula el metabolismo de los lípidos, además de presentar actividad antioxidante (Mazumder et al., 2020), y el **(6)** (Z)-9-Octadecenamida ha mostrado efecto hipolipidémico (Cheng et al., 2010). Las estructuras de estos compuestos se muestran en la Figura 13 y en la Tabla 6 se muestra el tiempo de retención de los metabolitos encontrados, así como su contenido relativo.

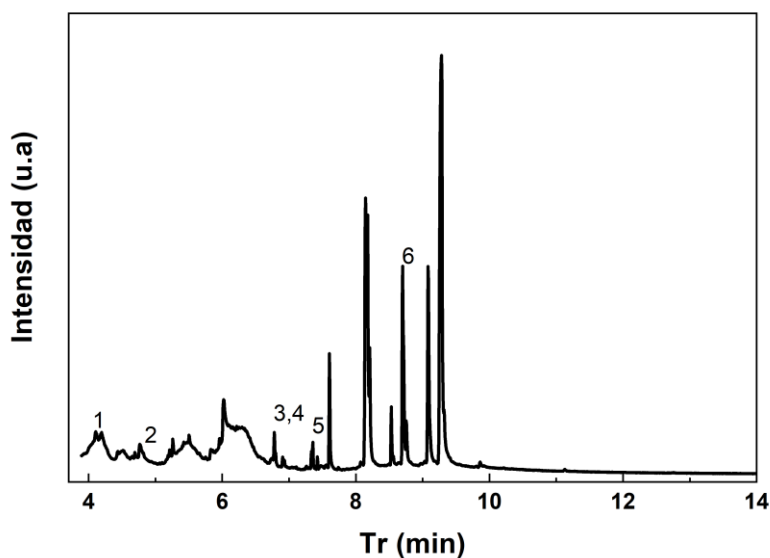


Figura 12. Cromatograma del extracto de AV por CG-MS-CG.

Tabla 6. Identificación de compuestos bioactivos presentes en el extracto de *Aloe vera* por CG-MS-CG.

No	Nombre de compuesto	Tiempo de retención (min)	Contenido relativo (%)	Área
1	Gliceraldehído	4.078	15	758997
2	L-Glutamina	4.768	33	3993915
3	ácido n-hexadecanoico	6.905	36	462904
4	L-(+)-Ácido ascórbico 2,6-dihexadecanoato	6.905	36	462904
5	Estearato de metilo	7.424	44	1133867
6	(Z)-9-Octadecenamida	8.701	57	4165581

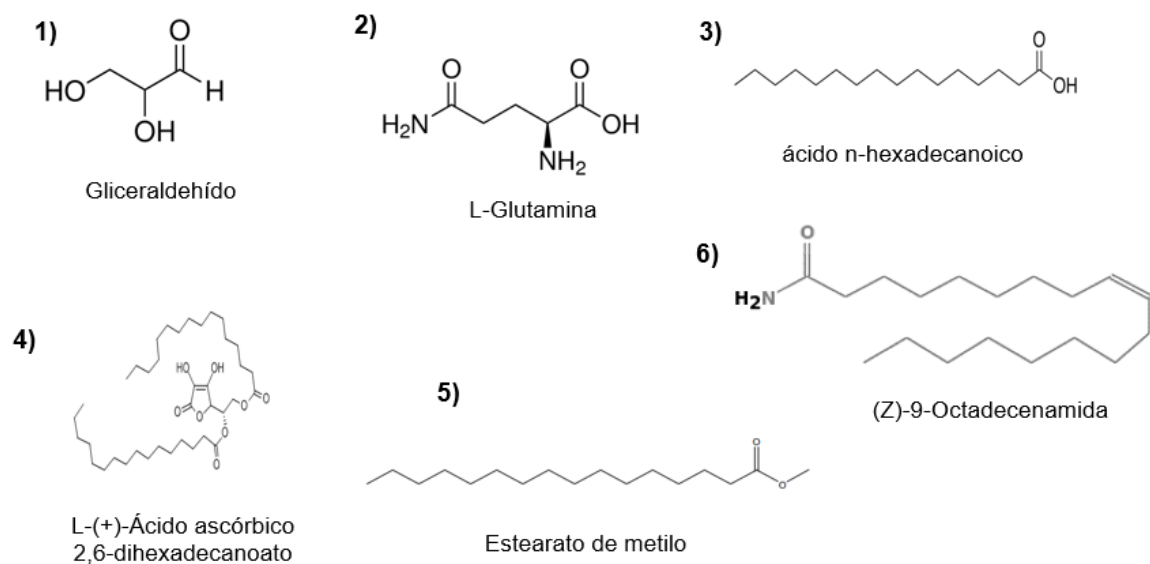
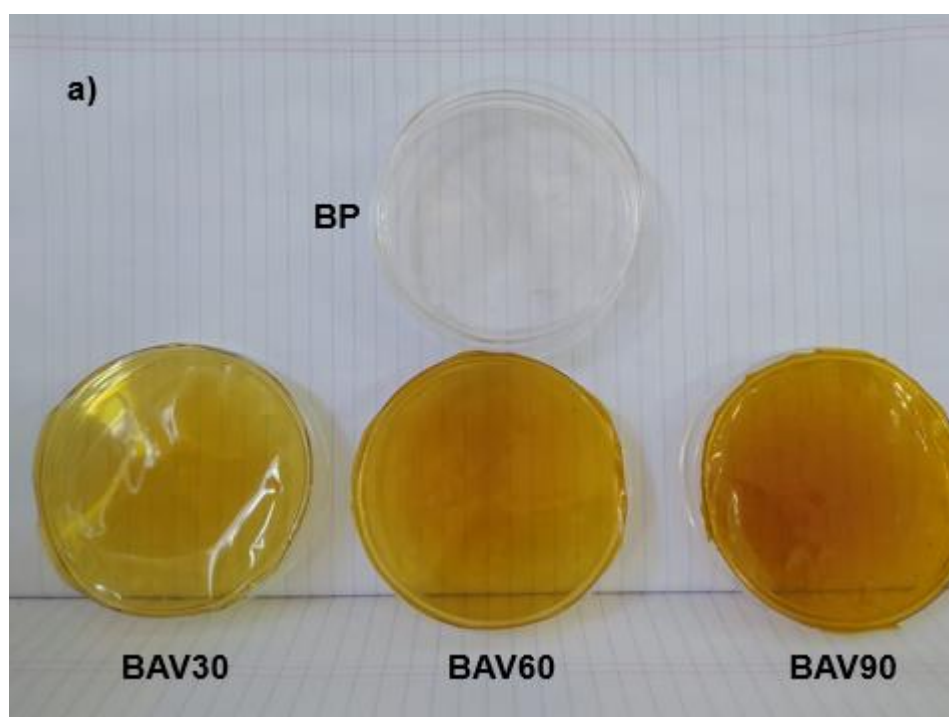


Figura 13. Estructuras químicas de los metabolitos secundarios encontrados en el extracto de AV.

7.2 Formulación del biopolímero y de los biopolímeros adicionados con extracto de *Aloe vera*

En la Figura 14.a se muestran los BAV, a diferentes concentraciones BAV30, BAV60, BAV90 y el BP, los BAV que contienen el extracto de AV, se lograron homogenizar a las diferentes concentraciones del extracto.

La solución formadora de la matriz del BP de PA se estructura durante la evaporación del agua que contiene plastificantes y el extracto de AV. Como el agua se evapora de la solución del BP, las cadenas de PA se agregan y los compuestos plastificantes y el extracto de AV ocupan espacios vacíos entre las cadenas del polímero (Figura 14.b) (Nastasi et al., 2022). En este punto la PA habrá reaccionado con el AC y el GLI, los remanentes de GLI y agua funcionarían como plastificantes lo cual brinda a la matriz de flexibilidad y resistencia.



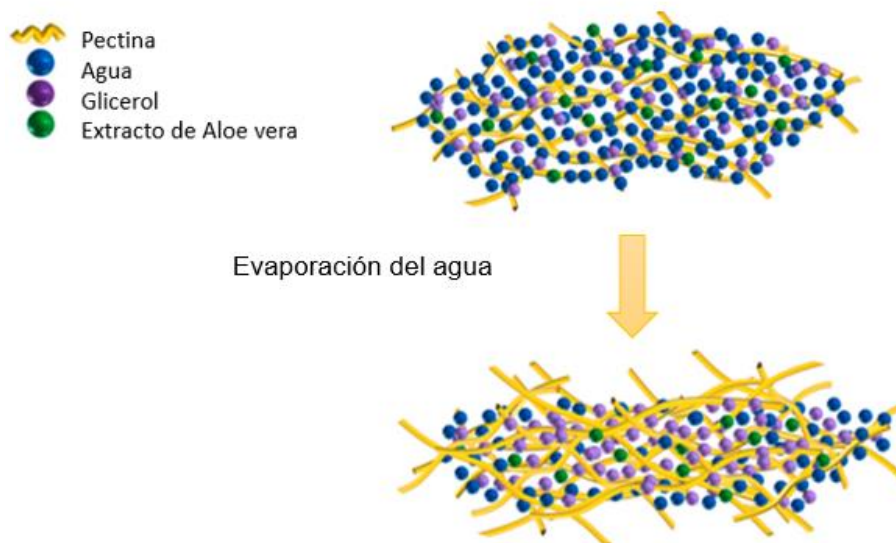


Figura 14. a) BAV's y BP y b) diagrama de la formación del BAV.

En la Figura 15 se muestran las diferentes interacciones y formación de enlaces que puede tener el GLI con la PA, la Figura 15.a muestra la interacción de los puentes de hidrógeno del glicerol con el oxígeno del grupo carbonilo de la PA, La Figura 15.b muestra la esterificación del grupo carboxilo de la PA con el hidroxilo del GLI y en la Figura 15.c se observa la esterificación de dos grupos hidroxilo del GLI con dos grupos carboxilo de cadenas vecinas de PA (Lipatova & Yusova, 2021).

En la Figura 16 se muestra un ejemplo de la formación de grupos éster entre un BP (almidón) y el AC, la formación de los grupos éster por la reacción de los ácidos carboxílicos del AC y los grupos hidroxilo de la PA dan como resultado un entrecruzamiento del biopolímero, además de aumentar la hidrofobicidad de este mismo, pero no es significativa ya que las interacciones de los grupos hidroxilo y carboxilo hacen que mantenga su hidrofilicidad (Vityazev et al., 2020).

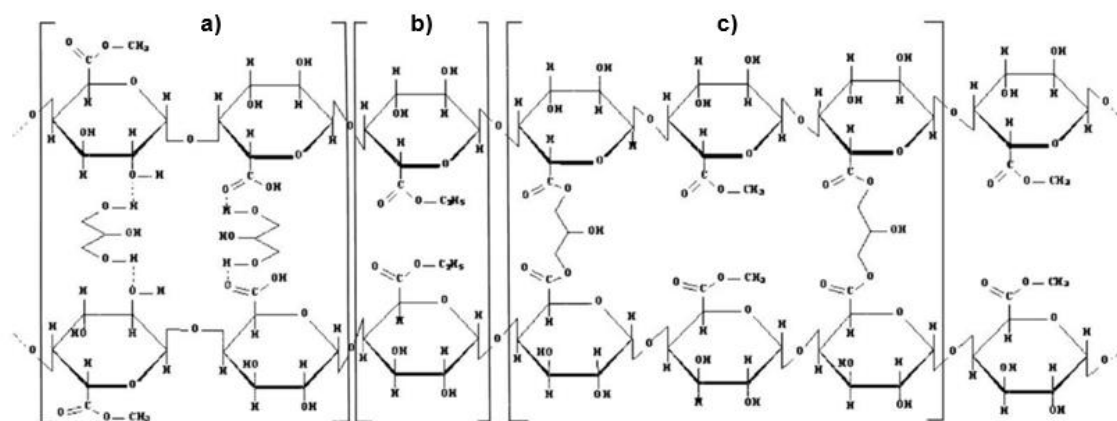


Figura 15. a) Interacción del GLI y PA, b y c) esterificación de los grupos hidroxilo del GLI y carboxilo de la PA.

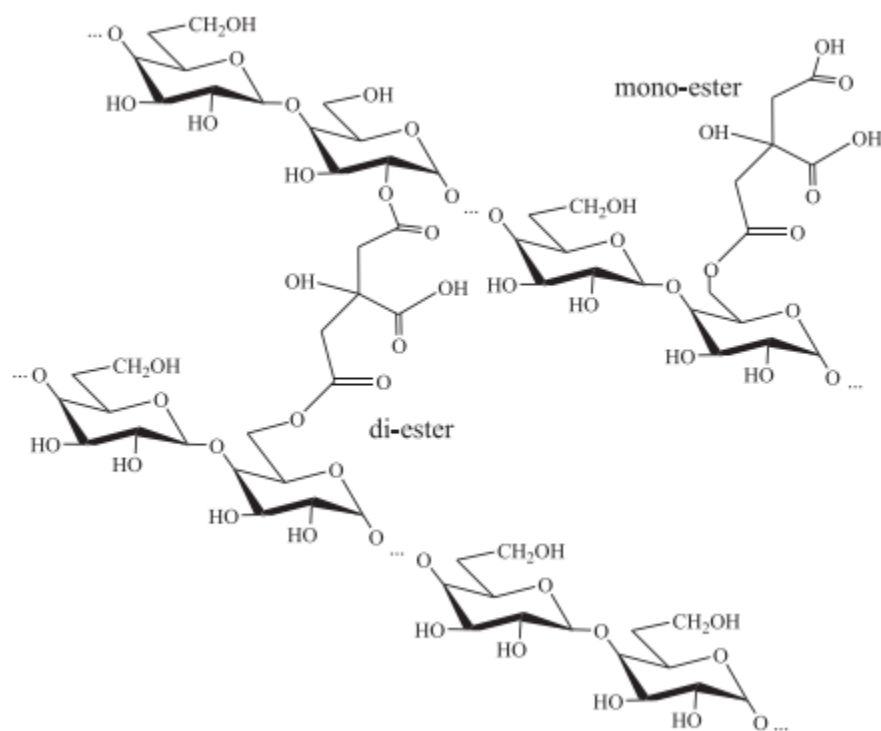


Figura 16. Esquema de la esterificación del almidón con el AC.

7.3 Caracterización fisicoquímica del biopolímero y los biopolímeros adicionados con extracto de *Aloe vera*

7.3.1 Espesor y opacidad

Los espesores de las películas a las diferentes concentraciones se muestran en la Tabla 7, donde se observa que la variación de los espesores de las diferentes concentraciones de las películas no se muestra significativa. El proceso de polimerización se estandarizó para la obtención de BP de 0.2 mm de espesor. Se ha observado que a concentraciones usadas de AV en los BAV's, el espesor de las películas no se ve modificado, es por ello que el extracto de AV se puede distribuir por todo el BP sin modificar el espesor (Mohd Nizam et al., 2021).

Tabla 7. Espesor y opacidad de las películas BAV's y BP.

Película	Espesor (mm)	Opacidad (u.a. /mm)
BAV90	0.19 ± 0.03	1.18 ± 0.04
BAV60	0.18 ± 0.03	0.95 ± 0.05
BAV30	0.19 ± 0.04	0.82 ± 0.08
BP	0.19 ± 0.02	0.64 ± 0.06

La opacidad de las películas se determinó obteniendo el valor de la absorbancia a 600 nm, donde se observa que la opacidad se incrementa con el aumento de la concentración del extracto de AV de la siguiente manera BP<BAV30<BAV60<BAV90, en la Tabla 7 se observa la relación de la opacidad en función de la concentración que aumenta conforme se eleva la concentración del extracto, esto nos sugiere que al aumentar la cantidad de extracto de AV en la matriz, esta se comienza a volver más opaca, esto por la distribución del extracto en la matriz. Cabe señalar que el espesor se usó para la determinación de la opacidad de los BAV's y BP.

La opacidad es una de las propiedades de barrera de luz que debe ser cuidadosamente evaluada cuando se trata de películas activas, se espera que la presencia de compuestos fenólicos provoque una mayor opacidad de los BAV, relacionado con una mayor absorción de la radiación UV-Vis debido a los enlaces insaturados en sus estructuras (C=C, C=O y O=C-N). Así, las películas pueden

actuar como barrera al paso de la luz, reduciendo o retrasando los procesos oxidativos inducidos por la luz (Dias et al., 2022).

7.3.2 Contenido de humedad, absorción de agua y solubilidad

El contenido de humedad en los BAV y BP, se presenta en la Figura 17, donde apreciamos un comportamiento similar entre los BAV. El BP muestra un mayor contenido de humedad, esto se debe a las interacciones de los puentes de hidrogeno entre el agua y el plastificante. El aumento del contenido de humedad en los BAV's se debe al aumento de las interacciones entre las moléculas polares del extracto con el agua (Sánchez Aldana et al., 2015).

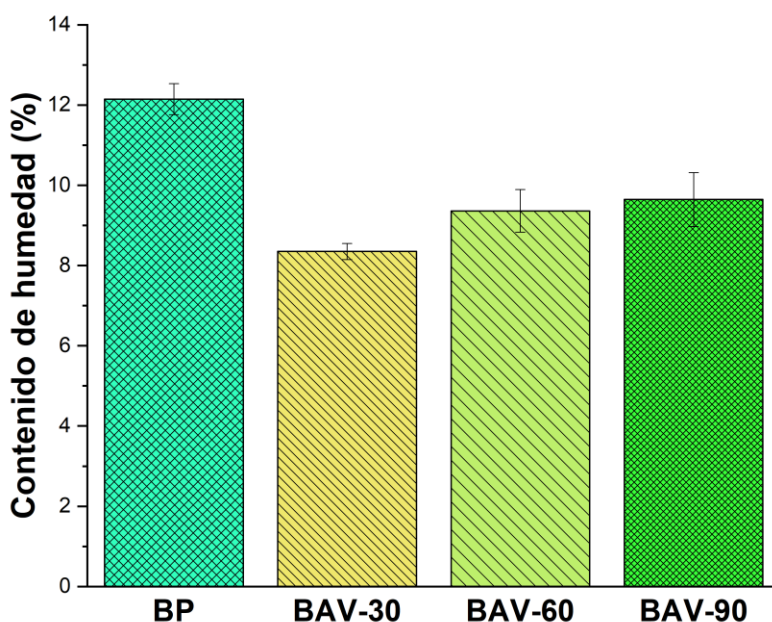


Figura 17. Gráfica de contenido de humedad de los BAV's y BP.

En la Figura 18, se muestra la absorción de agua de los BAV's, la cual se debe a un proceso de hinchamiento de la matriz polimérica del BP. Estos datos nos indican que tanta agua absorbe la matriz antes de comenzar a disolverse en el medio acuoso. La absorción de agua tiene un comportamiento igual al del contenido de humedad ya que estos espacios que fueron una vez desocupados por el agua se

vuelven a retomar en cierto grado. En la Figura 18 se puede los porcentajes de absorción de agua de los BAV's y BP no muestran una variabilidad significativa. El contenido de humedad es un parámetro importante cuando se trata de productos cuyo destino es de consumo humano, ya que concentraciones de humedad por arriba de un 50 % favorecen el crecimiento de hongos, bacterias y levaduras, además que la matriz está hecha a base de PA un polisacárido que funciona como alimento para estos microorganismos (Cazón et al., 2017).

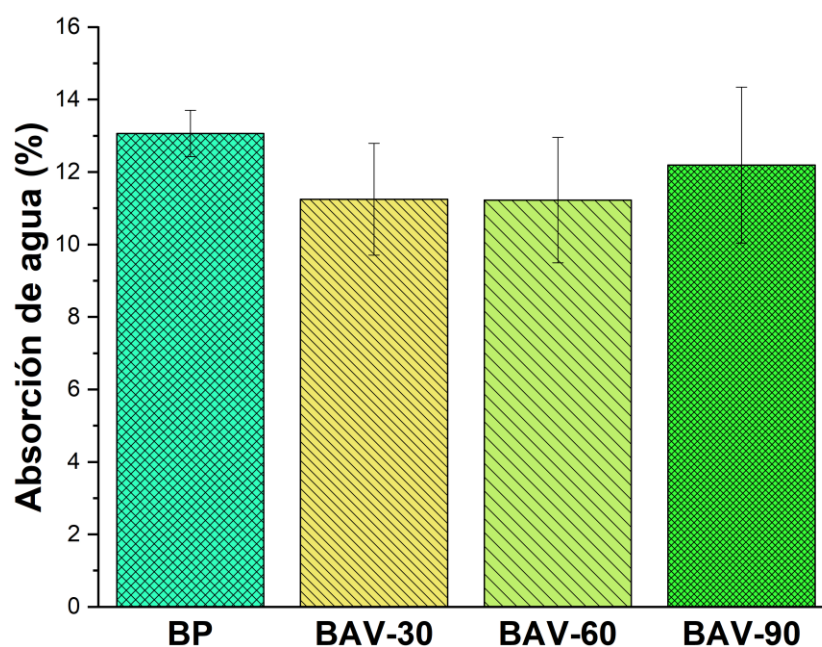


Figura 18. Gráfica de absorción de agua de los BVA y BP.

La prueba de solubilidad en agua (Figura 19) se utiliza para determinar la hidrofilia o hidrofobicidad de las muestras, es un parámetro crítico, y es necesario caracterizar la solubilidad de muestras antes de que puedan ser utilizadas.

En la Figura 19 se observa que la solubilidad de las películas aumenta conforme disminuye la concentración del extracto, esto podría deberse a que se forma una fuerte interacción entre el enlace de hidrógeno entre los grupos hidroxilo del polisacárido y la molécula de glicerol, que reduce la cantidad de agua en la molécula

y la hace más sensible. Por lo tanto, un alto contenido de AV en la película reaccionará más vigorosamente con el glicerol, lo que hará que se vuelva insoluble en agua, aumentando la resistencia del agua para penetrar la película y disminuyendo su solubilidad (Mohd Nizam et al., 2021)

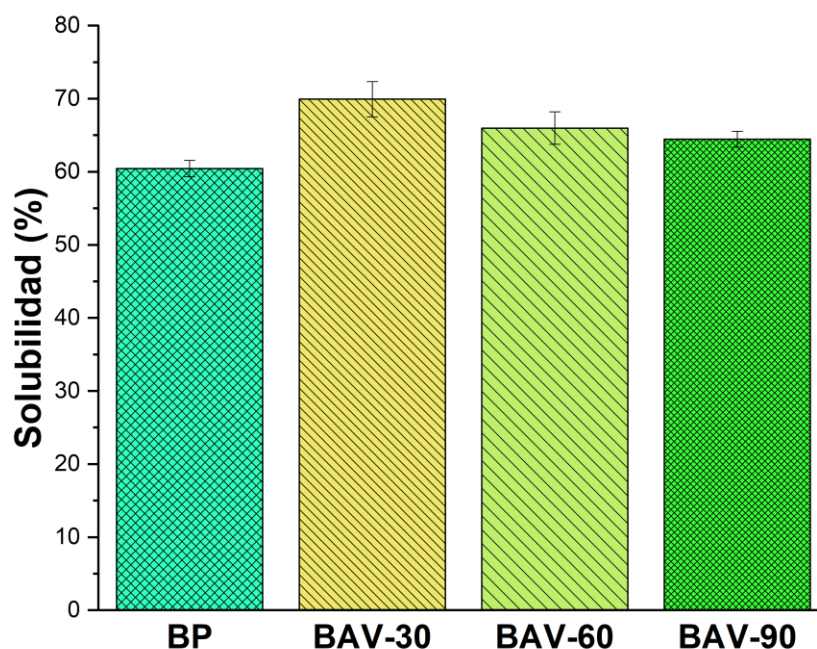


Figura 19. Gráfica de solubilidad de los de los BAV y BP.

7.3.3 Espectroscopia UV-Vis del extracto de *Aloe vera*, el biopolímero y el biopolímero adicionado con extracto de *Aloe vera* en medio acuoso

Se realizó un barrido de 200 a 800 nm para obtener los picos máximos de absorbancia para los BVA, BP y el extracto de AV. En la Figura 20 se muestran los espectros de UV-Vis del BP disuelto en agua sin extracto de AV en el cual se muestra un pico máximo a la longitud de onda de 290 nm. También se muestran los espectros del extracto de AV disuelto en agua, que tiene un pico máximo en 298 nm y el BAV disuelto en agua que muestra un máximo en el rango de 290-298 nm

(Gansukh et al., 2018). Los picos de absorción se muestran a 298 nm que se asocia a compuestos orgánicos como polifenoles y carbohidratos, mientras que los picos a 253 nm y 269 nm son indicativos de la presencia de antraquinonas (De Matteis et al., 2023).

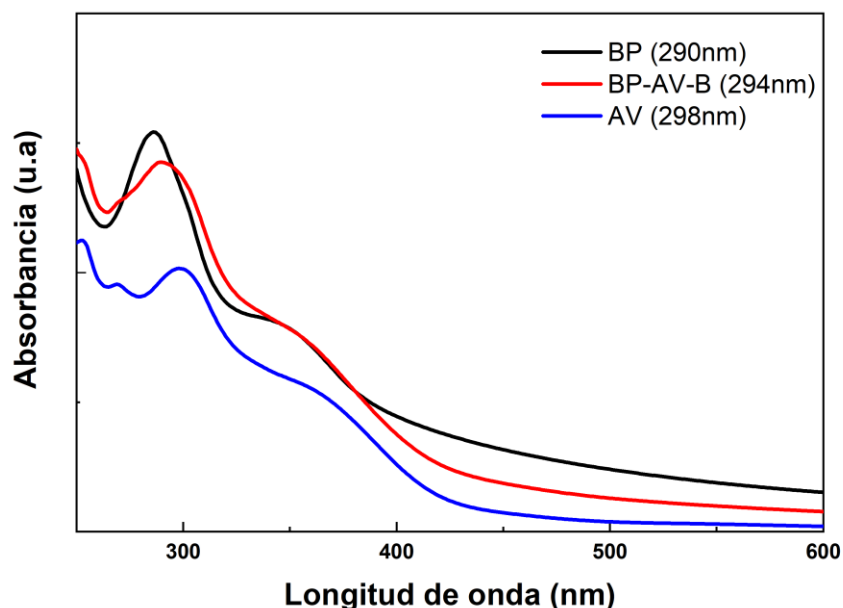


Figura 20. Espectros de absorción del UV-Vis del extracto de AV, el BP y BAV.

7.3.4 Identificación de grupos funcionales por FTIR-ATR

Las películas mostraron una banda alrededor de 3298cm^{-1} (Figura 21) atribuido a los grupos hidroxilo presentes en la PA, el AC y el GLI; así como al agua absorbida. Las señales en 2940cm^{-1} y 2872cm^{-1} se puede asociar con los grupos CH_2 de la PA. Además, las bandas en la región de 1716cm^{-1} corresponden a los grupos carboxilo metilados y no metilados de la PA. Finalmente, los picos pronunciados a 1026cm^{-1} se atribuyen a los enlaces glucosídicos $-\text{C}-\text{O}-\text{C}$ (Oliva-Moreno & Encinas, 2021). El GLI también tiene picos características de absorción en el área del espectro 800cm^{-1} – 1150cm^{-1} , de las vibraciones C-C y el enlace C-O (Mukherjee et al., 2023).

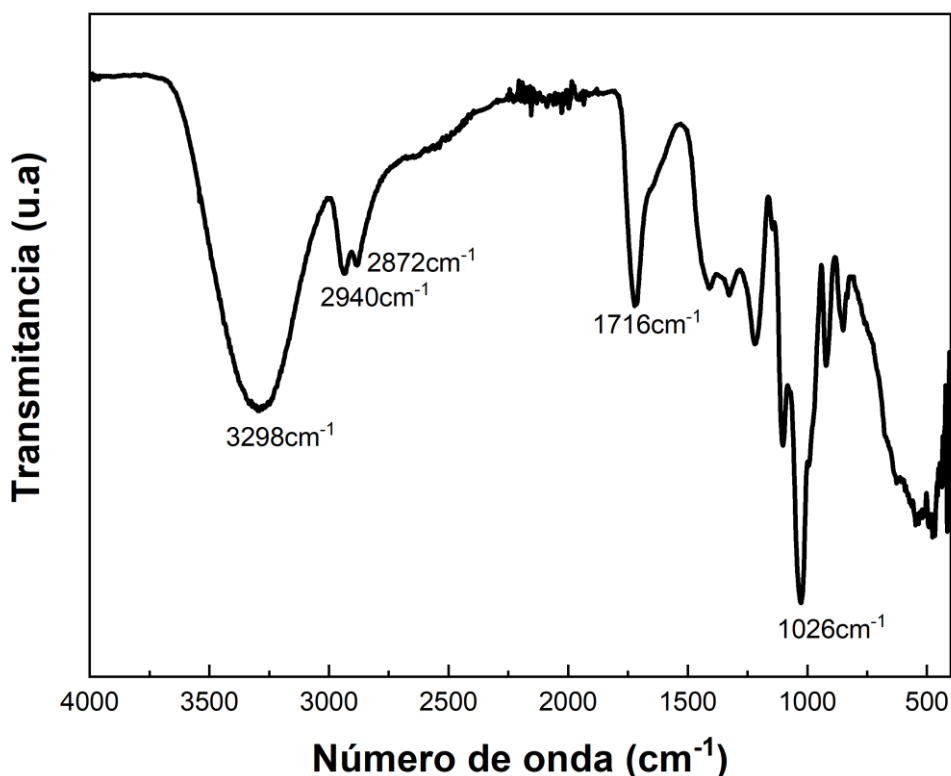


Figura 21. Espectro FTIR-ATR del BP.

Los grupos funcionales presentes en el AV (Figura 22) fueron determinados por FTIR-ATR. La señal mostró una banda amplia entre 3000 y 3600 cm^{-1} (3305cm^{-1}), asociada a vibraciones O-H de grupos fenólicos. La banda en 1607cm^{-1} se atribuye al estiramiento C-O y las bandas en la región entre 1150 y 848 cm^{-1} se asignan a C-O-C y vibraciones de estiramiento relacionadas con polisacáridos y azúcares presentes en el AV (Zarandona et al., 2021). La banda de absorción en 2923cm^{-1} se debe al estiramiento asimétrico C-H en CH_2 , la banda en 1607cm^{-1} representa el grupo carbonilo C=O (Roberto et al., 2023). Las bandas de poca intensidad en el rango de 2800 cm^{-1} – 3000 cm^{-1} están relacionadas con las vibraciones del estiramiento simétrico (2923 cm^{-1}) y asimétrica (2868 cm^{-1}) del grupo metileno (CH_2), la banda de 1375cm^{-1} se atribuye al grupo funcional C-OOH. (Mukherjee et al., 2023).

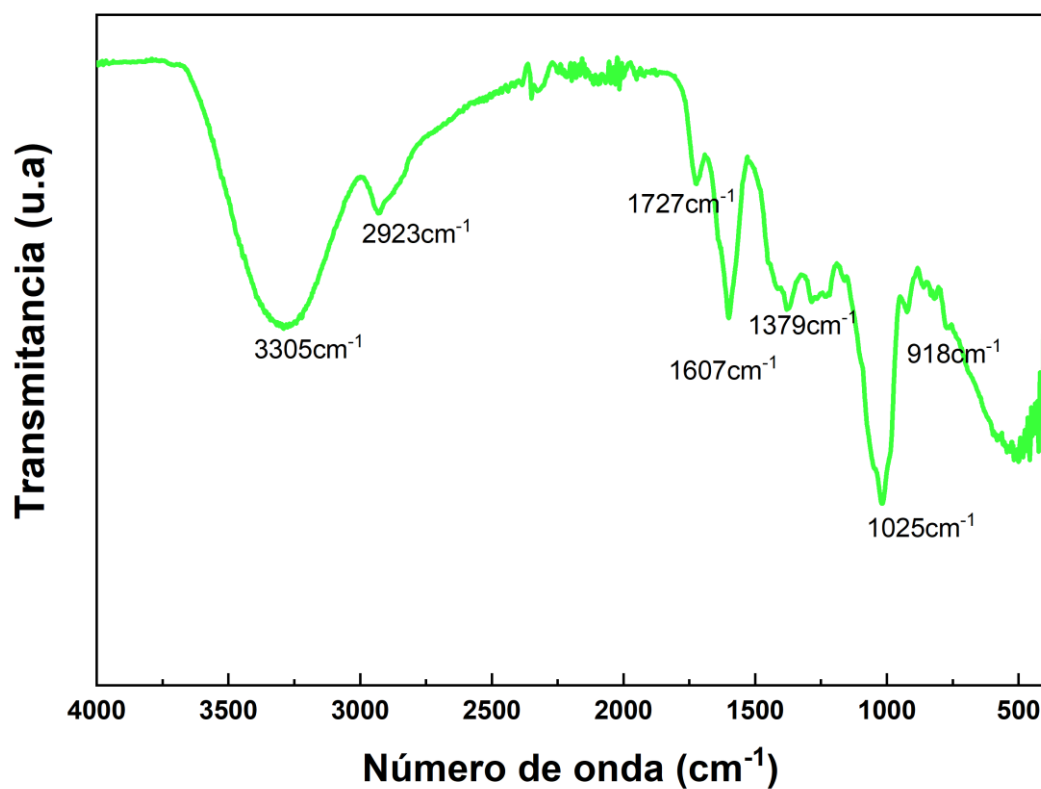


Figura 22. Espectro FTIR-ATR del extracto de *Ale vera* (AV).

Los tres picos en 2099.93 cm⁻¹ y 1728.84, 1106.66 cm⁻¹ corresponden a C=O, C=C, CH₂ y CH₃ mostrando la vibración de estiramiento de aldehído, anillo aromático, flavonoides, ácido carboxílicos, glucósidos de saponina, fenoles y aminoácidos (Akbari et al., 2021).

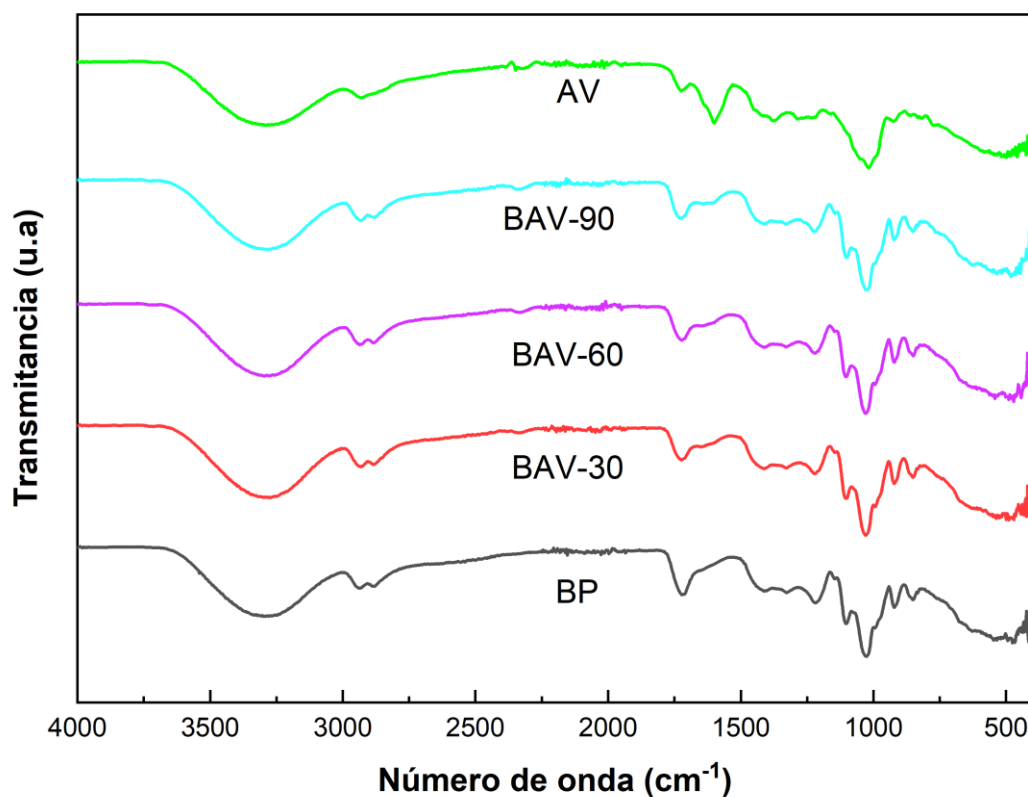


Figura 23. Espectro FTIR de extracto AV, BAV's y BP.

El espectro FTIR del de los BAV's, BP y extracto de AV se presentan en Figura 23. La adición de las diferentes concentraciones de AV en los BP mostró dos bandas en 1609cm^{-1} y otra en 2337cm^{-1} lo que indica que se formaron nuevas interacciones químicas entre AV y el BP (Roberto et al., 2023). Con ello se confirma las interacciones que se observaron en el UV-Vis en el cual se ve modificado el espectro de absorbancia.

7.4 Ensayos *in vivo*

7.4.1 Aclimatación del pez cebra

Durante el período de aclimatación se registraron las muertes, en la cual se obtuvo menos del 5% de mortalidad, con lo cual se aceptó el lote para la realización de los

experimentos. Los peces no mostraron signos visibles de enfermedad o estrés además no presentaron una malformación aparente.

7.4.2 Prueba toxicológica del biopolímero adicionado con extracto de *Aloe vera*

Durante la prueba toxicológica se llevó un registro de las muertes en los lotes de prueba (Tabla 8). Además, se llevó un registro de los signos de estrés de los peces, como cambio de color del pez, agresividad, el tipo de nado, etc. La prueba toxicológica determinó que el biopolímero no es tóxico a las concentraciones evaluadas.

Tabla 8. Registro de las muertes en la prueba toxicológica del PC.

Lote	Mortalidad				Mortalidad acumulada
	24h	48h	72h	96h	
Agua de medio	0	0	0	0	0
BP	0	0	0	0	0
BAV30	0	0	0	0	0
BAV60	0	0	0	0	0
BAV90	0	0	0	0	0

7.4.3 Evaluación de niveles de glucosa

Los niveles de GLU se muestran en la Figura 24 donde se observó que al administrar el extracto de AV sin ningún tipo de vehículo a una concentración de 60 mg/L se redujeron los niveles de glucosa en sangre a 51.33 mg/dL. En cuanto a la concentración de BAV30, se observó una menor reducción de los niveles de glucosa en comparación con la concentración de BAV60 (58.8 mg/dL y 49 mg/dL respectivamente). Esto quiere decir que las reducción de los niveles de glucosa en sangre depende de la concentración del extracto en la matriz del BP (Yagi et al., 2009).

El control diabético (CD) mostro una concentración de 75.5 mg/dL de glucosa en sangre. En cuanto a la concentración más alta de extracto de AV, se obtuvieron niveles elevados de GLU. Estos niveles altos de glucosa se pudieron deber a un estrés generalizado por el proceso de las evaluaciones de glucosa y triglicéridos. Se ha observado que en momentos de estrés el organismo libera más glucosa, con lo cual esto se pudo ver reflejado en los resultados de los niveles de glucosa en sangre del PC, o también pudo deberse a que los receptores farmacológicos se encontraban saturados, sin embargo, se necesitan realizar más pruebas para determinar esta suposición. En el caso del control farmacológico este mostro niveles de glucosa en sangre de 68.66 mg/dL, siendo más efectivo en la reducción de glucosa el BAV60.

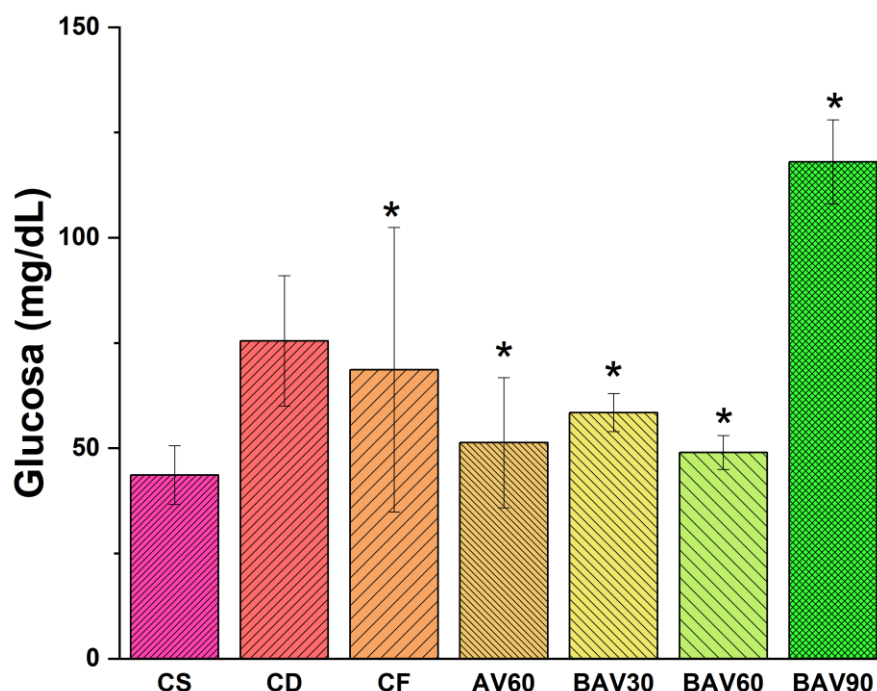


Figura 24. Gráfica del efecto de los BAV's en los niveles de GLU en sangre del PC.

Abreviaturas: control sano (CS), control diabético (CD), control farmacológico (CF), extracto de *Aloe vera* (AV60) y tres concentraciones de AV en BP, BAV30, BAV60 y BAV90.

* Se realizó un análisis estadístico con ANOVA de una vía con una significancia de $p < 0.5$ comparado con el control diabético (CD).

7.4.4 Evaluación de niveles de triglicéridos

Los niveles de TGL en sangre se observan en la Figura 25, donde notamos que los niveles de triglicéridos disminuyeron al administrar las diferentes concentraciones de los BAV's y el extracto sin la matriz. Para el AV60 se obtuvo una concentración de 105 mg/dL, el BAV30; 127 mg/dL, el BAV60; 149 mg/dL y el BAV90; 160.33 mg/dL de triglicéridos en sangre. Los metabolitos secundarios con efecto hipolipídico, encontrados en el extracto de AV como lo son el (Z)-9-Octadecenamida y el estearato de metilo, son aquellos que les podemos atribuir su efecto en la reducción en los niveles de TGL. Se observó un ligero aumento en la concentración de los triglicéridos, en las diferentes concentraciones de los BAV. Esto indica que al aumentar la concentración del extracto y teniendo como matriz del BP, aumentan los niveles de TGL en sangre. Sin embargo, se necesitaría tener un blanco donde se administre el BP sin extracto para poder entender si es que este, realmente está elevando los niveles de TGL, y en ese caso determinar si las interacciones entre el BP y el extracto son las causantes o es propio del modelo experimental que se vean afectados los niveles de TGL (Yagi et al., 2009).

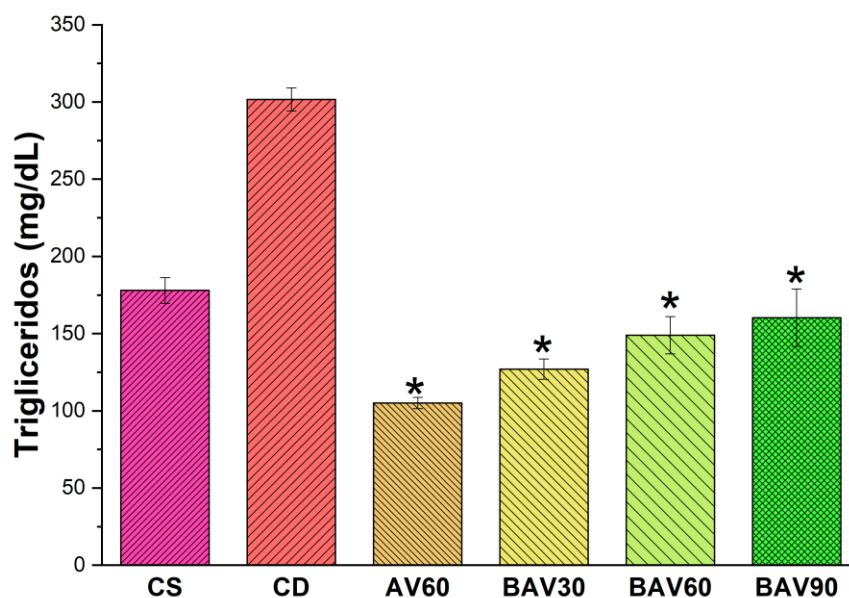


Figura 25. Gráfica del efecto de los BAV's en los niveles de TGL en sangre del PC.

Abreviaturas: control sano (CS), control diabético (CD), extracto de *Aloe vera* (AV60) y tres concentraciones de AV en BP, BAV30, BAV60 y BAV90.

* Se realizó un análisis estadístico con una ANOVA de una vía con una significancia de $p < 0.5$ para el análisis de los datos comparado con el control diabético (CD).

Yagi y colaboradores reportaron la actividad antidiabética del AV, ellos observaron una reducción en los niveles de GLU y TGL además del colesterol en sangre de personas diabéticas, después de darles un tratamiento de AV. Respecto a los niveles de glucosa en sangre observaron una disminución del 32 %, respecto a TGL observaron una reducción del 35 %, respecto al control diabético (Yagi et al., 2009).(Elkomy et al., 2023).

7.4.5 Evaluación inhibitoria de los productos finales de glicación avanzada

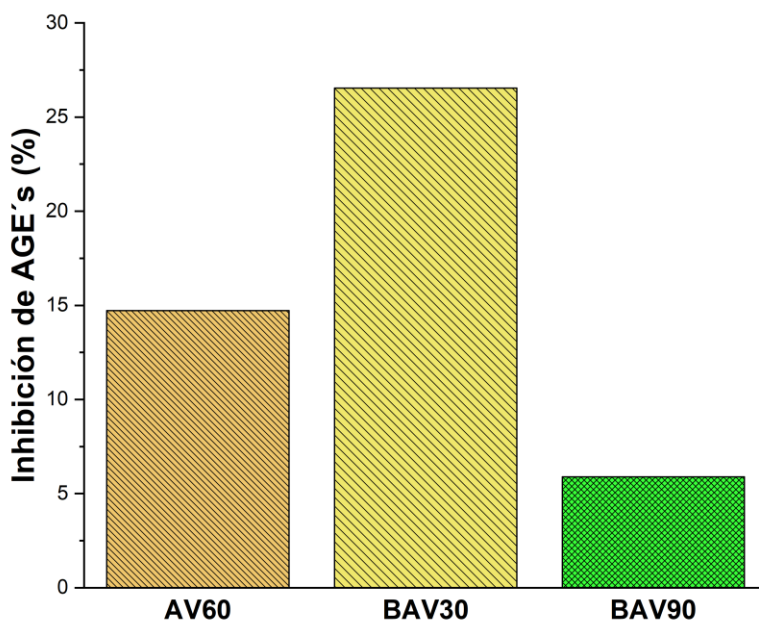


Figura 26. Gráfica del efecto de los BAV's, en la inhibición de AGE's en los ojos de los PC.

En la Figura 26 se observa el efecto inhibitorio que tiene el AV en la glicación no enzimática de proteínas. El BAV30 mostro una actividad inhibitoria del 26.53 % en comparación con AV60 el cual mostro una inhibición del 14.71 % y el BAV60 no mostro actividad inhibitoria. Esta evaluación se realizó como una prueba preliminar de la posible actividad inhibitoria que puede llegar a tener el extracto de AV.

El efecto inhibitorio de los AGE's puede atribuirse a los metabolitos secundarios encontrados en el extracto de AV, como el L-glutamina, n-hexadecanoico y el estearato de metilo, los cuales al tener un efecto antioxidante pudieron reducir la formación de productos finales de glicación avanzada, ya que se ha reportado que la actividad antioxidante disminuye la formación de estos compuestos.

8 CONCLUSIONES

1. Se elaboro un biopolímero a base de pectina el cual fue utilizado como vehículo de administración del extracto de *Aloe vera* para evaluar su efecto antidiabético.
2. Se realizó una caracterización fisicoquímica del biopolímero, incluyendo medidas de espesor, opacidad, contenido de humedad, absorción de agua y solubilidad.
3. Los biopolímeros funcionalizados con extracto de *Aloe vera* redujeron los niveles de glucosa y triglicéridos, y disminuyeron la formación de productos finales de glicación avanzada en peces cebras diabéticos.
4. Se identificaron seis metabolitos secundarios en el extracto de *Aloe vera*, los cuales se ha reportado que tienen actividad hipoglucemiante, antiglicación y antioxidante.
5. Los resultados obtenidos respaldan el potencial del extracto de *Aloe vera* como coadyuvante en el tratamiento de la diabetes mellitus utilizando el biopolímero de pectina como vehículo de administración.

9 PERSPECTIVAS

- Se deben realizar estudios en función de las concentraciones del extracto de *Aloe vera* y del biopolímero, para una vía de administración oral y no solo que se disuelva en el medio.
- Otro punto interesante es el de realizar pruebas mecánicas a los biopolímeros con extracto y sin él, además de realizar pruebas en los medios gástrico e intestinal, esto para observar un comportamiento más cercano de administración oral de los biopolímeros adicionados con extracto de *Aloe vera*.
- Realizar pruebas antimicrobianas, además de poder ser utilizado como un cicatrizante.
- Realizar un aislamiento y caracterización de los metabolitos responsables de las actividades evaluadas.
- Realizar investigaciones adicionales para comprender los mecanismos de acción involucrados.

10 BIBLIOGRAFÍA

- Abo-Youssef, A. M. H., & Messiha, B. A. S. (2013). Beneficial effects of Aloe vera in treatment of diabetes: Comparative in vivo and in vitro studies. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 51(1), 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.bfopcu.2012.03.002>
- Akbari, S., Abdurahman, N. H., Yunus, R. M., Alsaggaf, A. H. A., & Ahmed, N. (2021). LC-QTOF-MS analysis of phenolics and saponins extracted from Aloe vera leaves via microwave technology in optimal condition. *South African Journal of Botany*, 139, 362–373. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.02.027>
- Alcántara, V., & Pérez, A. (2016). Tratamiento de la diabetes mellitus (I). *Medicine (Spain)*, 12(18), 1001–1012. <https://doi.org/10.1016/j.med.2016.09.010>
- Ángel M., B. de las H. (2006). Aloe vera. *Farmacia, Espacio de Salud*, 20, 20–23.
- Armengol, M. (2017). *PC como modelo de investigación biomedica*. June 2017, 14. https://www.researchgate.net/publication/322245677_Pez_cebra_como_modelo_en_investigacion_biomedica
- Azeredo, H. M. C., Morrugares-Carmona, R., Wellner, N., Cross, K., Bajka, B., & Waldron, K. W. (2016). Development of pectin films with pomegranate juice and citric acid. *Food Chemistry*, 198, 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.117>
- Babu, S. N., Govindarajan, S., & Noor, A. (2021). Aloe vera and its two bioactive constituents in alleviation of diabetes –proteomic & mechanistic insights. *Journal of Ethnopharmacology*, 280(May), 114445. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114445>
- Bendjedid, S., Lekmine, S., Tadjine, A., Djelloul, R., & Bensouici, C. (2021). Analysis of phytochemical constituents, antibacterial, antioxidant, photoprotective activities and cytotoxic effect of leaves extracts and fractions of Aloe vera. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 33(April). <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.101991>
- Brahmachari, G. (2019). Aloe vera: A promising hope against Buruli ulcer. In *Discovery and Development of Therapeutics from Natural Products Against Neglected Tropical Diseases*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815723-7.00010-9>
- Cai, Y., Wang, J., Xiao, S., Zhu, J., Yu, J., Li, L., & Liu, Y. (2023). The interaction study of soluble pectin fiber and surimi protein network from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) based on a new prediction model. *Food Chemistry*, 403(May 2022), 134429. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134429>
- Campoy, A. H. G., Gutierrez, R. M. P., Manriquez-Alvirde, G., & Ramirez, A. M. (2018). Protection of silver nanoparticles using Eysenhardtia polystachya in

- peroxide-induced pancreatic β -cell damage and their antidiabetic properties in zebrafish. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 2601–2612. <https://doi.org/10.2147/IJN.S163714>
- Cazón, P., Velazquez, G., Ramírez, J. A., & Vázquez, M. (2017). Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review. *Food Hydrocolloids*, 68, 136–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.09.009>
- Chavda, V., Patel, S., Alghamdi, B. S., & Ashraf, G. M. (2021). Endothelin-1 induced global ischaemia in adult zebrafish: A model with novel entity of stroke research. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 118(September), 102025. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2021.102025>
- Cheng, M. C., Ker, Y. B., Yu, T. H., Lin, L. I. Y., Peng, R. Y., & Peng, C. H. (2010). Chemical synthesis of 9(Z)-octadecenamide and its hypolipidemic effect: A bioactive agent found in the essential oil of mountain celery seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(3), 1502–1508. <https://doi.org/10.1021/jf903573g>
- Costa, E., Arancibia, A., & Aïache, J. M. (2004). Sistemas matriciales. *Acta Farmaceutica Bonaerense*, 23(2), 259–265.
- De Matteis, V., Cascione, M., Costa, D., Martano, S., Manno, D., Cannavale, A., Mazzotta, S., Paladini, F., Martino, M., & Rinaldi, R. (2023). Aloe Vera Silver Nanoparticles addition in Chitosan Films: Improvement of Physicochemical Properties for Eco-friendly Food Packaging Material. *Journal of Materials Research and Technology*, 24, 1015–1033. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2023.03.025>
- Dias, L. D., Bertolo, M. R. V., Alves, F., de Faria, C. M. G., Rodrigues, M. Á. V., Lopes, L. K. B. C., de Guzzi Plepis, A. M., Mattoso, L. H. C., Junior, S. B., & Bagnato, V. S. (2022). Preparation and characterization of curcumin and pomegranate peel extract chitosan/gelatin-based Films and their photoinactivation of bacteria. *Materials Today Communications*, 31(January), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2022.103791>
- Díaz-Casasola, L., D. L.-P. (2016). Investigación Comité editorial. *Medicina e Investigación*, 4, 52–57.
- Domínguez-Fernández, R., Arzate-Vázquez, I., Chanona-Pérez, J., Welte-Chanes, J., Alvarado-González, J., Garibay-Febles, V., & Gutiérrez-López, G. (2012). El gel de aloe vera: Estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia en la industria farmacéutica y alimentaria. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 11(1), 23–43.
- Egan, A. M., & Dinneen, F. S. (2018). What is diabetes ? Key points. *Medicine*, 47(1), 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2022.07.001>
- El Sayed, A. M., Ezzat, S. M., El Naggat, M. M., & El Hawary, S. S. (2016). In vivo diabetic wound healing effect and HPLC–DAD–ESI–MS/MS profiling of the methanol extracts of eight Aloe species. *Revista Brasileira de Farmacognosia*,

- 26(3), 352–362. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.01.009>
- Elizabeth, O.-S. (2017). *Elaboración y caracterización de películas de mucílago de nopal*. [http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/67766/Tesis Eli %283%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/67766/Tesis_Eli%283%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Elkomy, N. M. I. M., El-Shaibany, A., Elnagar, G. M., Abdelkhalek, A. S., Al-Mahbashi, H., Elaasser, M. M., Raweh, S. M., Aldiyarbi, M. A., & Raslan, A. E. (2023). Evaluation of acute oral toxicity, anti-diabetic and antioxidant effects of Aloe vera flowers extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 309(December 2022), 116310. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116310>
- Gansukh, E., Gopal, J., Paul, D., Muthu, M., Kim, D. H., Oh, J. W., & Chun, S. (2018). Ultrasound mediated accelerated Anti-influenza activity of Aloe vera. *Scientific Reports*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35935-x>
- Geiger, B. M., & Pothos, E. N. (2019). Translating Animal Models of Obesity and Diabetes to the Clinic. In *Handbook of Behavioral Neuroscience* (1st ed., Vol. 29). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803161-2.00001-1>
- Ghosh, S., Teredesai, S. V., & Gayathri, M. (2023). Administration of phytochemical nanoformulations (main routes of drug delivery). In *Phytochemical Nanodelivery Systems as Potential Biopharmaceuticals*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-90390-5.00007-4>
- Giménez, B., Gómez-Estaca, J., Alemán, A., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, M. P. (2009). Physico-chemical and film forming properties of giant squid (*Dosidicus gigas*) gelatin. *Food Hydrocolloids*, 23(3), 585–592. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2008.07.003>
- Glass, G. E. (2017). Health and disease. *Comprehensive Remote Sensing*, 1–9, 268–279. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.10433-6>
- Guan, S., Hua, X., Wang, Z., Yuan, Y., & Yang, R. (2022). Performance of ultrahigh methoxylated pectin as the delivery material in the simulated in vitro digestion. *Food Hydrocolloids*, 134(August 2022), 108086. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108086>
- Gupta, T., & Mullins, M. C. (2010). Dissection of organs from the adult zebrafish. *Journal of Visualized Experiments*, 37, 3–7. <https://doi.org/10.3791/1717>
- Haque, E., & Ward, A. C. (2018). Zebrafish as a model to evaluate nanoparticle toxicity. *Nanomaterials*, 8(7), 1–18. <https://doi.org/10.3390/nano8070561>
- Hassan, A. A., Abbas, A., Rasheed, T., Bilal, M., Iqbal, H. M. N., & Wang, S. (2019). Development, influencing parameters and interactions of bioplasticizers: An environmentally friendlier alternative to petro industry-based sources. *Science of the Total Environment*, 682, 394–404. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.140>
- Imery, J., & Ozols, W. (2018). Biological and therapeutic attributes of Aloe vera. *Universidad Del Oriente*, 29(June), 267–281.

- INEGI. (2021). Estadísticas a propósito del día mundial de la Diabetes (14 de noviembre). Datos nacionales. *Comunicado de Prensa. No. 645/21, 645/21*, 1–5. <https://www.paho.org/es/campanas/dia-mundial-diabetes-2020>
- Kim, D. H., Han, S. I., Go, B., Oh, U. H., Kim, C. S., Jung, Y. H., Lee, J., & Kim, J. H. (2019). 2-Methoxy-4-vinylphenol attenuates migration of human pancreatic cancer cells via blockade of FAK and AKT signaling. *Anticancer Research*, 39(12), 6685–6691. <https://doi.org/10.21873/anticancer.13883>
- Kitahara, Y., Takeuchi, M., Miura, K., Mine, T., Matsui, T., & Yamagishi, S. (2008). Glyceraldehyde-derived advanced glycation end products (AGEs). A novel biomarker of postprandial hyperglycaemia in diabetic rats. *Clinical and Experimental Medicine*, 8(3), 175–177. <https://doi.org/10.1007/s10238-008-0176-9>
- Krishnamurthy, A., & Amritkumar, P. (2019). Synthesis and characterization of eco-friendly bioplastic from low-cost plant resources. *SN Applied Sciences*, 1(11), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1460-x>
- Kumar, P., & Sati, S. C. (2021). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of Himalayan *Fraxinus micrantha* Lingelsh leaf extract. *Natural Product Research*, 35(20), 3519–3523. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1710706>
- Lara-Espinoza, C., Carvajal-Millán, E., Balandrán-Quintana, R., López-Franco, Y., & Rascón-Chu, A. (2018). Pectin and pectin-based composite materials: Beyond food texture. *Molecules*, 23(4). <https://doi.org/10.3390/molecules23040942>
- Lipatova, I. M., & Yusova, A. A. (2021). Effect of mechanical activation on starch crosslinking with citric acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 185(March), 688–695. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.139>
- Lui, M. M. S., & Ip, M. S. M. (2023). Chapter 37 - Diabetes mellitus. In *Atlas of Clinical Sleep Medicine* (Third Edit, Issue Dm). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-65403-6.00046-9>
- Marichelvam, M. K., Jawaid, M., & Asim, M. (2019). Corn and rice starch-based bioplastics as alternative packaging materials. *Fibers*, 7(4), 1–14. <https://doi.org/10.3390/fib7040032>
- Martínez-burgos, W. J., Lima, J., Marsigliaf, R. M., & Montoya, P. (2022). *South African Journal of Botany Aloe vera : From ancient knowledge to the patent and innovation landscape À A review Zulma Sarmiento-V a. 147.* <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.02.034>
- Mazumder, K., Nabila, A., Aktar, A., & Farahnaky, A. (2020). Bioactive variability and in vitro and in vivo antioxidant activity of unprocessed and processed flour of nine cultivars of Australian lupin species: A comprehensive substantiation. *Antioxidants*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/antiox9040282>

- Mellinas, C., Ramos, M., Jiménez, A., & Garrigós, M. C. (2020). Recent trends in the use of pectin from agro-waste residues as a natural-based biopolymer for food packaging applications. *Materials*, 13(3). <https://doi.org/10.3390/ma13030673>
- Minjares-Fuentes, R., & Femenia, A. (2018). Aloe vera. In *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812491-8.00020-5>
- Mohd Nizam, N. H., Mohammad Rawi, N. F., Mhd Ramle, S. F., Abd Aziz, A., Abdullah, C. K., Rashedi, A., & Mohamad Kassim, M. H. (2021). Physical, thermal, mechanical, antimicrobial and physicochemical properties of starch based film containing aloe vera: a review. *Journal of Materials Research and Technology*, 15, 1572–1589. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.08.138>
- Mukherjee, S., Nath, R. K., Chandra, P. C., Samanta, S., & Muralidhar, M. (2023). Fabrication of Aloe vera nanopowder by high energy ball mill process. *Materials Today: Proceedings*, 80, 1579–1584. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2023.01.393>
- Muñiz-Ramirez, A., Perez, R. M., Garcia, E., & Garcia, F. E. (2020). Antidiabetic Activity of Aloe vera Leaves. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/6371201>
- Naivy Pérez-Alonso, E. J. (2009). La Biotecnología vegetal. *Treballs de La Societat Catalana de Biologia*, 11(4), 79-86–86.
- Nastasi, J. R., Kontogiorgos, V., Daygon, V. D., & Fitzgerald, M. A. (2022). Pectin-based films and coatings with plant extracts as natural preservatives: A systematic review. *Trends in Food Science and Technology*, 120(September 2021), 193–211. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.014>
- OECD. (2019). *Test Guideline No. 203: Fish, Acute Toxicity Test*. 203, 24. <https://doi.org/https://doi.org/https://doi.org/10.1787/9789264069961-en>
- Oliva-Moreno, E. E., & Encinas, A. (2021). Addition of Pine Rosin to Pectin bioplastic films for improved water resistance. *Materials Letters*, 290, 129488. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2021.129488>
- Oluwasina, O. O., Akinyele, B. P., Olusegun, S. J., Oluwasina, O. O., & Mohallem, N. D. S. (2021). Evaluation of the effects of additives on the properties of starch-based bioplastic film. *SN Applied Sciences*, 3(4), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s42452-021-04433-7>
- Pasini Cabello, S. D., Takara, E. A., Marchese, J., & Ochoa, N. A. (2015). Influence of plasticizers in pectin films: Microstructural changes. *Materials Chemistry and Physics*, 162, 491–497. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2015.06.019>
- Perez Gutierrez, R. M., & Velazquez, E. G. (2020). Glucopyranoside flavonoids isolated from leaves of *Spinacia oleracea* (spinach) inhibit the formation of advanced glycation end products (AGEs) and aldose reductase activity (RLAR). *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 128(May), 110299.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110299>

Pérez, L. (2020). *No Title*.

Ponce-palomera, K. O., Guerrero-galván, S. R., Munguía-casillas, A. I., Rodríguez-partida, D., & Los, R. (2023). *La historia de una cebrá que es pez y , además , modelo*. 37–43.

Reddy, S. S. K., & Tan, M. (2020). Diabetes mellitus and its many complications. In *Diabetes Mellitus* (pp. 1–18). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820605-8.00001-2>

Roberto, N., Barros, D., Donizetti, R., Sant, G., Pegorin, A., Scontri, M., Gregatti, B., Mecwan, M., Farhadi, N., Kawakita, S., Humberto, C., Floriano, J. F., Ussemame, C., Tirp, Z., Khorsandi, D., Peirsman, A., Nguyen, H. T., Gomez, A., Mandal, K., & Jos, R. (2023). *International Journal of Biological Macromolecules Aloe vera -loaded natural rubber latex dressing as a potential complementary treatment for psoriasis*. 242(February). <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.124779>

Sadowska-Bartos, I., & Bartosz, G. (2016). Effect of glycation inhibitors on aging and age-related diseases. *Mechanisms of Ageing and Development*, 160, 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2016.09.006>

Sánchez Aldana, D., Contreras-Esquivel, J. C., Nevárez-Moorillón, G. V., & Aguilar, C. N. (2015). Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón Mexicano. *CYTA - Journal of Food*, 13(1), 17–25. <https://doi.org/10.1080/19476337.2014.904929>

Sharma, P., Gautam, K., Pandey, A. K., Gaur, V. K., Farooqui, A., & Younis, K. (2021). Pectin. In *Biomass, Biofuels, Biochemicals: Biodegradable Polymers and Composites - Process Engineering to Commercialization*. INC. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821888-4.00020-4>

Shlush, E., & Davidovich-Pinhas, M. (2022). Bioplastics for food packaging. *Trends in Food Science and Technology*, 125(April), 66–80. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.026>

Tewari, A., & Tiwari, S. (2018). *SYNTHESIS OF MEDICINAL AGENTS FROM PLANTS* (Vol. 1999, Issue December).

Vargas, R. . (2017). PC (Danio rerio) y anestesia. Un modelo animal alternativo para realizar investigación biomédica básica. *Anestesia En México*, 29(1), 86–96. <http://www.scielo.org.mx/pdf/am/v29s1/2448-8771-am-29-00086.pdf>

Vásquez, S. L. G., Mora, I. A. C., León, L. De, & Chávez, M. (2006). *Artemisa*. 2.

Vinet, L., & Zhedanov, A. (2011). A “missing” family of classical orthogonal polynomials. *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical*. <https://doi.org/10.1088/1751-8113/44/8/085201>

Vityazev, F. V., Khramova, D. S., Saveliev, N. Y., Ipatova, E. A., Burkov, A. A.,

- Belosero, V. S., Belyi, V. A., Kononov, L. O., Martinson, E. A., Litvinets, S. G., Markov, P. A., & Popov, S. V. (2020). Pectin–glycerol gel beads: Preparation, characterization and swelling behaviour. *Carbohydrate Polymers*, 238(June 2019), 116166. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116166>
- Webber, S. (2013). International Diabetes Federation. In *Diabetes Research and Clinical Practice* (Vol. 102, Issue 2). <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.10.013>
- Yagi, A., Hegazy, S., Kabbash, A., & Wahab, E. A. El. (2009). Possible hypoglycemic effect of Aloe vera L. high molecular weight fractions on type 2 diabetic patients. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 17(3), 209–215. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2009.08.007>
- Yamaguchi, Y., Tanimura-Inagaki, K., Fukuda, I., Sugihara, H., & Oikawa, S. (2023). Early Effects of Insulin Therapy on Cholesterol Synthesis and Absorption Markers in Patients with Type 2 Diabetes. *Clinical Nutrition Open Science*, 48, 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.nutos.2023.03.001>
- Zang, L., Shimada, Y., & Nishimura, N. (2017). Development of a Novel Zebrafish Model for Type 2 Diabetes Mellitus. *Scientific Reports*, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01432-w>
- Zarandona, I., Minh, N. C., Trung, T. S., de la Caba, K., & Guerrero, P. (2021). Evaluation of bioactive release kinetics from crosslinked chitosan films with Aloe vera. *International Journal of Biological Macromolecules*, 182, 1331–1338. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.087>
- Zeliger, H. I. (2023). Type 2 diabetes (T2D). *Oxidative Stress*, 2030, 299–315. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91890-9.00027-1>