

**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**



**ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE  
LAS HOJAS DE *Schkuhria pinnata* L. "CANCHALAGUA" EN  
RATAS ALBINAS INDUCIDAS CON ESTREPTOZOTOCINA**

**Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico  
y Bioquímico**

**TESISTAS**

**BACHILLER: BUSO DÁVILA, ANA ALEJANDRA**

**BACHILLER: VICENTE HUANEY, JUAN CARLOS**

**ASESORA: Dra. BRIT ALVARADO CHÁVEZ**

**Lima – Perú**

**2018**

## **DEDICATORIA**

A mi madre, por ser el pilar más importante y demostrarme siempre su cariño y su apoyo incondicional.

A mi padre, que a pesar de la distancia física, siento que estás conmigo siempre y aunque nos faltaron muchas cosas por vivir juntos, sé que este momento hubiera sido tan especial para ti como lo es para mí.

A mi hermana que siempre ha estado junto a mí y brindándome su apoyo.

**Juan Carlos Vicente Huaney**

La presente tesis la quiero dedicar a mis padres y hermanas, porque ellos han dado razón a mi vida a través de sus consejos y la confianza depositada en mi formación académica para que la búsqueda de alcanzar mis objetivos se consolide exitosamente. De esta manera espero contribuir a mi especialidad e impartir nuevos conocimientos como es la relación existente entre las plantas y los medicamentos.

**Ana Alejandra Busso Dávila**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a nuestros docentes de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por habernos impartido conocimientos a lo largo de nuestra carrera profesional, de manera especial, a la Dra. Brit Alvarado Chávez, asesora de nuestra tesis quien ha guiado y aportó sus conocimientos en investigación de plantas medicinales.

Al Dr. Daniel Echevarría Rodríguez Sawao por el apoyo en las enseñanzas otorgadas, y por su valiosa guía y asesoramiento durante la elaboración del proyecto.

# ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE ANEXOS	
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	3
1.1 Descripción de la realidad problemática .....	3
1.2 Formulación del problema .....	5
1.2.1 Problema general .....	5
1.2.2 Problemas específicos.....	5
1.3 Objetivos.....	5
1.3.1 Objetivo general.....	5
1.3.2 Objetivos específicos .....	5
1.4 Justificación e importancia del estudio.....	7
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	8
2.1 Antecedentes del Estudio .....	8
2.1.1 Nacionales .....	8
2.1.2 Internacionales.....	11
2.2 Bases teóricas.....	15
2.2.1 Generalidades de la especie .....	15
2.2.2 Clasificación taxonómica de la <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua”.....	16
2.2.3 Descripción de la especie .....	16
2.2.4 Componentes químicos.....	18
2.2.5 Uso medicinal de <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua”.....	18
2.2.6 Fisiología del páncreas.....	19
2.2.7 Diabetes mellitus.....	20
2.2.8 Clasificación.....	22
2.2.9 Fisiología de la homeostasis de la glucosa.....	25
2.2.10 Tratamiento de la diabetes .....	31
2.2.11 Modelos animales de diabetes mellitus .....	35
2.2.12 Inducción química.....	35

2.3Hipótesis.....	37
2.3.1Hipótesis general.....	37
2.3.2Hipótesis específica.....	37
2.4 Operacionalización de Variables.....	37
2.4.1Marco conceptual.....	38
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	40
3.1Tipo y Nivel de Investigación.....	40
3.2Diseño de Investigación.....	40
3.3Población.....	40
3.4Muestra.....	40
3.5Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	41
3.6Descripción de Instrumentos.....	41
3.7Técnicas de procesamiento de datos y análisis estadístico.....	41
3.8Recolección y preparación de la muestra.....	41
3.9Procedimiento experimental.....	41
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	50
4.1 Toxicidad aguda.....	50
4.2 Sobulidad.....	51
4.3 Screening fitoquímico.....	52
4.4 Cromatografía en capa fina.....	54
4.5Niveles séricos de glucosa en sangre.....	55
4.6 Contrastación de hipotesis.....	56
4.7Análisis múltiple posterior.....	56
4.8Grupos significativos con actividad hipoglicemiante.....	57
4.9Discusion y resultado.....	60
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	64
CONCLUSIONES.....	64
RECOMENDACIONES.....	65
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1:** Operacionalización de variables

**Tabla 2:** Seis grupos para la experimentación de la actividad hipoglicemiante

**Tabla 3:** Limite de toxicidad aguda de *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua"

**Tabla 4:** Prueba de solubilidad

**Tabla 5:** Identificación de metabolitos primarios

**Tabla 6:** Identificación de metabolitos secundarios

**Tabla 7:** Prueba cromatográfica en capa fina

**Tabla 8:** Niveles séricos de glucosa en sangre (mg/dL)

**Tabla 9:** Análisis de varianza de una vía (Anova)

**Tabla 10:** Análisis múltiple posterior (Prueba de Tukey)

**Tabla 11:** Grupos significativos con efecto hipoglicemiante

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1:** Mecanismo de acción de la insulina

**Figura 2:** Cuadro comparativo de los niveles de glucosa

**Figura 3:** Curva de glucosa

**Figura 4:** Propiedades de los secretagogos de insulina

**Figura 5:** Cuadro comparativo de dosis para el tratamiento de hiperglicemia

**Figura 6:** Niveles séricos de glucosa en sangre (mg/dL) en ratas albinas

**Figura 7:** Recolección de *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua"

**Figura 8:** Constancia taxonómica de la especie vegetal

**Figura 9:** Extracción acuosa a reflujo a partir de las hojas de Canchalagua

**Figura10:** Filtración del extracto acuoso de canchalagua

**Figura 11:** Screening fitoquímico de las hojas de Canchalagua

**Figura 12:** Siembra de los estándares de referencia: Quercetina y cafeína

**Figura 13:** Prueba de Cromatografía en Capa Fina "Alcaloides y flavonoides"

**Figura 14:** Observación de coloración a la luz UV 254 nm para alcaloides

**Figura 15:** Observación de la coloración a la luz UV 254 nm para flavonoides

**Figura 16:** Pesada de los animales en el primer día de acondicionamiento

**Figura 17:** Pesada de las 42 ratas después de 5 días de acondicionamiento

**Figura 18:** Extracción de sangre del ojo con punción del retroorbital

**Figura 19:** Dosificación con sonda orogástrica de glibenclamida a 40mg/Kg

**Figura 20:** Valores de glucosa en ratas hiperglicémicas

**Figura21:** Valor de glicemia en ratas tratadas con Glibenclamida día 28

**Figura22:** Valor de glicemia día 28 tratadas con Canchalagua 250 mg/kg

**Figura23:** Valor de glicemia día 28 con Canchalagua 500 mg/kg

**Figura 24:** Valor de glicemia día 28 con Canchalagua 1000 mg/kg

**Figura 25:** Observación macroscópica del páncreas con dosis 500mg/Kg

**Figura 26:** Observación macroscópica del páncreas con dosis 1000mg/Kg



## ÍNDICE DE ANEXOS

**Anexo 1:** Matriz de consistencia

**Anexo2:** Recolección de la especie vegetal

**Anexo3:** Clasificación taxonómica de la especie vegetal

**Anexo4:** Extracto acuoso de las hojas de *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua"

**Anexo5:** Screening fitoquímico

**Anexo 6:** Ensayos cromatográficos

**Anexo 7:** Certificado de sanidad de las ratas en experimentación

**Anexo 8:** Pesada de las 42 ratas

**Anexo 9:** Valores basales de glucosa en sangre

**Anexo 10:** Grupo con tratamiento glibenclamida 40mg/Kg

**Anexo 11:** Valores de glucosa en sangre durante hasta los 28 días

**Anexo 12:** Visión macroscópica del páncreas

**Anexo 13:** Recolección de datos

## GLOSARIO

**DM:** Diabetes mellitus

**IDF:** Federación internacional de la diabetes

**VD:** Vigilancia de diabetes

**HbA1c:** Hemoglobina glicosilada

**GLP-1:** Péptido similar al glucagón tipo 1

**STZ:** Estreptozotocina

**DPPH\*:** 2,2 difenil-1-picrihidazilo

**GLUT2:** Glutamato 2

**NF-kappa B:** Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas

**KATP:** Canales de Potasio dependientes de Adenosin trifosfato

**SUR1:** Receptor de sulfonilureas

**ESRD:** Enfermedad renal en etapa terminal

**TNF- $\alpha$ :** tumor necrosis factor alpha

**GDM:** Diabetes mellitus gestacional

**IGT:** Intolerancia a la glucosa

**FPG:** Glucosa plasmática em ayunas

**OGTT:** Test oral de tolerancia a la glucosa

**BMI:** Índice de masa corporal

**HDL:** Lipoproteína de alta densidad

**SRA:** Sistema renina angiotensina

**DPP-4:** Dipeptidil peptidasa-4

**IMAO:** Inhibidores de la monoaminooxidasa

**TLC:** Cromatografía en capa fina

**DL<sub>(50)</sub>:** Dosis letal de 50%

**OECD:** Guía de pruebas para productos químico

## RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo general evaluar la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso de las hojas de *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua” la especie fue ubicada en el departamento de Ancash ubicada entre los 2000 y 3000 msnm. Provincia de Huaraz, las hojas fueron secadas a 40°C, se realizó la extracción de metabolitos activos con extracción a reflujo por 24 horas con agua destilada. El método que se utilizó fue experimental-mixto. Se empleó, además, un proceso fitoquímico y farmacológico. Este procedimiento experimental constó de un periodo de 30 días. Se trabajó con 42 ratas raza Holtzman con un peso alrededor de 210 - 215 g primeramente, se determinó la toxicidad aguda 2000mg/Kg para saber que además de poseer actividad terapéutica es además inocua. Luego se realizó la prueba de solubilidad del extracto seco en diferentes solventes, siendo soluble en metanol, etanol y poco soluble en agua. Según el Screening fitoquímico se confirmó la presencia de metabolitos como alcaloides, flavonoides, antraquinonas y taninos condensados. El extracto se administró vía oral después de 72 horas de inducción de la diabetes experimental con Estreptozotocina 60mg/kg (administrados vía intraperitoneal). Se asignaron 42 ratas aleatoriamente la cual se distribuyó en 6 grupos cada uno formado por 6 ratas, el 1<sup>er</sup> grupo control negativo sin inducción, el 2<sup>do</sup> grupo control positivo inducido y sin tratamiento, el 3<sup>er</sup> 4<sup>to</sup> y 5<sup>to</sup> grupo inducidos y con dosis de 250, 500 y 1000mg/Kg y un 6<sup>to</sup> grupo inducidos y tratados con glibenclamida a 40mg/Kg. Los resultados mostraron en el día 21 que las dosis administradas del extracto acuoso de las hojas de *Schkuhria pinnata* L. de peso muestran actividad hipoglicemiante y estos datos están respaldados con un nivel de confianza del 95% con la técnica Análisis de Varianza (Anova), En el día 28 se evidenció que solo la dosis de 1000mg/Kg del extracto acuoso es significativamente buena ( $p < 0.05$ ) en comparación al de Glibenclamida 40mg/Kg, que posee una menor actividad hipoglicemiante.

**Palabras clave:** *Schkuhria pinnata* L., diabetes mellitus, estreptozotocina, efecto hipoglucemiante, glucosa sanguínea.

## ABSTRACT

These general objective of this research was to evaluate the hypoglycemic activity of the aqueous extract of the leaves of *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua" the species was located in the department of Ancash between 2000 and 3000 masl. Province of Huaraz, the leaves were dried at 40 ° C, extraction of active metabolites was carried out with reflux extraction for 24 hours with distilled water. The method used was experimental-mixed. It was also used a phytochemical and pharmacological process. This experimental procedure consisted of a period of 30 days. We worked with 42 Holtzman rats with a weight around 210 - 215 g, we first worked with acute toxicity 2000 mg / kg to know that in addition to having therapeutic activity is also safe. Then, the solubility test of the dry extract was carried out in different solvents, being soluble in methanol, ethanol and poorly soluble in water. According to the Phytochemical Screening, the presence of metabolites such as alkaloids, flavonoids, anthraquinones and condensed tannins was confirmed. The extract was administered orally after 72 hours of induction of experimental diabetes with Streptozotocin 60 mg / kg (administered intraperitoneally). 42 rats were randomly assigned which was distributed into 6 groups each consisting of 6 rats, the 1st negative control group without induction, the 2nd group positive control induced and without treatment, the 3rd and 5th group induced and with doses of 250, 500 and 1000mg / Kg and a 6th group induced and treated with glibenclamide at 40mg / Kg. The results showed on day 21 that the doses administered from the aqueous extract of the leaves of *Schkuhria pinnata* L. show hypoglycemic activity and supported with a level of confidence of 95% with the Analysis of Variance (Anova) technique. On day 28 it was shown that only the dose of 1000mg / Kg of the aqueous extract is significantly good ( $p < 0.05$ ) compared to the Glibenclamide 40mg / Kg that has a lower hypoglycemic activity.

**Keyword:** *Schkuhria pinnata* L., diabetes mellitus, streptozotocin, hypoglycemic effect, blood glucose.

## INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la OMS más de 346 millones de personas del total de la población mundial tienen diabetes, y más del 80% de las muertes causadas por la diabetes, se registran en los países de menores recursos, cerca de la mitad de estas muertes corresponde a personas menores a los 70 años de edad, y de estos índices un 55% pertenece a la población femenina <sup>(1)</sup>.

La diabetes constituye una enfermedad considerada como una de las más alta incidencia socio sanitario, no solamente por su elevada frecuencia, sino por las comorbilidades crónicas a las que conlleva, como por ejemplo en el Perú los casos más relevante de comorbilidad es la hipertensión realizado por un sistema de vigilancia de diabetes siendo los factores de más riesgo la arteriosclerosis y la patología cardiovascular <sup>(2)</sup>.

La diabetes mellitus causa un deterioro progresivo y funcional de las células beta que requiere para su tratamiento una mayor administración de fármacos y para la resistencia de las células beta, el tratamiento sería con insulina para mantener en equilibrio la glicemia, pero estos fármacos disminuyen su eficacia cada vez que disminuye la funcionalidad de las células beta <sup>(3)</sup>.

Las plantas medicinales hoy en día constituyen una alternativa viable para muchas poblaciones en el afán de hacer frente a distintas enfermedades, pero aún no se encuentran autenticados científicamente para combatir distintas patologías, esto ha motivado el interés de distintos laboratorios a nivel mundial a estudiar el potencial de acción de la gran diversidad de plantas medicinales <sup>(13)</sup>.

*Schkuhria pinnata* L “Canchalagua” es una especie de originaria de América y se ha extendido en otros continentes, y en nuestro país es encontrado principalmente en las provincias de Ancash, Ayacucho y Piura. Los estudios fitoquímico realizados en las hojas de *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua” han permitido describir e identificar un considerable número de compuestos químicos como alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, lactonas sesquiterpénicas, estos metabolitos secundarios tienen propiedades antioxidantes frente a compuestos reactivos de oxígeno que producidos en la

diabetes mellitus<sup>(8,19)</sup>. Estos metabolitos secundarios le dan gran interés para el estudio de sus probables propiedades hipoglicemiantes y basada en algunas investigaciones nuestra tesis de investigación tiene por objetivo determinar la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso *Schkuhria pinnata* L “Canchalagua” en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.

La presente tesis se ha dividido en V capítulos para una mayor explicación del estudio. En el capítulo I, se menciona la descripción de la realidad problemática, formulación del problema, objetivos y justificación del planteamiento del problema. En el capítulo II, se mencionan los antecedentes nacionales e internacionales, las bases teóricas, las hipótesis y variables. En el capítulo III, se indica el tipo, nivel, diseño de investigación y metodología. En el capítulo IV, se mencionan: límite de toxicidad, pruebas de solubilidad, Screening fitoquímica, cromatografía en capa fina, nivel séricos de glucosa en sangre, análisis de varianza. En el capítulo V, se mencionan las conclusiones y recomendaciones.

# CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

## 1.1 Descripción de la realidad problemática

De acuerdo a la Federación internacional de la Diabetes (IDF, siglas en inglés) menciona que, a nivel mundial, en el mundo existirán 387 millones de personas con diabetes, de los que 179 millones (46%) estarían no diagnosticados, la mayoría estaría en una edad promedio de 40 a 59 años además el 77% de individuos que padecen de diabetes pertenecen a poblaciones provenientes de países cuyo ingreso es mediano o bajo <sup>(1)</sup>.

En lo que respecta al continente americano, cerca de 64 millones de personas tendrían diabetes: en América Central y del Sur 25 millones y en Norteamérica 39 millones de personas. Se proyecta que para el año 2035 en las regiones de América central y del sur la prevalencia de la diabetes tendrá un crecimiento de alrededor de 60%. Entre otras dolencias las personas que padecen de diabetes tienen un riesgo de 40 veces mayor de amputación, riesgo de insuficiencia renal terminal 25 veces mayor, cerca de 20 veces mayor de ceguera, de 2 a 5 veces mayor accidente vascular encefálico e infarto agudo al miocardio entre 2 y 3 veces mayor <sup>(1)</sup>.

La denominada diabetes mellitus es una enfermedad que se produce cuando el páncreas no puede producir cantidad suficiente de insulina o también cuando ésta no logra actuar en el organismo porque las células no responden a su estímulo, existen dos tipos de diabetes la de Tipo I y Tipo II. Esta patología de la diabetes mellitus obedece a un conjunto de trastornos metabólicos comunes, que tienen su origen en múltiples procesos patógenos y la hiperglucemia es el efecto que todos estos desarrollan. Está establecido que los factores genéticos y del ambiente facilitan su incremento, que se expresa en la producción insuficiente de insulina, carencia de reacción a la insulina endógena o proporcionada exógenamente, aumento de la producción de glucosa o disfunciones en el metabolismo proteico y de lípidos, de este modo el porcentaje de personas que padecen de diabetes se está incrementando rápidamente, y debido a esto los niveles plasmáticos alcanzan valores de 300 a 1200 mg/100mL. Las personas con diabetes tipo II son propensas a padecer

arteriosclerosis acelerada y es esta enfermedad cardiovascular su causa más importante de mortalidad, estas personas enfermas multiplican su riesgo de muerte de 2 a 4 veces, falleciendo de complicaciones derivadas de arteriosclerosis en el 75% de los casos y sufren enfermedad coronaria de peor pronóstico que los no diabéticos<sup>(3)</sup>.

La prevalencia de la obesidad y sus efectos en la salud asociados a la enfermedad de la diabetes incluyendo al de tipo II, continúa en su incremento. La progresión en la diabetes mellitus tipo 2 presenta un deterioro progresivo funcional de las células beta que requieren una cantidad cada vez mayor de fármacos orales, finalmente, el tratamiento con insulina para lograr el control adecuado de los niveles de glucemia. En última instancia hay insuficiencia de las células beta del páncreas. El tratamiento inicial consta de seguir una dieta alimenticia, bajar el peso corporal y realizar ejercicios, los fármacos antidiabéticos son una buena elección ya que han reducido la mortalidad en este tipo de pacientes, sin embargo, los antidiabéticos orales son menos eficaces a medida que disminuye la función de las células beta pancreáticas, se tiene en cuenta que en los pacientes diabéticos tipo II es importante el tratamiento de las comorbilidades<sup>(3,31)</sup>.

Entre las plantas más usadas para el tratamiento de diabetes se encuentran *Artemisia absinthium* (Ajenjo), *Cynaras colymus* (Alcachofa), *Chuquiraga jussieui* (Flor de los Andes), *Taraxacum officinale* (El diente de león) y *Schkurhria pinnata* L. "Canchalagua"<sup>(13)</sup>, en esta última especie vegetal se está prestando bastante atención ya que hay poco estudios realizados sobre las propiedades medicinales presente en sus hojas<sup>(8)</sup>, ha sido utilizado en medicina tradicional para tratar dolencias como la diabetes, la malaria, enfermedades del oído, nariz y garganta, inflamación de próstata y reumatismo<sup>(19)</sup>.



## **1.2 Formulación del problema**

### 1.2.1 Problema general

¿Tendrá actividad hipoglicemiante el extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. “Canchalagua” en ratas albinas inducidas con estreptozotocina?

### 1.2.2 Problemas específicos

¿Los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. “Canchalagua” serán los posibles responsables de la actividad hipoglicemiante en ratas albinas inducidas con estreptozotocina?

¿Tendrá una dosis optima el extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. “Canchalagua” con mayor actividad hipoglicemiante en ratas albinas inducidas con estreptozotocina?

¿Tendrá diferente actividad hipoglicemiante el extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. “Canchalagua” respecto a la glibenclamida en ratas albinas inducidas con estreptozotocina?

## **1.3 Objetivos**

### 1.3.1 Objetivo general

Evaluar la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. “Canchalagua” en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.

### 1.3.2 Objetivos específicos

1. Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. “Canchalagua” como posibles responsables de la actividad hipoglicemiante en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.

2. Determinar la dosis optima del extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. "Canchalagua" con mayor actividad hipoglicemiante en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.

3. Evaluar si el extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. "Canchalagua" posee actividad hipoglicemiante en comparación con el fármaco glibenclamida.

#### **1.4 Justificación e importancia del estudio**

De acuerdo a lo expuesto la diabetes mellitus constituye una enfermedad que afecta a amplios sectores poblacionales, de modo que su estudio, explicación y análisis, requieren de mayores investigaciones y, fundamentalmente de la búsqueda de otras alternativas de solución desde el punto de vista farmacéutico.

Cada vez, las industrias farmacéuticas desarrollan nuevos fármacos sintéticos que sean más eficaces para regular el metabolismo de los hidratos de carbono, pero con efectos secundarios como la hipoglicemia e hiperglicemia con adversidades en pacientes con insuficiencia cardíaca y problemas de coagulación por tener una biodisponibilidad muy baja.

La alternativa de nuestro estudio es reemplazar a estos fármacos sintéticos por productos medicinales de origen natural, procedentes de plantas con propiedades hipoglucemiante y que sean metabolizados totalmente por el organismo limitando la progresión de la diabetes, por ello se propone aprovechar de esta manera las propiedades de la canchalagua que, según las investigaciones es un generador de tejidos específicos productores de insulinas en el páncreas.

La presente investigación acerca de la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. "Canchalagua" para el tratamiento de diabetes mellitus en ratas albinas, la especie vegetal en estudio puede ser una posible alternativa como complemento a los tratamientos convencionales con sulfonilureas, acompañado de una dieta equilibrada y actividad física.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes del Estudio

#### 2.1.1 Antecedentes nacionales

**Zúñiga et al<sup>(4)</sup>2013, “Evaluación de la expresión del gen GLP-1 (péptido 1 homólogo al glucagón) en ratas inducidas a Diabetes Mellitus tipo 2 tratadas con extracto metanólico de *Schkuhria pinnata* (Canchalagua)”.**

Describiendo la inducción de diabetes experimental homóloga a la de tipo 2 en ratas macho wistar novergicus de 4 meses, mediante la administración de Estreptozotocina-Nicotinamida, a dosis de 65mg/kg y 330mg/kg respectivamente, confirmándola mediante el monitoreo de la variación de glicemia y estudios histopatológicos en el páncreas de los ejemplares diabéticos. El efecto hipoglucemiante del extracto de *Schkuhria pinnata* (Canchalagua) a 20mg/Kg y 40mg/Kg, evaluados durante los 25 días posteriores a la inducción de diabetes experimental, mostró una disminución estadísticamente significativa.

**Lecca etal<sup>(5)</sup>2011, “Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso liofilizado de *Abuta rufescens*, en ratas con diabetes mellitus tipo 2, inducidas con estreptozotocina. Imet-Essalud, 2011”.** Determinó el efecto hipoglicemiante través de un extracto acuoso liofilizado, para ello dosifico a 14.6 mg/Kg/pc y 29.36 mg/Kg/pc, sobre la hiperglucemia inducida en ratas albinas macho cepa Holtzman, mediante el estudio comparativo con el grupo control (Glibenclamida). Las sustancias a evaluar se administraron vía oral después de 7 días de la inducción de la diabetes experimental con solución de Estreptozotocina (STZ) a una dosis de 40mg/kg/pc. (Vía intraperitoneal) a ratas albinas normoglicémicas con peso corporal promedio de 270±10g con previo ayuno de 12 horas. Sus grupos experimentales estuvo constituido por 40 ratas y fueron asignadas aleatoriamente a 5 grupos: el primer grupo suero fisiológico, el segundo grupo estreptozotocina, el tercer grupo y cuarto grupo con *Abuta rufescens A*, a las dosis ensayadas y el quinto grupo con glibenclamida a 0.4mg/Kg. Al final del estudio se realizó la eutanasia de todos los animales por dislocación cervical. Según los resultados obtenidos, el extracto acuoso liofilizado de *Abuta rufescens A*, a dosis de 14.6 mg/kg/pc. y 29.36 mg/kg/pc.

disminuyen los niveles séricos de glucosa en 78.16% y 80.74% respectivamente, encontrándose resultados estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ) de la glucemia, comparado con el basal hiperglicémico.

**Aranda et al<sup>(6)</sup>2014, “Efecto de los extractos de *Geranium ayavacense* W. (pasuchaca) sobre la glicemia en ratas con diabetes mellitus experimental”.** El objetivo del trabajo fue determinar si el extracto acuoso liofilizado de *Geranium ayavacense* (Pasuchaca) tiene algún efecto sobre la glicemia en ratas con diabetes mellitus experimental. Materiales y métodos. La diabetes experimental fue inducida con aloxano. Las ratas cumplieron los criterios: glicemia  $> 200$  mg/dL pos administración de aloxano y un peso  $> 200$  g. Las ratas con diabetes experimental fueron distribuidas en seis grupos de ocho ratas cada uno. El grupo I recibió 3 mL de agua destilada (control); el grupo II recibió *Geranium ayavacense* 12,7 mg/kg; el grupo III recibió *Geranium ayavacense* 100 mg/kg; el grupo IV recibió *Geranium ayavacense* 200 mg/kg; el grupo V recibió *Geranium ayavacense* 300 mg/kg; el grupo VI recibió *Geranium ayavacense* 500 mg/kg. Se determinó la glicemia basal. Las evaluaciones de la glicemia se realizaron a la 1.a, 3.a, 6.a, 12.a y 24a hora después de administrar las diferentes intervenciones. Resultados. Demostrando que las dosis de 300 y 500 mg/kg disminuyeron significativamente los niveles de glucosa en sangre.

**Tucto<sup>(7)</sup>2015, “Análisis proximal, polifenoles totales, ácido ascórbico y actividad secuestrante de radicales libres (DPPH<sup>+</sup>) de la pulpa liofilizada de camu-camu (*Myrciariadubia* Mc. VaughKunth) y su efecto sobre la glucosa sérica, perfil lipídico y actividad antioxidante en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina”.** Tuvo como objetivo demostrar la actividad hipoglicemiante debido a la alta cantidad de antioxidantes que posee la pulpa liofilizada del camu – camu (entre ellos ácido ascórbico o Vitamina C, polifenoles totales, etc.) ya que la diabetes mellitus se caracteriza por presentar estrés oxidativo en las células beta de los islotes de Langerhans en el páncreas, y por tanto ocurre daño y deterioro celular. La actividad antioxidante in vivo en ratas tratadas con estreptozotocina (STZ) lo cual mimetiza a la diabetes mellitus. Para el estudio de actividad sobre la glicemia fue realizado en ratas normoglicémicas e hiperglicémicas en ratas macho Holtzman

inducidas por STZ (55mg/Kg). Se les administró el reconstituido de liofilizado de camu-camu equivalentes a dosis 5.74, 28.7 y 57.4 mg/Kg de peso corporal. Como control positivo se utilizó glibenclamida con una dosis de 40 mg/Kg de peso corporal. Obteniéndose como resultado que el liofilizado de camu –camu presenta actividad hipoglicemiante en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina, y la disminución de la glicemia es proporcional a la dosis.

**Ramírez <sup>(8)</sup>2010**, “En su investigación comprobó los efectos del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* (Lamarck) Kuntze “canchalagua” en dosis de: 100 y 200 mg/kg por vía oral, sobre la diuresis, la motilidad intestinal, y el efecto gastroprotector en ratones y ratas albinas. Para este estudio se trabajó con el método de inducción de úlceras empleando etanol a 96° en los siguientes grupos: Control Negativo Suero fisiológico (2ml/kg) Control Positivo: Omeprazol (20mg/kg). *Schkuhria pinnata* (200mg/kg). *Schkuhria pinnata* (100mg/kg). Para evaluar el efecto diurético se trabajó: Grupo Control Negativo Suero fisiológico (2ml/kg) Control Positivo: Furosemida (10mg/kg). *Schkuhria pinnata* (200mg/kg). *Schkuhria pinnata* (100 mg/kg). Para evaluar el efecto sobre motilidad intestinal se utilizó el modelo de carbón activado en los siguientes grupos: Control Negativo Suero fisiológico (0.1ml/10g) Control Positivo: Loperamida (3 mg/kg). *Schkuhria pinnata* (200 mg/kg). *Schkuhria pinnata* (100mg/kg). Los resultados muestran un efecto gastroprotector y sobre la motilidad intestinal del extracto a dosis de 100 mg/kg ( $p < 0.05$ ) y un efecto diurético a dosis de 200 mg/kg ( $p < 0.05$ ). En conclusión queda demostrado que el extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* L tiene efecto gastroprotector, diurético y sobre la motilidad intestinal, en los modelos experimentales trabajados.

### **2.1.2 Antecedentes internacionales**

**Vélez et al <sup>(9)</sup>2015, “Estandarización del modelo de diabetes experimental inducida por estreptozotocina en ratas sprague-dawley.”** El objetivo del trabajo consiste en evaluar el modelo experimental de Diabetes tipo 1 con estreptozotocina. Con una metodología donde se utilizaron ratas Sprague-Dawley divididas aleatoriamente en dosis de 40, 50 y 65 mg/Kg de estreptozotocina y un grupo control. Los parámetros estudiados fueron glicemia en ayunas, diuresis, consumo de agua, alimento, peso corporal y valores de triglicéridos y colesterol plasmático. Además, se evaluó durante un mes la sobrevida, glicemia, triglicéridos y colesterol plasmático, finalmente se realizaron cortes histológicos de páncreas, resultando que los animales del grupo que recibió la dosis más baja, regresaron a valores similares de glicemia con respecto al grupo control. Los grupos restantes mantuvieron diferencias significativas con el grupo control con aumento de la ingesta de agua, alimento y diuresis acompañada de pérdida de peso. Sin embargo, el grupo que recibió la dosis más alta presentó una mortalidad del 100%, mientras que con la dosis intermedia se alcanzó solo el 29%, llegando a una conclusión de que a una dosis única de estreptozotocina de 50 mg/Kg en ratas Sprague Dawley, se mantienen niveles de hiperglucemia superiores a 200 mg/dL durante un mes, con alta sobrevida, sin modificar niveles de colesterol ni triglicéridos. El análisis histológico del páncreas mostró reducción marcada de las células  $\beta$  en los islotes pancreáticos en los animales diabéticos comparados con el grupo control.

**Bequer et al <sup>(10)</sup>2014, “Inducción de hiperglucemias moderadas en ratas por inoculación neonatal de estreptozotocina. ¿Inyección subcutánea o intraperitoneal?”.** Entre los objetivos de esta investigación se encuentra comprender los mecanismos fisiopatológicos que caracterizan la diabetes mellitus. Dado que es necesario conocer la implicación de cada variante seleccionada en la concepción del modelo de diabetes a utilizar, en este caso de hiperglucemias moderadas, proponemos evaluar en ratas adultas el efecto de la administración neonatal (subcutánea o intraperitoneal) de estreptozotocina (STZ) sobre su estado metabólico y oxidativo. Se indujo diabetes en gazapos hembras de dos días de nacidos mediante la inoculación

de 100 mg/Kg de peso corporal de STZ. Los grupos, de 10 animales cada uno, se definieron según la vía de inoculación subcutánea (SC) o intraperitoneal (IP). Los neonatos designados como controles recibieron (SC o IP) únicamente vehículo. El fenotipo se manifestó a las 6 semanas de vida en ambos grupos. El grupo de STZ SC mostró un promedio semanal de glucemias significativamente mayor y un peor control glucémico durante el experimento, reflejado por los valores de hemoglobina glicosilada. A las 12 semanas se realizó la eutanasia y se estudiaron indicadores del perfil renal, lipídico y estrés oxidativo. Se concluye que, si bien por ambas vías de inducción se logra instaurar el modelo deseado, desde el punto de vista metabólico los animales en los que se utilizó la vía SC el fenotipo se manifiesta con mayor similitud a lo que ocurre en el síndrome diabético humano, fundamentalmente en lo referido a los parámetros de la función renal.

**Szkudelski <sup>(11)</sup> 2001, “El mecanismo de acción de aloxano y estreptozotocina en células beta del páncreas en ratas.”** En esta investigación nos da a conocer el efecto de los inductores más usados en experimentación en diabetes. El mecanismo de su acción en las células beta del páncreas se ha investigado intensamente y ahora se comprende bastante bien. La acción citotóxica de ambos agentes diabetogénicos están mediados por especies reactivas de oxígeno, sin embargo, la fuente de su generación es diferente en el caso de alloxan y streptozotocin. Alloxan y el producto de su reducción, ácido dialúrico, establecen un ciclo redox con la formación de radicales superóxido. Estos radicales sufren dismutación al peróxido de hidrógeno, donde se forman radicales hidroxilos altamente reactivos mediante la reacción de Fenton. La acción de especies reactivas de oxígeno con un aumento masivo simultáneo de la concentración de calcio citosólico causa la destrucción rápida de las células beta. La estreptozotocina ingresa a la célula B a través de un transportador de glucosa (GLUT2) y causa la alquilación del ADN. Por consiguiente, también se generan radicales de peróxido de hidrógeno e hidroxilo. Además, La estreptozotocina libera cantidades tóxicas de óxido nítrico que inhibe la actividad de la aconitasa y participa en el daño del ADN. Como resultado de la acción de la estreptozotocina, las células B sufren la destrucción por necrosis.



**Chávez et al <sup>(12)</sup> 2007, “La evaluación de un modelo de diabetes tipo 2, basado en la administración secuencial de nicotinamida estreptozotocina (225 y 65 mg/kg, respectivamente) a ratas wistar macho y posteriormente tratadas con glibenclamida, aguda y sub agudamente”.** Se emplearon diseños paralelos; el primero para establecer la dosis de nicotinamida que protege contra la destrucción total de células  $\beta$  producida por la estreptozotocina y el segundo para determinar la dosis de glibenclamida que produce el efecto hipoglucemiante en el modelo. Para su evaluación se midieron niveles de glucosa sanguínea y se examinaron cortes histológicos del páncreas. Los resultados mostraron que este modelo es adecuado para el estudio agudo, pero es necesario evaluar otras dosis de nicotinamida que protejan eficientemente a las células  $\beta$  del páncreas de la destrucción total provocada por la estreptozotocina y que sea útil para los estudios subagudos o crónicos, a fin de poder utilizarlo para la evaluación de la eficiencia de fármacos hipoglucemiantes.

**Moreno et al <sup>(13)</sup> 2016, “Investigación etnobotánicas fitoquímicas, antioxidantes y preclínica en cinco plantas medicinales que se consumen como antidiabéticas en Machala, provincia de el oro, Ecuador”.** El objetivo del presente trabajo fue demostrar que la diabetes está presentando un grave problema de salud pública a nivel mundial. Por ejemplo, en Ecuador la diabetes ocupa uno de los primeros lugares como causa de fallecimientos. La comunidad hace uso de las plantas medicinales para tratar la diabetes, pero sin ninguna comprobación científica. Los datos acerca de las plantas usadas como antidiabéticas fueron recolectados mediante encuestas a expendedores y consumidores en mercados de venta de plantas medicinales y a la comunidad de Machala, Provincia El Oro, Ecuador. La acción antidiabética y la toxicidad aguda de las plantas medicinales fueron evaluadas usando ratas Wistar (hembras) y ratones OF1 (hembras), respectivamente. Los metabolitos secundarios y la capacidad antioxidante fueron determinados cuantitativamente a las plantas que resultaron antidiabéticas en el estudio preclínico. La información obtenida de las encuestas permitió identificar las plantas que mayoritariamente son denominadas como antidiabéticas, las partes de las plantas usadas y forma de consumo para el tratamiento de la diabetes. Las

plantas *Artemisia absinthium*, *Cynarascolymus*, *Schkuhria pinnata*, *Chuquiragajussieui* y *Taraxacumofficinale* fueron las que en porcentaje coincidieron entre los expendedores y los consumidores que son las mayormente utilizadas para el tratamiento de la diabetes. Las cuales presentaron actividad antidiabética en las ratas y no mostraron toxicidad aguda preclínica a la dosis de 2.000 mg/kg. Este estudio evidencia que las plantas con actividades antioxidantes pueden ser una terapia efectiva para prevenir y contrarrestar una enfermedad crónica como es la diabetes.

**Kaiser et al <sup>(14)</sup> 2018, “Antiprotozoarios Sesquiterpenos Lactonas y Otros Constituyentes de *Tarhonianthus camphoratus* y *Schkuhria pinnata*”,** continuando con la búsqueda de nuevos agentes antiprotozoarios de plantas del Asteraceae familia, *Tarhonianthus camphoratus* y *Schkuhria pinnata* han sido investigado sobre la prometedora actividad in vitro de los extractos de diclorometano a partir de sus partes aéreas, el aislamiento cromatográfico guiado por bioensayo produjo dos lactonas sesquiterpénicas (1 y 2) de *T. camphoratus* y 20 compuestos conocidos de este tipo provenientes de *S. pinnata* Se obtuvieron (hidroxiisovaleroiloxitigloyloxi) costunolida. Además, la flavonoide pectolarigenina y también se aislaron hidroxi-4,5-dimetoxibencenopropanol de *S. pinnata*. Los compuestos se caracterizaron por análisis de espectroscopia 1D y 2D RMN y datos HR / MS. Actividad antitrypanosomal in vitro y citotoxicidad contra células de mamíferos.

**Molinelli etal <sup>(15)</sup>2017, “Farmoplasmas canchalagua *Schkuhria pinnata*. L.”** El objetivo del presente trabajo es demostrar la descripción botánica y propiedades farmacológicas de *Schkuhria pinnata*, escribiendo que es una planta herbácea anual, de porte erecto, de 20-50 cm de altura. Las hojas son alternas, de 10-40cm de largo, pinnatisectas o bipinatisectas con los segmentos lineal-filiformes de 0,5-1 mm de ancho. Son largamente pedunculados, dimorfos, con 6 a 9 flores de las cuales una espistilada (femenina) con corola ligulada y el resto son flores hermafroditas o perfectas con corolas tubulosas. Los capítulos a su vez están agrupados en inflorescencias tipo racemosas compuestas de ramas cimoso-corimbosas laxas, con 5 filarias (brácteas) de margen membranáceo. El fruto es de unos, de 3-4 mm de largo, obpiramidal, con 4 ángulos papús formado por 8 páleas ovadas,

mútricas o aristadas. Y entre sus propiedades farmacológicas. Y se le atribuyen la presencia de sesquiterpenos, actividad diurética (se puede atribuir a la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos, actividad inhibitoria sobre la motilidad gástrica (posiblemente por la presencia de sesquiterpenos y lactonas), actividad antioxidante.

## **2.2 Bases teóricas**

### 2.2.1 Generalidades de la especie

La *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua”. Kuntze (ex Thell) es una especie originaria de América del Sur (Bolivia, Colombia, Chile, Ecuador y Perú) pero ha sido introducido en distintos países, perteneciente a la familia de las Asteraceae, en nuestro territorio peruano se encuentra distribuido en los valles y laderas de la sierra entre 2000 y 3000 msnm en las serranías de Ayacucho, Ancash y Piura, principalmente <sup>(8)</sup>.

En la medicina popular la especie *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua” es ampliamente conocida con diferentes nombres vulgares, ya sea en un mismo país, en distintos países, así como en diferentes idiomas <sup>(15)</sup>. Se encuentra distribuido de acuerdo al tipo de áreas bioclimáticas como matorrales, pastizales, xerófilos <sup>(8)</sup>.

#### Nombres vulgares

En español: Mata pulga, yerba de la pulga, canchalagua, canchalagua y manzanilla silvestre en Argentina, Bolivia y Perú, canchalagua de castilla en Paraguay, y escoba de anisillo en México.

**En portugués:** azureta, mata-pulgas.

**En Ingles:** pinnate false, threadleaf, dwarf-marigold, rious-weed.

**En quechua:** jayakpichana, cachalawua y Piqui-pichana <sup>(15)</sup>.

La importancia de *Schkuhria pinnata* Lradica en su propiedad reguladora de azúcar en sangre y por tal para el tratamiento de diabetes <sup>(8,18)</sup>.

### 2.2.2 Clasificación taxonómica de la *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua” (Anexo 3)

Posición taxonómica, según el sistema de clasificación de Cronquist (1988).

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Genero: *Schkuhria*

Especie: *Schkuhria pinnata* (Lam.) Kuntze

Nombre vulgar: “Canchalagua”

Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago

Según constancia N° 256-unmsm-2018

### 2.2.3 Descripción de la especie

Es una hierba anual que crece como una hierba de unos 70cm de altura <sup>(20)</sup>.

Hábito y forma de vida	Esta es una planta anual, erecta, ramificada por encima de la base
Tamaño	Alcanza los 75 cm de alto, pero regularmente llega en promedio a los 30 cm de altura.
Tallo	Cilíndrico o en ocasiones comprimido, estriado, más o menos pubéruloglabro.

Hojas	Las basales opuestas (frecuentemente faltan cuando la planta está desarrollada) y las superiores alternas, hasta de 4 cm de largo, pinnada obipinadamente divididas en segmentos filiformes, o bien, indivisas y filiformes, los segmentos de hasta 1.5 cm de largo, con numerosas glándulas hundidas pequeñas.
Inflorescencia	Cabezuelas numerosas, dispuestas en panícula foliosas, sobre pedúnculos de hasta 5 cm de largo. Cabezuela/Flores: Cabezuelas con involucreo turbinado, de 4 a 5 mm de alto, sus brácteas 4 ó 5, obovadas u o lanceoladas, obtusas o redondeadas en el ápice, generalmente con los márgenes amarillos, rojos o morados, cubiertas de glándulas hundidas, puntiformes, glabras o pubérulas; flor ligulada 1 (a veces ausente), amarilla, su lámina inconspicua, obovada, emarginada, de 1 a 2 mm de largo; flores del disco 4 a 8, sus corolas amarillas, de $\pm$ 2 mm de largo.
Frutos y semillas	Aquenios tetragonales, de 3 a 4 mm de largo y 0.7 a 1.0 mm de ancho, pubescentes en los ángulos; vilano de 8 escamas, 4 de ellas aristadas, desiguales o iguales.
Plántulas	Hipocótilo alargado, de hasta 63 mm; epicótilo de hasta 24 mm; hojas de 6 a 10 mm de largo y de 4.5 a 8 mm de ancho, pecíolo de 2 a 6 mm de largo.
Hábitat	Pastizales, matorrales, arvense y ruderal.

#### **2.2.4 Componentes químicos**

La investigación química de las partes aéreas de la especie *Schkuhria pinnata* L permitió la caracterización de 3 lactonas sesquiterpénicas, 2 flavonoides y 2 acilfenil propanoides. La presencia de esteroides triterpenos y de flavonoides también fue demostrada, mediante la caracterización fitoquímica de las hojas, recolectadas en Bolivia <sup>(15)</sup>.

Estudios previos han reportado metabolitos secundarios como lactonas sesquiterpénicas del tipo germacranolida y flavonoides como sus componentes químicos, estos sesquiterpenos tiene propiedades antiinflamatorio debido a que inhiben el NF-kappa B (mediador químico involucrado en los procesos inflamatorios en el cuerpo), además de suprimir la producción de óxido nítrico, así como sus propiedades adelgazantes pueden vincularse con otros efectos ya investigados, como por ejemplo, los diuréticos y los hipoglucémico <sup>(18)</sup>.

#### **2.2.5 Uso medicinal de *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua”**

En cuanto al uso etnobotánico tenemos el uso en infusiones para enfermedades relacionadas a los problemas hepáticos, alergias, Vesícula, halitosis, Diabetes, Retraso menstrual, purificación de la Sangre, Inflamación de sistema urinaria. Usando la planta entera para infusiones con un total de 20g en 1 litro de agua por 3-10 minutos, recomendando tomar 3 veces por día (1 litro) por 1 mes <sup>(17,18)</sup>. Se ha reportado, actividad antimicrobiana, actividad antifúngica, actividad antimalárica, actividad hipoglucemiante, actividad anticancerígena, actividad antiinflamatoria (estas propiedades antiinflamatorias se le atribuyen a la presencia de sesquiterpenos), actividad diurética (atribuida a los componentes de flavonoides y compuestos fenólicos que posee), actividad inhibitoria sobre la motilidad gástrica. (Posiblemente por la presencia de sesquiterpenos y lactonas), actividad antioxidante <sup>(8, 15,18)</sup>.

## 2.2.6 Fisiología del páncreas

El páncreas se compone de dos grandes tipos de tejido, 1) los acinos, que secretan jugo digestivo al duodeno, y 2) los islotes de Langerhans, que secretan insulina y glucagón de forma directa a la sangre. El páncreas humano cuenta con 1 a 2 millones de islotes de Langerhans, cada uno de unos 0.3 mm de diámetro, los islotes se organizan en torno a pequeños capilares, hacia los que vierten hormonas. Los islotes contienen tres tipos fundamentales de células, alfa, beta y delta, que se diferencian entre sí por sus características morfológicas y de tinción. Las células beta representan casi el 60% de la totalidad, encuentran sobre todo en el centro de cada islote y secretan insulina y amilina, hormona que suele liberarse paralelamente a la insulina, pese a que no se conoce bien su función. Las células alfa, que componen casi un 25% del total, secretan glucagón y las células delta, que representan un 10%, somatostatina. Además, existe por lo menos otro tipo de célula, la célula PP, en cantidad reducida, que produce una hormona de función incierta, denominada polipéptido pancreático. Las relaciones íntimas entre estos tipos celulares de los islotes de Langerhans facilitan la comunicación intercelular y el control directo de la secreción de algunas de las hormonas por los demás. Por ejemplo, la insulina inhibe la secreción de glucagón, la amilina la de insulina y la somatostatina la de insulina y glucagón<sup>(3)</sup>.

### 2.2.6.1 Química y síntesis de la insulina

La insulina es una proteína pequeña, la humana tiene un peso molecular de 5.808 M. Se compone de dos cadenas de aminoácidos, unidas entre sí por puentes disulfuros, cuando se separan las dos cadenas de aminoácidos consta de dos cadenas, la A, con 21 aminoácidos, y la B, con 30, unidas entre sí por dos puentes disulfuro la cadena A tiene, además, otro puente disulfuro entre sus aminoácidos 6 y 11. Ambas cadenas provienen de un precursor, la proinsulina, en el que las cadenas A y B están conectadas entre sí por dos pares de aminoácidos básicos y por otro péptido, el C, que une la terminación carboxi del péptido B con la terminación amino del A, desaparece la actividad funcional de la molécula de insulina<sup>(21)</sup>.

La proinsulina, a su vez, deriva de la preproinsulina, un péptido de 11,5 kD cuyo gen se encuentra en el brazo corto del cromosoma 11. La transcripción del gen de proinsulina es dependiente de glucosa. La célula  $\beta$  es, junto con las células hepáticas, única en poseer un mecanismo sensor de glucosa consistente en la acción combinada de una isoforma específica del transportador de glucosa GLUT2 y una hexocinasa, la glucocinasa. La hormona insulina es almacenada en gránulos donde se encuentran formando cristales donde están unidos dos átomos de cinc con seis moléculas de insulina. La exocitosis, mediante la cual la insulina sale de los gránulos de secreción, es también un proceso dependiente de la glucosa <sup>(22)</sup>.

#### 2.2.6.2 Liberación de insulina y su regulación

La regulación en la secreción de insulina por las células  $\beta$  del páncreas, las células  $\beta$  del páncreas en estado de reposo (glucemia de ayuno), la cual se encuentra hiperpolarizadas, luego la glucosa hace su ingreso a la célula a través de transportadores GLUT (principalmente GLUT1 en seres humanos, GLUT2 en roedores), se metaboliza e incrementa el ATP celular, con lo que se inhibe. El potasio entra a través de los conductos KATP; la disminución de la conductancia de  $K^+$  ocasiona despolarización, dando origen a exocitosis de la insulina almacenada en un proceso dependiente de  $Ca^{++}$ . El conducto de KATP, en realidad es un heterooctámero compuesto de SUR1 y subunidades Kir6.2 y es el sitio de acción de varios fármacos: el ATP se une e inhibe a Kir6.2; las sulfonilureas y meglitinidas se unen a SUR1 y lo inhiben; los tres fármacos favorecen la secreción de insulina. El diazóxido y ATP-Mg<sup>2+</sup> (con bajas concentraciones de ATP) se unen a SUR1 y lo activan, con lo que se inhibe la secreción de insulina. Las incretinas favorecen la secreción de insulina <sup>(21)</sup>.



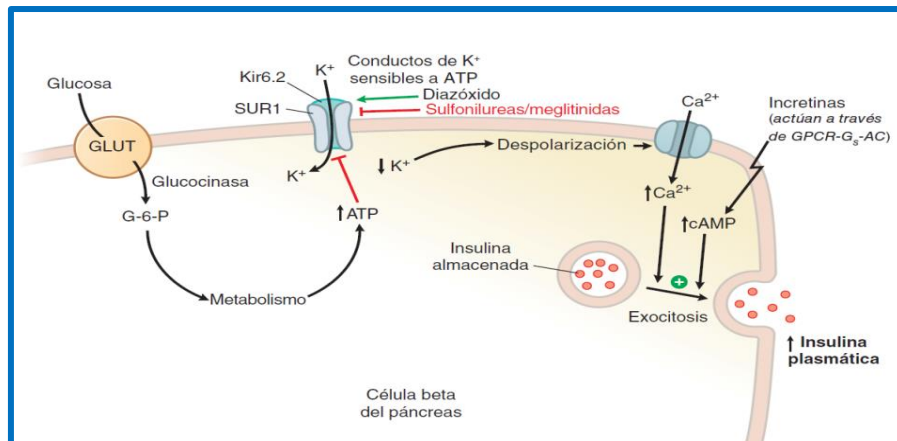


Figura1: Mecanismo de acción de la insulina <sup>(21)</sup>

Fuente: Goodman & Gilman

### 2.2.7 Diabetes mellitus

Comprende a un grupo de trastornos metabólicos frecuentes que comparten el fenotipo de la hiperglucemia. Existen varios tipos diferentes de diabetes mellitus es el resultado de una interacción compleja entre genética y factores ambientales. De acuerdo con la causa de la diabetes mellitus, los factores que contribuyen a la hiperglucemia pueden ser deficiencia de la secreción de insulina, disminución de la utilización de glucosa o aumento de la producción de esta. Al producirse el trastorno de la regulación metabólica que acompaña a la diabetes mellitus provoca alteraciones fisiopatológicas secundarias en muchos sistemas orgánicos, y supone una pesada carga para el individuo que padece la enfermedad y para el sistema sanitario. En Estados Unidos, la diabetes mellitus es la primera causa de nefropatía en etapa terminal (ESRD, end-stage renal disease), de amputaciones no traumáticas de extremidades inferiores y de ceguera en adultos. También predispone a enfermedades cardiovasculares. Dado que está aumentando su incidencia en todo el mundo, seguirá siendo una de las primeras causas de morbilidad y mortalidad en el futuro próximo <sup>(19)</sup>.

## 2.2.8 Clasificación

La diabetes mellitus se clasifica con base al proceso patógeno que culmina en hiperglucemia, a diferencia de criterios previos como edad de inicio o tipo de tratamiento (fig. 2). Las dos categorías amplias de la DM se designan tipo 1 y tipo 2. Sin embargo, cada vez se reconocen más otras formas de diabetes cuya patogenia se comprende mejor. Estas otras formas de diabetes pueden compartir características de la diabetes mellitus tipo 1 o 2. Tanto la diabetes mellitus tipo 1 como el tipo 2 van precedidas por una fase de homeostasis anormal de la glucosa conforme progresan los procesos patogénicos <sup>(20)</sup>.

Tipo de diabetes	Tolerancia normal a la glucosa	Hiperglucemia		
		Prediabetes*		Diabetes mellitus
		Alteraciones de la glucemia en el ayuno o de la tolerancia a la glucosa	No se necesita insulina	Se necesita insulina para control de la glucemia
Tipo 1			→	
Tipo 2			←→	
Otros tipos específicos			←→	
Diabetes gestacional			←→	
Tiempo (años)			→	
FPG	<5.6 mmol/L (100 mg/dL)	(100-125 mg/dL) 7.8-11.0 mmol/L	≥7.0 mmol/L (126 mg/dL)	
PG 2 h	<7.8 mmol/L (140 mg/dL)	(140-199 mg/dL)	≥11.1 mmol/L (200 mg/dL)	
HbA <sub>1c</sub>	<5.6%	5.7-6.4%	≥6.5%	

Figura2: Cuadro comparativo de los niveles de glucosa <sup>(20)</sup>.

Fuente: Harrison principios de medicina interna

La hiperglucemia resultante puede ocasionar síntomas agudos y anomalías metabólicas. Sin embargo, la principal fuente de morbilidad en la diabetes son las complicaciones crónicas causadas por la hiperglucemia prolongada, lo que incluye retinopatía, neuropatía, nefropatía y enfermedades cardiovasculares. La hiperglucemia crónica causa disfunción endotelial y acelera el desarrollo de aterosclerosis en combinación con los efectos adversos de los productos finales de la glicación avanzada. Por fortuna, tales complicaciones crónicas pueden mitigarse en muchos pacientes mediante el control sostenido de la glucemia. Existe una amplia variedad de opciones terapéuticas para la

hiperglucemia; se dirigen a procesos diferentes involucrados en la regulación adecuada o inadecuada de la glucosa <sup>(21)</sup>.

#### 2.2.8.1 Diabetes de tipo I: Ausencia de producción de insulina por las células beta del páncreas

La lesión de las células beta del páncreas o las enfermedades que alteran la producción de insulina pueden ocasionar una diabetes de tipo I. La diabetes tipo I suele empezar a los 14 años en los Estados Unidos y, por esta razón, también se denomina muchas veces diabetes mellitus juvenil. La diabetes de tipo I, puede empezar de manera muy brusca, en tan solo unos días o semanas, con tres secuelas esenciales: Hiperglucemia, aumento de la utilización de las grasas con fines energéticos y de la síntesis de colesterol en el hígado y reducción de las proteínas orgánicas <sup>(3)</sup>.

**Fisiopatología:** A pesar de que otros tipos de células de los islotes [células alfa (productoras de glucagón), células delta (productoras de somatostatina), o células PP (productoras de polipéptido pancreático)] son similares desde el punto de vista funcional y embriológico a las células beta y expresan la mayor parte de las mismas proteínas que estas, resultan indemnes del proceso autoinmunitario <sup>(3)</sup>.

Se cree que después de la destrucción de las células  $\beta$ , el proceso inflamatorio cede y los islotes se vuelven atróficos. Los estudios sobre la insulinitis en seres humanos y en modelos animales con diabetes mellitus tipo 1 (ratón diabético no obeso y ratas wistar de la colonia BB) han identificado las siguientes anomalías tanto en la rama humoral como en la celular del sistema inmunitario: 1) autoanticuerpos contra células de los islotes; 2) linfocitos activados en los islotes, los ganglios linfáticos peri pancreáticos y la circulación generalizada; 3) linfocitos T que proliferan cuando son estimulados con proteínas de los islotes, y 4) liberación de citocinas en el seno de la insulinitis. Las células  $\beta$  parecen ser en especial vulnerables al efecto tóxico de algunas citocinas (factor de necrosis tumoral alfa [TNF- $\alpha$ , tumor necrosis factor alpha], interferón gamma e

interleucina 1 [IL-1]). Se ignoran los mecanismos precisos de la muerte de las células beta, pero tal vez participen formación de metabolitos del óxido nítrico, apoptosis y efectos citotóxicos directos de los linfocitos T CD8+. La destrucción de islotes es mediada por linfocitos T y no por autoanticuerpos contra tal tejido insular, dado que los anticuerpos no reaccionan, en términos generales, con la superficie de las células insulares y no son capaces de transferir la diabetes a animales <sup>(20)</sup>.

#### 2.2.8.2 Diabetes de tipo II. Resistencia a los efectos metabólicos de la insulina.

La diabetes tipo II está producida por una sensibilidad muy mermada de los tejidos efectores a las acciones metabólicas de la insulina. Este síndrome, al igual que la diabetes de tipo I, se acompaña de numerosas alteraciones metabólicas, pero los cetoácidos no suelen elevarse. La diabetes tipo II es mucho más común que la de tipo I <sup>(3)</sup>.

La insulina plasmática está aumentada en la diabetes de tipo II. A diferencia de la de tipo I, la diabetes tipo II se asocia con un incremento de la insulina plasmática. Esto se debe a una respuesta compensadora de las células beta del páncreas por el descenso en la utilización y depósito de los hidratos de carbono y el incremento de consiguiente de la glucemia. No obstante, incluso estas cantidades mayores de insulina no bastan para mantener normal la regulación de la glucosa por la falta de sensibilidad tan considerable de los tejidos periféricos a la insulina. El resultado es una hiperglucemia discreta tras la ingestión de hidratos de carbono en las primeras fases de la enfermedad <sup>(3)</sup>.

**Fisiopatología:** La DM tipo 2 se caracteriza por secreción alterada de insulina, resistencia a la insulina, producción hepática excesiva de glucosa y metabolismo anormal de la grasa. La obesidad, en particular la visceral o central (demostrada por el índice cintura-cadera), es muy frecuente en la DM tipo 2 ( $\geq 80\%$  de los pacientes tiene obesidad). En las etapas iniciales del trastorno, la tolerancia a la glucosa se mantiene casi normal, a pesar de la resistencia a la insulina, porque las células  $\beta$  del páncreas compensan mediante el incremento en la producción de insulina, conforme avanzan la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia compensatoria, los islotes pancreáticos de ciertas personas son incapaces de mantener el estado hiperinsulinémico.

Entonces aparece la IGT, caracterizada por aumentos en la glucosa posprandial. Un descenso adicional en la secreción de insulina y un incremento en la producción hepática de glucosa conducen a la diabetes manifiesta con hiperglucemia en ayuno. Al final sobreviene la falla celular  $\beta$ , aunque tanto la resistencia a la insulina como la secreción alterada de insulina contribuyen a la patogenia de la diabetes mellitus tipo 2, la contribución relativa de cada una varía de una persona a otra <sup>(20)</sup>.

#### 2.2.8.3 Diabetes mellitus gestacional

En este tipo de diabetes se desarrolla una intolerancia a la glucosa que se desarrolla durante el embarazo se clasifica como diabetes gestacional (GDM, gestational diabetes mellitus). La resistencia a la insulina relacionada con las alteraciones metabólicas del final del embarazo aumenta las necesidades de insulina y puede provocar IGT o diabetes. La GDM se presenta en alrededor de 7% (rango de 1 a 14%) de los embarazos en Estados Unidos; la mayoría de las mujeres recupera una tolerancia a la glucosa normal después del parto, pero tienen un riesgo sustancial (35 a 60%) de padecer DM en los siguientes 10 a 20 años. Los International Association Diabetes and Pregnancy Study Groups y la American Diabetes Association (ADA) recomiendan que la diabetes diagnosticada en la visita prenatal inicial, debe clasificarse como diabetes “manifiesta” más que GDM. Con las tasas crecientes de obesidad, el número de mujeres con diagnóstico de GDM o diabetes manifiesta va en aumento en todo el mundo <sup>(21)</sup>.

#### 2.2.9 Fisiología de la homeostasis de la glucosa

Cuando es regulada la glucemia en seres humanos sanos, la glucosa sanguínea se mantiene en un intervalo estrecho pese a las amplias fluctuaciones en el consumo, utilización y producción de glucosa. Las células pancreáticas  $\beta$  son centrales en este proceso homeostático al ajustar la cantidad de insulina secretada con gran precisión para favorecer la captación de glucosa después de los alimentos y para regular la salida de glucosa del

hígado en periodos de ayuno. Las reservas de glucógeno hepático proporcionan parte de esta glucosa; la conversión de precursores de gluconeogénesis, sobre todo lactato, alanina y glicerol a glucosa representa el resto. La regulación dominante de la glucogenólisis y gluconeogénesis hepáticas depende de la insulina y glucagón, hormonas secretadas en los islotes pancreáticos. La ingestión de alimentos constituye un reto sustancial para la homeostasis de la glucosa. Por lo tanto, la captación y eliminación de la glucosa derivada de los alimentos requiere unas coordinaciones eficaces de diversos procesos, intracelulares para evitar modificaciones importantes en las concentraciones plasmáticas de glucosa. En personas sanas, las células beta controlan principalmente las concentraciones de glucosa plasmática. Se requieren elevaciones de la glucemia para la liberación de insulina por arriba de sus cifras basales y otros estímulos son relativamente ineficaces cuando las concentraciones plasmáticas de glucosa en ayuno se encuentran alrededor de 80 a 100 mg/100 ml (4.4 a 5.5 mmol). Como consecuencia, las células beta del páncreas se estimulan desde el momento de la presentación de los alimentos, a lo largo de la absorción de nutrientes y hasta que la glucosa regresa a las cifras de ayuno. La llegada del quimo alimenticio al intestino ocasiona la liberación de péptidos insulino tróficos a partir de células endocrinas especializadas en la mucosa intestinal <sup>(21)</sup>.

El incremento de las concentraciones de insulina circulante disminuye la glucosa en sangre al inhibir la producción hepática de glucosa y estimular la captación y metabolismo de glucosa por el musculo y tejido adiposo. La insulina tiene efectos potentes para disminuir la lipólisis de los adipocitos, principalmente a través de la inhibición de la lipasa sensible a hormona e incrementa el almacenamiento de lípidos al favorecer la síntesis de lipoproteína lipasa y la captación de glucosa por los adipocitos. La mayor parte de la glucosa que se consume durante el ejercicio proviene del gluconeogénesis hepática. La regulación dominante de la producción de glucosa hepática durante el ejercicio proviene de adrenalina y noradrenalina. Las catecolaminas estimulan la glucogenólisis y gluconeogénesis, inhiben la secreción de insulina

e incrementan la liberación de glucagón, todos factores que contribuyen al incremento de la producción de glucosa hepática <sup>(21)</sup>.

#### 2.2.9.1 Efectos fisiofarmacológicos de la insulina

El objetivo principal de la insulina es la reducción de la glucemia, su influencia real es la de promover el almacenamiento de las fuentes energéticas (glucosa y lípidos) y su utilización en las correspondientes células especializadas <sup>(22)</sup>.

##### **\*En el hígado**

Produce la activación de la enzima llamada glucógeno sintetasa, estimulando la síntesis de glucógeno a partir de la glucosa. Inhibe la conversión de ácidos grasos y aminoácidos en cetoácidos y la de aminoácidos en glucosa (gluconeogénesis). Su acción en el hígado es, pues, fundamentalmente opuesta a la que produce el segundo mensajero AMPc; pero la insulina no modifica los niveles basales de AMPc, sino que suprime el aumento de AMPc producido por otras hormonas (glucagón y adrenalina) <sup>(22)</sup>.

##### **\*En el músculo**

Permite el ingreso de glucosa al interior de la célula miosina que no es permeable a la glucosa lo hace por activación del sistema transportador, estimulando el enzima glucógeno sintetasa e inhibiendo la enzima fosforilasa. Al mismo tiempo, estimula el transporte de algunos aminoácidos al interior de la célula y promueve la actividad ribosómica para sintetizar proteínas <sup>(22)</sup>.

##### **\*En el tejido adiposo**

Lo realiza favoreciendo el almacenamiento de grasa en el tejido adiposo. Para ello, reduce la lipólisis intracelular mediante la inhibición de la lipasa intracelular; favorece el transporte de glucosa a las células para generar glicerofosfato, necesario para la esterificación de ácidos grasos y formación de triglicéridos <sup>(22)</sup>.

### **\*Otros efectos**

En el encéfalo existen receptores insulínicos de características similares a las de los situados en órganos periféricos; están distribuidos de manera heterogénea y con predominio en el prosencéfalo y en el sistema límbico-hipotálamo. La insulina, además, favorece el transporte de  $K^+$  en las células; en el riñón favorece la reabsorción de  $Na^+$  y en las gónadas favorece la esteroidogénesis (p. ej., la síntesis de testosterona en el ovario) <sup>(22)</sup>.

### **2.2.9.2 Bases fisiológicas de las pruebas diagnosticadas**

El diagnóstico de la diabetes se realiza a través de métodos muy conocidos que se basan en distintas pruebas químicas a partir de la orina o de la muestras de sangre <sup>(3)</sup>.

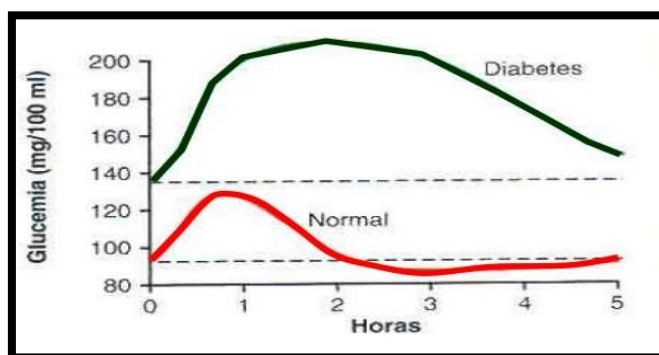
**Glucosuria.** Se pueden emplear pruebas sencillas en consulta o pruebas cuantitativas de laboratorio más complejas para determinar la cantidad de glucosa que se elimina en la orina. En general, una persona sana elimina cantidades indetectables de glucosa, pero un enfermo con diabetes pierde glucosa de forma variable y proporcional a la gravedad de la enfermedad y a la ingestión de hidratos de carbono. La glucosa plasmática en ayunas, en las primeras horas de la mañana, varía normalmente de 80 a 90 mg/100ml, el límite superior de la normalidad se considera de 110mg/100ml. Todo valor de glucemia en ayunas superior a éste suele indicar diabetes mellitus <sup>(3)</sup>.

### **Prueba de tolerancia a la glucosa (Sobrecarga de glucosa)**

La cual se clasifican tres categorías amplias: homeostasis normal de la glucosa, diabetes mellitus y homeostasis alterada de la glucosa. El International Expert Committee con miembros designados por la American Diabetes Association, la European Association for the Study of Diabetes y la International Diabetes Federation han formulado criterios diagnósticos para DM con base en la siguiente premisa la FPG, la reacción a una carga oral de glucosa (prueba de tolerancia a la glucosa oral [OGTT, oral glucosa tolerante test]), y HbA1c varían entre los individuos <sup>(19)</sup>. Como se observa en la parte inferior de la curva de la figura 3, conocida como “curva de la glucosa”, cuando una persona sana ingiere



1 gramo de glucosa por Kilogramo de peso corporal en ayunas, la glucemia se eleva desde aproximadamente 90mg/100ml hasta 120 a 140 mg/100ml y luego retorna a la normalidad en unas 2 horas. La glucosa sanguínea en ayunas de una persona diabética suele encontrarse por encima de 110 mg/100ml <sup>(1)</sup>. La FPG  $\geq 7.0$  mmol/L (126 mg/100 mL), una glucosa  $>11.1$  mmol/L (200 mg/100 mL) 2 h después de la reacción a la glucosa oral, o una HbA1c  $\geq 6.5\%$ , justifican el diagnóstico de diabetes mellitus. La concentración de glucosa plasmática  $\geq 11.1$  mmol/L (200 mg/100 mL) tomada en forma aleatoria y acompañada de los síntomas clásicos de DM (poliuria, polidipsia y pérdida de peso) también basta para el diagnóstico de DM <sup>(20)</sup>.



Fuente: Tratado de fisiología médica <sup>(3)</sup>

Figura 3: Curva de glucosa

## Detección

Se recomienda el empleo generalizado de la FPG y de la HbA1c como pruebas de detección de DM tipo 2 porque: 1) un gran número de los individuos que satisfacen los criterios actuales de DM son asintomáticos y no se percatan de que la padecen, 2) los estudios epidemiológicos sugieren que puede existir DM tipo 2 hasta por un decenio antes de establecerse el diagnóstico, 3) algunos individuos con DM tipo 2 tienen una o más complicaciones específicas de la diabetes al momento de su diagnóstico y 4) el tratamiento de la DM tipo 2 puede alterar favorablemente la historia natural de la enfermedad, el diagnóstico de la prediabetes debe estimular los esfuerzos para prevenir la diabetes. La ADA recomienda practicar estudios de detección inicial a toda persona  $>45$  años, cada tres años, y hacer lo mismo en sujetos en fase más temprana de la vida si tienen sobrepeso [índice de masa corporal (BMI, body

mass index)  $>25 \text{ kg/m}^2$  o una definición relevante desde el punto de vista étnico para sobrepeso] y, además, un factor de riesgo para mostrar diabetes <sup>(20)</sup>.

### 2.2.9.3 Factores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2

Antecedentes familiares de diabetes (p. ej., padres o hermanos con diabetes tipo 2) Obesidad ( $\text{BMI} \geq 25 \text{ kg/m}^2$  o una definición relevante desde el punto de vista étnico para sobrepeso) <sup>(20)</sup>.

#### **\*Inactividad física habitual**

Raza o etnicidad (p. ej., estadounidense de raza negra, hispano estadounidense, americano nativo, ascendencia asiática, isleño del Pacífico) IFG, IGT o una A1c de 5.7 a 6.4% previamente identificada <sup>(21)</sup>.

Antecedentes de GDM o nacimiento de un niño con peso  $>4 \text{ kg}$

Hipertensión (presión arterial  $\geq 140/90 \text{ mmHg}$ ) <sup>(20)</sup>.

Concentración de colesterol de HDL  $<35 \text{ mg/100 mL}$  ( $0.90 \text{ mmol/L}$ ), concentración de triglicéridos  $>250 \text{ mg/100 mL}$  ( $2.82 \text{ mmol/L}$ ) o ambas situaciones.

Antecedentes de enfermedad cardiovascular <sup>(20)</sup>.

**\*Estrés oxidativo:** Cuando hay un exceso de estas moléculas altamente reactivas con capacidad oxidante, ha sido relacionado con importantes acciones deletéreas, como peroxidación lipídica, oxidación de proteínas, daño de ácidos nucleicos, inducción de factores de transcripción como NF $\kappa$ B, estimulación de la hipertrofia y proliferación celular, o inducción de apoptosis <sup>(25,26)</sup>.

La hiperglucemia es una situación inductora de estrés oxidativo, tanto a través de vías enzimáticas como no enzimáticas. Dentro de estas últimas se encuentran la auto-oxidación de la glucosa, los fenómenos de glicosilación avanzada, la vía de los polioles y, de manera crítica, las alteraciones del

metabolismo mitocondrial, habiéndose sugerido que uno de los fenómenos iniciales en el desarrollo de las complicaciones de la DM (Diabetes mellitus) es la formación de ROS (Especies reactivas de oxígeno) por las mitocondrias <sup>(25)</sup>.

En cuanto a las rutas enzimáticas, destaca la vía de la NADPH oxidasa, una importante ruta de producción de anión superóxido a nivel celular y vascular en pacientes diabéticos. Todas las estructuras renales son susceptibles de sufrir daño oxidativo. En la ND (Nefropatía diabética) ha sido demostrada la relación directa entre la severidad de la lesión renal y el grado de estrés oxidativo <sup>(25)</sup>.

### **2.2.10 Tratamiento de la diabetes**

Los objetivos del tratamiento de la DM tipo 1 y 2 son: 1) eliminar los síntomas relacionas con la hiperglucemia; 2) eliminar o reducir las complicaciones de macroangiopatía o macroangiopatía a largo plazo, y 3) permitir al paciente un estilo de vida tan normal como sea posible. Los síntomas de la diabetes suelen resolverse cuando la glucosa plasmática es <11.1 mmol/L (200 mg/100 mL), y por tanto la mayor parte del tratamiento de la enfermedad se centra en lograr el segundo y tercer objetivos <sup>(19)</sup>.

En general, un paciente con diabetes de tipo I grave recibe una sola dosis de una de las insulinas de acción prolongada al día para aumentar el metabolismo de los hidratos de carbono general durante el día. La dieta y el ejercicio se recomiendan, a menudo, a los enfermos con diabetes de tipo II, con la idea de que adelgacen y de que revierta la resistencia a la insulina. Si estas medidas fracasan, se pueden administrar fármacos que aumenten la sensibilidad a la insulina o estimulen la producción de insulina por el páncreas. Sin embargo, muchos enfermos precisan insulina por vía exógena para regular la glucemia <sup>(3)</sup>.

### 2.2.10.1 Tratamiento con insulina

El tratamiento a largo plazo depende principalmente de inyecciones subcutáneas. La administración subcutánea de insulina difiere de la secreción fisiológica de la hormona en dos formas principales: La cinética de absorción no reproduce el incremento rápido y disminución de la insulina endógena en respuesta a la administración de glucosa después de la administración oral o intravenosa. La insulina inyectada se administra a la circulación periférica en lugar de liberarse hacia la circulación portal. Así, la proporción de insulina portal/periférica no es fisiológica y esto puede alterar la influencia de la insulina en el metabolismo hepático. No obstante, la insulina suministrada a la circulación periférica puede causar glucemia normal o casi normal. La degradación metabólica de la insulina tiene lugar fundamentalmente en el hígado y, en menor grado, en el riñón. Por tanto, la semivida de la insulina se prolonga en pacientes con insuficiencia renal. Una fracción de la insulina circulante es degradada por los receptores celulares de insulina y una fracción es degradada mediante su internación en distintas células <sup>(22)</sup>.

### 2.2.10.2 Tratamiento con antioxidante

La intervención dirigida a reducir el estrés oxidativo ha sido postulada como una estrategia terapéutica de utilidad en la ND. Desde el punto de vista no farmacológico, la reducción de peso y la restricción de la ingesta de sodio han sido sugeridas como estrategias útiles. En relación a las estrategias farmacológicas, se han empleado diversos antioxidantes para valorar su potencial beneficio como agentes renoprotectores, aunque los resultados, en general, no han sido consistentes <sup>(25)</sup>.

El empleo de antioxidantes como vitaminas E, C o ácido lipoico en modelos animales demostró efectos beneficiosos sobre la reducción del estrés oxidativo y la protección de estructuras renales frente a este daño. Sin embargo, la traslación clínica de estos resultados ha sido limitada. Estudios clínicos sugieren que las vitaminas C y E pudieran mejorar la función endotelial en los pacientes diabéticos, aunque no hay datos concluyentes en relación a los beneficios sobre la ND. Lo que sí conocemos hoy en día es que los

bloqueadores del sistema renina-angiotensina (SRA), así como las estatinas, fármacos que han sido relacionados con propiedades nefroprotectoras, asocian propiedades moduladoras sobre el estrés oxidativo <sup>(26)</sup>.

### 2.2.10.3 Tratamiento con Glibenclamida.

La glibenclamida es el fármaco que pertenece al grupo de los secretores de insulina, es un hipoglucemiante oral de segunda generación, perteneciente al grupo de las sulfonilureas, estos son derivados de las sulfamidas, en los cuales la estructura sulfonilureas constituye el grupo esencial de la actividad hipoglucemiante. Diversas sustituciones en el anillo bencénico y en el grupo urea han originado compuestos cuya potencia y propiedades farmacocinéticas difieren notablemente. Diversas Sulfonilureas, meglitinidas, agonistas de GLP-1 e inhibidores de dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4) se utilizan como secretagogos para estimular la liberación de insulina. Propiedades de los secretagogos de insulina <sup>(27)</sup>.

Clase/Nombre genérico	Dosis diaria, mg	Duración de la acción, h
<b>Sulfonilureas primera generación</b>		
Clorpropamida	100 – 500	>48
Tolazamida	100-1000	12-24
Tolbutamida	1000-3000	6-12
<b>Sulfonilureas segunda generación</b>		
Glimepirida	1-8	24
Glipizida	5-40	12-18
Glipizida (liberación prolongada)	5-20	24
<b>Glibenclamida</b>	<b>1.25-20</b>	<b>12-24</b>
<b>No Sulfonilureas (meglitinidas)</b>		
Repaglinida	0.5-16	2-6
Nateglinida	180-360	2-4
<b>Agonista de GLP-1</b>		
Exenatida	0.001-0.02	4-6

**Figura 4:** Propiedades de los secretagogos de insulina (La dosis puede ser más baja en algunos pacientes) <sup>(27)</sup>

**Fuente:** Goodman & Gilman

## **Mecanismo de acción y efectos farmacológicos de la glibenclamida**

El mecanismo de acción es aumentar la sensibilidad de las células beta del páncreas a la hiperglucemia e incrementar la secreción de insulina. Se unen a receptores de membrana específicos de células beta del islote de Langerhans con alta afinidad, que están próximo a los canales de  $K^+$ . Al unirse al receptor, se inhibe los canales de  $K^+$  dependiente de ATP y disminuye la permeabilidad de la membrana al  $K^+$  <sup>(28)</sup>.

La inhibición del conducto de  $KATP$  causa despolarización de la membrana celular y una serie de eventos que conducen a la secreción de insulina. La administración aguda de sulfonilureas en pacientes con diabetes tipo 2 incrementa la liberación de insulina del páncreas, también pueden reducir la eliminación hepática de insulina, con lo que se incrementa aún más la concentración plasmática de esta hormona <sup>(29)</sup>.

**Efectos secundarios e interacciones medicamentosas.** El fármaco glibenclamida puede causar hipoglucemia, que podría llegar al coma. Esta es una preocupación en particular en individuos de edad avanzada con alteración de la función hepática o renal y que toman sulfonilureas de acción prolongada (una de las principales razones por las que hoy en día se utilizan con menor frecuencia los fármacos de primera generación). La semivida es larga para algunas sulfonilureas, es necesario vigilar a las personas de edad avanzada con hipoglucemia por 24 a 48 h con soluciones intravenosas continuas con glucosa en un ámbito hospitalario. El efecto hipoglucemiante entre las sulfonilureas puede incrementarse por varios mecanismos (disminución del metabolismo hepático o de la excreción renal, desplazamiento de los sitios de fijación a proteínas). Por ejemplo, algunos fármacos (sulfonamidas, clofibrato y salicilatos) desplazan las sulfonilureas de los sitios de fijación a proteínas, con lo que incrementan transitoriamente la concentración del fármaco libre. El etanol puede incrementar la acción de las sulfonilureas y causar hipoglucemia <sup>(30)</sup>.

La hipoglucemia puede ser más frecuentes en pacientes que toman sulfonilureas y alguno de estos fármacos: andrógenos, anticoagulantes, antimicóticos azólicos, cloranfenicol, fenfluramina, fluconazol, gemfibrozilo, antagonistas H<sub>2</sub> de la histamina, sales de magnesio, metildopa, inhibidores de la monoaminoxidasa (IMAO), probencid, sulfinpirazona, sulfonamidas, antidepresivos tricíclicos y acidificadores urinarios. Otros fármacos pueden reducir el hipoglucemiante de las sulfonilureas al incrementar el metabolismo hepático, aumentar la excreción renal o inhibir la secreción de insulina (antagonistas de los conductos de Ca<sup>2+</sup>, bloqueadores beta, colestiramina, diazóxido, estrógenos, isoniazida, ácido nicotínico, rifampicina, simpaticomiméticos, diuréticos tiacídicos y alcalinizantes urinarios<sup>(31)</sup>).

### **2.2.11 Modelos animales de diabetes mellitus**

Para lograr una inducción cercana a una diabetes ha sido lograda por medio de diversas técnicas experimentales. En 1889, Von Mering y Minkowski, produjeron diabetes experimental e perros mediante la remoción quirúrgica del páncreas. En carnívoros como el perro y el gato se produce un síndrome diabético inestable. En omnívoros y herbívoros como conejos, cabras, cerdos, ovinos, monos aves y peces sólo se presenta un estado diabético caracterizado por glucosuria moderada y cetonuria variable, los modelos mejor estudiados para este síndrome son la rata y el ratón<sup>(32,33)</sup>.

### **2.2.12 Inducción química**

El uso de agentes químicos para producir diabetes, permite realizar estudios detallados de los eventos bioquímicos y morfológicos que ocurren antes y después de la inducción de un estado diabético, existen varias clases de agentes químicos. Los primeros Alozano y el actual STZ, estos compuestos en dosis diabeto génicas actúan específicamente sobre las células beta. Sólo en el hámster chino se ha observado que la estreptozotocina puede dañar a la célula además de la beta<sup>(5)</sup>.

### 2.2.12.1 Estreptozotocina (STZ)

Este antibiótico de uso experimental, utiliza el GLUT2 para entrar a las células  $\beta$  del páncreas donde se descompone y genera estrés oxidativo, produciendo daño y muerte celular con el consecuente déficit funcional de estas células <sup>(7)</sup>.

#### Mecanismo de acción (STZ)

La acción de la estreptozotocina en las células beta está acompañada por alteraciones características en la sangre, la insulina y la glucosa concentraciones. Dos horas después de la inyección, la hiperglucemia se observa con una disminución concomitante en insulina en sangre. Aproximadamente seis horas después, ocurre la hipoglucemia con altos niveles de insulina en sangre. Finalmente, la hiperglucemia se desarrolla y los niveles de insulina en la sangre disminuyen. Estos cambios en la glucosa en sangre y la insulina las concentraciones reflejan anormalidades en la función de la célula beta. La STZ perjudica la oxidación de la glucosa y disminuye la biosíntesis y la secreción de insulina, se ha observado que STZ al principio suprime las respuestas de la célula beta a la glucosa. El retorno temporal de la capacidad de respuesta aparece entonces es seguido por su pérdida permanente y las células están dañadas. La STZ es absorbida por las células  $\beta$  pancreáticas a través de transportador de glucosa GLUT 2. Una expresión reducida de GLUT2 se ha encontrado para prevenir la acción diabetogénicos de STZ, Wang y Gleichmann observó que STZ en sí mismo restringe la expresión de GLUT2 in vivo e in vitro cuando se administra en dosis múltiples. La acción intracelular de STZ da como resultado cambios de ADN en células B pancreáticas que comprende su fragmentación. Reciente en experimentos han demostrado que la razón principal de la muerte de células  $\beta$  inducida por STZ es la alquilación del ADN. La actividad alquilante de STZ está relacionado con su resto nitrosourea, especialmente en el O6 posición de guanina. Después de la inyección de STZ a las ratas, diferentes purinas metiladas se encontraron en los tejidos de estos animales <sup>(8)</sup>.



## 2.3 Hipótesis

### 2.3.1 Hipótesis general

El extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. “Canchalagua” tiene actividad hipoglicemiante en ratas albinas inducidas por estreptozotocina.

### 2.3.2 Hipótesis específica

1. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. “Canchalagua” son los posibles responsables de la actividad hipoglicemiante en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.

2. El extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. “Canchalagua” presenta una dosis optima con mayor actividad hipoglicemiante en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.

3. El extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. “Canchalagua” tienen diferente actividad hipoglicemiante respecto a la glibenclamida en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.

## 2.4 Operacionalización de Variables.

Tabla 1: Operacionalización de Variables

Tipo de variable	Variables	Dimensiones	Indicadores
Variable Independiente	Extracto acuoso de las hojas de <i>Schkurhria pinnata</i> L. “Canchalagua”	-Solubilidad -Tamizaje fitoquímico: metabolitos primarios y secundarios	-Dosis a evaluar: 250mg/Kg, 500mg/Kg y 1000mg/Kg. -Glibenclamida 40mg/Kg -Medición de glucosa en sangre (mg/dl) con el glucómetro Accu-Chek
Variable dependiente	Actividad hipoglicemiante	Dosaje de glicemia	Glucemia

Fuente: Elaboración propia, 2018

### 2.4.1 Marco conceptual

**1. Diabetes mellitus (DM):** Constituye un desorden metabólico resultado de la deficiencia en la secreción de insulina, en la efectividad de su acción o de ambas <sup>(1)</sup>.

**2. Comorbilidad:** Enfermedades más frecuentes además de la diabetes mellitus son hipertensión arterial, la obesidad, y la enfermedad tiroidea además de cáncer como el de mama <sup>(2)</sup>.

**3. GLP-1 (péptido 1 homologó al glucagón):** Es una hormona intestinal, con fuerte carácter de incretinas tanto en personas normales como en pacientes diabéticos tipo 2, ya que provoca una inmediata respuesta del páncreas a estímulos procedentes de la absorción de alimentos (fundamentalmente azúcares y grasas) <sup>(4)</sup>.

**4. Incretinas:** Hormonas que producen en el intestino una respuesta a la ingesta de alimentos <sup>(4)</sup>.

**5. Estrés oxidativo (EO):** Es el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ERO) y/o por disminución de la actividad de enzimas antioxidantes <sup>(5)</sup>.

**6. Flavonoides:** Son compuestos fenólicos de importancia farmacológica por exhibir actividad antioxidante <sup>(5)</sup>.

**7. Taninos:** Son metabolitos secundarios de las plantas, fenólicos, no nitrogenados, solubles en agua y no en alcohol ni solventes orgánicos <sup>(5)</sup>.

**8. Glibenclamida:** Es una sulfonilurea, que tiene un efecto hipoglucemiante agudo ya que actúa sobre las células beta del páncreas estimulando la insulina <sup>(36)</sup>.

**9. Extracto vegetal:** Es el resultado de macerar una planta en un disolvente (alcohol, alcohol + agua, aceite, glicerina, etc.). Gracias al proceso de maceración, los principios activos (que son la parte activa de la planta, la que tiene acción “terapéutica”) del vegetal pasan al disolvente <sup>(37)</sup>.

**10. Estreptozotocina (STZ):** Es un derivado de la nitrosurea aislado de *Streptomyces Achromogenes* con actividad antibiótica y antineoplásica de amplio espectro, y es relativamente selectiva de las células beta <sup>(38)</sup>.

**11. Nefropatía diabética:** Puede estar presente en el 10-25 % de los pacientes con diabetes tipo 2 al momento del diagnóstico las concentraciones de urea y creatinina en circulación son marcadores de referencia de la función renal <sup>(39)</sup>.

## **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA**

### **3.1 Tipo y nivel de investigación**

Tipo: La investigación propuesta obedece al criterio experimental- mixto.

Nivel: Explicativo por tener variables de causa y efecto

### **3.2 Diseño de investigación**

Experimental mixto, debido a que es posible la manipulación de la variable independiente, vinculando en su procedimiento. El diseño muestra las actividades de recolección de los datos y el análisis de estos donde el análisis cualitativo es iterativo recurrente, la cual puede efectuarse con la ayuda de programas computacionales.

### **3.3 Población**

Ratas albinas machos de cepa Holtzman con peso entre los 210 y 215 g con 8 semanas de edad, adquiridos de las instalaciones del bioterio de la facultad de farmacia y bioquímica de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Planta de canchalagua proveniente del departamento de Ancash.

### **3.4 Muestra**

2Kg de plantas de las cuales se usó solo las hojas de *Schkurhria pinnata* L. "Canchalagua" 250g.

42 ratas albinas cepa Holtzman divididas en 6 grupos, cada uno formado por 6 ratas.

### **3.5 Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

El presente estudio tuvo como técnica principal a la observación de carácter estructurada, siendo que la investigación está en el contexto de la objetividad y precisión registradas en las labores cumplidas en el laboratorio por ambos investigadores. (Anexo 14)

### **3.6 Descripción de instrumentos**

Se utilizó una ficha de observación participante para la recolección de datos y anotar todos los procedimientos durante la investigación.

### **3.7 Técnicas de procesamiento de datos y análisis estadístico**

Se procedió a organizar, recolectar y enumerar los datos los cuales fueron ingresados a la base de datos en Microsoft Excel 2017 con sus respectivas codificaciones, paso siguiente fue transferido al programa Minitab para su análisis estadístico (tabla N°10). Se estableció la distribución de los datos mediante medidas de tendencia central, dispersión y forma. La contrastación de hipótesis se llevó a cabo con la técnica ANOVA de un factor, y para la comparación de grupos se utilizó la prueba de TUKEY, los resultados estadísticos fueron plasmados en tablas y figuras considerándose un margen de error estadístico del 0.5%.

### **3.8 Recolección y preparación de la muestra**

La especie vegetal canchalagua fue recolectada en el departamento de Ancash ubicada entre 2000 y 3000 msnm, con un peso de 2Kg de planta en total de las cuales se extrajo un total de 250g de solo hojas (Anexo 2).

Para la clasificación taxonómica de la especie se usó la planta completa hojas, tallo flores y raíz, la cual se realizó en el Museo de Historia Natural de la UNMSM (Anexo 3).

### **3.9 Procedimiento experimental**

El primer paso fue la preparación de extracto acuoso de *Schkurhria pinnata* L. “Canchalagua” y la obtención del extracto seco.

Segundo paso fue antes de iniciar la parte experimental de la actividad hipoglicemiente, se evaluó la inocuidad del extracto acuoso de *Schkurhria pinnata* L. “Canchalagua” a dosis de 2000mg/Kg.

Y el tercer paso fue la parte “Fitoquímica” en donde se trabajó las hojas de la canchalagua para obtener un extracto acuoso, para luego obtener la melcocha la cual nos serviría para: la preparación de una solución y poder dosificar, para las pruebas de Tamizaje fitoquímico, Solubilidad y Cromatografía en capa fina, y la siguiente parte “Farmacológica” donde se pudo evidenciar la actividad hipoglicemiante de *Schkurhria pinnata* L. “Canchalagua” en ratas albinas cepa Holtzman mediante la medición de glucosa por el método de sangrado del seno venoso orbital.

### **3.9.1 Preparación del extracto acuoso**

Para obtener el extracto acuoso, se utilizó las hojas se secaron a 40°C en una estufa con aire circulante, se extrajo los metabolitos activos con la extracción de reflujo por 24 horas en un balón de fondo plano, acoplado a una plancha de calentamiento a una temperatura de 40° C +/- 5°. Se trabaja a esta temperatura para no degradar a los metabolitos presentes (Anexo 4).

Posteriormente se filtró con papel whattman para retener las hojas y quedarnos solo con la solución acuosa con una recuperación del 99.0%. Paso siguiente la obtención de la melcocha la cual se pesa 55g y se lleva a un volumen de 250ml para obtener una concentración de 220mg/ml, se considera la concentración del extracto para dosis posteriores en la parte farmacológica.

### **3.9.2 Obtención del extracto seco**

Para esto una pequeña parte del extracto acuoso (filtrado) lo vertemos a una capsula de porcelana para luego ser llevado a la estufa a una temperatura de 40° C hasta la reducción y formación del extracto seco (melcocha). La melcocha obtenida se guardará en refrigeración de 2 a 8° C hasta su utilización.

### 3.9.3 Toxicidad aguda

El presente trabajo tuvo como objetivo, primero la determinación de la Toxicidad Aguda Oral en ratas, para analizar si el extracto acuoso en estudio causa mortalidad o signos adversos en los animales de experimentación ya que todo producto sintetizado o de origen natural que contienen principios activos, pueden producir efectos no deseados a corto o largo plazo.

#### 3.9.3.1 Evaluación de la toxicidad aguda de la planta *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua”

Se desarrolló la metodología descrita por la Guía OECD –2001 (Método de Clases). Para esto se trabajó con ratas machos con un peso entre los 210 y 215 gramos, procedentes del bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Cayetano Heredia.

Se evaluó la Toxicidad aguda oral del extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L, después del acondicionamiento de 5 días, para esto se hizo uso de una sonda orogástrica a dos grupos de tres ratas cada uno (un grupo con una repetición) y un grupo control (agua destilada).

Se realizaron observaciones diarias, buscando signos o síntomas de toxicidad o efectos adversos y mortalidad en los animales de experimentación. Además, se hizo control visual del agua y alimento *ad libitum*. La prueba incluyó un tratamiento del extracto acuoso con una repetición con la dosis de 2000 mg/Kg de peso corporal. El volumen de administración de la muestra diluida en agua destilada fue de 2.1 ml garantizando la dosis máxima según lo reportado en la guía OECD (2001), al grupo control se le administró agua destilada. La mortalidad fue observada diariamente hasta los 14 días.

Luego de la administración de la dosis, se hizo un seguimiento a los animales para observar si hay mortalidad y si existen conductas anormales (como alteración en la actividad motriz, postración, depresión, irritabilidad) o presencia de signos de toxicidad (como salivación, convulsión, pilo erección, disnea,

diarrea, entre otros). Se realiza registros de peso corporal a los animales de experimentación, para evaluar si hay alteración de aumento o pérdida <sup>(32)</sup>. Los resultados de mortalidad después de los 14 días se observa en la tabla 3.

#### **3.9.4 Prueba de Solubilidad**

Para esta prueba de solubilidad, sacamos de refrigeración la melcocha y tomamos una pequeña cantidad de muestra y la colocamos en seis tubos de ensayo con una cantidad de 5mg, luego se vierte 3mL de solventes del más polar hasta el menos polar, cloroformo, isopropanol, metanol, etanol y agua.

#### **3.9.5 Screening fitoquímico**

Para metabolitos Primarios

Azúcares reductores: 5mg muestra+ 3gotas de Fehling A y B

Almidón: 5mg muestra + 3gotas de Lugol

Cetonas: 5mg muestra+ 3gotas de 2,4D NDP

Aminoácidos: 5mg muestra + 3gotas de Ninhidrina

Para metabolitos Secundarios

Alcaloides: 5mg muestra + 3gotas de reactivos yodados (Wagner, Mayer y Dragendorff)

Compuestos fenólicos: 5mg muestra + 3 gotas de Cloruro férrico

Flavonoides: 5mg muestra + cintas de Mg + 2gotas de HCl concentrado

Taninos: 5mg muestra + 3 gotas de reactivo gelatina 1%



### **3.9.6 Prueba Cromatografía en capa fina**

Para la detección de los compuestos de alcaloides y flavonoides se usó métodos generales o específicos, para la detección de los colores fluorescentes fue a luz UV permitiéndonos detectar sustancias que absorben a la longitud de onda larga 365 nm y longitud corta a 254 nm.

#### **A. Cromatografía en capa fina (Alcaloides)**

Para la prueba de cromatografía se usó una placa cromatografía de la marca Merck (TLC Silicagel F<sub>254</sub>) como fase estacionaria, para nuestro solvente de elución fue Metanol: Agua en proporción de (25:75) respectivamente, y se usó una jeringa en µl para la inoculación de la muestra.

Para la comparación se usó como referencia un estándar de Cafeína en concentración de 10 mg/ mL. Se inyectó 5 µl, caso similar ocurrió con la muestra.

Una vez contenida la placa cromatografía, es sumergida en la fase móvil, donde procederá a la separación de los metabolitos por absorción y polaridad, una vez culminada la elución del activo se saca la placa cromatografía y se lleva a una plancha de calentamiento hasta evaporar el solvente.

#### **B. Cromatografía en capa fina (Flavonoides)**

Para la prueba de cromatografía en capa fina para alcaloides, se usó una placa cromatografía de la marca Merck (TLC Silica gel F<sub>254</sub>) como fase estacionaria, para nuestro solvente de elución fue BAW (Butanol – Agua - Ácido acético glacial) en proporción de (20:15:5) respectivamente, esta mezcla se puso en una pera de bromo de 250 mL y se agitó. Se evidencia la formación de dos fases, la fase móvil es la menos densa. También se usó una jeringa en µl.

Para la comparación se usó como referencia un estándar de Quercetina en concentración de 10 mg/ mL el cual se inyectó 5 µl a la placa cromatográfica, caso similar con la muestra.

Una vez terminada la corrida la muestra es secada en una plancha de calentamiento, hasta evaporación del solvente, se evidencia las manchas en la luz UV a 254 nm y se usa como revelador el tricloruro de aluminio.

### 3.9.7 Actividad farmacológica

Fueron usadas ratas albinas machos (cepa Holtzman) de 8 semanas de edad con un peso promedio de 210 - 215 g; provenientes de las instalaciones del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El proceso de cuarentena para la aclimatación a las condiciones ambientales y conductuales fue de cinco días.

El total de animales para todo el ensayo fueron distribuidos de la siguiente forma: 6 grupo cado uno formado por 6 ratas incluyendo en este a grupo un control negativo. Para la evaluación de la Actividad los tratamientos y sus respectivos valores de concentración ensayados son detallados en la siguiente tabla:

**Tabla2:** Seis grupos para la experimentación de la actividad hipoglicemiante

Grupo	Agente inductor Estreptozotocina (60mg/Kg)	Dosis
1. Control negativo	No	0
2. Control positivo	Si	0
3. Tratamiento 1	Si	250mg/Kg
4. Tratamiento 2	Si	500 mg/kg
5. Tratamiento 3	Si	1000 mg/kg
6. Tratamiento 4 (Glibenclamida 40mg/Kg)	Si	40 mg/kg

Fuente: Elaboración propia, 2018

### **Determinación de la actividad hipoglicemiante en ratas hiperglicémicas**

Previo al inicio de la prueba, todos los animales seleccionados para el estudio fueron restringidos en su alimentación 24 horas antes del ensayo. Los animales fueron mantenidos en jaulas de polietileno con tapas de acero inoxidable que aloja el agua y alimento y distribuidos al azar.

La administración del extracto acuoso de *Schkuhria pinnata L* fue por vía oral y se realizó mediante sonda orogástrica, se administró un volumen de 1 mL del extracto diluido en agua destilada en sus diferentes concentraciones a todos los animales inducidos con diabetes. El suministro de alimento se restableció cuatro horas después de la dosificación.

**Para obtener el efecto hiperglicémico, se procedió a la inducción de diabetes experimental por estreptozotocina (STZ):** El cual fue administrado por vía intraperitoneal <sup>(10)</sup> en un volumen de administración de 0.5 ml, en función de la dosis de 60 mg/kg de peso corporal, disuelto en una solución de buffer citrato de sodio 0.1M estéril. Posterior a las 72 horas de administración, antes de la dosificación se tomaron muestras sanguíneas de las ratas para determinar sus niveles de glucosa basal. Y luego de los 3 días se determinaron glicemias mayores a 200 mg/dl de glucosa, consideradas como una diabetes química positiva <sup>(9)</sup>. Todas las ratas superaron este último valor.

**El grupo control positivo con glibenclamida,** se administró por vía oral con una sonda orogástrica a un volumen máximo fue de 1ml, en función de la dosis de 40 mg/kg de peso corporal, hasta los 28 días de experimentación.

### **Para la medición de glucosa en sangre, se procedió a la Técnica de extracción de sangre**

Las muestras sanguíneas de los animales de experimentación se obtuvieron por utilización del Método de sangrado del seno venoso retroorbital.

Esta técnica se realizó puncionando la vena ocular. El sangrado por la vía retroorbital es un método útil para obtener óptimas muestras. Una gota de la muestra sanguínea de los animales tratados es colocada en la tira reactiva

respectiva para su lectura en el glucómetro marca ACCU-CHEK. Este procedimiento se hizo en todos los animales de todos los grupos ensayados.

### **Diseño experimental de la actividad hipoglicemiante:**

Se utilizaron 42 ratas machos, las cuales se dividieron en 6 grupos:

**Grupo 1 control negativo:** Seis ratas normoglicémicas sin tratamiento (agua destilada).

**Grupo 2 control positivo:** Seis ratas inducidas con STZ (diabéticas) sin tratamiento.

**Grupo 3 Tratamiento 1:** Seis ratas hiperglicémicas a las que se les administro extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. “*Canchalagua*” a dosis de 250 mg/kg.

**Grupo 4 Tratamiento 2:** Seis ratas hiperglicémicas a las que se les administro extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. “*Canchalagua*” a dosis de 500 mg/kg.

**Grupo 5 Tratamiento 3:** Seis ratas hiperglicémicas a las que se les administro extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. “*Canchalagua*” a dosis de 1000 mg/kg.

**Grupo 6 Tratamiento 4:** Seis ratas hiperglicémicas a las que se les administro glibenclamida a dosis de 40mg/Kg.

El estudio duro 28 días. Al final del ensayo los animales fueron pesados y sacrificados por dislocación cervical.

### **Evaluación de la glicemia**

**Basal:** Medición de la glucosa después de 5 días de acondicionamiento de las ratas normoglicémicas en el bioterio.

**Día 0:** Semana de pre-tratamiento, se midió glucosa basal de los animales de experimentación en los basales (control negativo), control positivo, grupo tratados con glibenclamida y las tratadas con distintas dosis del extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. “*Canchalagua*”.

**Día 7:** Semana 1 Post inducción con STZ, se midió glucosa de todos los animales de experimentación, tanto a los que se les administró STZ como a los que no. En el inicio de la semana, empezó el tratamiento con extracto acuoso

de *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua", en las tres dosis y se administró Glibenclamida al grupo tratado con glibenclamida.

**Día 14:** Semana 2 Post inducción con STZ. Se continuó con el tratamiento con extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua", y se midió la glucosa de todos los animales de experimentación. Se continuó con la administración de glibenclamida al grupo tratados con glibenclamida.

**Día 21:** Semana 3 Post inducción con STZ. Penúltima semana de tratamiento con extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L., se midió la glucosa de todos los animales de experimentación. Se continuó con la administración de glibenclamida al grupo tratados con glibenclamida.

**Día 28:** Semana 4 Post inducción con STZ. Última semana de tratamiento con extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua" se realizó la última medición de glucosa de todos los animales de experimentación como se muestra en la (tabla N 8).

### **Condiciones de ensayo**

Las condiciones de temperatura, humedad y fotoperiodo en el tiempo de experimentación se registraron en los siguientes rangos: temperatura = 22 + 2°C; humedad = < 70 %; 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. El consumo de agua y alimento fue ad libitum. Los parámetros ambientales registrados en el área donde se desarrolló la prueba corresponden a los siguientes:

Temperatura	(°C):	21,4,	Humedad	(%).
-------------	-------	-------	---------	------

## CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 4.1 Limite de toxicidad aguda

**Tabla 3:** Limite de toxicidad aguda de *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua”

Dosis(mg/Kg rata)	<i>Schkuhria pinnata</i> L. “CANCHALAGUA” de ratas albinas machos	Pesopromedio por grupo	Al final de los 14días Muertos/Total
2000	3	222.17g	0/3
2000	3	220.85g	0/3
(repetición)	3	226.42g	0/3
Control	3		

Fuente: Elaboración propia, 2018

En el día 14 tenemos como resultado cero mortalidades para el límite de toxicidad a dosis de 2000 mg/Kg esto nos evidencia que el extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua” es inocua y no producirá efectos no deseados a corto o a largo plazo.

## 4.2 Prueba de solubilidad

Los resultados de la prueba de solubilidad se observan en la tabla 4.

**Tabla 4:** Prueba de solubilidad

PRUEBA DE SOLUBILIDAD		
Solventes	Extracto seco	Resultado de Solubilidad
Metanol	Extracto seco en tubos de ensayo	S°
Etanol		S°
Cloroformo		Ins°
Agua		Ps°
Isopropanol		Ins°

Fuente: Elaboración propia, 2018

Según los ensayos de solubilidad del extracto seco, este es soluble en metanol, etanol y poco soluble en agua.

Leyenda:(Ins°) Insoluble, (Ps°) poco soluble, (S°) soluble

### 4.3 Screening fitoquímico

**Tabla 5:** Identificación de Metabolitos primarios

Los resultados de la identificación de metabolitos primarios se observan en la tabla 5.

Identificación de metabolitos primarios en las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. "canchalagua".		
Metabolitos Primarios	Reactivo de identificación	Resultado
Azucares reductores	Fehling A y B	Precipitado anaranjado ladrillo (+++)
Almidón	Lugol	Coloración oscura (-)
Cetonas y aldehído	2,4 DNPH	Coloración amarillo(+++)
Aminoácidos	Ninhidrina	Color violeta (+++)

Fuente: Elaboración propia, 2018

Leyenda:(-) Ausencia, (+) Poco, (++) Regular, (+++) Abundante

Según el ensayo fitoquímico el extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua" se obtuvo la presencia de disacáridos, cetonas aldehídos y aminoácidos.



**Tabla 6:** Identificación de metabolitos secundarios

Identificación de Metabolitos secundarios en las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. "Canchalagua"		
Metabolitos secundarios	Reactivo de identificación	Resultado
Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco (+)
	Wagner	Precipitado marrón (+++)
	Dragendorff	Precipitado naranja (+++)
Flavonoides	Shinoda	Color púrpura (+++)
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	Verde oscuro (+++)
Taninos	Gelatina al 1%	Precipitado blanco (+++)
Quinonas	Reacción de Bortranger	Color anaranjado (+++)

Fuente: Elaboración propia, 2018

Según el ensayo fitoquímico el extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua" se obtuvo la presencia importante de metabolitos como: Alcaloides, compuestos fenólicos y flavonoides.

Leyenda:(-) Ausencia, (+) Escaso, (++) Regular, (+++) Abundante

#### 4.4 Cromatografía en capa fina

Tabla 7: Prueba cromatográfica en capa fina

Estándar referencial	Eluyente	Reactivo Revelador	Manchas de desplazamiento a 254nm
Alcaloides (estándar de Cafeína 10mg/ml)	Metanol-Agua (25 / 75)	Ácido sulfúrico al 2 % y reactivo de Dragendorff	Manchas anaranjadas
Flavonoides (estándar de Quercetina 10mg/ml)	Butanol –Agua- Ácido acético glacial (20 : 15 : 5)	Tricloruro de aluminio	Manchas amarillas

Fuente: Elaboración propia, 2018

Para la identificación de alcaloides se evidencio que al comparar con el estándar de referencia cafeína las manchas anaranjadas en ambas siembras resultando positivo (Figura 15).

Para la identificación de flavonoides se evidencio que al comparar con el estándar de referencia Quercetina las manchas amarillas en ambas siembras resultando positivo (Figura 16).

Las muestras en análisis de *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua” dio positivo en ambos casos cabe decir que es una confirmación del screening fitoquímico.

#### 4.5 Niveles séricos de glucosa en sangre

**Tabla 8:** Niveles séricos de glucosa en sangre (mg/dL)

Grupo/Dosis	Glucosa sérica (mg/dl)						Nivel de confianza
	Basal	Día 0	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	
Control negativo	90 ± 3.46	111 ± 5.35	107.5 ± 8.02	110.17 ± 8.17	113 ± 6.40	115.33 ± 5.65	-
Control positivo	90.33 ± 2.88	394.83 ± 17.38	418.5 ± 14.65	445.67 ± 14.95	467.17 ± 9.79	484 ± 3.74	95%
Glibenclamida 40 mg/kg	88.33 ± 3.08	348.67 ± 26.01	235.83 ± 14.08	164.33 ± 14.04	125.67 ± 13.78	93.5 ± 5.17	95%
250 mg/kg	90.33 ± 3.30	377.83 ± 35.26	357.5 ± 31.66	331.5 ± 39.57	303.17 ± 37.02	265.67 ± 31.39	95%
500 mg/kg	96.33 ± 3.35	413.67 ± 13.55	391 ± 12.91	337.17 ± 12.92	261 ± 16.35	206.67 ± 9.05	95%
1000 mg/kg	91.33 ± 3.72	353.67 ± 24.32	284 ± 14.82	228.5 ± 7.29	165.83 ± 12.69	115.17 ± 7.63	95%

Fuente: Elaboración propia, 2018

En esta tabla 8, se muestra los valores promedio de glucosa en sangre (mg/dL) de los 6 grupos conformado cada uno de ellos por 6 ratas, al final del tratamiento día 28, el valor de \*  $p < 0.05$ , Existen diferencias honestamente significativas entre las dosis de tratamiento (250,500 y 1000mg/Kg) al 95% de confianza con respecto al control negativo (ratas hiperglicémicas).

#### 4.6 Contrastación de la hipótesis

Con la finalidad de realizar la contrastación de la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso de las hojas de *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua”, se establece primero dos hipótesis:

**Hipótesis nula ( $H_0$ ):** Las tres dosis del extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua” (250, 500 y 1000 mg/Kg) presentan igual actividad hipoglicemiante.

**Hipótesis alterna ( $H_a$ ):** Al menos una de las tres dosis de *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua” (250, 500 y 1000 mg/Kg) grupo presentara mayor actividad hipoglicemiante.

**Tabla 9:** Análisis de varianza de una vía (ANOVA)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	657866.2222	5	131573.2444	556.86	1.27E-28	2.53
Dentro de los grupos	7088.333333	30	236.2777778			
Total	664954.5556	35				

Fuente: Elaboración propia, 2018

Los resultados de la tabla 9 nos demuestra el resultado de probabilidad 1.27E-28 menor a 0.05, esto nos da un nivel de confianza de 95%, por lo tanto, rechazamos la hipótesis nula ( $H_0$ ) y aceptamos la alterna ( $H_a$ ).

#### 4.7 Análisis múltiple posterior

**Tabla 10:** Análisis múltiple posterior: Prueba de Tukey

Diferencia honestamente significativa	HSD	26.98
Multiplicador (Valor Q alfa de Tukey)	Mul.	4.3
Cuadrado de error medio (suma de cuadrados y grados de libertad dentro los grupos)	Mse	236.28
Tamaño de cada uno de los grupos (número de elementos en cada grupo-cuenta)	n	6

Fuente: Elaboración propia, 2018

En esta tabla 10 queda demostrado el valor de HSD = 26.98, los valores menores a este dato son los grupos que hacen la diferencia significativa (como valor absoluto), por lo tanto, son los que mostrarían actividad hipoglicemiante.

#### 4.8 Grupos significativos con actividad hipoglicemiante.

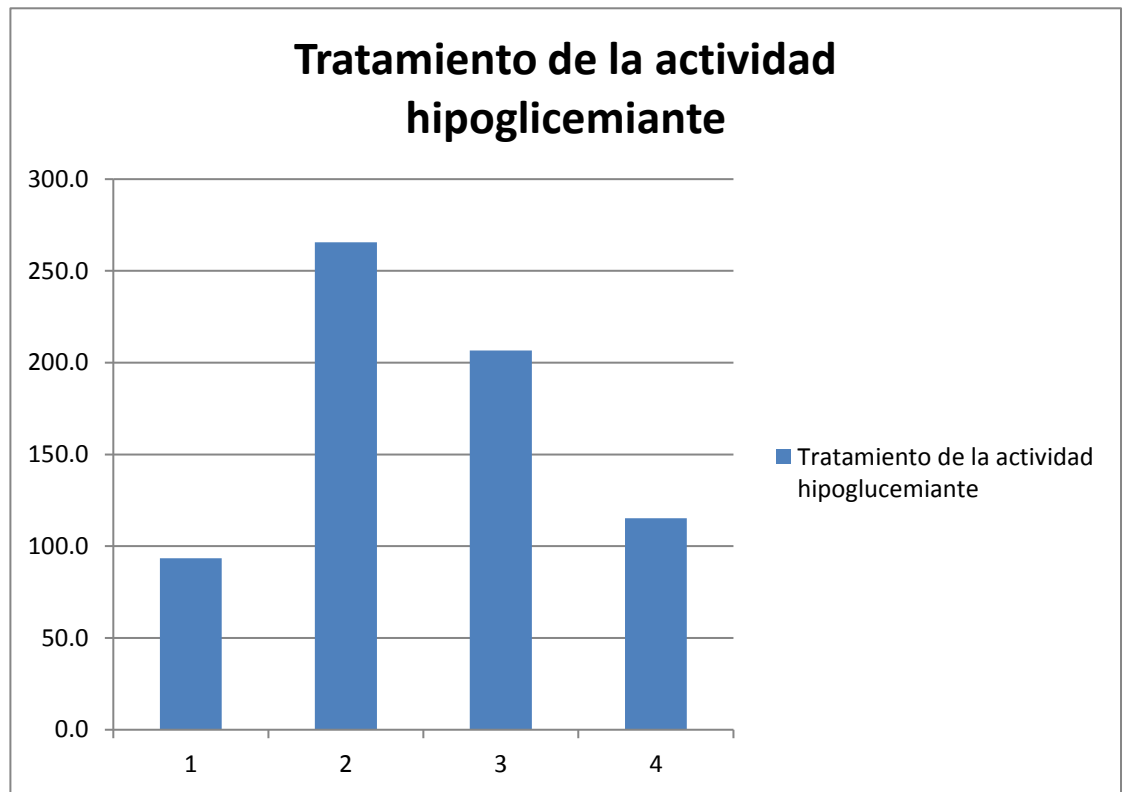
Grupos experimentales	N (Numero de muestra por grupo)	Agrupación
2 (Grupo Control positivo)	6	A
3 ( <i>Schkuhria pinnata</i> L250mg/Kg)	6	B
4 ( <i>Schkuhria pinnata</i> L 500mg/Kg)	6	C
1 (Grupo Control negativo)	6	D
5 ( <i>Schkuhria pinnata</i> L 1000mg/Kg)	6	D
6 (Tratamiento N°4 Glibenclamida 40mg/Kg)	6	D

**Tabla 11:** Grupos significativos con actividad hipoglicemiante

Fuente: Elaboración propia, 2018 (Minitab)

En esta tabla 10, nos da como resultado que los grupos marcados con la letra D significan que son significativamente iguales por lo tanto la dosis de 1000mg/Kg tiene efecto hipoglicemiante al ser comparado con el grupo control negativo y los del grupo tratado con glibenclamida, las otras letras A, B Y C son significativamente diferente sin actividad hipoglicemiante.

**Figura 5:** Cuadro comparativo de dosis para el tratamiento de hiperglicemia



Fuente: Elaboración propia, 2018

La barra 1 tratamiento con glibenclamida 40mg/Kg

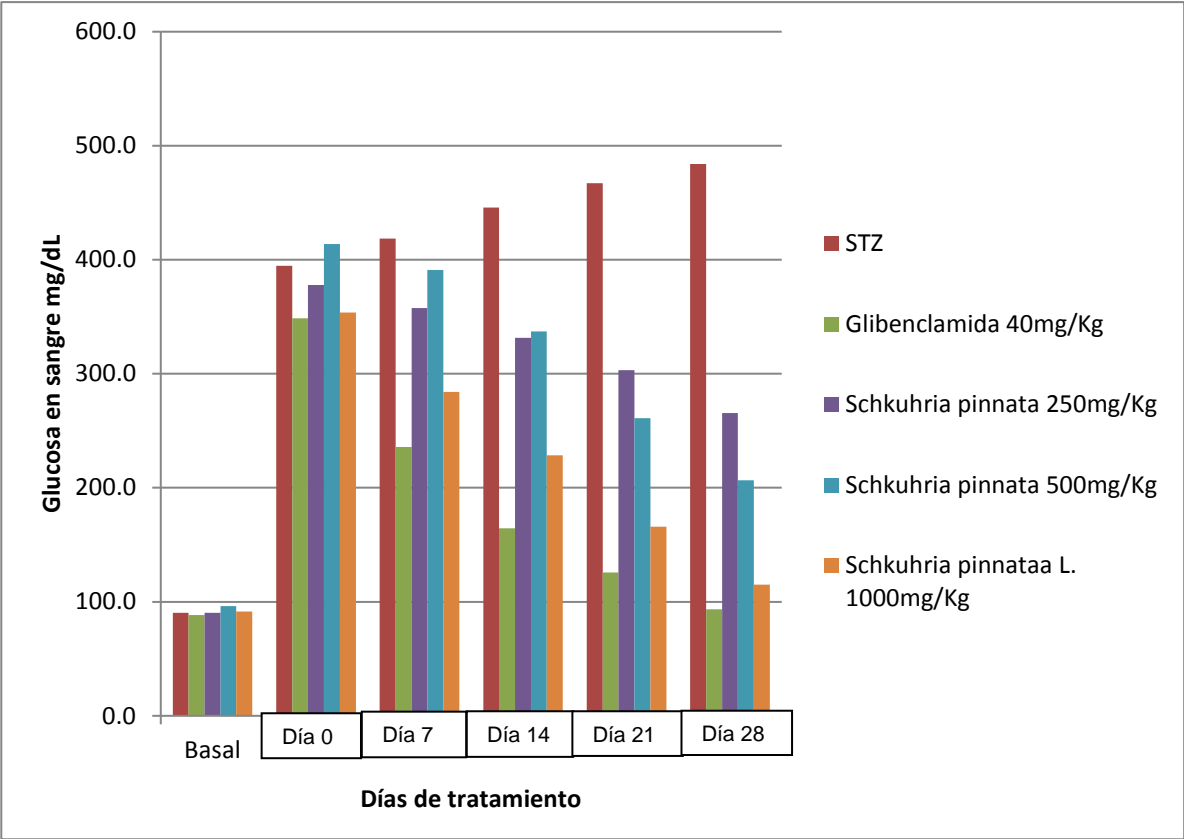
La barra 2 tratamiento con *Schkuhria pinnata* L. a dosis de 250mg/Kg

La barra 3 tratamiento con *Schkuhria pinnata* L. a dosis de 500mg/Kg

La barra 4 tratamiento con *Schkuhria pinnata* L. a dosis de 1000mg/Kg

Este cuadro comparativo en barras se trabajó con las media aritmética de los grupos mencionados en el día 28 del tratamiento y se observa claramente la diferencia significativa de la barra 4 con respecto a las barras 2 y 3 , y si muy similar al de la barra 1 confirmando la prueba de Tukey.

**Figura 6:** Niveles séricos de glucosa en sangre (mg/dL) en ratas albinas



Fuente: Elaboración propia, 2018

Esta figura N°6 nos muestra el comportamiento de los niveles de glucosa en sangre post tratamiento: basal (Control negativo), día 0, día 7 día 14, día 21 y día 28, en ratas albinas macho cepa holtzman (ver anexo 12), en el cual se aprecian los resultados desde la inducción día 0 al comparar con el Basal (control negativo), luego al empezar el tratamiento del día 7 se aprecia que el grupo significativamente diferente es de la dosis de 1000mg/Kg respecto a las demás dosis de 250 mg/Kg y 500mg/Kg, esta dosis más alta muestra similitud en la actividad hipoglicemiante del grupo tratado con glibenclamida 40mg/Kg en el día 28 con valores de 93.5mg/dL y 115mg/dL respectivamente.

## 4.9 Discusión de resultados

La solubilidad del extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua” muestra ser soluble en metanol y alcohol de 96°; una solubilidad moderada al agua destilada, esto podría dar indicio de que hay compuestos químicos de alta polaridad en el extracto acuoso de las hojas de canchalagua (ver tabla N 4), estos resultados son similares a los obtenidos por el investigador Káiser *et al* <sup>(14)</sup> en su tema titulado “Sesquiterpenos lactonas y otros constituyentes provenientes de *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua” realizaron un estudio previo con el incremento de la polaridad con solventes orgánicos como metanol y agua para aislar componentes químicos y luego aislarlos y cuantificarlos, definió el agua como solvente para la obtención del extracto de la planta en estudio, concordando con el consumo de la forma de infusión de las hojas de la planta medicinal antidiabética en estado fresco como lo menciona Moreno y Molinelli <sup>(13,15)</sup>. En la investigación de la forma de uso como infusión para el tratamiento antidiabético.

La marcha fitoquímica del extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua” (tabla 5 y 6), evidencio que hay presencia de metabolitos primarios, los mismos que poseen una importancia fundamental para el crecimiento y desarrollo de la especie vegetal, también con una relevancia para el metabolismo secundario. Se evidencia la presencia de principios activos como antraquinonas, compuestos fenólicos así como alcaloides y flavonoides. Estos resultados concuerdan con lo investigado por Song Y *et al* <sup>(25)</sup> en su tema de investigación “Asociación dietaria de flavonoides para pacientes con diabetes tipo 2” el cual con un grupo de investigadores caracterizaron y determinaron que los flavonoides poseen actividad hipoglicémica como propiedades antioxidantes mencionan que algunos flavonoides poseen esta actividad porque disminuyen las elevaciones de la glucosa y metabolitos oxidativos producidos por el estado diabético, otra comparación de los metabolitos obtenidos en el screening es con los investigado por Kaiser *et al* <sup>(14)</sup> donde menciona que los componentes químicos como flavonoides, sesquiterpenos y lactonas las cuales señala que poseen una potenciación para inhibir la función biológica de la diabetes.

La investigación de Bequer *et al* <sup>(10)</sup> en su tema titulado “Inducción de hiperglucemias moderadas en ratas wistar por inoculación neonatal de estreptozotocina. ¿Inyección subcutánea intraperitoneal?” demostraron que para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 la cual provoca resistencia a la insulina y disfunción parcial de las células beta del



páncreas, que junto a síntomas de hiperglucemia, desbalance metabólico y estrés oxidativo así como las especies reactivas de oxígeno para control este desarrollo químico descontrolado se necesita de antioxidantes, como lo determinan distintas investigaciones para este fin se recurre al estudio experimental en plantas hipoglucemiantes con altas cantidades de antioxidantes los principales metabolitos secundarios con estos efectos serian: taninos, flavonas, triterpenoides, esteroides, saponinas y alcaloides entre otros, esta investigación nos da un gran aporte y sustento a lo obtenido en screening fitoquímico entre ellos los flavonoides y taninos .

El resultado confirmatorio de los metabolitos secundarios del extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua" encontrados cualitativamente en el Screening fitoquímico para alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos y taninos son similares a los obtenidos en el extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua" investigado por Ramírez <sup>(8)</sup>, pero la diferencia entre los dos extractos es que en el extracto acuoso se obtuvo además otros metabolitos secundarios como: taninos condensados, antraquinonas.

Para seleccionar el inductor entre Aloxano o estreptozotocina se optó por estreptozotocina la más usada en la mayoría de inducciones a diabetes los resultados fueron óptimos al 3er día como lo realizo en su investigación Szkudelski<sup>(11)</sup>. La vía de administración fue la intraperitoneal fue la vía optada y con buenos efectos como en una investigación que optaron por la mejor vía entre intraperitoneal y subcutánea optamos ellos también optaron por la vía intraperitoneal según Lecca et al<sup>(5)</sup> y en su investigación del efecto hipoglucemiante del extracto liofilizado de *Abuta ruferencens* en ratas con diabetes tipo 2 (60mg/Kg), la concentración de glucosa en sangre fue de 480 a 490mg/Kg, con esta evidencia se procedió a realizar la parte experimental. Para el control positivo de glibenclamida a 40mg/Kg dosis que no produce toxicidad aguda en ratas según ficha técnica española AEMPS como lo realizaron en sus investigaciones Chávez <sup>(12)</sup> y Tuco <sup>(7)</sup> en su proyecto de investigación evaluación de un modelo de diabetes tipo 2.

En la variación del efecto en los altos niveles de glucosa en sangre del extracto acuoso de canchalagua en su menor concentración 250mg/Kg, desde el día 0 de una hiperglucemia de 377.8 a 265.7mg/dL en el tiempo total de tratamiento día 28, cercano a los 200mg/dL que es el límite máximo para arriba considerar a las ratas como hiperglicémicas, como lo establecieron sus investigaciones Aranda y Vélez <sup>(6,9)</sup>, estas

concentraciones del extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua" muestran actividad hipoglicemiante en especial la de 1000mg/Kg, así como la del extracto metanólico dosificado en menos concentraciones 20 y 40mg/Kg a ratas albinas la cual las indujo a diabetes con esptreptozotocina y en su resultado final muestran ambas dosis poseer la actividad hipoglicemiante en la investigación de Zúñiga et al<sup>(4)</sup>.

Al final del tratamiento día 28 se observa en el grupo N°1 control negativo este grupo fue el control blanco sin ningún inductor ni tratamiento, tenemos resultados basales promedio de 90+/- 3.46 y al final del tratamiento día 28 con nivel de 115.33+/- 5.65, se evidencia que en ratas jóvenes (8 semanas) el estrés que origina más producción de catecolaminas las cuales producen mayor cantidad de glucosa en sangre es un factor que resalta más en comparación con las ratas adultas que controlan más el estrés como lo expone en su investigación Gonzales<sup>(38)</sup>.

Para dar más relevancia a nuestra investigación del extracto acuoso de *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua", hemos demostrado que si tiene actividad normoglicémicos al tratamiento de diabetes mellitus, corroboraría a otra investigación realizada por Moreno et al <sup>(13)</sup> en Ecuador donde sustentaron que *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua" no presenta efecto biológico antidiabético, esta investigación etnobotánica de 350 especies realizada en el Ecuador encuestaron y obtuvieron que los más usados son plantas medicinales pertenecientes a la familia de Asteraceae los cuales fueron *Artemisia absintium*, *Chuquiraga jussieui*, *Cynaras colymus*, *Schkuhria pinnata* y *Taraxacum officinale*, su uso medicinal antidiabético es realizado por infusiones, en la investigación trabajaron con extracto acuoso de las hojas de plantas frescas tal cual hemos realizado misma dosificación de 1000mg/Kg, pero difiere a nuestra investigación, en que trabajan comparación estadística de tolerancia a la glucosa en ratas y solo realizan en intervalos de tiempo corto de 30, 60 y 120 minutos, en el tratamiento de la especie ellos llevan a molienda, en la extracción ellos usan para la extracción de metabolitos secundarios una temperatura cerca al punto ebullición del agua y por el tiempo máximo de una hora trabajando su extracto a una concentración de 125mg/ml, se basan en una dosificadas a 1000mg/Kg con el extracto acuoso de las 5 plantas donde a cada grupo se administra con 40% de glucosa, donde se observa hiperglucemia que sobrepasa los límites de 200 mg/dL, en *Chuquiraga jussieui* y *Schkuhria pinnata* L. "Canchalagua". Probablemente la mejor actividad que hemos conseguido con extracto acuoso de las hojas de la Canchalagua, en comparación con los obtenidos por esta investigación, se deberá al tiempo más prolongado de tratamiento 28 días y la forma de obtención del extracto

acuoso de la droga cruda y a su alto contenido cualitativo de flavonoides, alcaloide, antraquinonas y taninos, ya que la diabetes está asociada a al incremento de radicales libres como lo confirmo Tucto <sup>(7)</sup>, en su investigación para tratar la diabetes con mayor contenido de antioxidantes serian una terapia efectiva para prevenir y contrarrestar a la diabetes crónica, este efecto antioxidante puede reducir y prevenir la formación de radicales libres que inducen a daños oxidativos en varias biomoléculas esenciales.

## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### CONCLUSIONES

1. La presencia de metabolitos secundarios tales como: Alcaloides, compuestos fenólicos (flavonoides y taninos condensados) y antraquinonas son los posibles responsables de la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. "Canchalagua" en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.
2. Considerando las tres dosis: 250 mg/Kg; 500mg/Kg y 1000mg/Kg, la dosis de 1000(mg de extracto seco/Kg de peso de rata) tiene mayor actividad hipoglicemiante.
3. El extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. "Canchalagua" a dosis de 1000mg/Kg presenta una menor actividad hipoglicemiante respecto a la glibenclamida 40mg/Kg.

## RECOMENDACIONES

1. Aislar los metabolitos secundarios detectados en el extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. "Canchalagua", para cuantificar mediante técnicas instrumentales, con detectores más sensibles como el de masas y así determinar cuál de los metabolitos se encuentra en mayor proporción con respecto a los otros metabolitos secundarios, la cual está posibilitando una actividad hipoglicemiante.
2. Realizar estudios complementarios con otros solventes a diferentes concentraciones del extracto acuoso de las hojas de *Schkurhria pinnata* L. "Canchalagua" en modelos experimentales.
3. Realizar trabajos experimentales con un intervalo de tiempo más amplio en las dosis evaluadas desde la más baja 200mg/Kg que podría tener una tendencia constante a niveles normoglicemicos y la más alta de 1000mg/Kg, ya que esta última dosis probablemente a más tiempo de tratamiento podría causar shock hipoglicémico con valores inferiores a 50mg/dL.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Estratégicas en Salud Pública (MINSA) [Internet]. Perú. Ministerio de Salud; c2016. Guía práctica clínica para el tratamiento y control de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención. Dirección General de Intervenciones. 2016 [citado 12 jun 2018]. Disponible en :<http://bvs.minsa.gob.pe/php/index.php>
2. Ramos W. et al. Resultados de la Vigilancia Epidemiológica de Diabetes Mellitus en Hospitales notificantes del Perú. Rev. Perú. Med.exp. salud 2014; 31(1):9-15.
3. Hall J, Guyton A. Tratado de fisiología médica. 10ma ed. U.S.A: editorial Mc Graw-Hill; 2000.
4. Zúñiga G, et al. Evaluación de la expresión del gen GLP-1 (péptido 1 homólogo al glucagón) en ratas inducidas a Diabetes Mellitus tipo 2 tratadas con extracto metanólico de *Schkuhria pinnata* Canchalagua. Revista del encuentro científico internacional. 2013; 10(1):98-103.
5. Leca Chistama J, Rojas Vásquez J. Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso liofilizado de *Abutarufescens*, en ratas con diabetes mellitus tipo 2, inducidas con estreptozotocina IMET-ESSALUD. Iquitos 2011. [Tesis pregrado]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2011.
6. Aranda V, et al. Efecto de los extractos de *Geranium ayavacense* w (Pasuchaca) sobre la glicemia en ratas con diabetes mellitus experimental. Rev. Perú Med.exp. salud 2014; 31(2):261-6.
7. Tucto Bello A. Análisis proximal, polifenoles totales, ácido ascórbico y actividad secuestrante de Radicales libres (DPPH<sup>+</sup>) de la pulpa liofilizada de Camu-Camu (*Myrciariadubia* Mc. Vaughn Kunth) y su efecto sobre la glucosa sérica, perfil lipídico y actividad antioxidante en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina. Lima 2015 [Tesis de grado]. Lima: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Cayetano Heredia; 2015.
8. Ramírez C. Efecto gastroprotector diurético y sobre la motilidad intestinal del extracto etanólico de *Schkuhria pinnata* L. Kuntze “Canchalagua” en ratas albinas”. Lima 2010 [Tesis de grado]. Lima: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010.
9. Vélez Sara, et al. “Estandarización del modelo de diabetes experimental inducida por estreptozotocina en ratas sprague-dawley”. Revista Médico Científica 2015; 28(1):4-13.

10. Bequer L, et al. Inducción de hiperglucemias moderadas en ratas wistar por inoculación neonatal de estreptozotocina. ¿Inyección subcutánea intraperitoneal? Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo. 2014; 51(4), 178-184.
11. Szkudelski T. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in  $\beta$  Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res* 2001; 50(6): 537-46.
12. Chávez Amaya A, et al. Evaluación de un modelo de diabetes tipo 2 para estudiar la actividad hipoglicemiante de la glibenclamida. *Revista Mexicana de ciencias farmacéuticas*. 2007; 38(3), 5-11.
13. Moreno Maldonado K, et al. "Investigaciones etnobotánicas, fotoquímicas, antioxidantes y preclínica en cinco plantas medicinales que se consumen como antidiabéticas en Machala, provincia de el oro, Ecuador". *Revista multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente* 2016;28(3): 546-557
14. Kaiser Arcel, et al. Antiprotozoal Sesquiterpene Lactones and Other Constituents from *Tarhonanthus camphoratus* and *Schkuhria pinnata*. *Journal of Natural Products*, 81(1), 124-130, 2018.
15. Molinelli María L, Planchuelo A. *Farmacoplasmas Canchalagua (Schkuhriapinnata)*. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 2017; 30(1):56-70.
16. Hernández, R. et al. *Metodología de la Investigación*. 5ta ed. México: McGraw-Hill; 2014.
17. León A. et al. Sesquiterpeno lactonas, acilfenil propanoides y otros constituyentes de *Schkuhria pinnata* var. *Wizliseni*. Evaluación antioxidante. *J. Mex. Chem. Soc.* 2009; 53(3) 193-200.
18. La Revista plantas medicinales de los Andes y la Amazonia "La flora mágica y medicinal del norte del Perú [Internet]. *Missouri Botanical Garden*; 2015. Nov [citado 2018 agosto 14]; [1 pantalla]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Rainer\\_Bussmann/publication/283355334\\_PLANTAS\\_MEDICINALES\\_DE\\_LOS\\_ANDES\\_Y\\_LA\\_AMAZONIA\\_La\\_Flora\\_magica\\_y\\_medical\\_del\\_Norte\\_del\\_Peru/links/563a6f7808ae405111a5883f/PLANTAS-MEDICINALES-DE-LOS-ANDES-Y-LA-AMAZONIA-La-Flora-magica-y-medical-del-Norte-del-Peru.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Rainer_Bussmann/publication/283355334_PLANTAS_MEDICINALES_DE_LOS_ANDES_Y_LA_AMAZONIA_La_Flora_magica_y_medical_del_Norte_del_Peru/links/563a6f7808ae405111a5883f/PLANTAS-MEDICINALES-DE-LOS-ANDES-Y-LA-AMAZONIA-La-Flora-magica-y-medical-del-Norte-del-Peru.pdf)
19. Salvador Escorcía. "Hipoglucemia por fármacos antidiabéticos". *Revista de endocrinología y Nutrición* 2009; 17(3): 120-128.
20. HARRISON PRINCIPIOS DE MEDICINA INTERNA. VOL.I. 19a ed. México: McGraw-Hill interamericana; 2015.

21. GOODMAN & GILMAN. Las bases farmacológicas de la terapéutica.VOL. II.12va ed. México: McGraw-Hill Interamericana, 2012.
22. Jesús Flores. Farmacología humana. Vol. II. Quinta ed. España: Elsevier Masson.SL, 2008.
23. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentosas. Ediciones Omega. Barcelona. 2000.
24. Fernández M. et al. Fisiopatología de la diabetes. Nefro plus 2008; 1(1)28-38.
25. Song Y. et al. Association of dietary flavonoids with risk of type 2 diabetes, and markers of insulin resistance and systemic inflammation in women: a prospective study and cross-sectional analysis. J Am Coll Nutr 2005; 24(5):376–84.
26. Hii CS, Howell SL. Effects of flavonoids on insulin secretion and Ca<sup>2+</sup> handling in rat islets of Langerhans. J Endocrinol 1985; 107:1–8.
27. Agullo G, et al. Relation ship between flavonoids structure and inhibitions of phosphatidylinositol – 3Kinasa: A comparison with tyrosine kinase and protein kinase on inhibition. Biochempharmacol. 1997; 53:1649-1657
28. Norbert F. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION Standards of medical care in diabetes. Vol.40 1ra Edición USA, 2017.
29. Yao L, et al. Flavonoids on Food and Their Health Benefits. Springer Science Bussines Media, Inc. 2004; 59: 113-122.
30. Ramírez B, Espada M, García A. Libro de casos clínicos: VII Reunión de Diabetes y Obesidad. Madrid: Medical Science Service; 2014.
31. OECD. Acute Oral Toxicity. 1999, OECD Guidelines for Testing of chemicals: OECD, Paris, France.
32. Reid, Pd.: Animal models of diabetes mellitus: A review. Lab. Animal, pp 40-45, May-June, 2005.
33. Rerup, C.C.: Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. Pharmacol Rev., 22(4):485-518, 2003.
34. Aguirre J. Prevalencia de enfermedad coronaria en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo II. Revista de Posgrado de la V<sup>ta</sup> cátedra de Medicina. N°8 200-Abril 2010.
35. Ortiz Martínez, et al. Actividad antidiabética. Investigación en plantas de importancia médica. Barcelona, España: Omnia Science. 215-268.
36. Md. Salahuddin, Sunil S. Jalalpure : Antidiabetic activity of aqueous fruit extract of Cucumistrigonus Roxb. Instreptozotocin-induced-diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology. 127(2), 565-567, 2010.



37. Lock O. Investigación Fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 3era.ed. Lima: Pucp-Fondo Editorial; 2016.
38. Gonzáles Uarquin. Determinación de niveles de corticosterona plasmática y pilosa en ratas wistar adolescentes hacinadas. Bogotá 2014[Tesis de posgrado]. Bogotá D. C: Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia; 2014.
39. Ficha Técnica del medicamento NORMOGLICEM 5mg. [Base de datos en línea]. Madrid: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios; 2013. [Fecha de acceso: 29 de setiembre del 2018]. URL disponible en: [https://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/50056/50056\\_ft.pdf](https://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/50056/50056_ft.pdf)

# ANEXO

**Anexo 1: Matriz de consistencia “Actividad hipoglicemiante del extracto acuoso de las hojas de *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua” en ratas albinas inducidas con estreptozotocina”**

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
<p><b>GENERAL:</b> ¿Tendrá actividad hipoglicemiante el extracto acuoso de las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua” en ratas albinas inducidas con estreptozotocina?</p> <p><b>ESPECÍFICO</b></p> <p>1. ¿Los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua” serán los posibles responsables de la actividad hipoglicemiante en ratas albinas inducidas con estreptozotocina?</p> <p>2. ¿Tendrá una dosis optima el extracto acuoso de las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua” con mayor actividad hipoglicemiante en ratas albinas inducidas con estreptozotocina?</p> <p>3. ¿Tendrá diferente actividad hipoglicemiante el extracto acuoso de las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. respecto a la glibenclamida en ratas albinas inducidas con estreptozotocina?</p>	<p><b>GENERAL:</b> Evaluar la actividad hipoglicemiante de extracto acuoso de las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua” en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.</p> <p><b>ESPECÍFICOS</b></p> <p>1. Identificar los metabolitos secundarios en el extracto acuoso de las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua” como posibles responsables de la actividad hipoglicemiante en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.</p> <p>2. Determinar la dosis optima del extracto acuoso de las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua” con mayor actividad hipoglicemiante en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.</p> <p>3. Evaluar si el extracto de las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua” posee actividad hipoglicemiante en comparación con el fármaco glibenclamida.</p>	<p><b>GENERAL:</b> El extracto acuoso de las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua” tiene actividad hipoglicemiante en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.</p> <p><b>ESPECÍFICAS</b></p> <p>1. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua” son los posibles responsables de la actividad hipoglicemiante en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.</p> <p>2. El extracto acuoso de las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua” presenta una dosis optima con mayor actividad hipoglicemiante en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.</p> <p>3. El extracto acuoso de las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua” tiene diferente actividad hipoglicemiante respecto a la glibenclamida en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.</p>	<p><b>VI:</b></p> <p>Extracto acuoso de las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua”</p> <p><b>VD:</b></p> <p>Actividad hipoglicemiante</p>	<p><b>VI:</b></p> <p>Solubilidad</p> <p>Tamizaje fitoquímico: metabolitos primarios y secundarios</p> <p><b>VD:</b></p> <p>Dosaje glicemia de</p>	<p><b>VI:</b></p> <p>- Dosis a evaluar:</p> <p>250 mg/Kg 500 mg/Kg 1000 mg/Kg Glibenclamida 40 mg/Kg</p> <p>-Glibenclamida 40mg/Kg</p> <p><b>VD:</b></p> <p>-Medición de Glucosa en sangre (mg/dl) con el glucómetro ACCU-Check</p> <p><b>VD:</b></p> <p>Glucemia</p>	<p><b>Diseño:</b> Experimental</p> <p><b>Tipo:</b> Mixto</p> <p><b>Nivel:</b> Exploratorio y descriptivo.</p> <p><b>Población:</b> Ratas albinas macho de la cepa holtzman con peso entre los 210 y 215g con 8 semanas de edad. Planta de canchalagua proveniente del departamento de Ancash</p> <p><b>Muestra</b> 2Kg de plantas de las cuales se usó sola las hojas de <i>Schkuhria pinnata</i> L. “Canchalagua” 42 ratas albinas dividida en 6 grupos.</p> <p><b>Técnicas:</b> Estadístico Anova Tukey</p>

**Anexo 2:** Recolección de la especie vegetal


**Figura 7:** Recolección de *Schkuhria pinnata* L. “Canchalagua” adquiridos en el distrito de Ancash



Fuente: Elaboración propia ,2018

**Anexo3:** Clasificación taxonómica de la especie vegetal

**Figura 8:** Constancia taxonómica de la especie vegetal



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

**CONSTANCIA N° 256-USM-2018**

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:


La muestra vegetal (planta completa) recibida de **Ana Alejandra Busso Dávila y Juan Carlos Huaney Vicente**, estudiantes de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica; ha sido estudiada y clasificada como: **Schkuhria pinnata (Lam.) Kuntze** tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**  
**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**  
**SUBCLASE: ASTERIDAE**  
**ORDEN: ASTERALES**  
**FAMILIA: ASTERACEAE**  
**GENERO: Schkuhria**  
**ESPECIE: Schkuhria pinnata (Lam.) Kuntze**

Nombre vulgar: "Canchalagua"  
Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 27 junio de 2018

  
**Mg. ASUNCIÓN A. CAÑO ECHEVARRÍA**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Av. Arenales 1256, Jesús María  
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono:  
619-7000 anexos 5701, 5703, 5704

E-mail: [museobn@unmsm.edu.pe](mailto:museobn@unmsm.edu.pe)  
<http://museobn.unmsm.edu.pe>

Fuente: Elaboración propia, 2018

**Anexo4:** Extracción Acuosa de las hojas de *Schkuhria pinnata* L.  
“Canchalagua”

**Figura 9:** Extracción acuosa a reflujo a partir de las hojas de Canchalagua



Fuente: Elaboración propia, 2018

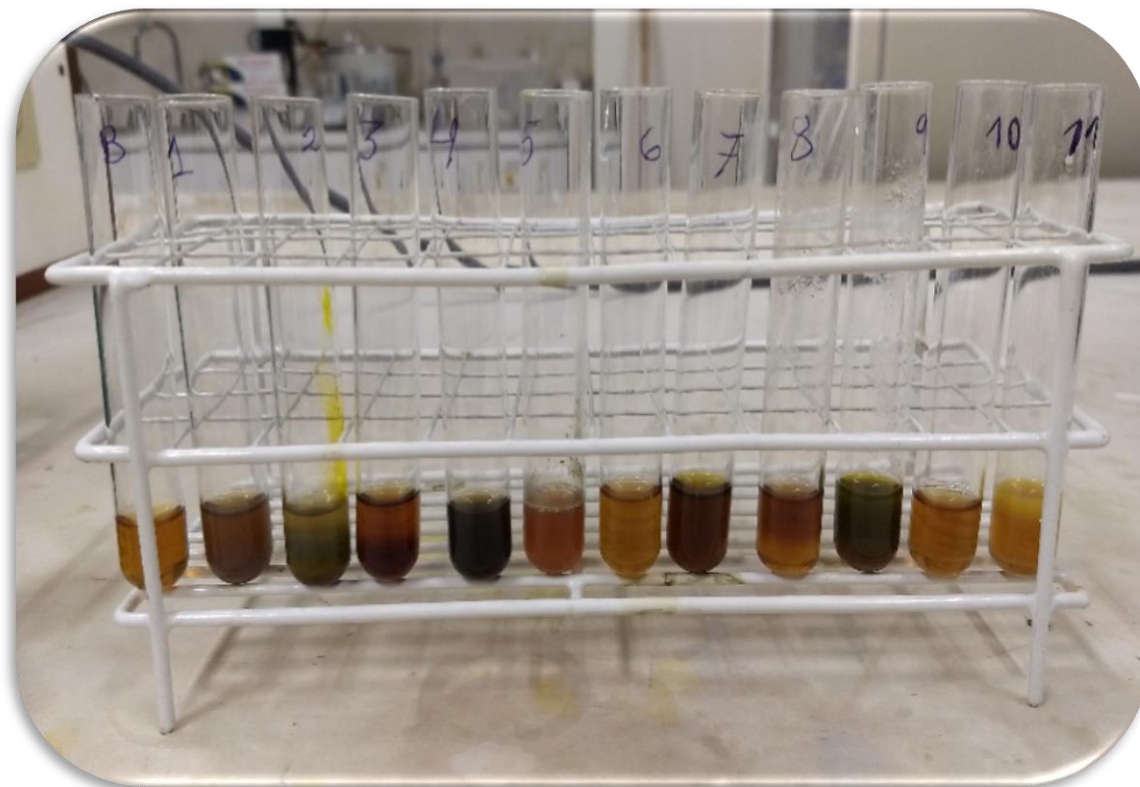
**Figura 10:** Filtración del extracto acuoso de canchalagua



Fuente: Elaboración propia, 2018

## Anexo5: Screening fitoquímico

Figura 11: Screening fitoquímico de las hojas de Canchalagua.



Fuente: Elaboración propia, 2018

### Muestra B: Blanco

1. Wagner (+++) .....Precipitado marrón
2. Mayer (+) .....Escaso precipitado blanco
3. Dragendorff (+++) .....Precipitado color anaranjado
4. Cloruro férrico.....Verde oscuro
5. Bortranger (+++) .....Coloración anaranjado oscuro
6. Gelatina 1% (+++) .....Precipitado color blanco
7. Shinoda (+++) .....Coloración purpura
8. Ninhidrina (+++) .....Coloración violeta
9. Fehling A y B (+++) .....Precipitado ladrillo
10. Lugol (-).....Negativo
11. 2,4 DNPH.....Precipitado amarillo

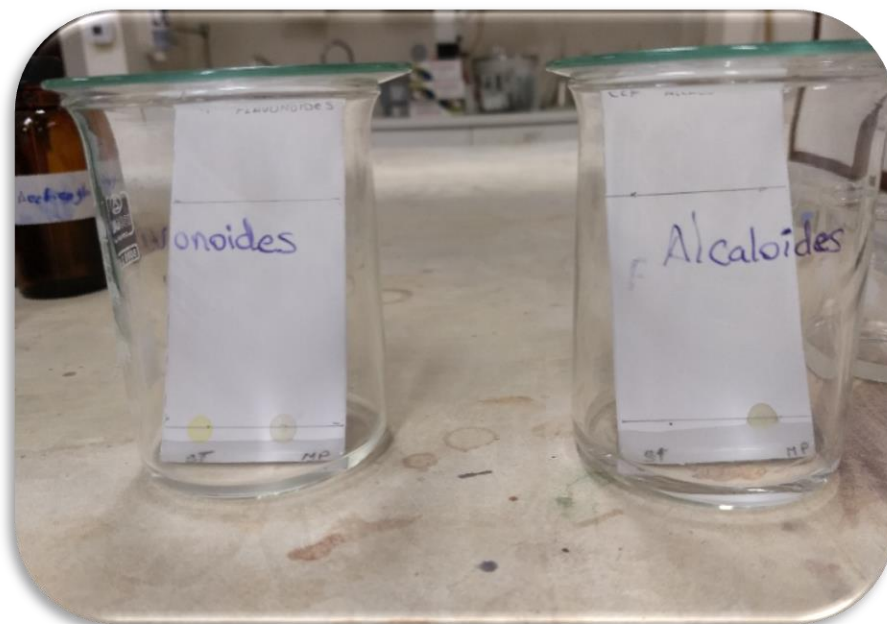
**Anexo6:** Ensayos cromatográficos

**Figura12:** Siembra de los estándares de referencia Quercetina y Cafeína



Fuente: Elaboración propia, 2018

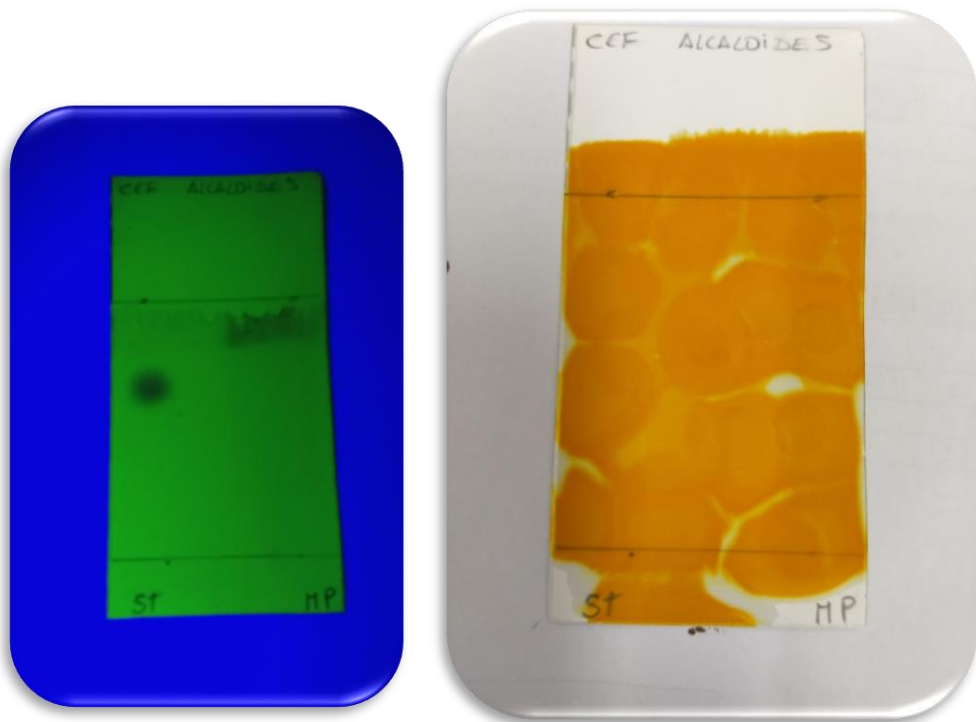
**Figura 13:** Prueba de Cromatografía en Capa Fina “Alcaloides y “Flavonoides”



Fuente: Elaboración propia, 2018

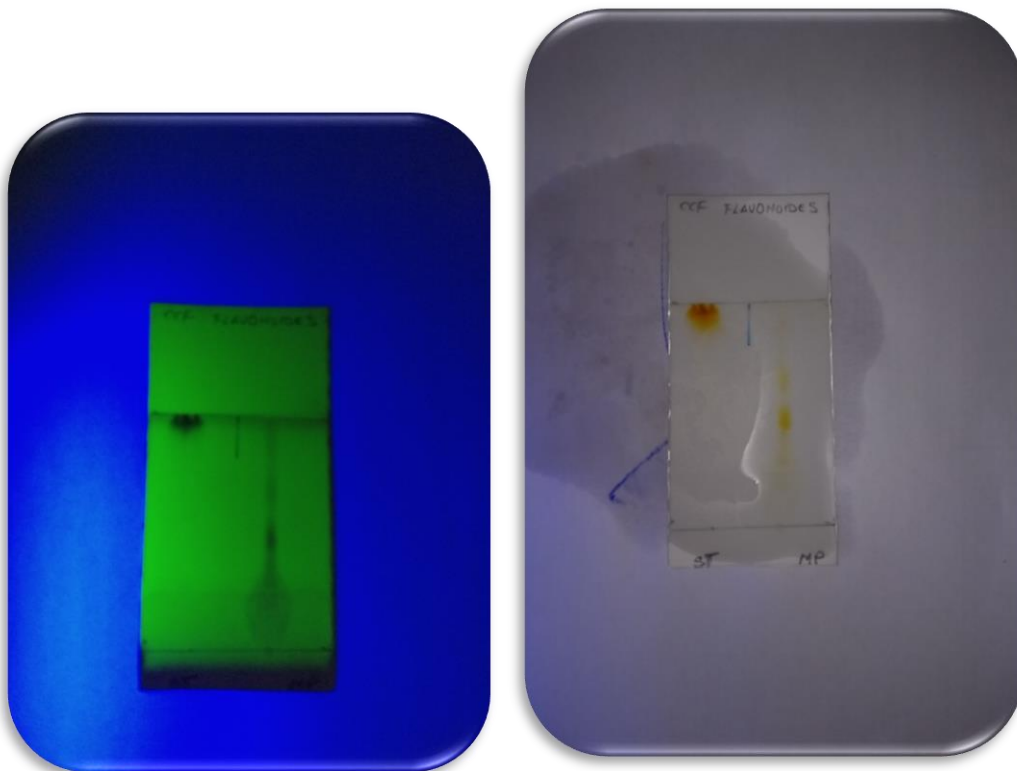


**Figura14:** Cromatografía en capa fina y la observación a la luz UV 254 nm para alcaloides.



Fuente: Elaboración propia, 2018

**Figura15:** Cromatografía en capa fina y la observación a la luz UV 254 nm para flavonoides.



Fuente: Elaboración propia, 2018

**Anexo7:** Certificado de sanidad de las ratas en experimentación.



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

## CERTIFICADO

Lima, 28 de junio del 2018

Mediante la presente se certifica que las 42 ratas albinas (*Rattus norvegicus*) de la cepa Holtzman, machos con un promedio de peso de 210 g, adquiridos el 27 de junio del 2018 por el bioterio de la UPCH, se encuentran en óptimo estado sanitario y fisiológico para ser utilizado en cualquier protocolo biomédico.

Se expide este documento para fines pertinentes.

Atentamente,



DR. CRISTIAN PÍTTOT ALVAREZ  
Jefe de Bioterio  
LID - UPCH  
C.M.V. 0966

**Anexo 8: Pesada de las 42 ratas**

**Figura 16:** Pesada de los animales en la facultad de farmacia y bioquímica de la Universidad Cayetano Heredia.



Fuente: Elaboración propia, 2018

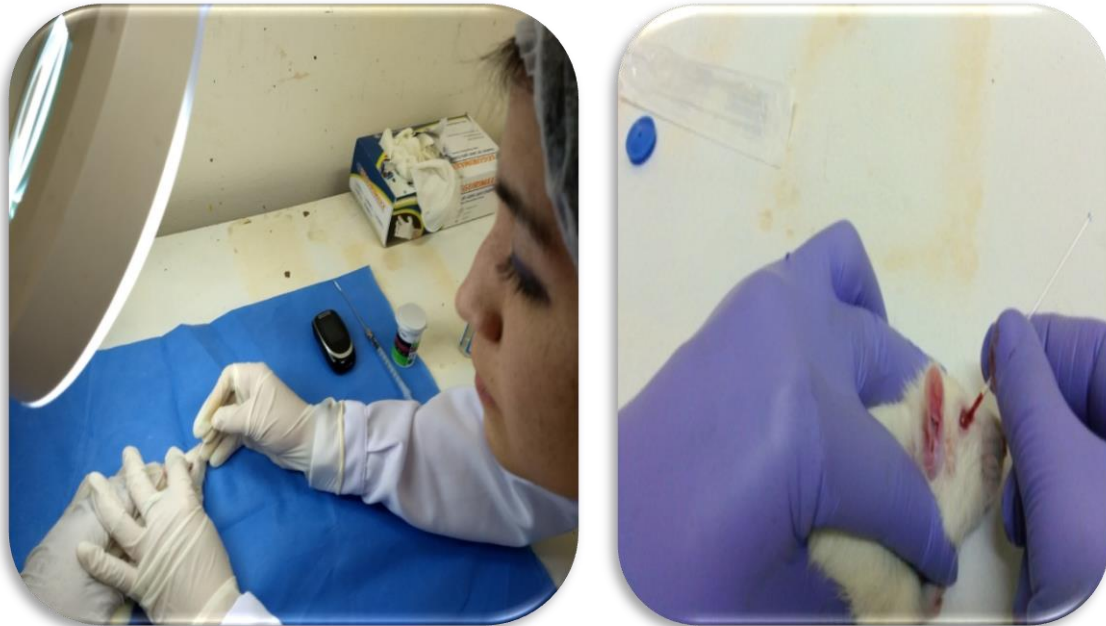
**Figura17:** Pesada de las 42 ratas después de 5 días de acondicionamiento.



Fuente: Elaboración propia, 2018

**Anexo9:** Valores basales de glucosa en sangre.

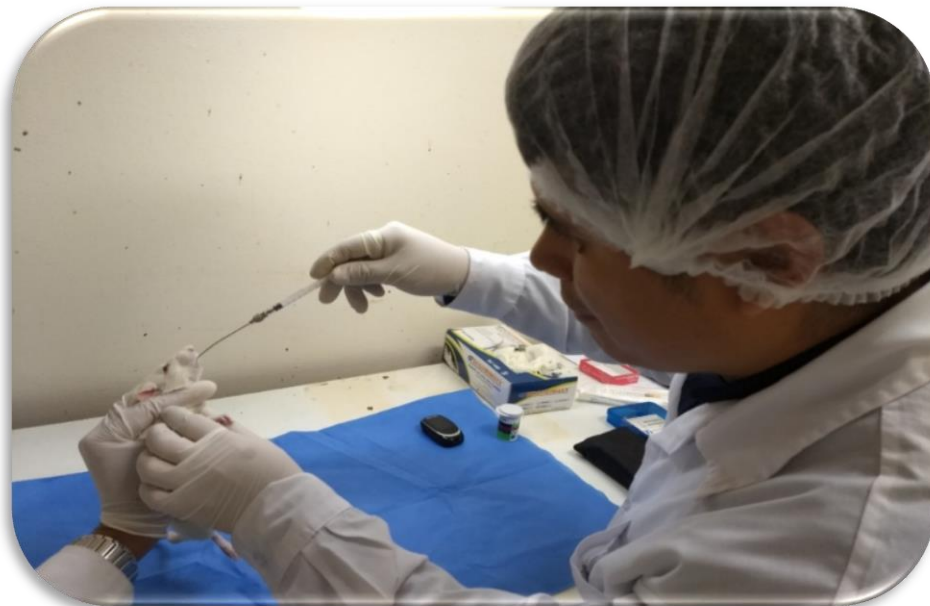
**Figura18:** Toma de muestra de sangre del ojo con punción del seno venoso retroorbital después del acondicionamiento en la facultad de farmacia y bioquímica de la Universidad Cayetano Heredia.



Fuente: Elaboración propia, 2018

**Anexo 10:** Grupo con tratamiento glibenclamida 40mg/Kg

**Figura 19:** Dosificación con sonda orogástrica de glibenclamida a 40mg/Kg.



Fuente propia

## Anexo 11: Valores de glucosa en sangre durante hasta los 28 días

GLUCOSA (mg/dl)							
DOSIS	Rata	BASAL SIN INDUCCION	0 DIAS	7 DIA	14 DIA	21 DIA	28 DIA
<b>Control negativo (sin inducción )</b>	1	86	112	110	108	115	112
	2	87	119	115	120	118	122
	3	93	108	95	98	103	105
	4	87	102	98	102	106	115
	5	92	110	115	118	121	120
	6	95	115	112	115	115	118
	<b>Promedio</b>	90.0	111.0	107.5	110.2	113.0	115.3
	<b>D.S.</b>	3.5	5.4	8.0	8.2	6.4	5.6
<b>Control positivo (sin tratamiento)</b>	7	91	410	440	460	479	485
	8	94	385	425	450	461	480
	9	88	414	427	465	472	485
	10	86	370	402	435	455	480
	11	92	385	405	428	460	484
	12	91	405	412	436	476	490
	<b>Promedio</b>	90.3	394.8	418.5	445.7	467.2	484.0
	<b>D.S.</b>	2.9	17.4	14.7	14.9	9.8	3.7
<b>Tratamiento con Glibenclamida 40 mg/kg</b>	13	91	341	243	165	115	92
	14	93	315	254	177	134	98
	15	88	374	217	184	148	101
	16	85	380	225	160	126	93
	17	86	326	230	148	110	87
	18	87	356	246	152	121	90
	<b>Promedio</b>	88.3	348.7	235.8	164.3	125.7	93.5
	<b>D.S.</b>	3.1	26.0	14.1	14.0	13.8	5.2
<b>Tratamiento con 250 mg/ kg peso corporal</b>	19	86	390	370	350	321	268
	20	87	375	355	332	310	270
	21	91	407	388	367	322	275
	22	96	398	372	346	321	285
	23	92	302	290	246	221	199
	24	90	395	370	348	324	297
	<b>Promedio</b>	90.3	377.8	357.5	331.5	303.2	265.7
	<b>D.S.</b>	3.3	35.3	31.7	39.6	37.0	31.4
<b>Tratamiento 500 mg/ kg peso corporal</b>	25	98	410	384	342	288	210
	26	101	398	371	320	246	198
	27	91	415	400	347	250	195
	28	95	440	412	340	248	202
	29	94	402	386	320	255	215
	30	99	417	393	354	279	220
	<b>Promedio</b>	96.3	413.7	391.0	337.2	261.0	206.7
	<b>D.S.</b>	3.3	13.5	12.9	12.9	16.4	9.0
<b>Tratamiento con 1000 mg/ kg peso corporal</b>	31	89	340	275	227	170	125
	32	92	354	284	230	184	119
	33	94	318	260	225	168	112
	34	85	387	288	218	170	121
	35	93	350	300	240	155	108
	36	95	373	297	231	148	106
	<b>Promedio</b>	91.3	353.7	284.0	228.5	165.8	115.2
	<b>D.S.</b>	3.7	24.3	14.8	7.3	12.7	7.6

Fuente: Elaboración propia, 2018

**Anexo 12:** Valores de glucosa en sangre día 0 (Control positivo)

**Figura20:** Valor de glucosa en ratas hiperglicémicas.



Fuente: Elaboración propia, 2018

**Figura 21:** Valor de glicemia en ratas tratadas con Glibenclamida día 28



Fuente: Elaboración propia, 2018

**Figura22:** Valor de glicemia día 28 en ratas tratadas con Canchalagua 250 mg/kg



Fuente: Elaboración propia, 2018

**Figura23:** Valores de glicemia día 28 en ratas tratadas con Canchalagua 500 mg/kg



Fuente: Elaboración propia, 2018

**Figura 24:** Valores de glicemia día 28 en ratas tratadas con Canchalagua 1000 mg/kg



Fuente: Elaboración propia, 2018

## Anexo 12: Visión macroscópica del páncreas

**Figura 25:** Observación macroscópica del páncreas grupo control positivo.



Fuente: Elaboración propia, 2018

**Figura 26:** Observación macroscópica del páncreas con dosis 1000mg/Kg



Fuente: Elaboración propia, 2018



Anexo 13: Recolección de datos



Facultad De Ciencias Farmacéuticas Y Bioquímica

Ficha de recolección de datos

Tamizaje fitoquímico-Reconocimiento de Metabolitos Secundarios del extracto

acuoso de las hojas de *schkuhria pinnata* L. "canchalagua"

(Juicio de Expertos)

Nombre completo del experto: Daniel Echabarría Rodríguez Sosa

Cargo e institución donde labora: Senasa

Autor del instrumento: Alejandra Basso Davila, Juan Carlos Vicente Huaney

Nombre del instrumento: Ficha de recolección de datos

Instrucciones: Luego de revisado el instrumento, le solicitamos su valioso criterio acerca de lo siguiente para su correspondiente validación:

	Menos de
	50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100
1. En qué porcentaje cree usted que el instrumento Presenta un lenguaje adecuado.....	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
2. En qué porcentaje estima que con el instrumento usado logrará los objetivos propuestos. ....	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
3. En qué porcentaje estima que los ítem están referidos a los conceptos del tema .....	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
4. Qué porcentaje de los estrategias planteadas cree que son suficientes para lograr los objetivos.....	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
5. En qué porcentaje cree que los ítems planteados son de ejecución viables.....	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
6. Qué porcentaje de los ítems considera usted que sigue una secuencia lógica.....	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>

Sugerencias:

¿Qué ítems debería agregarse al presente proyecto?

Ninguno

¿Qué ítem estima que debe ser eliminado?

Ninguna

¿Qué ítem estima que debería reformularse?

Ninguna

Fecha: 07-08-2018

Validado por: Daniel Echabarría Rodríguez Sosa

Firma Del Químico Farmacéutico



Facultad De Ciencias Farmacéuticas Y Bioquímica  
 Ficha de recolección de datos

Determinación de la actividad hipoglucemiante del extracto de las hojas de  
*schkuhria pinnata* L. "canchalagua" de los grupos tratados en diferentes  
 tiempos

(Juicio de Expertos)

Nombre completo del experto: Daniel Echeverría Rodríguez Saurio  
 Cargo e institución donde labora: Senasa  
 Autor del instrumento: Juan Carlos Vicente Hunee, Alejandro Russo Davila  
 Nombre del instrumento: Ficha de recolección de datos  
 Instrucciones: Luego de revisado el instrumento, le solicitamos su valioso criterio acerca de lo siguiente para su correspondiente validación:

	Menos de
	50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100
1. En qué porcentaje cree usted que el instrumento Presenta un lenguaje adecuado.....	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
2. En qué porcentaje estima que con el instrumento usado logrará los objetivos propuestos. ....	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
3. En qué porcentaje estima que los ítem están referidos a los conceptos del tema .....	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
4. Qué porcentaje de los estrategias planteadas cree que son suficientes para lograr los objetivos.....	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
5. En qué porcentaje cree que los ítems planteados son de ejecución viables.....	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
6. Qué porcentaje de los ítems considera usted que sigue una secuencia lógica.....	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>

Sugerencias:

¿Qué ítems debería agregarse al presente proyecto?

Ninguno

¿Qué ítem estima que debe ser eliminado?

Ninguno

¿Qué ítem estima que debería reformularse?

Ninguno

Fecha: 07-08-2018

Validado por: Daniel Echeverría Rodríguez Saurio

Firma Del Químico Farmacéutico



### UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

Ficha de recolección de datos: Determinación de la actividad hipoglicemiante, medición de la cantidad de glucosa en sangre transcurrida en distintos tiempos

DOSIS	Rata	Glucosa (mg/dL)					
		Basal sin inducción	0 Días	7 Días	14 Días	21 Días	28 Días
Grupo 1 Control negativo (sin inducción)	1	86	112	110	108	115	112
	2	87	119	115	120	118	122
	3	93	108	95	98	103	105
	4	87	102	98	102	106	115
	5	92	110	115	118	121	120
	6	95	115	112	115	115	118
Grupo 2 Control positivo sin tratamiento	7	91	410	440	460	479	485
	8	94	385	425	450	461	480
	9	88	414	427	465	472	485
	10	86	370	402	435	455	480
	11	92	385	405	428	460	484
	12	91	405	412	436	476	490
Grupo 3: Dosis extracto acuoso a 250mg/Kg	13	91	341	243	165	115	92
	14	93	315	254	177	134	98
	15	88	374	217	184	148	101
	16	85	380	225	160	126	93
	17	86	326	230	148	110	87
	18	87	356	246	152	121	90
Grupo 4: Dosis extracto acuoso a 500mg/Kg	19	86	390	370	350	321	268
	20	87	375	355	332	310	270
	21	91	407	388	367	322	275
	22	96	398	372	346	321	285
	23	92	302	290	246	221	199
	24	90	395	370	348	324	297
Grupo 5: Dosis extracto acuoso a 1000mg/Kg	25	98	410	384	342	288	210
	26	101	398	371	320	246	198
	27	91	415	400	347	250	195
	28	95	440	412	340	248	202
	29	94	402	386	320	255	215
	30	99	417	393	354	279	220
Grupo 6: Dosis glibenclamida a 40mg/Kg	31	89	340	275	227	170	125
	32	92	354	284	230	184	119
	33	94	318	260	225	168	112
	34	85	387	288	218	170	121
	35	93	350	300	240	155	108
	36	95	373	297	231	148	106

Validado por: Daniel Eduardo Echevarría Rodríguez Sawa

Observaciones: Ninguna

Firma y rubrica: