

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

NUEVOS TIEMPOS, NUEVAS IDEAS



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

**EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE
Moringa oleífera Lam (MORINGA) EN RATAS HOLTZMAN**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO Y
BIOQUÍMICO**

TESISTAS:

Bach. Karen Lissette Román Liñán

Bach. María Elena Huamán Guzmán

ASESOR:

Dra. Q.F. Britt Alvarado Chávez

Lima – Perú

2018

DEDICATORIA

A nuestro creador por guiar mis pasos en el logro de mis metas y proyectos.

A los seres más importantes de mi vida: mis padres, mi familia por ser mi fortaleza y empuje para hacer realidad este proyecto, por su comprensión e infinito amor.

A mi hija Sandra; quien me motivó y apoyó constantemente durante mi formación universitaria.

A mi padrino Daniel Eusebio por brindarme su apoyo y consejos para ser una persona de bien.

María Elena Huamán Guzmán

A mis queridos padres por darme el soporte y fortaleza en todo aquello que me proponga a no rendirme y cumplir mis anhelos, que con grandes esfuerzos y el constante deseo de superación se puede lograr.

A mis hermanos, tíos y abuelos por su apoyo incondicional en esta etapa de mi carrera profesional.

Al amor de mi vida que siempre está a mi lado, brindándome su comprensión, paciencia y motivación.

Karen Lissette Román Liñán

AGRADECIMIENTO

A Dios, quien guía y bendice nuestros planes y proyectos.

A nuestra primera casa de estudios, la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, alma Máter, en cuyas aulas se forman grandes profesionales.

A la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, por la formación académica brindada en los cinco años de estudio

A la Dra. Q. F. Britt Alvarado Chávez por su asesoramiento en la ejecución de la investigación.

A la plana docente de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, por brindar sus conocimientos.

Al personal del Laboratorio de especialidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por su predisposición durante la ejecución del proyecto.

Karen y María

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria.....	
Agradecimiento.....	
Índice general.....	
Índice de tablas.....	
Índice de figuras.....	
Anexos.....	
Glosario.....	
Resumen.....	
Abstract.....	
Introducción.....	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1 Descripción de la realidad problemática.....	2
1.2 Formulación del problema.....	3
1.2.1 Problema general.....	3
1.2.2 Problemas específicos.....	3
1.3 Objetivos de la investigación.....	3
1.3.1 Objetivo general.....	3
1.3.2 Objetivos específicos	3
1.4 Justificación de la investigación	3
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	5
2.1 Antecedentes del estudio	5
2.1.1 Nacionales	5
2.1.2 Extranjeros.....	7
2.2 Bases teóricas.....	16
2.2.1 <i>Moringa oleífera L.</i>	16
2.2.1.1 Descripción botánica de <i>Moringa oleífera L.</i>	16
2.2.1.2 Taxonomía botánica	17

2.2.1.3 Distribución y hábitat.....	18
2.2.1.4 Cultivo y usos.....	18
2.2.1.5 Fitoquímica	19
2.2.1.6 Propiedades.....	19
2.2.1.7 Acción farmacológica.....	20
2.2.1.8 Toxicidad	21
2.2.2 Diabetes.....	21
2.2.2.1 Conceptos generales.....	21
2.2.2.2 La insulina.....	22
2.2.2.3 Tipos de diabetes	22
2.2.3 El aloxano	23
2.2.4 Glibenclamida	24
2.2.4.1 Uso terapéutico.....	24
2.2.4.2 El mecanismo de acción	24
2.2.4.3 Efectos adversos	25
2.3 Hipótesis	26
2.3.1 Hipótesis general	26
2.3.2 Hipótesis específica	26
2.4 Variables	26
2.5 Marco conceptual	26
CAPÍTULO III: MÉTODO.....	29
3.1 Tipo y nivel de estudio	29
3.2 Diseño a utilizar.....	29
3.3 Población	29
3.4 Muestra	29
3.5 Técnica e instrumentos de recolección de datos	29
3.6 Procesamiento de datos	29

3.7 Metodología de Investigación.....	30
3.8 Equipos, materiales y reactivos.....	30
3.9 Procedimiento experimental.....	32
3.9.1 Recolección y secado de las hojas.....	32
3.9.1.1 Extracción acuosa de las hojas de la moringa.....	32
3.9.1.2 Extracto seco de las hojas de moringa.....	32
3.9.1.3 Prueba de solubilidad.....	33
3.9.1.4 Tamizaje fitoquímico.....	33
3.9.1.5 Cromatografía.....	33
3.9.1.6 Cromatografía en capa fina (alcaloides).....	33
3.9.1.7 Cromatografía en capa fina (flavonoides).....	34
3.9.2 Actividad toxicológica y farmacológica.....	34
3.9.2.1 Animales de experimentación.....	35
3.9.2.2 Evaluación de la toxicidad aguda oral - método de clases (DL ₅₀).....	35
3.9.2.3 Evaluación de la actividad hipoglucemiante.....	36
3.9.2.4 Determinación de la actividad hipoglucemiante en ratas hiperglucémicas.....	37
3.9.2.5 Inducción de diabetes experimental por aloxano monohidratado.....	37
3.9.2.6 Glibenclamida.....	38
3.9.2.7 Técnica de extracción de sangre.....	38
3.9.2.8 Diseño experimental de la actividad hipoglucemiante.....	38
3.9.2.9 Estimación de glucosa sérica.....	39
3.9.2.10 Condiciones de ensayo.....	40
3.9.2.11 Análisis estadístico.....	40
CAPITULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	41
4.1 Presentación de resultados.....	41
4.1.1 Prueba de solubilidad.....	41
4.1.2 Tamizaje fitoquímico.....	41

4.1.3 Cromatografía en capa fina	42
4.1.4 Condiciones ambientales:	43
4.1.5 Toxicidad aguda oral.....	43
4.1.6 Actividad hipoglucemiante	43
4.2 Contrastacion de hipótesis.....	48
4.3 Discusión de resultados	49
CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	52
5.1 Conclusiones.....	52
5.2 Recomendaciones	52
BIBLIOGRAFÍA	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1:Tabla de operacionalización de variables.....	26
Tabla 2:Tratamientos de toxicidad aguda oral con moringa.....	36
Tabla 3: Tratamientos de experimentación con moringa.....	37
Tabla 4: Prueba de solubilidad.....	41
Tabla 5: Resultados de metabolitos primarios.....	41
Tabla 6: Resultados de metabolitos secundarios.....	42
Tabla 7: Resultados cualitativos de la cromatografía.....	42
Tabla 8: Resultados de la toxicidad aguda oral.....	43
Tabla 9: Disminución de glucosa en ratas diabéticas inducidas por aloxano....	44
Tabla 10: Tratamientos de experimentación con moringa.....	45
Tabla 11: Análisis de la actividad hipoglucemiante de moringa a los 28 días....	47
Tabla 12: Análisis de varianza de un factor.....	47
Tabla 13: Análisis de varianza.....	48
Tabla 14: Análisis múltiple posterior: prueba de Tukey.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Hojas de <i>Moringa oleífera L</i>	17
Figura 2: Planta de <i>Moringa oleífera L</i>	20
Figura 3: Estructura química del aloxano	23
Figura 4: Rango de los niveles de azúcar en sangre.....	28
Figura 5: Porcentaje de la actividad hipoglucemiante de <i>Moringa oleífera L</i> a los 28 días de tratamiento.....	46
Figura 6: Recolección y secado de hojas de <i>Moringa oleífera Lam</i> adquiridos del departamento de Lambayeque.....	60
Figura 7: Constancia taxonómica de la especie vegetal.....	61
Figura 8: Extracción acuosa de las hojas de la moringa	62
Figura 9: Filtrado del extracto acuoso de las hojas de la moringa.....	62
Figura 10: Extracto líquido puesto a la estufa a 40°C	63
Figura 11: Estufa	63
Figura 12: Preparando el reactivo de baw (butanol-ácido acético glacial-agua) para la prueba de flavonoides y para alcaloides (metanol-agua).	64
Figura 13: Aplicación de los estándares de quercetina y cafeína con sus respectivas muestras de moringa.....	64
Figura 14: Implementos para la corrida en capa fina se utilizaron los estándares de quercetina (flavonoides) y cafeína (alcaloides).	65
Figura 15: Cromatografía en capa fina flavonoides.....	65
Figura 16: Cromatografía en capa fina y la observación a la luz UV a 254 nm, para flavonoides y alcaloides	66
Figura 17: Muestra en los tubos de ensayo.....	67
Figura 18: Reactivos comparándolos con un blanco.....	67
Figura 19: Verificación de los resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico de las hojas de <i>Moringa oleífera Lam</i>	68

Figura 20: Prueba de solubilidad (Alcohol 96°C, isopropanol, agua, cloroformo y metanol).....	69
Figura 21: Los resultados de la prueba de solubilidad	69
Figura 22: Ratas albinas, cepa Holtzman del bioterio de la universidad Cayetano Heredia.....	70
Figura 23: Evaluación del peso corporal de las ratas tratadas	70
Figura 24: Capilares para la toma de muestra sanguínea.....	71
Figura 25: Manipulación de las ratas a evaluar	71
Figura 26: Control positivo 6 ratas hiperglucémicas, dosificación con sonda orogástrica de glibenclamida en dosis de 40 mg/kg.....	72
Figura 27: Toma de muestras sanguíneas por punción retro-orbital	72
Figura 28: Valores de glucosa en ratas hiperglucémicas inducidas con aloxano .	73
Figura 29: Valores de glucosa a los 14 días grupo 250 mg/kg.....	73
Figura 30: Valores de glucosa a los 14 días grupo 500 mg/kg.....	74
Figura 31: valores de glucosa a los 14 días grupo 1000 mg/kg	74
Figura 32 :Valores de glucemia al final del tratamiento en ratas tratadas con hojas de <i>Moringa oleífera Lam</i> grupo 250 mg/kg.....	75
Figura 33:Valores de glucemia al final del tratamiento en ratas tratadas con hojas de <i>Moringa oleífera Lam</i> grupo 500 mg/kg.....	75
Figura 34 :Valores de glucemia al final del tratamiento en ratas tratadas con hojas de <i>Moringa oleífera Lam</i> grupo 1000 mg/kg.....	76
Figura 35: Valores de glucemia al final del tratamiento tratadas con glibenclamida 40 mg/kg.....	76

ANEXOS

Anexo 1: Matriz de consistencia	59
Anexo 2: Recolección de la especie vegetal y pesado.....	60
Anexo 3: Clase taxonómica de la especie vegetal.	61
Anexo 4: Extracción acuosa de las hojas de <i>Moringa oleífera Lam</i>	62
Anexo 5: Prueba de cromatografía.....	64
Anexo 6: Marcha fitoquímica de las hojas de la moringa	67
Anexo 7: Prueba de solubilidad.....	69
Anexo 8: Pesada de las 36 ratas.....	70
Anexo 9: Actividad hipoglucemiante.....	71
Anexo 10: Valores basales de glucosa en sangre.....	72
Anexo 11: Valores de glucosa en sangre día 0	73
Anexo 12: Valores de glucosa en sangre día 28 días	75
Anexo 13: Certificado de sanidad de las ratas de experimentación.	77

GLOSARIO

ALT: Alanina aminotransferasa

AST: Aspartato aminotransferasa

CMI: concentración mínima inhibitoria

CIM: Concentrado de isotiocianatos de moringa

CM: Concentrado de moringa

CAT: Ciclo del ácido cítrico

DM: Diabetes mellitus

DM1: Diabetes mellitus tipo 1

DM2: Diabetes mellitus tipo 2

MOLET: Extracto etanólico de las hojas de moringa oleifera

G6P: Glucosa-6-fosfatasa

GSH: Glutation reducido

HbA1c: Hemoglobina glucosilada

HDL: Lipoproteínas de alta densidad

IgA: Inmunoglobulina A

IgG: Inmunoglobulina G

LDL: Lipoproteínas de baja densidad

SOD: Enzima superóxido dismutasa

STZ: Streptozotocina.

TBARS: Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

RESUMEN

La enfermedad de la diabetes mellitus es una alteración metabólica que en los últimos años ha ido en aumento y está relacionado directamente con el desarrollo de la hiperglucemia, parámetro principal para identificar la diabetes, es por ello, que el presente trabajo tuvo como objetivo determinar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) en ratas Holtzman (*Rattus norvegicus*). Métodos y materiales: Las hojas de la moringa fueron recolectadas de la comunidad campesina “Santa Lucía de Ferreñafe del departamento de Lambayeque, de la cual se preparó el extracto acuoso que se sometieron a las pruebas de cromatografía en capa fina, tamizaje fitoquímico y solubilidad. Para la determinación del efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) se utilizaron 36 ratas distribuidas de la siguiente forma, 3 niveles de dosis en 18 ratas albinas machos (250, 500 y 1000 mg/kg del extracto acuoso, previamente inducidas) 6 ratas control positivo, tratadas con el medicamento glibenclamida a la dosis de 40 mg/kg (previamente inducidas) 6 ratas diabéticas (inducidas sin tratamiento) 6 ratas control negativo. Resultados: Se identificó algunos constituyentes químicos: carbohidratos, compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides y aminoácidos, se determinó la toxicidad aguda por vía oral en ratas, según guía OECD – Test 423 (Método de Clases) y la determinación de la actividad hipoglucemiante por vía oral del extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) mediante la técnica citada en el manual del Cyted y del modelo *in vivo* citado. Los resultados obtenidos en los diferentes tratamientos se analizaron estadísticamente para evaluar el efecto del extracto acuoso sobre los diferentes tratamientos con niveles de significancia del 95% ($p < 0.05$) por un test de comparación múltiple (Test de Tukey) para determinar si existen diferencias significativas entre ellas. Conclusión: Se halló la presencia de metabolitos primarios y secundarios tales como flavonoides, alcaloides, glúcidos y cetonas, la concentración de 1000mg/kg del extracto acuoso de *Moringa oleífera* disminuye la glucosa y en comparación con glibenclamida demostró una disminución significativa.

Palabras clave: *Moringa oleífera Lam*, Diabetes Mellitus, hipoglucemiante.

ABSTRACT

The disease of diabetes mellitus is a metabolic disorder that in recent years has been increasing and is directly related to the development of hyperglycemia, the main parameter to identify diabetes, which is why the present work aimed to determine the hypoglycaemic effect of the aqueous extract of the leaves of *Moringa oleífera Lam* (Moringa) in Holtzman rats (*Rattus norvegicus*). Methods and materials: Moringa leaves were collected from the "Santa Lucía de Ferreñafe" peasant community of the department of Lambayeque, from which the aqueous extract was prepared and subjected to thin layer chromatography, phytochemical screening and solubility tests. To determine the hypoglycaemic effect of the aqueous extract of the leaves of *Moringa oleífera Lam* (Moringa), 36 rats distributed in the following manner were used, 3 dose levels in 18 male albino rats (250, 500 and 1000 mg / kg of the aqueous extract). , previously induced) 6 positive control rats, treated with the drug glibenclamide at a dose of 40 mg / kg (previously induced) 6 diabetic rats (induced without treatment) 6 control rats negative. Results: Some chemical constituents were identified: carbohydrates, phenolic compounds, flavonoids, alkaloids and amino acids, acute oral toxicity was determined in rats, according to OECD Guide - Test 423 (Classes Method) and the determination of hypoglycaemic activity via of the aqueous extract of *Moringa oleífera Lam* (Moringa) using the technique cited in the manual of the Cyted and the in vivo model cited. The results obtained in the different treatments were analyzed statistically to evaluate the effect of the aqueous extract on the different treatments with significance levels of 95% ($p < 0.05$) by a multiple comparison test (Tukey test) to determine if there are significant differences between them. Conclusion: The presence of primary and secondary metabolites such as flavonoids, alkaloids, carbohydrates and ketones was found, the concentration of 1000mg / kg of the aqueous extract of *Moringa oleífera* decreases glucose and in comparison with glibenclamide showed a significant decrease.

Key words: *Moringa oleífera Lam*, Diabetes Mellitus, hypoglycaemic.

INTRODUCCIÓN

La *Moringa oleífera* es una planta originaria de la India cultivada en distintos lugares como África y Asia, debido a sus zonas calurosas las hojas, raíces, flores, corteza y vainas, estas poseen un alto valor nutritivo que tiene la propiedad de calmar distintas dolencias (articulares, gastrointestinales, etc). Con respecto a sus raíces, poseen moringinina y moringina, ceras, resinas, ácido cafeoilquínico, kaempferol, zeatina, pterigospermina, quercetina y fitosterol ⁽¹⁾.

Las hojas poseen un alto contenido de antioxidantes, de los que se resalta el isotiocianato, este componente posee un alto nivel de funcionalidad hipotensora, antibiótica y anticancerígena ⁽²⁾.

En el Perú se creó el Instituto de Trabajo y Familia que establecieron un programa cuyo propósito fue difundir el uso de la moringa para combatir la malnutrición en lugares que carecen de vegetales. Durante el 2013, se realizaron exámenes de germinación en la zona de Ica y Arequipa, con la finalidad de cultivar la planta. De igual forma, el Instituto Nacional de Salud se encargó de determinar las propiedades de la moringa ⁽³⁾.

Un número significativo de investigaciones que tuvieron como propósito conocer las propiedades de la moringa se realizaron por el método *in vitro*, esto significó el desconocimiento de la dosis óptima para generar un efecto favorecedor en las personas. No obstante, las propiedades beneficiosas están en mayor nivel que los compuestos o sustancias anti nutricionales, por lo tanto, los elementos para sustentar las desventajas de esta planta son irrelevantes ⁽²⁾.

En la presente investigación, se determinará el efecto hipoglucemiante de las hojas de *Moringa oleífera* en ratas inducidas a hiperglucemia experimental. Con el propósito de lograr este objetivo, se siguió una estructura de trabajo que comprende la recolección, identificación de los metabolitos, toxicidad aguda, elementos de la actividad hipoglucemiante y análisis estadísticos.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

El futuro no es muy halagüeño, la cifra de individuos que padecen de diabetes mellitus va en aumento y la razón principal es el acelerado y aumento significativo del cambio de modelo de vida, el que prevalece el alto consumo de comida rápida, gaseosa y otras bebidas con alto índice de azúcar. Además, otro factor importante es el sedentarismo, ya que provoca el sobrepeso, en congruencia con un sustento genético, esto puede generar una alteración de la homeostasis de la glucosa, tal como la resistencia a la insulina, lo cual produce el proceso de desarrollo de la hiperglicemia, ya que este es el parámetro principal para identificar el nivel de diabetes. Esta relación facilita la explicación del incremento de casos de diabetes mellitus tipo 2 en la totalidad de agrupaciones etarias en la última década ⁽⁴⁾, debido a que hay resistencia ante la insulina, la cual provoca una deficiencia secuencial de su secreción ⁽⁵⁾.

El manejo del enfermo diabético se torna complejo por la propia enfermedad y sus complicaciones pensando en ello por nuestra población en sus malos hábitos alimenticios y por lo que incluye un grupo de trastornos metabólicos en los que hay hiperglucemia, debido a un deterioro en la secreción de insulina o a la acción de ella se asocia a complicaciones graves a largo plazo en varios órganos, especialmente en los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos ⁽⁵⁾. Hemos demostrado mediante este trabajo que si posee efecto hipoglucemiante el extracto acuoso de la *Moringa oleífera L*, una planta prodigiosa, a las ya conocidas, que pueda llegar en un futuro a revolucionar el método de tratamiento de esta enfermedad.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿Poseerá efecto hipoglucemiante el extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) en ratas Holtzman?

1.2.2 Problemas específicos

1. ¿Cuáles serán los metabolitos presentes en el extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* (Moringa)
2. ¿El extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) poseerá efecto hipoglucemiante en comparación a glibenclamida en ratas Holtzman?
3. ¿Las concentraciones de 250,500 y 1000mg/kg del extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) podrá demostrar el efecto hipoglucemiante en ratas Holtzman?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) en ratas Holtzman (*Rattus norvegicus*)

1.3.2 Objetivos específicos

1. Identificar los metabolitos en el extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* (Moringa)
2. Comparar si el extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) posee efecto hipoglucemiante en comparación a glibenclamida en ratas Holtzman
3. Determinar las concentraciones del extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) con actividad hipoglucemiante en ratas Holtzman

1.4 Justificación de la investigación

Se estima que en las dos próximas décadas, la existencia de la diabetes mellitus se irá incrementando, lo que significa el aumento sustancial de las complicaciones que esta enfermedad atrae, tales como la ceguera, pie diabético y otros.

Asimismo, esta enfermedad es considerada igual al cardiovascular, ya que su vinculación es coronaria ⁽⁶⁾.

El nivel alto de vitaminas que yacen en esta planta es crucial para su utilización en terapias para contrarrestar la diabetes. Asimismo, la vitamina D es primordial para la función óptima de la secreción de insulina. De otro lado, la existencia de β -caroteno tiene la función de reducir la posibilidad de padecer de ceguera en las personas diabéticas. Además, la vitamina B 12 es importante para el desarrollo del tratamiento de neuropatía, mientras que la vitamina C sirve para acumular la glicosilación proveniente de proteínas y el sorbitol, estos componentes son esenciales para prevenir la catarata en diabéticos ⁽⁷⁾.

Numerosos estudios clínicos, llevados a cabo en los últimos cinco años, señalaron que las características medicinales de la moringa sirve como un antioxidante, es decir, tiene la capacidad de contrarrestar enfermedades endocrinas, respiratorias, nerviosa y gastrointestinales ⁽¹⁾. La diabetes es ante todo un factor de riesgo de las enfermedades cardiovasculares que pueden reducir la esperanza de vida, por eso los diabéticos se cuidan tardíamente, pues mientras no aparecen las complicaciones, no se sienten enfermos ⁽⁸⁾.

En tal sentido el trabajo se ha realizado con la finalidad de establecer las dosis 250 ,500 y 1000 mg/kg del extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) cuál de estas dosis presentan mayor actividad hipoglucemiante en ratas Holtzman inducidas a hiperglucemia experimental, por lo tanto, se busca extender estudios principalmente naturales para encontrar alternativas de tratamiento, y por su alto valor nutritivo podría ser incluido en la dieta diaria como preventivo a pacientes propensos a diabetes, debido a que esta enfermedad está en crecimiento.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del estudio

2.1.1 Nacionales

Terrazas et al 2017. Realizó un estudio histoquímico, morfológico y anatómico de *Moringa oleífera*, determinó que existen diversas propiedades a favor de la salud. No obstante, existen escasas investigaciones sobre toxicidad, lo cual posee efectos negativos para el cuerpo humano, esto es en función a la dosis dada. Para el desarrollo de esta investigación se estudiaron muestras de moringa, con el propósito de identificar su toxicidad. Este se llevó a cabo por medio del método de tamizaje, el corte de varios órganos expuestos en el microscopio. El estudio concluyó que la raíz era la parte organográfica más tóxica en la planta, seguido de la corteza y el tallo⁽⁹⁾.

Arévalo 2017. Este estudio tuvo como principal objetivo: Evaluar, in vitro, el efecto antibacteriano y citotóxico de dos extractos metanólicos de *Azadirachta indica* y *Moringa oleífera* sobre cepas de *Enterococcus faecalis*. Para el desarrollo de esta investigación fue necesaria la utilización de los extractos metanólicos de *Azadirachta indica* y *Moringa oleífera*, los cuales fueron preparados in vitro. Asimismo, utilizaron la técnica de difusión en agar y el método de microdilución para determinar la concentración mínima inhibitoria. El resultado de esta investigación fue la siguiente: El extracto metanólico que obtuvo mayor efecto antibacteriano en 24 y 48 horas frente al *Enterococcus faecalis* fue la *Moringa oleífera*, obteniendo un halo de 35.5 ± 1.05 y 44.83 ± 0.98 , respectivamente. Este estudio llegó a la siguiente conclusión: Se demostró que los extractos metanólicos de *Azadirachta indica* y *Moringa oleífera* tienen efecto antibacteriano contra cepas de *Enterococcus faecalis* a las 24 y 48 horas. Además, ninguno de los dos extractos resultó ser tóxico sobre líneas celulares a bajas concentraciones⁽¹⁰⁾.

Aldana 2012. Describió el uso del extracto de la semilla de *Moringa oleífera* como coagulante natural primario y ayudante de coagulación en el tratamiento de agua para consumo humano. Para la elaboración de esta investigación, fue necesario

el uso de las pruebas de jarras, análisis de dosificación, floculación y sedimentación. Para el desarrollo de estas pruebas y análisis se requirió el extracto de semilla de la *Moringa oleífera*, tales como coagulante primario y como ayudante de coagulación del sulfato de aluminio; además, se practicaron pruebas con las mismas muestras de agua utilizando el sulfato de aluminio (alúmina) como coagulante primario. La investigación se realizó con muestras de agua del río Rímac. Los resultados obtenidos demostraron el alto poder coagulante que posee el extracto de semilla de *Moringa oleífera* tanto como coagulante principal, así como ayudante de coagulación, esto debido a que remueve la turbiedad a valores aceptables por la normativa nacional. El uso del extracto de semilla de *Moringa oleífera* demostró tener poder bactericida, para la muestra II se reduce la cantidad de coliformes fecales ⁽¹¹⁾.

Samame 2017. Este estudio tuvo como objetivo evaluar la concentración óptima de la utilización de semilla *Moringa oleífera* “Moringa” como un clarificante vegetal en el proceso de una bebida alcohólica de *Passiflora edulis* “Maracuyá”. Los ensayos se realizaron a una temperatura entre 25 °C y 30 °C con seis diferentes concentraciones de semilla *Moringa oleífera* “Moringa” 20 g/ L, 25 g/ L, 30 g/ L, 35 g/ L, 40 g/ L y 45 g/ L. Se realizó encuestas, según la escala hedónica, donde el consumidor da su aceptabilidad de la bebida alcohólica de *Passiflora edulis* “Maracuyá” con diferentes concentraciones semilla *Moringa oleífera*. Teniendo como resultado de la encuesta sensorial la concentración semilla *Moringa oleífera* “Moringa” 30 g/ L. Tuvo una mayor aceptación tanto en su color, sabor, olor y apariencia, también se comprobó los clarificantes de origen vegetal permite reducir la astringencia sin modificar el color de la bebida alcohólica y consigue reducir la turbidez en valores similares a las gelatinas ⁽¹²⁾.

2.1.2 Extranjeros

Guaycha et al 2017. “Estudios farmacognósticos y toxicológicos preliminares de hojas, tallo y raíz de moringa”

Moringa oleífera Lam. Es una planta con propiedades nutritivas y farmacológicas, que podría convertirse en una alternativa nutricional para el ser humano y método para la prevención de enfermedades. En Ecuador, existe poca información acerca de sus parámetros de calidad, composición química y toxicidad, desconociéndose el índice de seguridad para su consumo. Se realizaron estudios farmacognósticos y toxicológicos preliminares del tallo, raíz y hojas de esta planta, cultivada en Machala, Ecuador. Se determinaron los porcentajes de humedad residual y cenizas para el tallo (8,38%; 6,68%), raíz (9,74 %; 8,34 %) y hojas (12,63%; 9,76%). Se calcularon las sustancias solubles en etanol al 30%, 50% y 70%. Todo según metodología establecida por la Organización Mundial de la Salud. Se realizó un estudio químico preliminar a través de tamizaje fitoquímico siguiendo la metodología recomendada en la literatura y llevó a cabo el ensayo de toxicidad aguda por vía oral en ratas wistar, mediante el método clases tóxicas agudas de la Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) N°423, con la dosis límite de 2000 mg/kg. Los estudios farmacognósticos estuvieron en concordancia con lo establecido en la literatura y el de sustancias solubles permitió seleccionar el etanol al 30% como mejor disolvente extractivo. El extracto hidroalcohólico con *Moringa oleífera Lam*, a dosis límite, no produjo mortalidad ni indicadores de toxicidad ⁽¹³⁾.

Barreto et al 2015. Efecto agudo de *Moringa oleífera* sobre la hiperglucemia inducida por dexametasona en ratas wistar.

Se han atribuido muchos efectos beneficiosos a la *Moringa oleífera* en varias publicaciones siendo de gran interés su efecto hipoglicemiante por disminución de la absorción intestinal de glucosa, aunque no está definido si su eficacia hipoglicemiante sería igual o mayor a algún hipoglicemiante oral conocido. En estudio, determinaron el efecto agudo de *Moringa oleífera* en hiperglucemia

inducida por dexametasona en ratas Wistar hembras, así como comparar su efecto hipoglicemiante con la metformina. Materiales y métodos: Estudio experimental, tres grupos de cinco ratas Wistar hembras, con peso de 188 ± 11 gramos. Realizaron la medición de la glucemia basal con glucómetro, después de 12 horas de ayuno, al principio del experimento, luego fueron tratadas con dexametasona 10 mg/kg/día, subcutánea, durante 10 días y se tomó la glicemia post dexametasona. Los días 11 a 14 recibió el grupo 1 :(suero fisiológico); grupo 2 (*Moringa oleífera* 300 mg/kg/día); y grupo 3 (metformina 14,28 mg/kg/día) por sonda oro gástrica; el día 15 se tomó la glucemia post tratamiento. Se analizó el promedio desviación estándar y la correlación mediante la prueba la prueba T de Student, se consideró $P < 0,05$ como significativa. Resultados: Grupo 1 (control): glucemia inicial (117 ± 21 mg/dl), post- dexametasona (445 ± 260 mg/dl) y post tratamiento (222 ± 5 mg/dL), Grupo 2 (*Moringa oleífera*): glucemia inicial (95 ± 27 mg/dl), post dexametasona (413 ± 184 mg/dl) y post tratamiento (102 ± 18 mg/dl) y del Grupo 3 (metformina): glucemia inicial (110 ± 5 mg/dl), post-dexametasona (470 ± 146 mg/dl) y post tratamiento (88 ± 11 mg/dL). La glucemia pos tratamiento mostró diferencias entre el grupo 1 y 2 ($p < 0,0001$), entre el grupo 1 y 3 ($p < 0,0001$) no hallándose diferencias entre los grupos *Moringa oleífera* y metformina ($p = 0,1$). Concluyeron que la *Moringa oleífera* disminuye, en forma aguda, la hiperglucemia inducida por dexametasona en ratas hembras Wistar con la misma eficacia que la metformina⁽¹⁴⁾.

Waterman et al 2016. “El extracto de *Moringa oleífera* rico en isotiocianato reduce el aumento de peso, la resistencia a la insulina y la gluconeogénesis hepática en ratones”

La *Moringa oleífera* (Moringa) es una planta tropical utilizada tradicionalmente como alimento antidiabético. Produce isotiocianatos de moringa estructuralmente únicos y químicamente estables (CIM) que se evaluaron para su uso terapéutico in vivo. Métodos y resultados. Ratones C57BL / 6L alimentados con una dieta muy rica en grasas suplementada con 5% de concentrado de moringa (CM, que produce 66 mg / kg / d de CIM) acumularon masa grasa mejoraron la tolerancia a la glucosa y la señalización de insulina y no desarrollaron enfermedad de hígado

graso en comparación con los ratones alimentados solo con dieta muy rica en grasas. El grupo alimentado con MC, también, tenía una insulina plasmática reducida, leptina, resistina, colesterol, IL-1 β , TNF α y una expresión de glucosa-6-fosfatasa hepática (G6P), más baja en células de hepatoma, MC y MIC a bajas concentraciones micromolares inhibieron la gluconeogénesis y la expresión de G6P. Concluyeron que las CIM son los principales bioactivos antiobesidad y antidiabéticos de MC, y que ejercen sus efectos al inhibir los pasos limitantes de la velocidad en la gluconeogénesis hepática, lo que resulta en un aumento directo o indirecto de la señalización y sensibilidad de la insulina, por lo que sugieren que MC puede ser un alimento dietético eficaz para la prevención y el tratamiento de la obesidad y la diabetes tipo 2⁽¹⁵⁾.

Canett et al 2014. “Aspectos tóxicos más relevantes de *Moringa oleífera* y sus posibles daños”

La *Moringa oleífera* es un árbol de la familia de las Moringáceas que posee propiedades antimicrobianas, nutritivas, antioxidantes y terapéuticas. A nivel internacional, existe gran preocupación sobre la posible inocuidad de las diversas partes anatómicas de esta planta, y sin embargo, se sigue utilizando como suplemento alimenticio, para purificar agua y para tratar más de 300 enfermedades esta posible controversia es de suma importancia, por lo que obliga a la comunidad científica a investigar los posibles efectos adversos adyacentes a su consumo prolongado. Con la finalidad de investigar la existencia de posibles efectos tóxicos de las distintas partes anatómicas de la planta, así como elucidar los posibles compuestos que la causan, realizaron una revisión bibliográfica donde se encontraron posibles daños hepáticos, renales, hipertrofia de bazo y timo, alteración en los parámetros hematológicos, genotoxicidad y efectos anticonceptivos, dependientes de la dosis y del tiempo de consumo. Entre las sustancias tóxicas encontradas, se resaltan los alcaloides moringina, moringinina y spirochin y el fitoquímico bencil isotiocianato, presentes principalmente en la raíz y corteza, mientras que la hoja es posiblemente la más segura para su consumo. Concluyeron la necesidad de abrir un campo de investigación para tener la certeza de que su utilización es segura o de lo contrario desarrollar técnicas que

eliminen o reduzcan la toxicidad y aumenten el potencial benéfico para incluirla en programas de salud que apliquen su regulación⁽¹⁶⁾.

Malki et al 2015. “El efecto antidiabético de bajas dosis de *Moringa oleífera* Lam. Semillas en la diabetes inducida por estreptozotocina y la nefropatía diabética en ratas macho”

El estudio evaluó la actividad antidiabética de dos dosis bajas de polvo de semilla de moringa (50 y 100 mg / kg de peso corporal, en la dieta) en ratas macho con diabetes inducida por estreptozotocina (STZ). Cuarenta ratas fueron divididas en cuatro grupos. El grupo control diabético positivo (tratado con STZ) mostraron un aumento de peróxido de lípidos, aumento de IL-6 y disminución de la enzima antioxidante en el homogeneizado de tejido de suero y riñón en comparación con el grupo de control negativo. Las inmunoglobulinas (IgA, IgG), el azúcar en sangre en ayunas y la hemoglobina glucosilada (HbA1c) también se incrementaron como resultado de la diabetes en ratas G2. Además, la albúmina disminuyó y las enzimas hepáticas y la α -amilasa no se vieron afectadas. Además, las funciones renales y los niveles de potasio y sodio en G2 se incrementaron como un signo de nefropatía diabética. El análisis de orina también mostró glucosuria y aumento de los niveles de potasio, sodio, creatinina, ácido úrico y albúmina. Los tejidos de riñón y páncreas también mostraron alteración patológica en comparación con el grupo de control negativo. El tratamiento de las ratas diabéticas con 50 o 100 mg de semillas de moringa en polvo / kg de peso corporal en G3 y G4, respectivamente, mejoró los niveles de todos estos parámetros acercándose a los valores de control negativo y restableció la histología normal del riñón y el páncreas en comparación con la del grupo de control positivo diabético⁽¹⁷⁾.

Mbikay 2012. “Potencial terapéutico de las hojas de *Moringa oleífera* en la hiperglucemia crónica y la dislipidemia: una revisión”

Moringa oleífera (Moringa) es una planta angiosperma, originaria del subcontinente indio, donde sus diversas partes se han utilizado a lo largo de la historia como alimento y medicina. Es cultivada en todas las regiones tropicales y

subtropicales del mundo. El consumo dietético se promueve como una estrategia de preservación de la salud personal en diversas enfermedades. El entusiasmo por los beneficios para la salud de *Moringa oleífera* contrasta con la escasez de pruebas experimentales y clínicas sólidas que los respaldan. Afortunadamente, el abismo se está llenando lentamente. En este artículo, se revisaron los datos científicos actuales sobre el potencial de las hojas de *Moringa oleífera* en la hiperglucemia crónica y la dislipidemia, en el riesgo de diabetes y enfermedad cardiovascular. Los estudios informados en animales y humanos experimentales, aunque limitados en número y variables en el diseño, parecen concordantes en su apoyo a este potencial. Sin embargo, antes de que las formulaciones de hojas de *Moringa oleífera* puedan recomendarse como medicamentos para la prevención o el tratamiento de la diabetes y la ECV, es necesario que se determinen con mayor rigor las bases científicas de su eficacia, las modalidades terapéuticas de su administración y sus posibles efectos secundarios⁽¹⁸⁾.

Ramniwas et al 2016. Potencial antidiabético y antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina

Evaluó las actividades antidiabéticas y antioxidantes del 70% de extracto etanólico de las hojas de *Moringa oleífera* (MOLEt) en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina. La diabetes fue inducida en ratas Wistar machos por inyección intraperitoneal única de estreptozotocina (60 mg / kg). Las ratas diabéticas se administraron por vía oral con MOLEt en tres dosis diferentes (100, 250 y 500 mg / kg) durante 60 días. Los resultados fueron comparados con glibenclamida (5 mg / kg) de ratas tratadas. Las ratas de control tratadas con estreptozotocina mostraron un aumento significativo en la glucemia en ayunas y la hemoglobina glucosilada (HbA1c) con una disminución concomitante en el nivel de insulina sérica y contenido de glucógeno en el hígado. Por otra parte, los niveles de peróxido de lípidos (TBARS) en el tejido pancreático se aumentó significativamente con una disminución simultánea de los marcadores antioxidantes (SOD, CAT, GSH y ácido ascórbico). La imagen histopatológica de los islotes pancreáticos mostró cambios degenerativos y atróficos. La

administración oral de MOLEt (100, 250 y 500 mg / kg) y glibenclamida durante 60 días mostraron una reducción significativa en sangre de niveles de glucosa , HbA1c y una elevación en la insulina sérica y niveles de glucógeno hepático. El extracto de tratamiento también redujo los niveles de TBARS y mejoró los niveles de marcadores antioxidantes en el páncreas. La imagen del páncreas en ratas diabéticas tratadas con MOLEt mostró un marcado signo de mejoría. Los resultados del presente estudio mostraron que MOLEt posee importantes actividades antidiabéticas y antioxidantes ⁽¹⁹⁾.

Aja et al 2013. Evaluación de la actividad anti-diabética y enzimas hepáticas de extractos acuosos de hojas de *Moringa oleífera* y *Bridelia ferruginea* en ratas albinas diabéticas inducidas por aloxano

En este estudio, evaluaron las actividades de las enzimas hepáticas y anti-diabéticas de extractos acuosos de hojas de *Moringa oleífera* y *Bridelia ferruginea* en ratas albinas diabéticas inducidas por aloxano. Diseño del estudio: la diabetes se indujo en tres grupos de ratas, un grupo no se trató, mientras que dos grupos se trataron por vía oral con extractos de *M. oleífera* y *B. ferruginea* a 200, 400 y 800 mg / kg de peso corporal de ratas dos veces durante una semana respectivamente. Un grupo no fue inducido y solo recibió agua destilada. Las actividades de las enzimas hepáticas y anti-diabéticas se determinaron a partir de las actividades de glucosa en sangre y transaminasas de las ratas. Lugar y duración del estudio: Departamento de Bioquímica de la Universidad Estatal de Ebonyi, Abakaliki, Nigeria, septiembre de 2012. Metodología: Veinticuatro ratas albinas se agruparon en el grupo A, B, C y D. Los grupos C y D se subdividieron en C1, C2, C3, D1, D2 y D3, respectivamente. La diabetes se indujo en todos los grupos, excepto en el grupo A (control positivo). El grupo B (control negativo) no se trató, mientras que los grupos C y D se trataron con extractos acuosos de *M. oleífera* y hojas de *B. ferruginea*, que se administraron por vía oral a los animales dos veces al día durante una semana a concentraciones variables de 200, 400 y 800 mg / kg de peso corporal. Se determinaron los niveles de glucosa y enzimas hepáticas. Utilizando Métodos glucometricos y espectrofotométricos. Resultados: Los resultados revelaron que hubo reducciones significativas ($P < 0.05$) en el nivel

de glucosa en ratas tratadas con extracto acuoso de *B. ferruginea* que en ratas tratadas con *M. oleífera*. No hubo una reducción significativa ($P > 0.05$) en el nivel de fosfatasa alcalina entre los controles y los grupos tratados, excepto a dosis de 200 mg / kg en las que el nivel de fosfatasa alcalina fue alto en ratas tratadas con extracto de *M. oleífera*. Hubo reducción significativa ($P < 0.05$) en Nivel de alanina aminotransferasa en ratas tratadas con *M. oleífera* y *B. ferruginea* en comparación con el control negativo, mientras que hubo un aumento significativo ($P < 0.05$) cuando se comparó con el control positivo, excepto en dosis de 200 mg / kg donde hubo Disminución del nivel de aminotransferasa alanina en ambos extractos de plantas. También hubo una disminución significativa ($P < 0.05$) en el nivel de AST en ratas tratadas con *M. oleífera* en comparación con los controles, mientras que hubo un aumento significativo ($P < 0.05$) en el nivel de aspartato aminotransferasa en ratas tratadas con *B. ferruginea*, excepto en 200 mg / kg donde hubo disminución en comparación con los controles. Concluyeron que ambos extractos se pueden usar en la etnomedicina para el tratamiento de la diabetes mellitus⁽²⁰⁾.

Anyanwu et al 2014. Efecto del extracto etanólico de la hoja de *Moringa oleífera* en resistencia a la insulina en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina

La resistencia a la insulina juega un papel central en la patogénesis de la diabetes mellitus tipo 2, en este estudio demostraron que el extracto de *Moringa oleífera* mejora la hiperglucemia, sin embargo, se sabe poco de su efecto sobre la resistencia a la insulina y la función de las células beta. Determinaron el efecto del extracto etanólico de la hoja de *Moringa oleífera* sobre la resistencia a la insulina en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina y dieta rica en grasas. Diferentes dosis (250 y 500 mg / kg) del extracto etanólico de la hoja de *Moringa oleífera* se administraron por vía oral durante dos semanas, a una dieta alta en grasas y estreptozotocina indujo a ratas diabéticas, y se compararon con metformina 320 mg / kg y grupo control (agua destilada 10 ml / kg) para el efecto sobre la glucemia en ayunas, la insulina sérica y la resistencia a la insulina (HOMA). El extracto de *Moringa oleífera* (a dosis de 250 mg / kg y 500 mg / kg)

redujo significativamente la glucosa en sangre en ayunas los días 7 y 14 en comparación con los controles ($p = 0.0021$ y $p = 0.0001$ respectivamente). Hubo un aumento significativo en el nivel de insulina sérica en el grupo de control los días 7 y 14 en comparación con los grupos tratados con el extracto (250 mg / kg, 500 mg / kg) y metformina ($p < 0.01$, $p < 0.02$ y $p < 0.01$ respectivamente). El extracto en ambas dosis y la metformina (320 mg / kg) indujeron una mejora significativa en la resistencia a la insulina (HOMA-IR) los días 7 y 14 ($p < 0.0001$)⁽²¹⁾.

Ezeigbo et al 2016. Análisis fitoquímico y efecto antidiabético de extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Moringa oleífera* en ratas Wistar albino diabéticas inducidas por aloxano usando insulina como fármaco de referencia

Moringa oleífera Lam, popularmente conocido como "árbol milagroso" pertenece a la familia, Moringaceae. Es una planta medicinal que constituye una importante fuente de potencial terapéutico para el tratamiento de dolencias. En este estudio, investigaron la detección fitoquímica de *Moringa oleífera lam* y su efecto sobre la diabetes inducida por aloxano en ratas Wistar albino. La hiperglucemia se indujo en ratas usando aloxano (100 mg / kg de peso corporal) por vía intraperitoneal, lo que resultó un nivel alto de glucosa entre 340 mg / dl y 600 mg / dl. Las ratas hiperglucémicas se trataron con dosis de extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Moringa oleífera* usando insulina como fármaco de referencia durante 14 días. 15 ratas se dividieron aleatoriamente en 3 grupos (A, B y C) de 5 ratas cada una y se alimentaron con alimento estándar y agua. Los tres grupos fueron inducidos con aloxano. El grupo A se trató con insulina, mientras que B y C se trataron con extractos de hojas acuosas y etanólicas de *Moringa oleífera*, respectivamente. Se usó un glucómetro para verificar el nivel de glucosa en sangre de los animales. El análisis mostró que la *Moringa oleífera* es rica en agentes bioactivos que potencian su uso como planta medicinal. El resultado también mostró una disminución significativa en el nivel de glucosa en sangre de las ratas inducidas a los 3, 9 y 14 días para los extractos acuosos y etanólicos de *Moringa oleífera*. Sin embargo, el extracto acuoso mostró más efecto hipoglucémico que el extracto

etanólico, lo que sugiere que es un mejor disolvente para la extracción de los agentes bioactivos para esta extracción. Después de 14 días, hubo un 45,2% y un 33,7% de reducción de la glucosa en sangre para los extractos acuosos y etanólicos, respectivamente, mientras que el fármaco de referencia (insulina) tuvo una reducción del 58,7%. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas en la reducción de glucosa en sangre con insulina y los extractos de *Moringa oleífera* (valor de $p > 0.05$). Sin embargo, existe una diferencia significativa entre el nivel de glucosa después de la inducción con aloxano y los tratamientos de 14 días (valor $p < 0.05$). Los resultados de este estudio confirmaron el uso extensivo de *Moringa oleífera Lam*, sugiriendo su uso en la formulación de medicamentos ⁽²²⁾.

Ghasi et al 2000. Efectos hipocolesterolémicos del extracto crudo de hoja de *Moringa oleífera Lam* en ratas Wistar alimentadas con dieta alta en grasas.

Las hojas de la *Moringa oleífera Lam* (Moringaceae) son usadas por los indios en su medicina herbal como un agente hipocolesterolémico en pacientes obesos. Por lo que examinaron la base científica para su uso en la hipercolesterolemia. Determinaron que la administración del extracto crudo de hoja de *Moringa oleífera* junto con una dieta alta en grasas disminuyó los aumentos de los niveles de colesterol en suero, hígado y riñón inducidos por la dieta alta en grasas en un 14.35% (115-103.2 mg / 100 ml de suero).), 6.40% (9.4-8.8 mg / g de peso húmedo) y 11.09% (1.09-0.97 mg / g de peso húmedo) respectivamente. El efecto sobre el colesterol sérico fue estadísticamente significativo. No se observó ningún efecto significativo sobre la proteína total del suero. Sin embargo, el extracto crudo aumentó la albúmina sérica en un 15.22% (46-53 g / l). Este valor también se encontró que es estadísticamente significativo. Concluyeron que las hojas de *Moringa oleífera* tienen una actividad hipocolesterolémica definida y que existe una base farmacológica válida para emplearlas para este propósito en la India ⁽²³⁾.

Oyedepo et al 2013. Evaluación del efecto anti-hiperlipidémico del extracto de hojas acuosas de *Moringa oleífera* en ratas diabéticas inducidas por aloxano

Evaluó el efecto del extracto acuoso de la hoja de *Moringa oleífera* (Moringaceae) sobre el nivel de glucosa en plasma, el nivel de colesterol total, los triglicéridos (TG), las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en ratas albinas machos. Metodología: Veinticuatro ratas albinas de la cepa Wistar, se utilizaron pesos de entre 160 y 200 g para este estudio. Estos fueron asignados aleatoriamente en 3 grupos de 8 animales por grupo como control normal, control diabético y diabético tratado con extracto de *Moringa oleífera*. La diabetes fue inducida por 100 mg / kg de aloxano monohidrato. Los grupos diabéticos de control recibieron agua destilada mientras que el grupo tratado con diabetes se administró 400 mg / kg de peso corporal de extracto de hoja acuosa de *Moringa oleífera* durante 28 días. Al final del experimento, se determinó el nivel de glucosa en plasma, colesterol, triglicéridos (TG), lipoproteína de alta densidad (HDL) y lipoproteína de baja densidad (LDL) en todos los animales experimentales después de 12 horas de ayuno. Resultados: El resultado mostró aumentos significativos ($P < 0.05$) en el colesterol plasmático, el nivel de TG y de LDL del grupo de control diabético en comparación con el grupo de control normal, mientras que no hubo diferencias significativas en el grupo de diabéticos tratados con *Moringa oleífera* y el grupo de control normal. Sin embargo, el HDL no fue diferente en los tres grupos. Concluyeron que la administración oral de extracto acuoso de hoja de *Moringa oleífera* puede reducir los desequilibrios de lípidos en plasma asociados con la diabetes mellitus⁽²⁴⁾.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 *Moringa oleífera* L.

2.2.1.1 Descripción botánica de *Moringa oleífera* L

La distinción entre la moringa y otras especies no es complicada, puesto que esta especie posee características propias como: las hojas pinnadas son grandes y cada una de ellas se fragmenta en numerosos folios. De otro lado, los frutos conforma una cápsula de largo tamaño que con el pasar del tiempo se dividen hasta conformar tres valvas que se distancian debido a su extensión, lo cual quiere decir que solo una estará ubicada en base del fruto⁽²⁵⁾.

La mayor parte de la especies, poseen hasta tres alas longitudinales, además la mezcla de las hojas puntadas, semillas con tres alas y los frutos trivalvados permiten que su distinción sea notoria. Con el objetivos de afianzar la identificación, se detecta las glándulas foliares, las mismas que se localizan en los dos lados. Asimismo, otra particularidad de esta planta, pero más complicada es detectar el estilo hueco y las anteras con dos esporangios para el polen, a diferencias de otras plantas que poseen cuatro ⁽²⁵⁾.



Figura 1: Hojas de *Moringa oleifera* L.
Fuente: Agro Productividad

2.2.1.2 Taxonomía botánica

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA

CLASE : MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE : DILLENIIDAE

ORDEN : CAPPARALES

FAMILIA : MORINGACEAE

GÉNERO : *Moringa*

ESPECIE : *Moringa oleifera* Lam

Determinado por el Biólogo: Severo Baldeon Malpartida del museo de historia natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

2.2.1.3 Distribución y hábitat

Moringa oleífera tiene la forma de un árbol de color verde. Este es oriundo de la zona sureña de Himalaya. De igual forma, esta planta se extiende desde la parte norte de Pakistán hasta el noreste de Bengala, en la India. Asimismo, la moringa se ha instaurado en diferentes zonas del mundo, tales como: Afganistán, Madagascar, Paraguay, Perú, Brasil y otros ⁽²⁶⁾.

En el caso de América Latina, esta planta fue implementada como ornamental y como cercas. En el caso de los romanos, egipcios y griegos utilizaron el aceite de las semillas para elaborar perfumes. Durante el siglo XIX, en el Caribe, se dedicaron a exportar el aceite de las semillas proveniente de la moringa hacia el viejo continente (Europa), para luego convertirlos en fragancias y aceites para máquinas ⁽²⁶⁾.

2.2.1.4 Cultivo y usos

La zona en la que se planta la moringa debe poseer un óptimo drenaje, puesto que la moringa no puede desarrollarse en charcos. Esta planta crece en zonas ácidas; sin embargo, solo tolera hasta el 6.5 de PH. Además, la moringa es resistente ante sequías y su crecimiento es mejor en lugares áridos y semiáridos. Esta planta tiene un acelerado crecimiento y propagación, ya sea por reproducción o semillas ⁽²⁷⁾.

La idea de sembrar esa especie en el Perú obedeció al análisis de su enorme potencial nutritivo para mejorar la agricultura de la costa del sur chico. A la fecha ya son 555 plantas sembradas en un área de 5000m² en el fundo "El Arenal" en la pampa de Villacuri, Ica ⁽²⁸⁾.

En relación a la semilla de esta planta, esta provino, en 1999, de México con la aceptación de Senasa (Servicio Nacional de Sanidad Agraria) ⁽²⁸⁾.

En la India, esta planta es utilizada para la elaboración de lanzaderas y otros elementos de indumentaria textil. La pulpa de la moringa es usada para la construcción de papel de prensa, cartón, esteras, felpudos y otros. De otro lado, los taninos ubicados en la goma de la corteza de esta planta es extraída para usarla en la industria del curtido de las pieles ⁽²⁶⁾.

2.2.1.5 Fitoquímica

Moringa oleífera es rica en compuestos que contienen azúcar simple, ramnosa y un grupo bastante único de compuestos llamados glucosinolatos e isotiocianatos. Se ha informado que la corteza del tallo contiene dos alcaloides, la moringina y la moringinina. Vanilina, β -sitosterol, β -sitostenona, 4-hydroximelina y el ácido octacosanoico se han aislado del tallo de *Moringa oleífera*. Se ha encontrado que el exudado purificado de goma entera de *Moringa oleífera* contiene L-arabinosa, galactosa, ácido glucurónico y L-ramnosa, manosa y xilosa, mientras que un polisacárido homogéneo de goma degradada constituido por L-galactosa, ácido glucurónico y L-manosa se obtuvo mediante hidrólisis suave de la goma entera con ácido ⁽²⁹⁾.

Las flores contienen nueve aminoácidos, sacarosa, D-glucosa, trazas de alcaloides, cera, quercetina; la ceniza es rica en potasio y calcio. También, se ha informado que contienen algunos pigmentos, alcaloides, flavonoides como; kaempferol, rhamnetin, isoquercetina y kaempferitrina ⁽²⁹⁾.

Entre los compuestos antihipertensivos, se han aislado glucósidos de isotiocianato y tiocarbamato de la fase de acetato del extracto de etanol de las vainas de moringa. Se ha demostrado que las citoquininas están presentes en la fruta. Un nuevo carbamato de O-etil-4- (α -L-ramnosiloxi) bencilo junto con siete compuestos bioactivos conocidos, 4 (α -L-ramnosiloxi) -bencilo isotiocianato, niazimicina, 3-O- (6'-O-oleoil- β -D-glucopiranosil) - β -sitosterol, β -sitosterol-3-O- β -D-glucopiranosido, niazirina, β -sitosterol y glicerol-1- (9-octadecanoato), han sido aislados del etanol extracto de la semilla de moringa ⁽²⁹⁾.

2.2.1.6 Propiedades

Esta planta es altamente nutritiva y su consumo se da en diversos lugares del planeta. Su aceite es muy usado, ya que participa en la elaboración de jabones, combustibles y cosméticos ⁽³⁰⁾.

De otro lado, los residuos de esta planta también pueden ser utilizados como acondicionador, fertilizante, suplemento alimenticio para animales. Asimismo, las semillas, en estado de pulverización, pueden ser usadas como pomadas para tratar problemas de infección que afecta a la piel ⁽³⁰⁾.



Figura 2: Planta de *Moringa oleífera* L.
Fuente: Agro Productividad

2.2.1.7 Acción farmacológica

Actividades antihipertensivas, diuréticas y reductoras del colesterol

El nitrilo y los glucósidos de tiocarbamato se han aislado de las hojas de moringa, que se encontraron responsables del efecto de disminución de la presión arterial. La mayoría de estos compuestos, portadores de grupos tiocarbamato, carbamato o nitrilo, son glucósidos totalmente acetilados, que son muy raros en la naturaleza (29).

Se ha encontrado que las raíces, hojas, flores, goma y la infusión acuosa de semillas poseen actividad diurética. El extracto crudo de hojas de moringa tiene una acción reductora significativa del colesterol en el suero de ratas alimentadas con alto contenido de grasa que podría atribuirse a la presencia de un fitoconstituyente bioactivo, es decir, β -sitosterol (29).

Actividades antiespasmódicas, antiulcerosas y hepatoprotectoras

La actividad antiespasmódica del extracto de etanol de las hojas de *Moringa oleífera* se ha atribuido a la presencia de 4- [α - (L-ramnosiloxi) bencil] -o-metil tiocarbamato (trans). La fracción de metanol de extractos de hojas de *Moringa oleífera* mostró efectos antiulcerogénicos y hepatoprotectores. También, se encontró que los extractos acuosos y de alcohol de las flores de Moringa tienen

un efecto hepatoprotector significativo, que puede deberse a la presencia de quercetina, un flavonoide bien conocido con actividad hepatoprotectora ⁽²⁹⁾.

Actividades antibacterianas y antifúngicas

El aglicón de desoxi-niazimicina (N-bencilo, S-etil-tiofor-mate) aislado de la fracción de cloroformo de un extracto de etanol de la corteza de la raíz fue responsable de las actividades antibacterianas y antifúngicas. Se ha demostrado que el extracto de corteza posee actividad antifúngica, mientras que el jugo de la corteza del tallo mostró un efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus*. Se descubrió que el jugo de hoja fresca inhibe el crecimiento de microorganismos (*Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*), patógeno para el hombre ⁽²⁹⁾.

Actividades antitumorales y anticancerígenas

Makonnen descubrió que las hojas de moringa son una fuente potencial de actividad antitumoral. O-Ethyl-4- (α -L-ramnosiloxi) bencil carbamato junto con 4 (α -L-ramnosiloxi) -bencil isothiocyanate, niazimicin y 3-O- (6'-O-oleoyl - β -D-glucopiranosil) - β -sitosterol han sido probados para su actividad potenciadora del tumor usando un ensayo in vitro que mostró efectos inhibidores significativos sobre el antígeno temprano del virus de Epstein-Barr. Se ha propuesto que la niazimicina es un potente agente quimiopreventivo en la carcinogénesis química ⁽²⁹⁾.

2.2.1.8 Toxicidad

Las sustancias que están involucradas en la toxicidad que posee *Moringa oleífera* son alcaloides característicos llamados moringina y moringinina, debido a que particularmente este último es altamente citotóxico, esteroides, fitoquímicos derivados del ácido gálico y del catecol y algunas sustancias antibióticas; todos estos presentes en mayor concentración en las raíces y el tallo ⁽³¹⁾.

2.2.2 Diabetes

2.2.2.1 Conceptos generales

La diabetes mellitus es una gama de trastornos metabólicos comunes, que se originan de diversos mecanismos patógenos y todos tienen por consecuencia la

hiperglucemia. La cantidad de personas que padecen diabetes aumentan aceleradamente a nivel mundial ⁽³²⁾.

Los factores ambientales y genéticos forman parte de la patogenia, lo que conforma la secreción deficiente, reducción de la respuesta a la insulina endógena o exógena, aumento en la generación de glucosa que está en el metabolismo de proteínas y grasas ⁽³²⁾.

La hiperglucemia puede producir síntomas graves y anomalías metabólicas. No obstante, la fuente primordial fue la morbilidad de la diabetes, las deficiencias graves provocadas por la hiperglucemia prolongada, lo que incluye retinopatía, neuropatía, nefropatía y enfermedades cardiovasculares. Sin embargo, estas complicaciones crónicas pueden mitigarse en varios pacientes a través del control sostenido de la glucemia. Existe un gran número de propuestas terapéuticas para la hiperglucemia; se dirigen a procesos distintos involucrados en la regulación correcta o incorrecta de la glucosa ⁽³²⁾.

2.2.2.2 La insulina

Es una hormona anabólica mayor sintetizada como proinsulina en los ribosomas de las células Beta de los Islotes de Langerhans del páncreas, pasando luego al retículo endoplásmico y al golgi. Es la encargada de controlar la concentración de glucosa en sangre al regular su producción y almacenamiento. Su acción específica está centrada en las siguientes acciones: transporte de la glucosa y aminoácidos a través, de la transmembrana celular; estimula la formación de glicógeno en el hígado y músculo esquelético, convierte la glucosa en triglicéridos, estimula la síntesis de ácidos nucleicos y la síntesis proteica ⁽³³⁾

2.2.2.3 Tipos de diabetes

La DM se clasifica con base en el proceso patógeno que culmina en hiperglucemia, a diferencia de criterios previos como edad de inicio o tipo de tratamiento. Las dos categorías amplias de la DM se designan tipo 1 y tipo 2. Los dos tipos de diabetes son antecedidos por una fase de metabolismo anormal de glucosa, conforme evolucionan los procesos patógenos ⁽³⁴⁾.

La diabetes tipo 1 es resultado de la deficiencia completa o casi total de insulina.

La diabetes tipo 2 es un grupo heterogéneo de trastornos que se caracterizan por grados variables de resistencia a la insulina, menor secreción de dicha hormona y una mayor producción de glucosa. Diversos defectos genéticos y metabólicos en la acción, secreción o ambas funciones de la insulina causan el fenotipo común de hiperglucemia en la DM tipo 2 y tienen grandes posibilidades terapéuticas en la época actual, en que se dispone de fármacos para corregir o modificar trastornos metabólicos específicos. La DM tipo 2 es precedida por un periodo de homeostasis anormal de la glucosa clasificado como intolerancia a la glucosa en ayuno ⁽³⁴⁾.

2.2.3 El aloxano

Es una sustancia química capaz de provocar diabetes en animales de experimentación. Aunque desde hace años se conoce la actividad diabetogénica de esta sustancia el mecanismo de acción es aún desconocido algunas evidencias indican que el efecto del aloxano es mediado por una interacción a nivel de membrana en la célula beta. Otros estudios en lo que se ha utilizado aloxano marcada con ¹⁴C revelan que hay una alta afinidad de esta sustancia por la membrana celular, lo que ocasiona alteraciones en su permeabilidad, lo cual puede explicar, en parte, la necrosis selectiva observada en las células beta del islote pancreático, Sé ha postulado que el aloxano produce una masiva reducción en la liberación de insulina por la destrucción selectiva de las células beta de los islotes de langerhans que han sido atribuidas a la generación de radicales libres tóxicos que inducen ruptura del ADN ⁽³⁵⁾.

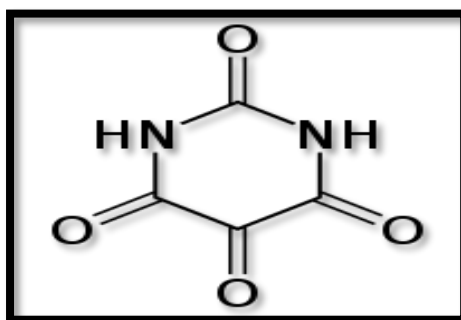


Figura 3: Estructura química del aloxano
Fuente: Wikipedia

2.2.4 Glibenclamida

2.2.4.1 Uso terapéutico

Es un derivado de las sulfonilureas, es uno de los más potentes medicamentos antidiabéticos la cual se utiliza como agente hipoglucemiante o antidiabético, acompañado de una dieta adecuada. Se puede asociar a otros hipoglucemiantes como la metformina, especialmente en aquellos pacientes diabéticos tipo II que no logran controlar su glucemia a pesar de la dieta, el ejercicio y la toma de un hipoglucemiante oral, situación frecuente en pacientes con una larga historia de esta enfermedad ⁽³⁶⁾.

2.2.4.2 El mecanismo de acción

No ha sido claramente establecido, al parecer se debe por estimulación de la secreción de insulina por parte de las células beta de los islotes del páncreas mediante un mecanismo aún no definido; otros mecanismos sugeridos incluyen disminución de la producción basal de glucosa hepática e incremento en la acción periférica de la insulina a nivel del post-receptor (probablemente a nivel intracelular). Al parecer aumenta la sensibilidad a la insulina de los tejidos extra pancreáticos ⁽³⁶⁾.

Disminuye la glucogenólisis y la gluconeogénesis hepática. Se produce una disminución de la glucemia solo en aquellos pacientes capaces de sintetizar insulina y es inefectiva en ausencia de funcionamiento de las células beta; no influye en la producción de insulina por las células beta, pero parece potenciar su liberación desde estas células pancreáticas. En pacientes diabéticos e individuos sanos, las concentraciones plasmáticas de insulina se incrementan a los 15-60 minutos y alcanzan un máximo entre 1-2 horas; en pacientes diabéticos, el incremento en la concentración de la insulina en plasma puede persistir hasta por 24 horas ⁽³⁶⁾.

Produce efecto diurético al incrementar el aclaramiento renal del agua libre, pero el mecanismo es desconocido. Se ha sugerido que inhibe la reabsorción de sodio en el túbulo renal proximal o la reabsorción de agua en el túbulo renal distal (no vasopresina dependiente) ⁽³⁶⁾.

2.2.4.3 Efectos adversos

Se puede presentar hipoglucemia, la cual ocasionalmente puede ser fatal, acompañada de signos y síntomas como son ansiedad, escalofríos, confusión, piel pálida y fría, somnolencia, taquicardia, cefaleas, náuseas, agitación, nerviosismo, cansancio o debilidad no habituales. Esta puede ocurrir por dosis excesivas u otros factores entre los cuales se incluyen el ejercicio sin adecuada ingesta calórica, asociada a otros hipoglucemiantes, insuficiencia renal y hepática, pacientes debilitados, mal nutridos o ancianos, pacientes que reciben otros productos como los agentes beta bloqueadores adrenérgicos; esta situación requiere de un tratamiento rápido, la glibenclamida debido a su prolongado efecto parece que causa severas hipoglucemias más a menudo que otras sulfonilureas de corta duración. Se puede presentar incremento en el peso ⁽³⁶⁾.

Gastrointestinales: Ocurren entre el 1 y 2% de los pacientes, se presenta náuseas, llenura epigástrica y pirosis, los cuales parecen dosis relacionados ⁽³⁶⁾.

Hepáticos: Ictericia colestática acompañada de elevación de las aminotransferasas séricas, se puede presentar raramente y es indicativo de discontinuar el producto ⁽³⁶⁾.

Dermatológicas y reacciones de hipersensibilidad: Se puede presentar alrededor del 1,5% de los pacientes, urticaria, prurito, eritema, rash cutáneo y erupciones maculopapulares o morbiliformes; se debe suspender el producto si estos síntomas persisten con el uso del producto. Reacciones de fotosensibilidad pueden presentarse ⁽³⁶⁾.

Hematológicos: Se puede presentar, muy raramente, leucopenia, pancitopenia, trombocitopenia, agranulocitosis, anemia aplásica y anemia hemolítica, igualmente se ha presentado en un caso púrpura trombocitopénica. La Glibenclamida ha sido asociada con ataques agudos de porfiria por lo cual es considerada no segura en pacientes con esta patología ⁽³⁶⁾.

2.3 Hipótesis

2.3.1 Hipótesis general

El extracto acuoso de hojas de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) tiene efecto hipoglucemiante en ratas Holtzman (*Rattus norvegicus*).

2.3.2 Hipótesis específica

1. El extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) posee metabolitos primarios y secundarios.
2. El extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) posee efecto hipoglucemiante equivalente a la glibenclamida en ratas inducidas a diabetes.
3. Las concentraciones de 250, 500 y 1000 mg/kg del extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) demostró efecto hipoglucemiante en ratas Holtzman.

2.4 Variables

Tabla 1: Tabla de operacionalización de variables

VARIABLE	DESCRIPCION	DIMENSIONES	INDICADORES
V.I			
Extracto acuoso de las hojas de <i>moringa oleífera Lam</i>	Extracto obtenido por destilación de reflujo continuo de las hojas secas de <i>Moringa oleífera Lam</i>	Fitoquímico	Tamizaje fitoquímico Concentraciones :250,500 y 1000 mg/kg
V.D Efecto hipoglucemiante	Efecto del extracto acuoso en estudio sobre ratas holtzman	Farmacológico	Medición de la glucemia
V.INTERV Periodo de acción	Tiempo necesario para que se produzca una respuesta	Observacional	Semana 1,2,3 y 4

2.5 Marco conceptual

Basicidad: Medida cuantitativa de las propiedades de una base. Según Arrhenius la fortaleza de una base se mide por la concentración de iones OH⁻. En

disoluciones diluidas, la basicidad aumenta para pH superiores a 7 y el máximo se da en pH=14. En disoluciones concentradas la basicidad se mide con la concentración de [OH-] ⁽³⁷⁾.

Bioactivos: Tipo de sustancia química que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas y ciertos alimentos ⁽³⁷⁾.

Concordancia: Correspondencia o conformidad de una cosa con otra ⁽³⁷⁾.

Concomitante: Que aparece o actúa conjuntamente con otra cosa ⁽³⁷⁾.

Extracto acuoso: son líquidos cuyo solvente es el agua, son menos concentrados que los extractos hidroalcohólicos ⁽³⁷⁾.

Diabetes mellitus: Enfermedad metabólica producida por una secreción deficiente de insulina, lo que produce un exceso de glucosa en la sangre ⁽³⁷⁾.

Mitigarse: Moderar, aplacar, disminuir o suavizar algo riguroso o áspero ⁽³⁷⁾.

Mortalidad: Tasa de muertes producidas en una población durante un tiempo dado, en general o por una causa determinada ⁽³⁷⁾.

Estreptoizotocina: Es un medicamento obtenido del hongo *Streptomyces achromogenes*. Es un antibiótico que tiene propiedades antitumorales, posee una acción citotóxica sobre las células beta del páncreas. Se utiliza en medicina para el tratamiento de determinados tumores del páncreas ⁽³⁸⁾.

Efecto hipoglucemiante: Capacidad que tiene algunas actividades (por ejemplo, el ejercicio físico) o algunas sustancias (por ejemplo, la insulina) para que disminuyan los valores de glucosa en sangre ⁽³⁹⁾.

Nefropatía: Enfermedad de los riñones, causada por lesiones en los pequeños vasos sanguíneos. Su evolución lleva a un mal filtrado renal ⁽³⁹⁾.

Floculación: Es un proceso químico mediante el cual, con la adición de sustancias denominadas floculantes, se aglutinan las sustancias coloidales presentes en el agua, facilitando de esta forma su decantación y posterior filtrado ⁽⁴⁰⁾.

Isotiocianato: Se conoce como isotiocianato al grupo funcional -N=C=S, formado por la sustitución del azufre por el oxígeno en el grupo isocianato ⁽⁴¹⁾.

Halagüeño: Que es incitante o prometedor ⁽⁴²⁾.

Sedimentación: La separación de un material denso (por lo general un sólido) de un material menos denso (normalmente un líquido) al permitir que el material más denso se asiente fuera de la mezcla ⁽⁴³⁾.

Solubilidad: La solubilidad es capacidad que posee una sustancia para poder disolverse en otra. Dicha capacidad puede ser expresada en moles por litro, gramos por litro o también en porcentaje del soluto ⁽⁴⁴⁾.

Páncreas: Es un órgano que comparte junto a la vesícula la función de ayudar a la digestión de los alimentos, pero sin que el órgano tome contacto con ellos ⁽⁴⁵⁾.

Medición	American Diabetes association		Organización Mundial de la Salud	
	Diabetes	Prediabetes	Diabetes	Alteración de la regulación de la glucosa
Glucemia en ayunas	≥126 mg/dl	100-125 mg/dl (alteración de la glucemia en ayunas)	≥126 mg/dl	100-125 mg/dl (alteración de la glucemia en ayunas)
Glucemia 2 horas posprandial (PTG)	≥200mg/dl	140-199 mg/dl	≥200mg/dl	140-199 mg/dl
Glucemia al azar (en pacientes con síntomas de hiperglucemia clásicos)	≥200mg/dl		≥200mg/dl	
Hemoglobina glicosilada	≥6,5%	5,7 a 6,4%	≥6,5%	

Figura 4: Rango de los niveles de azúcar en sangre

Fuente: intra med

CAPÍTULO III: METODO

3.1 Tipo y nivel de estudio

Tipo:

Cuantitativo: debido a que se evaluara el efecto hipoglucemiante mediante dosis administradas del extracto para obtener lecturas de la concentración de glucemia.

Nivel:

Explicativo: ya que se centra en explicar por qué ocurre un fenómeno y en qué condiciones se manifiesta o por qué se relacionan dos o más variables ⁽⁴⁶⁾.

3.2 Diseño a utilizar:

Experimental, analítica y tipo longitudinal.

3.3 Población:

Treinta y seis ratas Holtzman con un peso promedio de 220 - 240 gr

3.4 Muestra:

Extracto acuoso de 250 mg de hojas de *Moringa oleífera Lam*

Extracto acuoso de 500 mg de hojas de *Moringa oleífera Lam*

Extracto acuoso de 1000 mg de hojas de *Moringa oleífera Lam*

3.5 Técnica e instrumentos de recolección de datos

La recolección de datos se realizó de forma manual y visión directa. Para la medición de la actividad hipoglucemiante, se utilizó glucómetro Accucheck® de la empresa Roche, cuyo método estandarizado es la evaluación de la glucosa oxidasa.

3.6 Procesamiento de datos

Para el análisis estadístico, se empleó el programa de Excel; para hallar el análisis de varianza de una vía (ANOVA) y determinar si existe diferencia

estadísticamente significativa para la variable evaluada intergrupos e intragrupos, luego se realizó un análisis del test de Tukey para determinar si existen diferencias entre ellas.

3.7 Metodología de investigación

Para el presente trabajo se recolecto las hojas de moringa procedentes de la comunidad campesina “Santa Lucía de Ferreñafe, del sector 5 “El Progreso”, distrito de Pátapo, ubicado a 118 msnm L. 06° 38' 24' del departamento de Lambayeque, para obtener un extracto acuoso con las que se realizaron las pruebas de cromatografía en capa fina, tamizaje fitoquímico, solubilidad y la prueba experimental.

3.8 Equipos, materiales y reactivos

Equipos:

Para el trabajo, se utilizaron los siguientes equipos:

- Balanza Gramera
- Balanza Analítica
- Estufa
- Plancha de calentamiento
- Luz UV 254 y 366 nm.

Materiales:

- Papel Kraft
- Mortero y pilón
- Matraz erlenmeyer
- Embudo de vidrio
- Papel filtro
- Tubos de ensayo
- Pipetas
- Pera de Bromo de 250 mL
- Estándar de Quercetina
- Estándar de Cafeína

Reactivos:

- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Sonneschein
- Reactivo de Reineckato
- Reactivo de Shinoda (magnesio + ácido clorhídrico concentrado)
- Reactivo de Cloruro Férrico
- Reactivo de gelatina al 1%
- Hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger)
- Reactivo de Ninhidrina
- Reactivo de Lugol
- Reactivo de Fehling A y Fehling B
- Alcohol de 96°C
- Isopropanol
- Etanol
- Cloroformo
- Agua destilada (Milli-Q) purificada
- Reactivo de Tricloruro de Aluminio al 2%
- Metanol
- Butanol
- AAG
- Ácido sulfúrico 2 N

Fármacos:

- Glibenclamida (Farminindustria)
- Aloxano (Sigma Aldrich)

3.9 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.9.1 Recolección y secado de las hojas

Las hojas fueron recolectadas de la comunidad campesina “Santa Lucía de Ferreñafe, del sector 5 “El Progreso”, distrito de Pátapo, ubicado a 118 msnm L. 06°38'24' del departamento de Lambayeque. Para su clasificación taxonómica se llevó la planta al museo de Historia Natural de la UNMSM (anexo 3).

Las hojas fueron seleccionadas de acuerdo a sus buenas condiciones morfológicas el peso de 2 kilos, para luego ser secadas en estufa a 40° C por 4 días, obteniéndose el peso de 100 g de hojas secas pulverizadas, mediante molienda tradicional.

3.9.1.1 Extracción acuosa de las hojas de la moringa

Para este procedimiento, se utilizó un peso promedio de 100 gramos para un volumen de agua destilada de 500 mL, Para la obtención del extracto acuoso, se colocó las hojas secas en un balón de fondo plano, acoplado a una plancha de calentamiento a una temperatura de 45° C +/- 5°. Se trabajó a esta temperatura para no degradar a los metabolitos presentes.

Se procedió a la extracción colocando un refrigerante en la parte superior de la boca del balón de fondo plano por 24 horas para poder así extraer sus metabolitos sin alterarlos. Luego, se filtró con papel whattman n°40 y se obtuvo una solución acuosa.

3.9.1.2 Extracto seco de las hojas de moringa

Para la prueba de solubilidad, se necesitó el extracto seco de las hojas de moringa; para esto, una pequeña parte del extracto acuoso filtrado se vertió a un recipiente de crisol para ser llevado luego a la estufa a una temperatura de 40° C hasta la reducción y formación de una masa semisólida (melcocha). El extracto seco obtenido se guardó en refrigeración de 2 a 8° C hasta su utilización.

3.9.1.3 Prueba de solubilidad

Para la prueba de solubilidad, se sacó de refrigeración el extracto seco, tomamos una alícuota de muestra y la colocamos en 5 tubos de ensayo con 3 mL de los solventes como (Agua, Isopropanol, Metanol, Alcohol de 96° y Cloroformo).

3.9.1.4 Tamizaje fitoquímico

Para la realización de esta prueba, se utilizó la metodología de Olga Lock de Ugaz (1994), en la extracción con solventes adecuados para la determinación de metabolitos primarios y secundarios, ya que este estudio es de coloración y precipitación.

3.9.1.5 Cromatografía

El adsorbente más usado en Cromatografía capa delgada (CCD) es la sílica gel, para las pruebas cromatográficas se realizaron de acuerdo a la metodología establecida por capa fina, se utilizaron solventes como Metanol (Alcaloides) y BAW(Flavonoides) adecuados para los metabolitos establecidos que se investigaron en el trabajo ⁽⁴⁷⁾.

3.9.1.6 Cromatografía en capa fina (alcaloides)

Para la prueba de cromatografía, se usó cromatofolios de la marca Merck (TLC Silica gel F₂₅₄) como fase estacionaria. El sistema de solventes de elución fue Metanol: Agua en proporción de (25:75), respectivamente; se empleó una jeringa en μL para la inoculación de la muestra.

Para la comparación, se usó un estándar de cafeína en concentración de 10 mg/ml de metanol. Se sembró 5 μL , del estándar y la muestra.

Una vez contenida la placa de cromatografía se sumergió en la fase móvil, donde procedió a la separación de los metabolitos por absorción y polaridad. Una vez culminada la elución del activo se sacó la placa cromatográfica y se llevó a una plancha de calentamiento hasta evaporar el solvente, caso seguido se evidenció las manchas de desplazamiento en la luz UV 254 nm.

Para la identificación de alcaloides en la muestra, se dispuso de ácido sulfúrico al 2 % y el reactivo de Dragendorff, como revelador, para una evidencia positiva se tiene que ver manchas naranjas.

3.9.1.7 Cromatografía en capa fina (flavonoides)

Para la prueba de cromatografía en capa fina para flavonoides, se usó cromatofolios de la marca Merck (TLC Silica gel F₂₅₄) como fase estacionaria. El sistema de solventes de elución fue BAW (Butanol – Ácido acético glacial – Agua) en proporción de (20:5:15), 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 que se empleo fue la menos densa. Para la comparación, se usó un estándar de quercetina en concentración de 10 mg/ mL de metanol, el cual se sembró 5 µL a la placa cromatografica del estándar y la muestra.

Una vez terminada la corrida, la muestra es secada en una plancha de calentamiento, hasta evaporación del solvente; se evidenció las manchas en la luz UV a 254 nm, y se utilizó como revelador el tricloruro de aluminio, para la presencia de flavonoides se observó un color característico de color amarillo.

3.9.2 Actividad toxicológica y farmacológica

El presente trabajo tuvo como finalidad determinar la toxicidad aguda oral y la actividad hipoglucemiante de la moringa:

1. Se analizó si el extracto acuoso en estudio causa mortalidad o signos adversos en los animales de experimentación.
2. La determinación de la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* (Moringa).

En ambos ensayos la administración del extracto acuoso fue por la vía oral.

Se determinó la toxicidad aguda por vía oral en ratas, según guía OECD – Test 423 (Método de Clases) ⁽⁴⁸⁾ y la determinación de la actividad hipoglucemiante por vía oral del extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) mediante la técnica citada en el manual del Cytel (1995) y del modelo *in vivo* citado.

3.9.2.1 Animales de experimentación

Fueron usadas ratas albinas machos (cepa Holtzman -*Rattus norvegicus*) de 8 - 10 semanas de edad con un peso promedio de 220 - 240 g; provenientes de las instalaciones del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (anexo 13) y se adecuaron en el bioterio de la propia Universidad, por un periodo de 45 días a una temperatura: 20.5 °C, humedad:68 %,Luz:12 h ,Oscuridad:12h, parámetros permitido dentro del protocolo del bioterio , todo el tiempo que duro la experimentación, las ratas fueron alimentadas con, agua destilada y alimento marca la molina. El proceso de cuarentena para la aclimatación a las condiciones ambientales y conductuales fue de cinco días antes de empezar con el proceso experimental.

Para la prueba de toxicidad aguda oral, fueron distribuidos de la siguiente forma: Un grupo de tres ratas con una repetición y un control (total 9, 3 de cada grupo) ⁽⁴⁹⁾.

En la prueba de actividad hipoglucemiante, la muestra fue administrada mediante el empleo de una sonda orogástrica a un total de 36 ratas distribuidas de la siguiente forma:

- Tres niveles de dosis en 18 ratas albinas machos (250, 500 y 1000 mg/kg de peso corporal, previamente inducidas con aloxano) seis ratas por grupo.
- Seis ratas control positivo, tratadas con el medicamento glibenclamida a la dosis de 40 mg/kg (previamente inducidas con aloxano)
- Seis ratas diabéticas (inducidas sin tratamiento)
- Seis ratas control negativo, sin inducción alguna, todas de la cepa Holtzman.

3.9.2.2 Evaluación de la toxicidad aguda oral - método de clases (DL₅₀)

Se evaluó la toxicidad aguda oral del extracto acuoso de *Moringa oleífera*, que fue administrado oralmente de acuerdo con la guía OECD Test 423, mediante el 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 1 ml, al grupo control se le administró agua destilada. La mortalidad fue observada diariamente hasta los 14 días ⁽⁴⁸⁾.

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, piloerección, disnea, diarrea, entre otros).

Se realizó registros de peso corporal a los animales de experimentación, para evaluar si hay alteración de aumento o pérdida. Los tratamientos y sus respectivos valores de concentración ensayados son detallados en la siguiente tabla:

Tabla 2: Tratamientos de toxicidad aguda oral con moringa

La siguiente tabla va a mostrar detalles previos que fueron utilizados para observar la toxicidad.

Dosis (mg / Kg rata)	N° de animales	Peso promedio por grupos (g)
2000	3	225.81
2000 (repetición)	3	227.52
Control	3	230.06

Fuente: Elaboración propia, 2018

3.9.2.3 Evaluación de la actividad hipoglucemiante

El ensayo comprendió un total de seis grupos de experimentación. Los tratamientos y sus respectivos valores de concentración ensayados son detallados en la siguiente tabla:

Tabla 3: Tratamientos de experimentación con moringa

Grupo	Animales	Dosis
Control negativo	6	0
Hiperglicémicas sin tratamiento	6	0
Glibenclamida (Control positivo)	6	40 mg/kg
Dosis 1	6	250 mg/kg
Dosis 2	6	500 mg/kg
Dosis 3	6	1000 mg/kg

Fuente: Elaboración propia, 2018

3.9.2.4 Determinación de la actividad hipoglucemiante en ratas hiperglucémicas

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, alimento y distribuidos al azar.

La administración del extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* fue por vía oral y se realizó mediante sonda orogástrica. Se administró un volumen de 1 ml del extracto diluido en agua destilada las dosis de 250,500 y 1000 mg /kg, de acuerdo al protocolo establecido, el suministro de alimento se restableció cuatro horas después de la dosificación. El acceso al agua y alimento fue *ad libitum*.

3.9.2.5 Inducción de diabetes experimental por aloxano monohidratado (Método modificado: Oyedepo et al 2013⁽²⁴⁾)

El inductor aloxano fue administrado por vía intraperitoneal en un volumen de administración de 1 ml, en función de la dosis de 40 mg/kg de peso corporal, disuelto en una solución de buffer citrato de sodio 0.1M estéril. Posterior a las 72 horas de administración, se tomaron muestras sanguíneas de los animales para determinar sus niveles de glucosa. Se determinaron glucemias mayores a 200

mg/dl de glucosa, consideradas como una diabetes química positiva. Todos los animales ensayados alcanzaron y superaron este valor.

3.9.2.6 Glibenclamida

Es una potente sulfonilurea de segunda generación, bastante eficaz para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. La glibenclamida se empleó para la disminución de la hiperglucemia tal como se aprecia en la tabla 9, y fue administrada por vía oral, solo al grupo control positivo, el volumen de administración máximo fue de 1ml, en función de la dosis de 40 mg/kg de peso corporal, todos los días hasta el día 28 de experimentación.

3.9.2.7 Técnica de extracción de sangre

Las muestras sanguíneas de los animales de experimentación se obtuvieron por utilización del método de sangrado del seno venoso retro orbital, esta técnica implicó punzar el seno venoso detrás del globo ocular, el sangrado del seno venoso orbital 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 ACCUCHEK. Este procedimiento se hizo en todos los animales de todos los grupos ensayados.

3.9.2.8 Diseño experimental de la actividad hipoglucemiante

Se utilizaron 36 ratas machos, las cuales se dividieron en 6 grupos:

GRUPO 1: Seis ratas normoglucémicas sin tratamiento (agua destilada).

GRUPO 2: Seis ratas inducidas (diabéticas) sin tratamiento.

GRUPO 3: (Control Positivo): Seis ratas hiperglucémicas, con administraciones de glibenclamida en dosis de 40 mg/kg.

GRUPO 4: Seis ratas hiperglucémicas a las que se les administró extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* a dosis de 250 mg/kg.

GRUPO 5: Seis ratas hiperglucémicas a las que se les administró extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* a dosis de 500 mg/kg.

GRUPO 6: Seis ratas hiperglucémicas a las que se les administró extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* a dosis de 1000 mg/kg.

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

3.9.2.9 Estimación de glucosa sérica

Evaluación de la Glucemia

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

Día 0: Semana de pre-tratamiento, se midieron glucosa basal a todos los animales de experimentación, para después inducir con aloxano a todos los grupos, menos al control negativo, y tomar medidas de glucosa a todas las ratas después de 72 horas.

Día 7: Semana 1. Se midió glucosa de todos los animales de experimentación, tanto a los que se les administró aloxano como a los que no. En el inicio de la semana, empezó el tratamiento con extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* en las tres concentraciones y se administró glibenclamida al grupo control positivo.

Día 14: Semana 2. Se continuó con el tratamiento con extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* y se midió la glucosa de todos los animales de experimentación. Se continuó con la administración de glibenclamida al control positivo.

Día 21: Semana 3. Penúltima semana de tratamiento con extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* y se midió la glucosa de todos los animales de experimentación. Se continuó con la administración de glibenclamida al control positivo.

Día 28: Semana 4. Última semana de tratamiento con extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* y glibenclamida al control positivo .Se realizó la última medición de glucosa de todos los animales de experimentación.

3.9.2.10 Condiciones de ensayo

Las condiciones de temperatura, humedad y fotoperiodo en el tiempo de experimentación se registraron en los siguientes rangos: temperatura = 22°C +/- 2°; humedad = < 70 %; 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. El consumo de agua y alimento fue ad libitum.

3.9.2.11 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos, en los diferentes tratamientos, se analizaron estadísticamente para evaluar el efecto del extracto acuoso sobre los diferentes tratamientos con niveles de significancia del 95% ($p < 0.05$) por un test de comparación múltiple (Test de Tukey) para determinar si existen diferencias significativas entre ellas.

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Presentación de resultados

4.1.1 Prueba de solubilidad

Esta prueba nos da referencia en que solventes es más soluble la muestra a tratar. Los resultados fueron los siguientes:

Tabla 4: Prueba de solubilidad

Solventes	Resultado de solubilidad
Agua	(+++)
Isopropanol	(-)
Metanol	(+)
Alcohol 96 °C	(+)
Cloroformo	(-)

Leyenda: (-) Insoluble; (+) ligeramente soluble; (++) moderadamente soluble; (+++) totalmente Soluble.

Fuente: Elaboración propia, 2018

4.1.2 Tamizaje fitoquímico

Para la evaluación se hicieron pruebas para determinar los metabolitos primarios y secundarios del extracto acuoso de moringa:

Tabla 5: Resultados de metabolitos primarios

Identificación de metabolitos primarios		
Metabolitos primarios	Reactivo de identificación	Resultado
Glúcidos	Fehling A y B	Precipitado anaranjado ladrillo (+++)
Almidón	Lugol	(-)
Cetonas	2,4 DNPH	Coloración rojizo (++)
Aminoácidos	Ninhidrina	Color rosado (+++)

Leyenda: (-) La coloración o precipitado no se evidencia; (+) La coloración o precipitado se evidencia poco; (++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente; (+++) La coloración o precipitado se evidencia notablemente.

Fuente: Elaboración propia, 2018

Tabla 6: Resultados de metabolitos secundarios

Identificación de metabolitos secundarios		
Metabolitos secundarios	Reactivo de identificación	Resultado
Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco (++)
	Wagner	Precipitado marrón (++)
	Dragendorff	Precipitado rojo o naranja (+++)
	Scheibler	(-)
	Sonneschein	(-)
Flavonoides	Reineckato	Color rosa (+)
	Shinoda	Color rojo (++)
Fenoles	Cloruro férrico	Color verde (+++)
Taninos	Gelatina al 1%	(-)
Quinonas	Reacción de Borntrager	Color rojo (+)

Leyenda: (-) La coloración o precipitado no se evidencia; (+) La coloración o precipitado se evidencia poco; (++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente; (+++) La coloración o precipitado se evidencia notablemente.

Fuente: Elaboración propia, 2018

4.1.3 Cromatografía en capa fina

Esta prueba tuvo como objetivo medir la proporción de los componentes de la mezcla. Los resultados fueron los siguientes:

Tabla 7: Resultados cualitativos de la cromatografía

Cromatografía			
	Fase móvil	Revelador	Resultado
Alcaloide	Metanol: Agua (25:75)	Dragendorff,	Manchas naranjas. (+++)
Flavonoide	Butanol :Agua : Ácido acético glacial (20:15:5)	Tricloruro de aluminio	Manchas amarillas (+++)

Leyenda: (-) La coloración o precipitado no se evidencia; (+) La coloración o precipitado se evidencia poco; (++) La coloración o precipitado se evidencia moderadamente; (+++) La coloración o precipitado se evidencia notablemente.

Fuente: Elaboración propia, 2018

4.1.4 Condiciones ambientales para el cuidado de animales

Durante la duración de la prueba, los parámetros ambientales registrados en el área donde se desarrolló la prueba corresponden a los siguientes:

Temperatura (°C):	20,5
Humedad (%):	68
Luz, Oscuridad:	12L: 12O

4.1.5 Toxicidad aguda oral

El extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) y el control no produjeron mortalidad en la dosis administrada con una repetición durante los 14 días de evaluación de este estudio. La DL50 por vía oral del extracto acuoso es mayor a 5000 mg de producto/Kg de peso corporal (> 5,0 g/ Kg).

DL50 es la cantidad de un material determinado completo de una sola vez, que provoca la muerte del 50% (una mitad) de un grupo de animales de prueba. El DL50 es una forma de medir el envenenamiento potencial a corto plazo (toxicidad aguda) de un material.

Tabla 8: Resultados de la toxicidad aguda oral

Dosis (mg/kg rata)	Mortalidad machos muertos/total
2000	0/3
2000 (repetición)	0/3
Control	0/3

Fuente: Elaboración propia, 2018

4.1.6 Actividad hipoglucemiante

De acuerdo con los resultados obtenidos, la muestra analizada del extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* (Moringa) presenta actividad hipoglucemiante en el modelo estudiado, la dosis de 1000 mg de muestra/kg de peso corporal, este resultado es significativo en comparación con el control positivo a la dosis ensayada.

Los datos son mostrados en la siguiente tabla:

Tabla 9: Disminución de glucosa en ratas diabéticas inducidas por aloxano

Grupo/Dosis	Glucosa sérica (mg/dl)						Nivel de significancia
	Basal	Día 0	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	
Control negativo	90.33 ± 1.63	92 ± 1.79	93.33 ± 2.58	94.33 ± 2.66	96.17 ± 2.64	98.5 ± 2.59	-
Hiper glucémicas s/t	92.67 ± 4.50	495.67 ± 20.62	528.17 ± 20.42	545.67 ± 15.91	566.33 ± 12.34	579 ± 11.87	p > 0.05
Glibenclamida 40 mg/kg	90.33 ± 2.34	500 ± 17.03	287.83 ± 18.76	137.5 ± 8.78	107.33 ± 4.55	92.67 ± 1.97	* p < 0.05
250 mg/kg	90.17 ± 3.89	509.67 ± 13.83	482.50 ± 10.90	448.67 ± 12.49	418.83 ± 16.10	396.50 ± 13.38	*p < 0.05
500 mg/kg	94.33 ± 3.77	512.5 ± 14.63	324.17 ± 17.06	268.17 ± 15.84	207.17 ± 2.54	177 ± 6.71	* p < 0.05
1000 mg/kg	93.33 ± 3.33	501.5 ± 9.54	305 ± 8	216.33 ± 4.93	146.17 ± 13.47	102.17 ± 4.02	* p < 0.05

* p < 0.05= Existen diferencias significativas con respecto al control (ratas hiper glucémicas)

Fuente: Elaboración propia, 2018

Tabla 10: Tratamientos de experimentación con moringa

DOSIS	RATA	GLUCOSA (mg/dl)		
		BASAL SIN INDUCCIÓN	ALOXANO	28DÍAS
Control negativo (sin inducción)	1	93	0	102
	2	90	0	99
	3	91	0	99
	4	90	0	100
	5	88	0	96
	6	90	0	95
	Prom	90.33	0.00	98.50
	D.S.	1.63	0.00	2.59
Hiperglucémicas sin tratamiento	7	90	480	570
	8	93	470	560
	9	89	482	580
	10	88	510	585
	11	97	515	588
	12	99	517	591
	Prom	92.67	495.67	579.00
	D.S.	4.50	20.62	11.87
Control positivo Glibenclamida 40 mg/kg	13	89	480	91
	14	90	520	94
	15	93	510	95
	16	87	490	90
	17	93	515	94
	18	90	485	92
	Prom	90.33	500.00	92.67
	D.S.	2.34	17.03	1.97
250 mg/ kg peso corporal	19	92	504	370
	20	89	491	394
	21	87	523	401
	22	84	496	396
	23	94	529	413
	24	95	515	405
	Prom	90.17	509.67	396.50
	D.S.	3.89	13.83	13.38
500 mg/ kg peso corporal	25	99	540	177
	26	96	520	187
	27	98	493	175
	28	89	506	183
	29	90	510	174
	30	94	506	166
	Prom	94.33	512.50	177.00
	D.S.	3.77	14.63	6.71
1000 mg/ kg peso corporal	31	92	500	108
	32	96	495	106
	33	95	510	99
	34	97	514	100
	35	92	488	102
	36	88	502	98
	Prom	93.33	501.50	102.17
	D.S.	3.33	9.54	4.02

Fuente: Elaboración propia, 2018

Los niveles de glucosa sérica de los animales de todos los grupos fueron registrados semanalmente y la variación de la glucemia (expresado en porcentaje) como se observa en la figura:

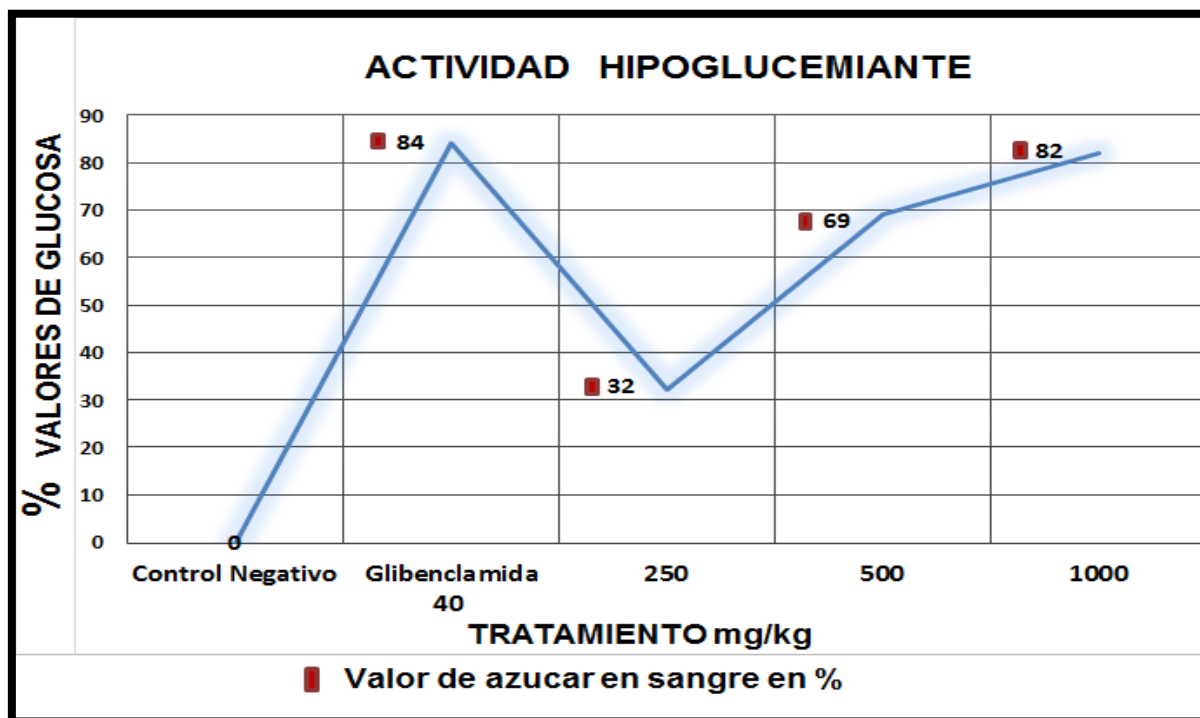


Figura 5: Porcentaje de la actividad hipoglucemiante de *Moringa oleífera.L* a los 28 días de tratamiento

Fuente: Elaboración propia, 2018

De acuerdo con el porcentaje de actividad hipoglucemiante, se encontró los siguientes valores: Glibenclamida: 84%, 250 mg/kg; 32%, 500 mg/kg; 69% y 1000 mg/kg; 82%.

Los resultados mostraron una disminución significativa de la concentración de glucosa sanguínea, por efecto de la glibenclamida, en comparación con el extracto acuoso de *Moringa oleífera*. Esto es debido a la buena absorción vía oral de la glibenclamida, la cual tiene una vida media de 10 horas y una acción de 24 horas, presentando una respuesta de secreción de insulina desde las 2 horas de su administración ⁽⁵⁰⁾.

Tabla 11: Análisis de la actividad hipoglucemiante de moringa a los 28 días

Valores de glucosa (mg/dl)					
Control negativo (sin inducción)	Hiperglicemicas sin tratamiento	Control	250 mg/ kg	500 mg/ kg	1000 mg/ kg
		positivo glibenclamida 40 mg/kg	peso corporal	peso corporal	peso corporal
102	570	91	370	177	108
99	560	94	394	187	106
99	580	95	401	175	99
100	585	90	396	183	100
96	588	94	413	174	102
95	591	92	405	166	98

Fuente: Elaboración propia, 2018

Tabla 12: Análisis de varianza de un factor

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Control negativo (sin inducción)	6	591	98.5	6.7
Hiperglicemicas sin tratamiento	6	3474	579	140.8
Control positivo glibenclamida 40 mg/kg	6	556	92.66666667	3.866666667
250 mg/ kg peso corporal	6	2379	396.5	214.7
500 mg/ kg peso corporal	6	1062	177	54
1000 mg/ kg peso corporal	6	613	102.1666667	16.16666667

Fuente: Elaboración propia, 2018

Tabla 13: Análisis de varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1224623.806	5	244924.7611	3368.72	0.00	2.53
Dentro de los grupos	2181.166667	30	72.70555556			
Total	1226804.972	35				

Fuente: Elaboración propia, 2018

Tabla 14: Análisis múltiple posterior: prueba de Tukey

	Hiperglicémicas sin tratamiento	Control positivo Glibenclámda 40 mg/kg	250 mg/ kg peso corporal	500 mg/ kg peso corporal	1000 mg/ kg peso corporal
Hiperglicémicas sin tratamiento		486.33	182.50	402.00	476.83

Fuente: Elaboración propia, 2018

Se halla la diferencia honestamente significativa (HSD) utilizando la prueba de Tukey, $HSD = 14.97$, los valores mayores a este dato son los grupos que hacen la diferencia significativa (como valor absoluto); por lo tanto, son los que mostraron actividad hipoglucemiante.

4.2 Contrastación de hipótesis

Según la prueba de Tukey y Anova las tres concentraciones de moringa presentaron disminución de glucosa

Hipótesis

H_0 = Todos los grupos presentan en promedio igual nivel de glucosa.

H_a = Al menos un grupo presenta en promedio diferente nivel de glucosa.

Con un nivel de confianza de 95%, rechazamos la hipótesis nula y aceptamos la alterna. Podemos determinar que las dosis con mayor actividad hipoglucemiante del extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* es la de 1000 mg/kg.

4.3 Discusión de resultados

En la presente investigación, se realizó el tamizaje fitoquímico del extracto acuoso de hojas de moringa y evidenció la presencia de los siguientes metabolitos: flavonoides, alcaloides, glúcidos y cetonas (tabla 5 y 6). Esto contrasta con la investigación científica que hizo Canett *et al* ⁽¹⁶⁾ evidenciando los mismos metabolitos pero además halló la presencia de los alcaloides tóxicos como moringina, moringinina, spirochin y bencil isotiocianato, las cuales presentaron en la raíz y corteza, mientras que la hoja resultó ser la más segura para su consumo; por lo tanto aseveramos que carece de estos metabolitos secundarios.

En el presente estudio, se analizó tres concentraciones de la cual la concentración máxima de 1000mg/kg por 28 días dio mejores resultados, en comparación al fármaco de glibenclamida, la misma que disminuyó la glucosa en sangre evidenciado por el glucómetro (Tabla 9). El autor Ramniwas *et al* ⁽¹⁹⁾ en su investigación también empleó tres concentraciones del extracto de moringa 100, 250 y 500 mg/kg por 60 días en comparación con glibenclamida mostrando una reducción de glucosa en sangre la concentración más alta y una elevación en la insulina sérica y niveles de glucógeno hepático mejorando los marcadores antioxidantes en el páncreas donde la imagen de este órgano de ratas diabéticas presentaron un signo de mejoría gracias a la actividad antidiabética y antioxidante; por lo tanto, podemos demostrar en la presente investigación que el extracto acuoso de *Moringa oleífera L* posee actividad hipoglucemiante.

En la prueba de toxicidad aguda oral, a una concentración límite de 2000mg/kg, el extracto acuoso de la hoja de *Moringa oleífera L*, no presentó conductas anormales ni produjo mortalidad (tabla 8) esto concuerda con el estudio realizado por Guaycha ⁽¹³⁾ donde evalúa el ensayo de toxicidad aguda por vía oral de ratas wistar a dosis límite de 2000mg/kg no produjo ninguna mortalidad ni indicadores de toxicidad; por lo tanto, basándonos en ello podemos afianzar que no posee toxicidad aguda.

La disminución de la hiperglucemia en ratas Holtzman producida por la concentración más alta del extracto acuoso de *Moringa oleífera L*, en estudio, fue en porcentaje de 82% en comparación con glibenclamida de un 84%, (figura 5) dando resultados similares. Esto debido al tipo de extracto escogido. El autor

Ezeigbo ⁽²²⁾ en uno de sus investigaciones, demostró que la *Moringa oleífera L.*, es rica en agentes bioactivos que potencian su uso como planta medicinal presentando una disminución significativa en el nivel de glucosa en sangre en ratas inducidas por aloxano para los extractos acuosos y etanólicos de *Moringa oleífera L.*, Sin embargo, el extracto acuoso mostró más efecto hipoglucémico de 45.2 % frente al extracto etanólico de 33.7%, lo que sugiere que el extracto acuoso es un mejor disolvente para la extracción de los agentes bioactivos; por lo tanto, podemos aseverar que el extracto acuoso tiene mayor efectividad hipoglucemiante, ya que sus elementos fitoquímicos tienen mejor conservación.

Arévalo ⁽¹⁰⁾ evaluó el efecto antibacteriano y citotóxico de dos extractos metanólicos de *Azadirachta indica* y *Moringa oleífera L.*, sobre cepas de *Enterococcus faecalis* quien tuvo mayor efecto antibacteriano fue la *Moringa oleífera L.*, obteniendo un halo de 35.5 ± 1.05 y 44.83 ± 0.98 , respectivamente, ninguno de los dos extractos resultó ser tóxico sobre líneas celulares a bajas concentraciones, el autor Terrazas *et al* ⁽⁹⁾ quien estudió a la moringa para identificar qué órgano de la planta es la más tóxica; realizaron los análisis fitoquímicos y el corte de varios órganos expuestos al microscopio y concluyeron que la raíz es la parte organográfica más tóxica seguido de la corteza y el tallo; lo cual podemos decir que las hojas de moringa consumidas por vía oral son inocuas para la salud.

El presente estudio tuvo como resultado fundamental la comprobación significativa del efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de la *Moringa oleífera L.*, que en la concentración de 1000 mg/kg a los veintiocho días de tratamiento dio como resultado los niveles de 102.17 ± 4.02 , evidenciando la disminución de glucosa en sangre. Waterman *et al* ⁽¹⁵⁾ en el estudio del extracto de *Moringa oleífera L.*, rico en isotiocianato reduce el aumento de peso, la resistencia a la insulina y la gluconeogénesis hepática en ratones. Afirma que la *Moringa oleífera L.* (*Moringa*) es una planta tropical utilizada tradicionalmente como alimento antidiabético. Produce isotiocianatos de moringa estructuralmente únicos y químicamente estables que se evaluaron para su uso terapéutico in vivo. Concluyeron que los isotiocianatos son los principales bioactivos antiobesidad y antidiabéticos de moringa, y que ejercen sus efectos al inhibir los pasos limitantes de la velocidad en la gluconeogénesis hepática, lo que resulta un aumento directo

o indirecto de la señalización y sensibilidad de la insulina. Estas conclusiones sugieren que MC puede ser un alimento dietético eficaz para la prevención y el tratamiento de la obesidad y la diabetes tipo 2.

Oyedepo *et al* ⁽²⁴⁾ evaluó el efecto del extracto acuoso de la hoja de *Moringa oleífera L*, sobre el nivel de glucosa en plasma, colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad (HDL) y las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en ratas albinas machos. La diabetes fue inducida por 100 mg / kg de aloxano; al grupo tratado con diabetes se le administró 400 mg / kg de peso corporal de extracto acuoso de la hoja de *Moringa oleífera L*, durante 28 días. El resultado mostró que no hubo diferencias significativas entre el grupo de diabéticos tratados con *Moringa oleífera L*, y el grupo de control normal concluyendo que el extracto acuoso de la hoja de *Moringa oleífera L*, puede reducir los desequilibrios de lípidos en plasma asociados con la diabetes mellitus, el autor Ghasi *et al* ⁽²³⁾ valora que las hojas de *Moringa oleífera L*, tienen una actividad hipocolesterémica definida y que existe una base farmacológica válida para emplearlas para este propósito, entonces podemos decir que en la presente investigación al comprobarse el efecto hipoglicemiante de la *Moringa oleífera L*, es compatible a los efectos hipocolesterolemiante que también posee la especie en estudio, afianzado por los autores mencionados anteriormente.

Aja *et al* ⁽²⁰⁾ realizó la evaluación de enzimas hepáticas con actividad antidiabéticas con extractos acuosos de las hojas de *Moringa oleífera L* y *Bridelia ferruginea* en ratas albinas diabéticas inducidas por aloxano, la cual se administraron los extractos por vía oral a los animales dos veces al día durante una semana a concentraciones variables de 200, 400 y 800 mg / kg de peso. Los niveles de glucosa y enzimas hepáticas se determinaron usando métodos glucométricos y espectrofotométricos, donde hallaron una reducción significativa ($P < 0.05$) del nivel de Alanina aminotransferasa en ratas tratadas con *Moringa oleífera* y *Bridelia ferruginea*. También, hubo una disminución significativa ($P < 0.05$) en el nivel de AST en ratas tratadas con *Moringa oleífera L*, en comparación con los controles, concluyeron que ambos extractos pueden usarse en etnomedicina para el tratamiento de la diabetes mellitus; por lo tanto, podemos decir que el extracto acuoso de *Moringa oleífera L*, podría proteger el daño hepático, ya que no permite la elevación de las transaminasas.

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- El extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* si presenta efecto hipoglucemiante en ratas Holtzman (*Rattus norvegicus*) inducidas a diabetes con aloxano.
- El extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* presenta flavonoides, alcaloides, glúcidos y cetonas.
- El extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* presenta efecto hipoglucemiante similar a glibenclamida (84 %), ya que la concentración de 1000mg/kg del extracto tiene una disminución significativa de (82%) en la glucemia.
- El extracto acuoso de *Moringa oleífera Lam* a la concentración de 1000 mg/kg, disminuye la glucemia ($p < 0.05$) en ratas diabéticas inducidas con aloxano.

5.2. Recomendaciones

1. Seguir con el estudio del extracto acuoso de las hojas de moringa a concentraciones más elevadas y a largo plazo para determinar la efectividad contra la hiperglicemia y a la vez contrastar dichos resultados que evidencien la carencia de toxicidad que no afecten algunos órganos .
2. Realizar la elucidación estructural por métodos espectroscópicos y espectrométricos de los metabolitos constituyentes presentes en el extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera L.*
3. Continuar con más investigaciones con respecto a otras propiedades medicinales como, el efecto hipocolesterolemia del extracto acuoso de las hojas de *Moringa oleífera Lam* ya que esta enfermedad está ligado a la hiperglucemia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bonal R, Rivera R, Bolívar M. Moringa oleífera: una opción saludable para el bienestar. Rev medisan 2012; 16 (10):1596-1599.
2. Olson E, Fahey W. Moringa oleifera: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. Rev mexicana de biodiversidad 2011;82 (4): 1071-1082.
3. ITYF Instituto Trabajo y Familia –Moringa. [Internet] 2002 [citado 25 de agosto 2018].Recuperado en: www.sembrando.org.pe/programa-moringa.php.
4. Segundo S. Diabetes mellitus en el Perú: hacia dónde vamos. Revista médica herediana. 2015; 26(1):3-4.
5. Barquilla A. Actualización breve en diabetes para médicos de atención primaria. Rev Esp sanid penit 2017; 19: 57-65.
6. Villegas A, Abad B, Faciolince S, Hernández N, Maya C, Parra L, Rivas E, Vallejo P. El control de la diabetes mellitus y sus complicaciones en Medellín, Colombia, 2001–2003. Rev panam salud pública. 2006;20(6):393-402.
7. Martín C, Martín A, García T, Hernández J. Potenciales aplicaciones de moringa oleífera. Una revisión crítica. Rev pastos y forrajes.2013; 36 (2): 137-149.
8. Menat E. Dietética de la diabetes. Salud y vitalidad, 2da edición, editorial; Hispano Europea ,2010.
9. Terrazas V, García H, Albarracín H, Fernández K. Estudio histoquímico, morfológico y anatómico de *moringa oleífera* [Tesis]. lima: Facultad de farmacia y bioquímica E.A.P. toxicología, UNMS; 2017.
10. Arévalo O. Efecto antibacteriano y citotóxico de los extractos metabólicos a base de *moringa oleífera* (moringa) y *Azadirachta indica* (neem) sobre cepas de Enterococos fecales [Tesis]. lima: Universidad UPC ;2017.
11. Aldana E. Uso del extracto de la semilla de moringa oleífera como coagulante natural primario y ayudante de coagulación en el tratamiento de agua para consumo humano [Tesis]. lima: Universidad Nacional de Ingeniería; 2012

12. Samamé M. Evaluación de la concentración óptima de la utilización de semilla moringa oleífera "Moringa" en la clarificación del proceso de una bebida alcohólica de *Passiflora edulis* "Maracuyá" [Tesis]. Amazonas: Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; 2017.
13. Guaycha N, Jaramillo C, Cuenca S, Tocto J, Márquez I. Estudios farmacognósticos y toxicológicos preliminares de hojas, tallo y raíz de moringa (*Moringa oleifera* Lam). Revista ciencia UNEMI 2017; 10 (22): 60 - 68.
14. Barreto S, Báez S, Malvetti V, Cardozo M, Gill A, Matto J, Mercado P, Ramirez R, Santa Cruz F. Efecto agudo de moringa oleífera sobre la hiperglucemia inducida por dexametasona en ratas Wistar. Rev An. Fac. Cienc. Méd 2015; 48 (1) :41-46.
15. Waterman C, Rojas P, Tumer B, Kuhn P, Richard J, Wicks S , Stephens M , Wang Z , Mynatt R , Cefalu W , Raskin I . Moringa oleifera extract rich in isothiocyanate reduces weight gain, insulin resistance and hepatic gluconeogenesis in mice. Rev mol nutr food res 2015; 59 (6): 1013-1024.
16. Canett R, Arvayo K, Ruvalcaba V. Aspectos tóxicos más relevantes de moringa oleífera y sus posibles daños. Rev de ciencias biológicas y de la salud 2014 ; 16 (2) :36-43 .
17. Malki A, Haddad E. The antidiabetic effect of low doses of moringa oleifera lam. Seeds on streptozotocin induced diabetes and diabetic nephropathy in male rats. Rev biomed res int 2015: 1-13.
18. Mbikay M .Therapeutic potential of moringa oleifera leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia: a review, rev frontiers in pharmacology 2012; 3 (24):1-12.
19. Ramniwa J, Gyan J. Antidiabetic and antioxidant potential of hydroalcoholic extract of moringa oleifera leaves in streptozotocin-induced diabetic rats. Rev europea de investigación farmacéutica y médica 2016; 3(9): 438-450.
20. Aja M, Nwafor J, Ibiam U, Orji U, Ezeani N , Nwali U . Evaluation of anti-diabetic and liver enzymes activity of aqueous extracts of moringa oleifera and *bridelia ferruginea* leaves in alloxan induced diabetic albino rats. Rev internacional de investigación y revisión de bioquímica 2013; 3 (3): 248-258.

21. Anyanwu C, Salako A, Adeyemi O. Effect of the ethanolic leaf extract of *moringa oleifera* on insulin resistance in streptozotocin induced diabetic rats. *Rev de ciencias de las plantas* 2014; 2(6-1): 5-12.
22. Ezeigbo R, Barrah S, Ezeigbo C. Phytochemical analysis and antidiabetic effect of aqueous and ethanolic extracts of *moringa oleifera* leaves in alloxan-induced diabetic wistar albino rats using insulin as reference drug. *Rev internacional de investigación de la diabetes* 2016; 5 (3): 48-53.
23. Ghasi S, Nwobodo E, Oofili J. Hypocholesterolemic effects of the crude leaf extract of *moringa oleifera lam* in wistar rats fed a high-fat diet. *Rev de etnofarmacología* 2000; 69(1): 21-25.
24. Oyedepo A, Babarinde O, Ajayeoba A. Evaluation of anti-hyperlipidemic effect of aqueous leaves extract of *moringa oleifera* in alloxan induced diabetic rats. *International journal of biochemistry research & review* 2013; 3 (3): 162-170.
25. Olson E, Fahey W. *Moringa oleifera*: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. *Rev mexicana de biodiversidad* 2011; 82 (4): 1071-1082.
26. Liñan F. *Moringa oleifera*: el árbol de la nutrición. *Rev ciencia y salud virtual* 2010; 2 (1):130-138.
27. Padilla C, Fraga N, Suárez M .Efecto del tiempo de remojo de las semillas de *moringa* (*Moringa oleifera*) en el comportamiento de la germinación y en indicadores del crecimiento de la planta. *Rev cubana de ciencia agrícola* 2012 ; 46 (4):419-421 .
28. Chepote J .Potencial de la *moringa oleifera* .*Rev Peru exporta* [Internet] 2017 [citado 14 agosto de 2018] N°401:58 .Recuperado en : https://issuu.com/adex_1/docs/revistaperuexporta_401_1.
29. Farooq A, Sajid L, Muhammad A, Anwarul G. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *phytotherapy Research* 2007; 21 (1):17-25.
30. Geoff F, Sutherland J. *Moringa oleifera* un árbol con enormes potencialidades. *Agroforesteria en las americas* 1996; 8 (3):5-8.

31. Padilla F, Cruz J. Extractos de hojas de moringa oleífera en la prevención y tratamiento de la diabetes mellitus. Rev cubana de medicina natural y tradicional. 2016;1 (2).
32. Hijar E. Conocimientos que tienen los pacientes diabéticos y sus familiares sobre la enfermedad y sus cuidados en el hogar en el HNDAC. [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2008.
33. Marco teórico - CyberTesis UACH [citado 18 agosto 2018].Recuperado en: cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2004/fmv473p/xhtml/TH.3.xml.
34. Franch J, Goday A.Cuál es la definición de diabetes? criterios diagnósticos (prueba/s a realizar [glucemia plasmática en ayunas, sobrecarga, etc.]) y puntos de corte. [Internet] 2015 [citado 18 de agosto 2018].Recuperado en: <https://www.redgdps.org/gestor/upload/guia2016/p1.pdf>
35. Aybar M ,Sanchez R,Grau A, Sánchez S . Hypoglycemic effect of the water extract of smallanthus sonchifolius (yacon) leaves in normal and diabetic rats. J. Ethnopharmacol. 2001; 74 (2): 125-132.
36. Glibenclamida MK® - TQFarma [citado 20 de agosto 2018].Recuperado en: <https://www.tqfarma.com/productos/vademecum-mk/tracto...y.../glibenclamida-mk>
37. Diccionario de la lengua española | Asociación de Academias de la ... [citado 20 de agosto 2018].Recuperado en: www.asale.org/obras-y-proyectos/diccionarios/diccionario-de-la-lengua-espanola.
- 38.Estreptozocina [citado 20 de agosto 2018].Recuperado en: <https://es.wikipedia.org/wiki/Streptozocina>.
39. Glosario de términos - fundación para la diabetes [citado 20 de agosto 2018].Recuperado en: <https://www.fundaciondiabetes.org/general/196/glosario-de-terminos-diabetes>
- 40.Floculación [citado 25 de agosto 2018].Recuperado en: <https://es.wikipedia.org/wiki/Floculación>
- 41.Isotiocianato [citado 25 de agosto 2018].Recuperado en: <https://es.wikipedia.org/wiki/Isotiocianato>.

42. Halagueño [citado 25 de agosto 2018]. Recuperado en : <https://es.thefreedictionary.com/halag%C3%BCe%C3%B1os>
43. Sedimentación (Química) – Glosarios. [Citado 20 de agosto 2018]. Recuperado en : <https://glosarios.servidor-alicante.com/quimica/sedimentacion>
44. Concepto de solubilidad - La guía de química [citado 20 de agosto 2018]. Recuperado en: <https://quimica.laguia2000.com/conceptos-basicos/concepto-de-solubilidad>.
45. Herman W. Controle su diabetes guía para el cuidado de su salud - CDC. 3 ra edición. Atlanta: departamento de salud y servicios humanos de los Estados Unidos de América; 2010.
46. Hernandez R. Metodología de la investigación. 06 Sta ed. México: McGRAW-HILL ; 2014 .
47. Domínguez X. Cromatografía en papel y en capa delgada. México: programa regional de desarrollo científico y tecnológico; 1975.
48. Oecd guideline for testing of chemicals. Ocde 423. Acute oral toxicity – acute toxic class method. [Internet] 2001 [citado 15 de julio 2018] : 1-14. Recuperado en : https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/.../oecd/oecd_gl423.pd...
49. Hinostroza I, Soto D. Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso del fruto de la berenjena (solanum melongena) en ratas inducidas a diabetes mellitus tipo 2 . [Tesis]. Lima: Facultad de farmacia y bioquímica , UIGV; 2018
50. Katzung G. Farmacología básica y clínica . 9 ed. México: manual moderno; 2005.

ANEXOS

ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO

EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DE *Moringa oleifera Lam* (MORINGA) EN RATAS HOLTZMAN

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVOS GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACION DE VARIABLES			METODOLOGÍA
			V1: INDEPENDIENTE	DIMENSIÓN	INDICADORES	
¿Poseerá efecto hipoglucemiante el extracto acuoso de las hojas de <i>Moringa oleifera Lam</i> (Moringa) en ratas Holtzman?	Evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas de <i>Moringa oleifera Lam</i> (Moringa) en ratas Holtzman (<i>Rattus norvegicus</i>)	El extracto acuoso de hojas de <i>Moringa oleifera Lam</i> (Moringa) tiene efecto hipoglucemiante en ratas Holtzman (<i>Rattus norvegicus</i>)	Extracto acuoso de hojas de <i>moringa oleifera Lam</i>	Estudio fitoquímico	Tamizaje fitoquímico	Diseño: Experimental, analítica y tipo longitudinal. Tipo: Cuantitativo Nivel :Explicativo
PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS			V2: DEPENDIENTE	
¿Cuáles serán los metabolitos presentes en el extracto acuoso de las hojas de <i>Moringa oleifera Lam</i> (Moringa)	Identificar los metabolitos en el extracto acuoso de las hojas de <i>Moringa oleifera Lam</i> (Moringa)	El extracto acuoso de las hojas de <i>Moringa oleifera Lam</i> (Moringa) posee metabolitos primarios y secundarios	Efecto hipoglucemiante	Estudio farmacológico		Población: Treinta y seis ratas Holtzman Muestra :Extracto acuoso de <i>Moringa oleifera Lam</i> (Moringa) Fármaco: Glibenclamida Aloxano Técnicas :Estadístico Anova y Tukey
¿El extracto acuoso de las hojas de <i>Moringa oleifera Lam</i> (Moringa) poseerá efecto hipoglucemiante en comparación a glibenclamida en ratas Holtzman?	Comparar si el extracto acuoso de las hojas de <i>Moringa oleifera Lam</i> (Moringa) posee efecto hipoglucemiante en comparación a glibenclamida en ratas Holtzman	El extracto acuoso de las hojas de <i>Moringa oleifera Lam</i> (Moringa) posee efecto hipoglucemiante equivalente a la glibenclamida en ratas inducidas a diabetes.				
¿Las concentraciones de 250,500 y 1000mg/kg del extracto acuoso de las hojas de <i>Moringa oleifera Lam</i> (Moringa) podrá demostrar el efecto hipoglucemiante en ratas Holtzman??	Determinar las concentraciones del extracto acuoso de las hojas de <i>Moringa oleifera Lam</i> (Moringa) con actividad hipoglucemiante en ratas Holtzman	Las concentraciones de 250, 500 y 1000 mg/kg del extracto acuoso de las hojas de <i>Moringa oleifera Lam</i> (Moringa) demostró efecto hipoglucemiante en ratas Holtzman				

ANEXO 2: RECOLECCIÓN DE LA ESPECIE VEGETAL Y PESADO

Figura 6: Recolección y secado de hojas de *Moringa oleífera* Lam adquiridos del departamento de Lambayeque





Fuente: Elaboración propia,2018



Fuente: Elaboración propia,2018

ANEXO 3: CLASE TAXONÓMICA DE LA ESPECIE VEGETAL.

Figura 7: 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° 283-USM-2018

LA JEFA (e) 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 **María Elena HUAMAN GUZMAN**; de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: ***Moringa oleífera*** Lam.; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: DILLENIIDAE

ORDEN: CAPPARALES

FAMILIA: MORINGACEAE


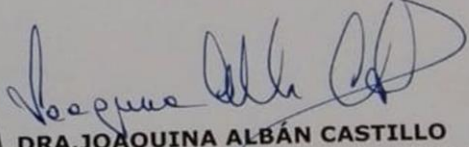
GENERO: *Moringa*

ESPECIE: *Moringa oleífera* Lam

Nombre vulgar: "Moringa"
Determinado por: Blgo. Severo Baldeón Malpartida

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

Lima, 03 de agosto de 2018

 
DRA. JOAQUINA ALBÁN CASTILLO
(E) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

JAC/ddb

ANEXO 4: EXTRACCIÓN ACUOSA DE LAS HOJAS DE *MORINGA OLEÍFERA* LAM

Figura 8: Extracción acuosa de las hojas de la moringa



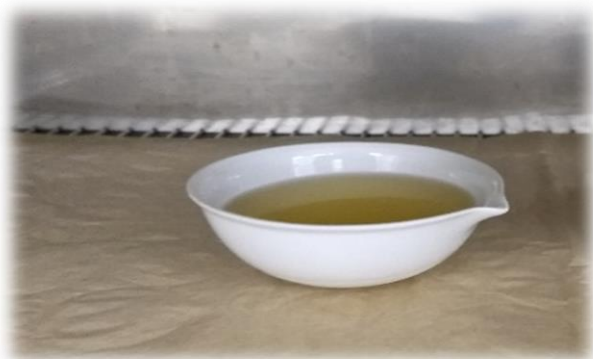
Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 9: Filtrado del extracto acuoso de las hojas de la moringa



Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 10: Extracto líquido puesto a la estufa a 40° C



Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 11: Estufa



Fuente: Elaboración propia,2018

ANEXO 5: PRUEBA DE CROMATOGRAFÍA

Figura 12: Preparando el reactivo de baw (butanol-ácido acético glacial-agua) para la prueba de flavonoides y para alcaloides (metanol-agua).



Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 13: Aplicación de los estándares de quercetina y cafeína con sus respectivas muestras de moringa



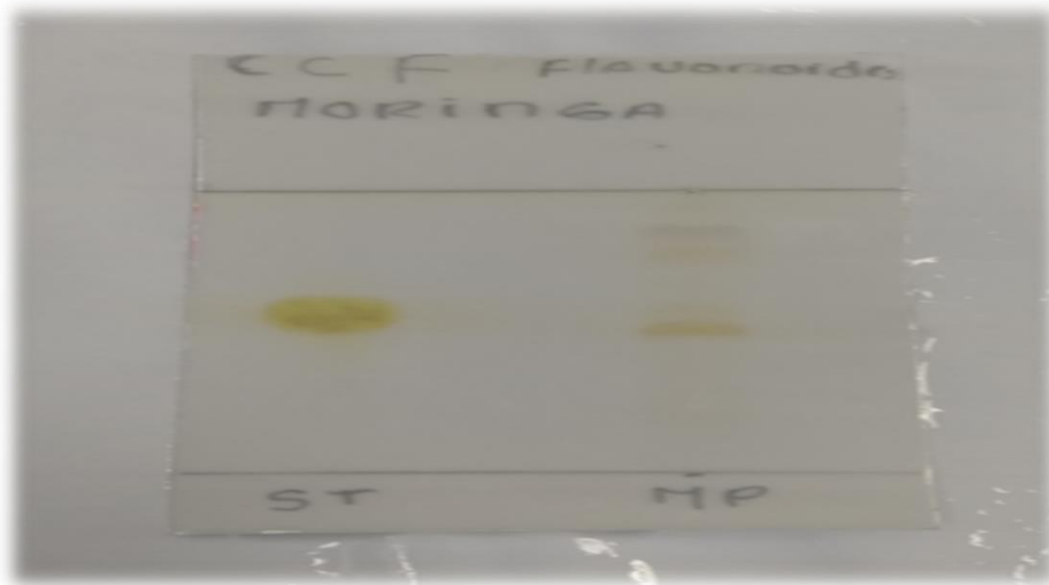
Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 14: Implementos para la corrida en capa fina se utilizaron los estándares de quercetina (flavonoides) y cafeina (alcaloides)



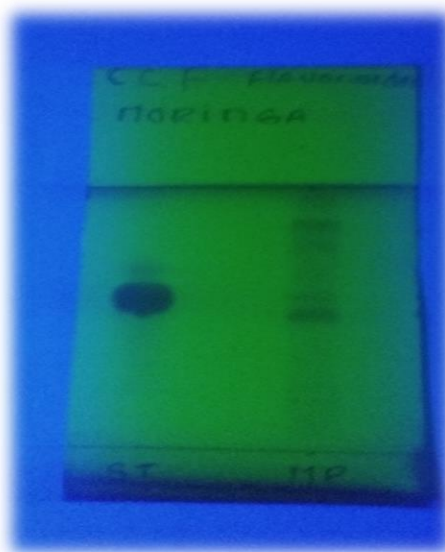
Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 15: Cromatografía en capa fina flavonoides



Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 16: Cromatografía en capa fina y la observación a la luz UV a 254 nm, para flavonoides y alcaloides



Fuente: Elaboración propia,2018



Fuente: Elaboración propia,2018

ANEXO 6: MARCHA FITOQUÍMICA DE LAS HOJAS DE LA MORINGA

Figura 17: Muestra en los tubos de ensayo.



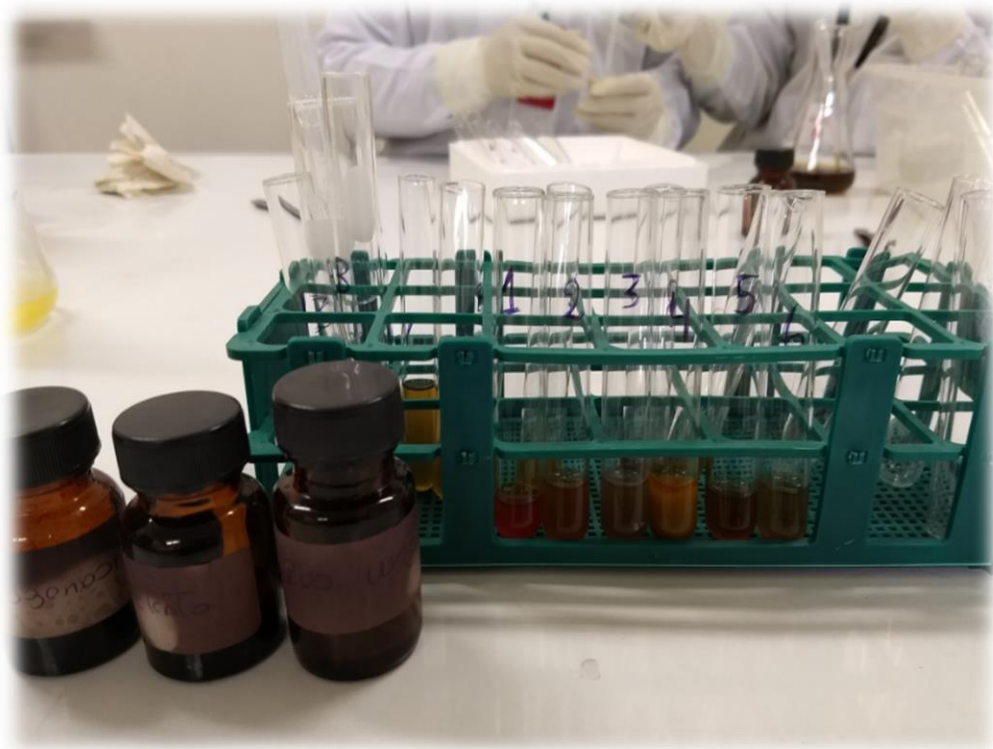
Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 18: Reactivos comparándolos con un blanco.



Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 19: Verificación de los resultados obtenidos del tamizaje fitoquímico de las hojas de *Moringa oleífera* Lam



Fuente: Elaboración propia,2018

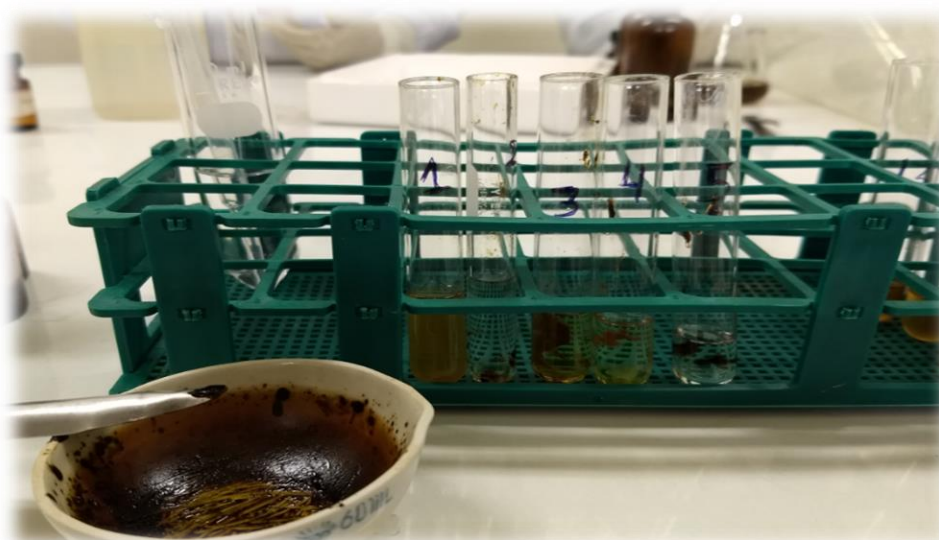
ANEXO 7: PRUEBA DE SOLUBILIDAD

Figura 20: Prueba de solubilidad (Alcohol 96°C, isopropanol, agua, cloroformo y metanol).



Fuente: Elaboración propia,2018

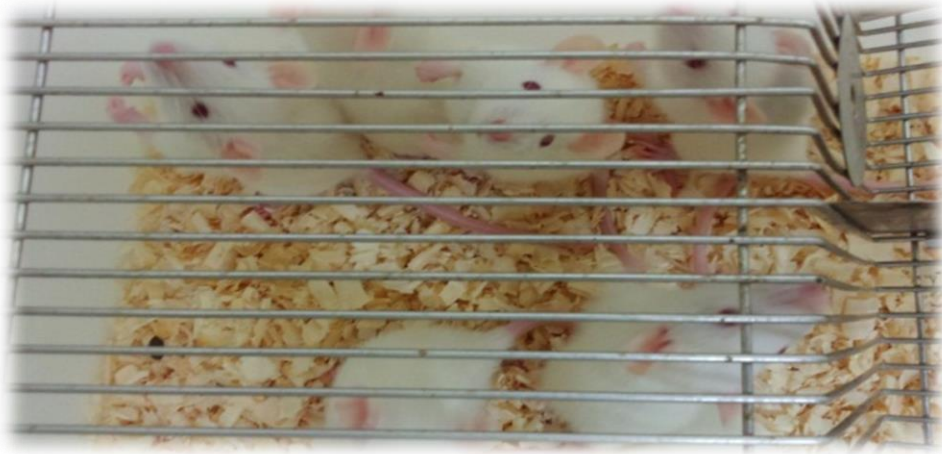
Figura 21: Los resultados de la prueba de solubilidad



Fuente: Elaboración propia,2018

ANEXO 8: PESADA DE LAS 36 RATAS

Figura 22: Ratas albinas, cepa Holtzman del bioterio de la Universidad Cayetano Heredia.



Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 23: Evaluación del peso corporal de las ratas tratadas



Fuente: Elaboración propia,2018

ANEXO 9: ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE.

Figura 24: Capilares para la toma de muestra sanguínea.



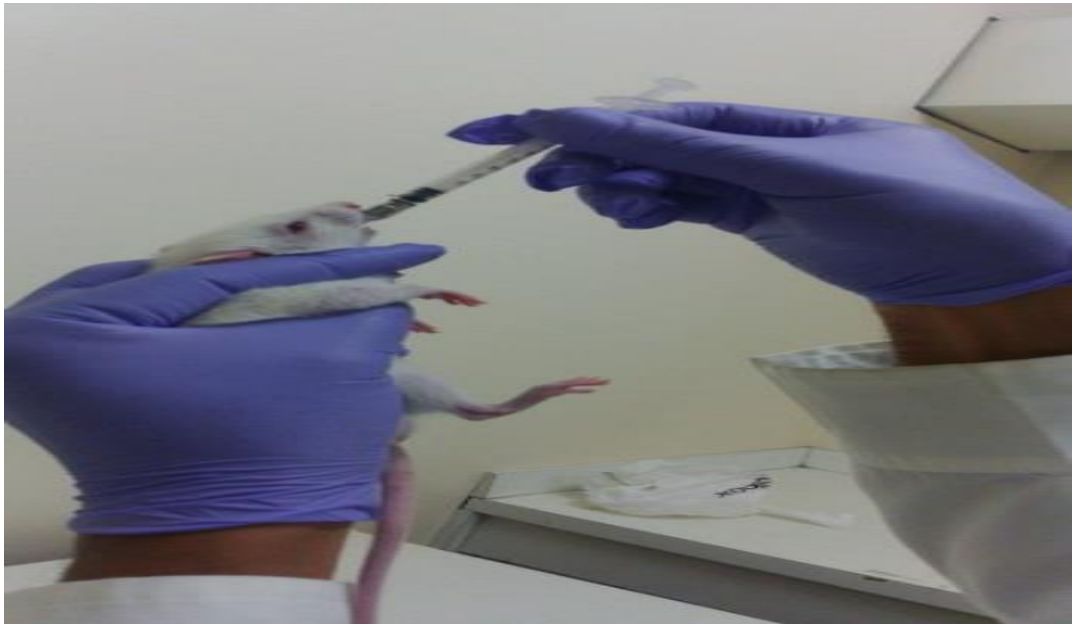
Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 25: Manipulación de las ratas a evaluar.



Fuente: Elaboración propia,2018

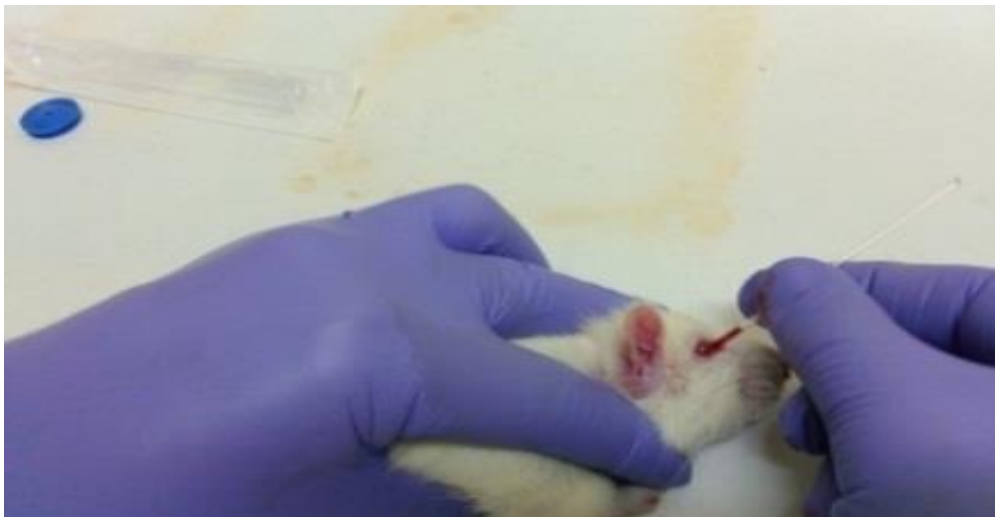
Figura 26: Control positivo 6 ratas hiperglucémicas, dosificación con sonda orogástrica de glibenclamida en dosis de 40 mg/kg.



Fuente: Elaboración propia,2018

ANEXO 10: VALORES BASALES DE GLUCOSA EN SANGRE

Figura 27: Toma de muestras sanguíneas por punción retro-orbital



Fuente: Elaboración propia,2018

ANEXO 11: VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DIA 0

Figura 28: Valores de glucosa en ratas hiperglucémicas inducidas con aloxano



Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 29: Valores de glucosa a los 14 días grupo 250 mg/kg



Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 30: Valores de glucosa a los 14 días grupo 500 mg/kg



Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 31: Valores de glucosa a los 14 días grupo 1000 mg/kg



Fuente: Elaboración propia,2018

ANEXO 12: VALORES DE GLUCOSA EN SANGRE DIA 28 DIAS

Figura 32: Valores de glucemia al final del tratamiento en ratas tratadas con hojas de *Moringa oleifera* Lam grupo 250 mg/kg



Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 33: Valores de glucemia al final del tratamiento en ratas tratadas con hojas de *Moringa oleifera* Lam grupo 500 mg/kg



Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 34: Valores de glucemia al final del tratamiento en ratas tratadas con hojas de *Moringa oleífera* Lam grupo 1000 mg/kg



Fuente: Elaboración propia,2018

Figura 35: Valores de glucemia al final del tratamiento en ratas tratadas con Glibenclamida 40 mg/kg



Fuente: Elaboración propia,2018

ANEXO 13: CERTIFICADO DE SANIDAD DE LAS RATAS DE EXPERIMENTACIÓN.



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

CERTIFICADO

Lima, 20 de julio del 2018

Mediante la presente se certifica que las 36 ratas albinas (*Rattus norvegicus*) de la cepa Holtzman, machos con un promedio de peso de 230 g, adquiridos el 20 de julio del 2018 por el bioterio de la UPCH, se encuentran en optimo estado sanitario y fisiológico para ser utilizado en cualquier protocolo biomédico.

Se expide este documento para fines pertinentes.

Atentamente,



Dr. CHRISTIAN PITOT ALVAREZ
Jefe de Bioterio
LID - UPCH
C.M.V. 8885

Av. Honorio Delgado N° 430, Urb. Ingeniería, San Martín de Porres / P.O. Box 4314, Lima 100 **Central:** (511) 319-0000 **anexos:** 2710 **Página Web:** www.upch.pe