

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

**“Año de Lucha contra la Corrupción e Impunidad”**



**TÍTULO:**

**ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Lepechinia meyenii*  
(PACHA SALVIA) EN RATAS INDUCIDAS A HIPERGLUCEMIA**

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

**TESISTAS**

**BACHILLER: OLGADO FUENTES JUDITH IRENE  
BACHILLER: LOPEZ CACERES CARMEN ROSA**

**ASESOR**

**Mg .QF. OSCAR MUGURUZA LÓPEZ**

**LIMA PERÚ**

**2019**

## **DEDICATORIA**

A Dios, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecerme e iluminar mis ideas, por poner en el camino a esas personas, que me supieron guiar en el periodo de mi carrera.

A mis padres, Juan Pablo y Claudia, por apoyarme incondicionalmente en el transcurso de mi profesión, por sus consejos y enseñanzas, que me siguen transmitiendo, que gracias a ellos hoy puedo ver alcanzada mi meta.

A mis hermanos, por ser mis mejores amigos, que me supieron encaminar, aconsejar y alentar, en todo momento, por ser ejemplo para poder tomar decisiones.

A la persona que dios puso en mi camino, que me brindo fuerza, apoyo y consejos, de seguir con todas las metas que tengo, y que sigue apostando por mí.

Bachiller. Judith Irene Olgado Fuentes

## **DEDICATORIA**

A Dios por estar siempre guiándome y ayudándome en los tiempos difíciles.

El presente trabajo de investigación está dedicado a mis padres ISAIAS Y ANTONIA, pilares fundamentales en mi vida. Por su constancia y esfuerzo han hecho de ellos el gran modelo a continuar.

Dedico de manera exclusiva a mi hermano JUAN CARLOS pues él es el principal soporte para la edificación de mi carrera profesional, brindo en mí los principios de responsabilidad y deseos de superación.

Bachiller. Carmen Rosa López Cáceres

## **AGRADECIMIENTOS**

A los doctores, que nos brindaron su gentil apoyo, sus conocimientos en resolver nuestras dudas en el transcurso del proyecto.

Al Mg. Q.F.Mario Neuman Pineda, al Mg. Q.F.Carlos Cano, al Mg. Q.F.Pablo Bonilla Rivera, al biólogo Hamilton Beltrán, que estuvieron incondicionalmente orientándonos con sus conocimientos y su experiencia en el ámbito experimental.

A nuestra alma mater: Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por la hermosa experiencia en sus aulas y laboratorios, por los conocimientos brindados a nuestra formación profesional como Químico Farmacéutico y Bioquímicos.

A la Ingeniera Cynthia Zúñiga, por brindarnos su apoyo gentil en la interpretación del proyecto.

Bachiller. Judith Irene Olgado Fuentes

Bachiller. Carmen Rosa López Cáceres

## INDICE GENERAL

ACTA DE SUSTENTACIÓN

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

ABREVIATURAS

INDICE DE TABLAS

INDICE DE FIGURAS

INDICE DE ANEXOS

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN.....	1
<b>CAPITULO I. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>3</b>
1.1 Planteamiento del problema.....	3
1.1.1 Descripción de la realidad problemática.....	3
1.1.2 Definición del problema general y específicos.....	4
1.2 Formulación del problema.....	5
1.2.1 Problema general .....	5
1.2.2 Problemas específicos.....	5
1.3 Objetivos.....	6
1.3.1 Objetivo general.....	6
1.3.2 Objetivos específicos.....	6
1.4 Justificación.....	6
<b>CAPITULO II. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>8</b>
2.1 Antecedentes teóricos.....	8
2.1.1 Nacionales.....	8
2.1.2 Internacionales.....	13
2.2 Bases teóricas.....	17
2.2.1 <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).....	17
2.2.1.1 Descripción.....	17
2.2.1.2 Taxonomía.....	19
2.2.1.3 Hábitat.....	19

2.2.1.4 Composición química y propiedades de las hojas.....	21
2.2.1.5 Efecto Farmacológico.....	22
2.2.1.6 Toxicidad y Efecto Adverso.....	23
2.2.2 Diabetes.....	23
2.2.2.1 Definición.....	24
2.2.2.2 Clasificación.....	25
2.2.2.3 Complicaciones.....	25
2.2.2.3.1 Complicaciones Microvasculares.....	25
2.2.2.3.2 Complicaciones Macrovasculares.....	25
2.2.3 Fármacos Antidiabéticos.....	26
2.2.4 Fármaco Patrón Empleado en el Ensayo.....	28
2.2.4.1 Glibenclamida.....	28
2.2.4.2 Mecanismo de acción.....	29
2.2.5 Diabetes Inducida.....	30
2.2.5.1 Inducción Química.....	30
2.2.5.2 Aloxano.....	30
2.2.6 Extractos Vegetales.....	31
2.2.6.1 Definición.....	31
2.2.6.2 Tipos de extractos.....	31
2.2.7 Extracto Hidroalcohólico.....	31
2.2.7.1 Definición.....	31
2.2.7.2 Obtención.....	31
2.3 Formulación de Hipótesis.....	32
2.3.1 Hipótesis general.....	32
2.3.2 Hipótesis específicas.....	32
2.4 Variables.....	33
2.4.1 Variable Independiente.....	33
2.4.2 Variable Dependiente.....	33
2.4.3 Tabla de Operacionalización de Variables.....	34
2.5 Marco Conceptual.....	34

<b>CAPITULO III. METODOLOGÍA.....</b>	<b>38</b>
3.1 Tipo de Estudio y Diseño de Investigación.....	38
3.1.1 Tipo de Estudio.....	38
3.1.1.1. Según el nivel de conocimiento científico.....	38
3.1.1.2. Según la ubicación temporal.....	38
3.1.1.3. Según la planificación de toma de datos.....	38
3.1.2 Diseño del Estudio.....	38
3.2 Población y Muestra.....	38
3.3 Técnica e instrumentos de recolección de datos.....	39
3.3.1 Técnicas.....	39
3.3.2 Instrumentos de recolección de datos.....	40
3.4 Equipos, materiales y reactivos.....	40
3.4.1 Equipos.....	40
3.4.2 Materiales.....	40
3.4.3 Reactivos.....	41
3.5 Procedimiento experimental.....	42
3.5.1 Recolección y procesamiento pos cosecha.....	42
3.5.1.1 Secado de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).....	42
3.5.1.2 Extracción Hidroalcohólica de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).....	43
3.5.1.3 Extracto Seco de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).....	43
3.5.2 Prueba de solubilidad.....	44
3.5.3 Screening fitoquímico.....	44
3.5.4 Prueba cromatográfica en capa fina.....	46
3.5.5 Prueba de toxicidad aguda oral.....	48
3.5.6 Actividad Hipoglucemiante.....	50
3.5.7 Procesamiento de datos.....	55
<b>CAPITULO IV. PRESENTACIÓN Y ANALISIS DE RESULTADOS.....</b>	<b>56</b>
4.1 Presentación de resultados.....	56
4.1.1 Ensayo de Solubilidad.....	56
4.1.2 Marcha Fitoquímica.....	57

4.1.3 Cromatografía de Capa Fina.....	58
4.1.3.1 Cromatografía de capa fina con revelador para alcaloides.....	58
4.1.3.2 Cromatografía de capa fina con revelador para flavonoides.....	58
4.1.4 Toxicidad oral aguda.....	59
4.1.4 Actividad Hipoglucemiante.....	59
4.1.5 Análisis estadístico.....	62
4.1.6 Contrastación de Hipótesis.....	67
4.2 Discusión de resultados.....	70
<b>CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>73</b>
5.1 Conclusiones.....	73
5.2 Recomendaciones.....	73
REFERENCIAS.....	74
ANEXOS.....	82

## ABREVIATURAS

AR	: Ácido rusmarinico
AU	: Ácido ursólico
AO	: Ácido oleanólico
BAW	: (Butanol: agua: Ácido Acetil glacial)
CCF	: Cromatografía de capa fina
CEEA	:Comité de ética de experimentación animal.
DM	: Diabetes mellitus
EAC	: Enfermedad arterial coronaria
EAP	: Enfermedad arterial periférica
FG	: Filtrado glomerular
IDF	: Federación internacional de diabetes
IAG	: Inhibidores de las a-glucosidasas
IDPP-4	: Inhibidores de la DPP-4
ISGLT-2	: Inhibidores de los SGLT-2
IP	: Intraperitoneal
IV	: Intravenosa
OMS	: Organización Mundial de la Salud
OECD	: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico, sede en Paris.
pp	: precipitado
MTF	: Metformina
RP	: reguladores prandiales
SC	: Subcutánea
SU	: Sulfonilureas
TD	: Tiazolidindionas
TGP	: Transaminasa Glutámico Pirúvico

## INDICE DE TABLAS

Tabla N 1: Clasificación de tipos de diabetes.....	24
Tabla N 2: Fármacos antidiabéticos.....	26
Tabla N 3: Tabla de operacionalización de variables.....	34
Tabla N 4: Criterios de inclusión y exclusión.....	39
Tabla N 5: Identificación de los metabolitos.....	45
Tabla N 6: Tratamiento de experimentación con <i>Lepechiania meyenii</i> (PACHA SALVIA) por peso promedio.....	49
Tabla N 7: Dosis de experimentación con <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).....	50
Tabla N 8: Prueba de solubilidad .....	56
Tabla N 9: Identificación de metabolitos primarios.....	57
Tabla N 10: Identificación de metabolitos secundarios.....	57
Tabla N 11: Resultados de la toxicidad aguda oral.....	59
Tabla N 12: Glucosa sérica.....	60
Tabla N 13: Factores inter sujetos.....	63
Tabla N 14: Estadísticos descriptivos.....	64
Tabla N 15: Estadística de la Variable dependiente-Glucosa Gran Media.....	65
Tabla N 16: Estadística Glucosa Descriptivo.....	65
Tabla N 17: Intervalos de tiempo de medida de glucosa.....	65
Tabla N 18: Suma de cuadrados.....	66
Tabla N 19: Anova.....	67

## INDICE DE FIGURAS

Figura N 1: Perú personas de 15 y más años de edad con diagnóstico de diabetes mellitus, según sexo y región natural, 2014(porcentaje).....	4
Figura N 2: <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) y sus partes.....	18
Figura N 3: <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).....	19
Figura N 4: Localización en el Perú de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).....	21
Figura N 5: Componentes químicos de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).....	22
Figura N 6: Mecanismo de Acción de Glibenclamida.....	29
Figura N 7: Flujograma del ensayo experimental, Recolección e identificación de la planta, y la elaboración del extracto hidroalcohólico.....	46
Figura N 8: Flujograma del ensayo experimental, Ensayo farmacológico Hipoglucemiante.....	54
Figura N 9: Grafico de la actividad hipoglucemiante, Análisis estadístico (%)....	61
Figura N 10: Grafico de glucosa de todos grupos del día 28,teniendo los valores del promedio y desviación estandar.....	61
Figura N 11: Secado de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).....	82
Figura N 12: Maceracion hidroalcohólica de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).....	82
Figura N 13: Filtrado del extracto hidroalcohólico de las hoja de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).....	83
Figura N 14: Muestra filtrada en el rotavapor.....	83
Figura N 15: Preparando el reactivo BAW para CCF.....	84
Figura N 16: Marcando la placa de Silicagel para la inoculación del estandar de quercetina.....	84
Figura N 17: Marcando la placa de Silicagel para la inoculación del estandar de cafeina.....	85
Figura N 18: Implementos usados para CCF y las placas con sus repectivas corridas.....	85

Figura N 19: Placa con el revelador tricloruro de aluminio y visto en luz UV 254nm.....	86
Figura N 20: Placa con el revelador del reactivo Dragendorff y visto en luz UV 254nm.....	86
Figura N 21: Muestra obtenida de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) y el reactivo de Libermann- Burchard.....	86
Figura N 22: Reactivos usados en la Marcha Fitoquímica.....	87
Figura N 23-26: Resultados de la Marcha Fitoquímica coloraciones observadas.....	87-88
Figura N 27: Resultados del ensayo de la Solubilidad.....	89
Figura N 28: Manejo de la rata para su pesado.....	90
Figura N 29: Peso de la rata.....	90
Figura N 30: Peso de la glibenclamida tableta.....	90
Figura N 31: Triturando las tabletas de glibenclamida.....	91
Figura N 32: Administración del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> ( PACHA SALVIA) en las ratas a través de sonda nasogástrica .....	91
Figura N 33-35:Extracción de la muestra de sangre por el método del seno retro orbital.....	91-92
Figura N 36: Valor basal de la glucosa tomado el día 0 .....	92
Figura N 37: Valor de glucosa tomado el día 7, del grupo sin tratamiento.....	93
Figura N 38: Valor de glucosa tomado el día 7, del grupo de tratamiento de glibenclamida inducidas a hiperglucemia.....	93
Figura N 39: Valor de glucosa tomado el día 7, del grupo de tratamiento del extracto hidroalcohólico de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) a 250 mg/kg inducidas a hiperglucemia.....	93
Figura N 40: Valor de glucosa tomado el día 7, del grupo de tratamiento del extracto hidroalcohólico de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) a 500 mg/kg inducidas a hiperglucemia.....	94
Figura N 41: Valor de glucosa tomado el día 7, del grupo de tratamiento del extracto hidroalcohólico de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) a 1000 mg/kg inducidas a hiperglucemia.....	94
Figura N 42: Valor de glucosa tomado el día 28, del grupo de tratamiento con glibenclamida a 40 mg/kg .....	94

Figura N 43: Valor de glucosa tomado el día 28, del grupo de tratamiento con el extracto hidroalcohólico de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) a 250 mg/kg.....	95
Figura N 44: Valor de glucosa tomado el día 28, del grupo de tratamiento con el extracto hidroalcohólico de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) a 500 mg/kg.....	95
Figura N 45: Valor de glucosa tomado el día 28, del grupo de tratamiento con el extracto hidroalcohólico de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) a 1000 mg/kg.....	95
Figura N 46: Condiciones de las ratas durante el proceso de tratamiento.....	96
Figura N 47: Evaluación del peso corporal de las ratas ensayadas.....	96
Figura N 48: Capilares usados para la toma de muestra de sangre.....	96
Figura N 49: Validación de instrumento del Anexo N 14 A.....	98
Figura N 50: Validación de instrumento del Anexo N 14 B.....	99
Figura N 51: Validación de instrumento del Anexo N 17 A.....	101
Figura N 52: Validación de instrumento del Anexo N 17 B.....	102
Figura N 53: Validación de instrumento del Anexo N 20 A.....	104
Figura N 54: Validación de instrumento del Anexo N 20 B.....	105
Figura N 55: Constancia del herbario de la UMMSM del Museo de Historia Natural.....	110
Figura N 56: Certificado de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por las ratas Holtzman.....	111
Figura N 57: Certificado de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por el uso del laboratorio.....	112
Figura N 58: Proceso de muestreo.....	113

## INDICE DE ANEXOS

Anexo N 1: Hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).....	82
Anexo N 1.1: Secado de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> ( PACHA SALVIA).....	82
Anexo N 1.2: Maceración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) .....	82
Anexo N 2: Extracción Hidroalcohólica de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).....	83
Anexo N 2.1: Filtración de la maceración.....	83
Anexo N 2.2: Extracción del alcohol.....	83
Anexo N 3: Prueba de CCF con reveladores para alcaloides y flavonoides.....	84
Anexo N 3.1: Preparación del medio para la corrida CCF.....	84
Anexo N 3.2: Inoculación de los estándares de quercetina y cafeína.....	84
Anexo N 3.3: Reactivos e implementos usados y corrida de CCF.....	85
Anexo N 3.4: Resultados de la corrida de quercetina y cafeína, en el extracto hidroalcohólico de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).....	85
Anexo N 4: Marcha fitoquímica.....	86
Anexo N 5: Prueba de solubilidad.....	89
Anexo N 6: Pesado de las ratas.....	90
Anexo N 7: Pesado de la glibenclamida para la preparación de la dosis.....	90
Anexo N 8: Administración oral del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) .....	91
Anexo N 9: Sangrado por el método seno retro orbital.....	91
Anexo N 10: Valores basales de la glucosa.....	92
Anexo N 11: Valores de inducción de hiperglucemia en ratas inducidas.....	93
Anexo N 12: Valores de glucemia al día 28(final del tratamiento) en ratas inducidas.....	94
Anexo N 13: Condiciones brindadas a las ratas durante el proceso de tratamientos.....	96
Anexo N 14: Ficha observación AD-HOC de recolección de datos para la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) en ratas inducidas a	

hiperglucemia para la prueba de marcha fitoquímica.....	97
Anexo N 15: Validación del instrumento Anexo N 14 A.....	98
Anexo N 16: Validación del instrumento Anexo N 14 B.....	99
Anexo N 17: Ficha observación AD-HOC de recolección de datos para la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) en ratas inducidas a hiperglucemia para la prueba de solubilidad.....	100
Anexo N 18: Validación del instrumento Anexo N 17 A.....	101
Anexo N 19: Validación del instrumento Anexo N 17 B.....	102
Anexo N 20: Ficha observación AD-HOC de recolección de datos para la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) en ratas inducidas a hiperglucemia para la toma de valores de glucosa.....	103
Anexo N 21: Validación del instrumento Anexo N 20 A.....	104
Anexo N 22: Validación del instrumento Anexo N 20 B.....	105
Anexo N 23: Análisis Estadístico de Varianza.....	106
Anexo N 24: Análisis Estadístico de Prueba de Tukey.....	107
Anexo N 25: Matriz de Consistencia.....	108
Anexo N 26: Constancia del herbario de la UNMSM del Museo de Historia Natural.....	110
Anexo N 27: Certificado de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por las ratas Holtzman.....	111
Anexo N 28: Certificado de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por el uso del laboratorio.....	112
Anexo N 29: Cálculo de la muestra a tomar según la población.....	113
Anexo N 30: Cálculo de las dosis por semana de tratamientos.....	114

## RESUMEN

La presente investigación se llevó a cabo para determinar la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) en ratas inducidas a hiperglucemia, en la marcha fitoquímica se determinó la presencia de saponinas, triterpenoides, compuestos fenólicos, como flavonoides y alcaloides. En la cromatografía de capa fina se identificó flavonoides usando como estándar la quercetina para flavonoides y cafeína para alcaloides, mediante el revelado de luz UV a la longitud 254 nm. Se evaluó la toxicidad aguda por vía oral en ratas, según Guía OECD – Test 423 (Método de Clases) y la Actividad Hipoglucemiante por vía oral mediante la técnica citada en el Manual del Cytel, como inductor a la hiperglucemia se usó Aloxano en dosis 60 mg/kg peso, disuelto en una solución de buffer citrato de sodio 0.1M estéril. Para ello se utilizaron 36 ratas machos de 2 meses y medio de edad, divididas en 6 grupos de 6 (control negativo, control positivo, tratados con glibenclamida[40 mg/kg] y tres dosis del extracto hidroalcohólico [250, 500 y 1000 mg/kg]). Se evaluaron los niveles de glucosa e insulina en sangre, con la toma de muestra del seno venoso retro orbital, técnica validada. Los resultados de la prueba, indican una disminución ( $p < 0.05$ ) en los niveles de glucosa en sangre en las ratas diabéticas inducidas con Aloxano. La administración oral del extracto hidroalcohólico por 28 días del extracto hidroalcohólico de *Lepichinia meyenii* en las dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg peso corporal tuvo un efecto reductor de glucosa significativo en ratas diabéticas inducidas con Aloxano monohidrato ( $p < 0.05$ ). En conclusión el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presento actividad hipoglucemiante en ratas con diabetes mellitus tipo 2, su posible mecanismo de acción seria el aumento de la concentración de insulina en sangre, a la dosis de 250, 500 y 1000 mg/Kg de peso corporal, sin efectos adversos significativos.

Palabras clave: PACHA SALVIA, *Lepechinia meyenii*, extracto hidroalcohólico, hipoglucemia, Diabetes mellitus, Aloxano.

## ABSTRACT

The present investigation was carried out to determine the hypoglycemic activity of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) in rats induced to hyperglycemia, in the phytochemical march the presence of saponins, triterpenoids, phenolic compounds, such as flavonoids and alkaloids. In flavonoid chromatography, flavonoids were identified using quercetin for flavonoids and caffeine for alkaloids as standard, by developing UV light at the 254 nm length. Acute toxicity was evaluated orally in rats, according to OECD Guide - Test 423 (Classes Method) and oral Hypoglycaemic Activity using the technique cited in the Cytel Manual, as an inducer to hyperglycemia, alloxan was used in 60 doses. mg / kg weight, dissolved in a sterile 0.1M sodium citrate buffer solution. For this, 36 male rats aged 2 months and a half were used, divided into 6 groups of 6 (negative control, positive control, treated with glibenclamide [40 mg / kg] and three doses of hydroalcoholic extract [250, 500 and 1000 mg /kg]).The glucose and insulin levels in the blood were evaluated, with the sampling of the venous sinus retro orbital, validated technique. The results of the test indicate a decrease ( $p<0.05$ ) in blood glucose levels in diabetic rats induced with Aloxane. The oral administration of the hydroalcoholic extract for 28 days of the hydroalcoholic extract of *Lepechinia meyenii* in the doses of 250, 500 and 1000 mg / kg body weight had a significant glucose-lowering effect in diabetic rats induced with Aloxane monohydrate ( $p<0.05$ ). In conclusion the hydroalcoholic extract of the leaves of *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presented hypoglycemic activity in rats with diabetes mellitus type 2, its possible mechanism of action would be the increase in the concentration of insulin in blood, at the dose of 250, 500 and 1000 mg / Kg of body weight, without significant adverse effects.

Keywords: Pacha salvia, *Lepechinia meyenii*, hydroalcoholic extract, hypoglycaemia, Diabetes mellitus, Aloxane.

## INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus es una enfermedad común y expandible, es un problema mundial, ya sea por ser hereditario o contraído por el estilo de vida en estos tiempos, como la obesidad, sedentarismo, el estrés laboral, y malos hábitos alimenticios.

Se muestra la enfermedad mediante trastorno metabólico de la hiperglicemia (McCune y Johns, 2002). En el caso de la diabetes mellitus tipo I, es provocada por la exudación no normal de insulina de las células B pancreáticas. En el caso de diabetes mellitus tipo II, por el incremento de la producción de glucosa hepática y la resistencia hacia la insulina.

La DM tipo 1 se controla con el consumo de insulina y una alimentación limitada en azúcares (Tiedge et al., 2000; Aguilar, 2008), para el caso de DM tipo 2 con una alimentación adecuada en azúcares y la ingesta de medicamentos hipoglucemiantes como la glibenclamida; sin embargo el consumo de ello refleja provocar efectos secundarios como son las náuseas, temblores, diarreas, visión opaca e incluso está involucrada con los casos de ictericia colestásica. (Lisson Abanto, 1999)

En el Perú, se ha observado un incremento por el uso y la mercantilización de fitofármacos y productos naturales con desenlaces medicinales en la población. (García et al., 2004). El presente estudio del efecto hipoglucemiante de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) se basa en la observación de su uso en la etnofarmacología peruana y se busca evaluar la actividad frente a la disminución de la glicemia en sangre del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) en ratas hiperglucémicas inducidas por Alozano®.

En la actualidad se está dando énfasis en nuevas investigaciones para encontrar antidiabéticos naturales, con la finalidad de ser usados para el beneficio de la población, ya sea por recursos y su accesibilidad, mediante la industria farmacéutica.

La región sierra y selva de nuestro país posee una cultura diversa de flora, y gracias a ello, varias especies bondadosas a la salud. Con el ahínco de aportar a la búsqueda de antidiabéticos naturales, se escogió una planta de la región andina, *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA), con el objetivo de determinar la actividad hipoglucemiante. Buscando

las sustancias responsables que le confieren dicha actividad, mediante la marcha fitoquímica y la cromatografía de capa fina.

Existen en la industria farmacéutica muchos medicamentos, para esta patología, ya sea para darle una calidad de vida al paciente.

Se comparó en el estudio la actividad con tres dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA), con un medicamento común como la Glibenclamida®, evaluando si nuestra planta es igual o superior efecto que el medicamento comparativo, también evaluamos su efecto toxico en un tratamiento de 28 días.

# CAPITULO I

## PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1 Planteamiento del problema

#### 1.1.1 Descripción de la realidad problemática

La diabetes mellitus (DM) es un trastorno metabólico, presenta varios orígenes; registrada por la hiperglucemia crónica, así como también por las anomalías en las funciones del metabolismo de los carbohidratos, grasas, las proteínas y la secreción de insulina presente. <sup>(1)</sup>

Según la Federación Internacional de Diabetes (IDF por sus siglas en inglés - International Diabetes Federation), tendrían un promedio de 387 millones de habitantes con diabetes, de los cuales 179 millones (46%) estarían no prescritos con un tratamiento, entre las edades de 40 y 59 años. El 77% habitarían en países con ingresos intermedios y necesitados. Se calcula que para el 2035 aumentaría 205 millones de habitantes diabéticos en el mundo. En América 64 millones de habitantes con diabetes: 25 millones en América Central y América del Sur, y 39 millones en América del Norte y El Caribe. Se estima para el año 2035 que el predominar de diabetes en la región de América Central y América del Sur subirá en 60%.<sup>(2)</sup>

Las personas que tienen diabetes presentan un riesgo alto de mutilación de miembros, 25 veces más de insuficiencia renal terminal, 20 veces más de ceguera, 2 a 5 veces más accidente vascular encefálico y entre 2 y 3 veces más infarto agudo al miocardio. <sup>(3)</sup>

En el Perú, según la Organización Mundial de la Salud, existirían un 6.7% (IC 95%; 4.1% – 9%) de individuos con 18 años a más que presentan hiperglucemia ( $\geq 126$  mg/dL) o ingieren algún fármaco hipoglucemiante o fueron diagnosticados precozmente de esta enfermedad, en el caso de personas de 25 años a más, habría un predominio de diabetes mellitus de 7% (IC 95%; 5.3% - 8.7%) de los que el 4.2% (60%) utilizan medicación para

tratarla como son el uso de antidiabéticos orales o insulina. En una de las últimas Encuesta Demográfica y de Salud Familiar del año 2014 (ENDES 2014), realizada en sujetos de 15 años a más, el 3,2% de los sujetos presentaban diabetes o hiperglucemia; siendo esta predominio de 2,9% en hombres y 3,9% en mujeres. Aparte, según la Dirección General de Epidemiología, la diabetes mellitus se considera la sexta fuente de gravamen como enfermedad en el país y la primera en personas de 45 a 59 años de edad <sup>(4)</sup>.

Según el INEI, en el Perú el 3,2% de la población de 15 y más años de edad fue diagnosticado con diabetes mellitus. Según sexo, el 3,6% de la población femenina padece de diabetes y el 2,9% de la masculina. Por región natural, el mayor porcentaje de personas con diabetes se ubica en Lima Metropolitana con 4,5% y el menor porcentaje en la Sierra con 2,0%. <sup>(54)</sup>

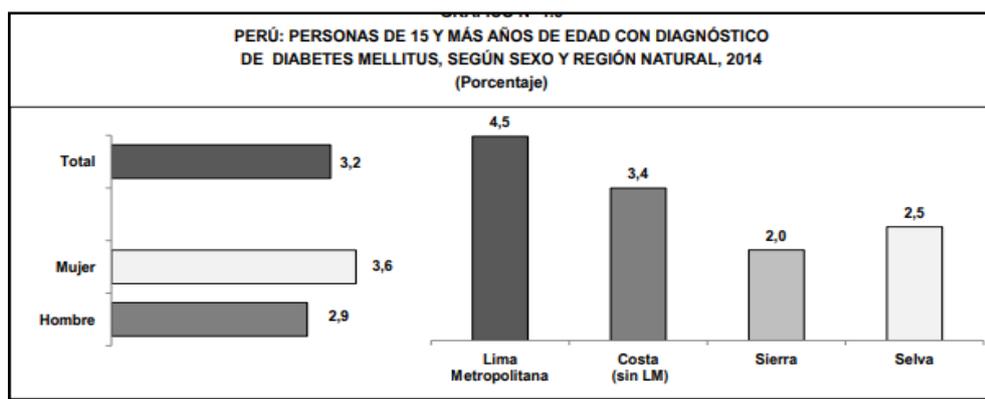


Figura N 1: Perú personas de 15 y más años de edad con diagnóstico de diabetes mellitus, según sexo y región natural, 2014 (porcentaje)

Fuente: Instituto Nacional de Estadística e Informática- Encuesta demográfica y de Salud Familiar.

### 1.1.2 Definición del problema general y específico

La hiperglucemia se manifiesta con un alto nivel de glucosa en sangre (>250mg/dL) cuando el organismo no tiene la suficiente cantidad de insulina o la cantidad de insulina es muy insuficiente para su función normal. También se manifiesta cuando el organismo no tiene la capacidad de utilizarla adecuadamente.

Para mantener un adecuado control sobre la diabetes, es necesario medir con frecuencia el nivel de azúcar en sangre. Es importante tratar la hiperglucemia apenas sea detectada; tener un adecuado control para evitar complicaciones, que se puede presentar como sufrir una afección denominada cetoacidosis y llegar en el peor de los casos al coma diabético. La cetoacidosis se manifiesta cuando el organismo no tiene la suficiente cantidad de insulina, de modo que no puede usar la glucosa como combustible energético, en su lugar el organismo usa los depósitos de grasa para la producción de energía.

## **1.2 Formulación del problema**

### **1.2.1 Problema general**

¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presentará actividad hipoglucemiante en ratas inducidas a hiperglucemia?

### **1.2.2. Problemas específicos**

1. ¿Qué clases de metabolitos presentará el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)?
2. ¿A qué dosis el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presentará actividad hipoglucemiante en ratas inducidas a hiperglucemia?
3. ¿Cuál será la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) en comparación a la glibenclamida?

## **1.3 Objetivos**

### **1.3.1 Objetivo general**

Evaluar la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) en ratas inducidas a hiperglucemia.

### **1.3.2 Objetivos específicos**

1. Identificar clases de metabolitos existentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) que se relacionan con la actividad hipoglucemiante.
2. Determinar la actividad hipoglucemiante en varias dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) en ratas inducidas a hiperglucemia.
3. Determinar la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) en comparación a la glibenclamida.

## **1.4 Justificación**

Se justifica realizar estudios fitoquímicos de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA), porque hasta la fecha no hay estudios comprobados de la planta que nos brinde eficacia y seguridad como actividad hipoglucemiante en diabetes mellitus tipo2.

Esta investigación es importante porque el sistema de salud no cuenta con la cantidad de medicamentos para la población y estos no llegan a todos los rincones del país además debemos estar a la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas. Se debe ampliar los estudios de la investigación de

*Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) porque así se contribuye a ofrecer una alternativa en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, debido a su fácil acceso a diversos lugares e accesibles y a un bajo costo, los beneficiarios de esta investigación será la población.

Es accesible, porque se utiliza una especie vegetal que crece en nuestro país, en la provincia de Pucará departamento de Huancayo en las alturas a 3362 msnm, con lo cual se evaluará la actividad hipoglucemiante.

Es factible, puesto que se cuenta con la especie biológica de estudio, también la universidad cuenta con los materiales, reactivos y equipos necesarios para desarrollar este proyecto además el costo de investigación no es tan elevado lo cual permite culminar la parte experimental.

Es de importancia porque se tiene referencia de la población con hiperglucemia y diabetes que viven en la provincia de Pucará departamento de Huancayo que mencionan haber consumido la infusión de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) y se sintieron mejor; esto motiva a realizar el presente trabajo de investigación para demostrar que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA), tiene efecto hipoglucemiante y así brindarle una mejor calidad de vida a la población del Perú y a nivel mundial.

Según los antecedentes <sup>(21)</sup> <sup>(50)</sup> los metabolitos secundarios presentes en la hoja de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) que le confieren la actividad hipoglucemiante de los extractos tanto hidroalcohólico y acuoso podría corresponderse a la presencia de altas cantidades de antocianinas, flavonoides, triterpenos y compuestos fenólicos. Además se ha evidenciado científicamente <sup>(50)</sup> que se avala la presencia del ácido ursólico que se encuentra en la planta, tendría relación con el efecto hipoglucemiante.

## CAPITULO II MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes teóricos

#### 2.1.1. Nacionales

**Carreño T y Castagnino M (Lima, 2017)**; realizaron su tesis de grado titulada “Evaluación del efecto del consumo agudo de semillas de chía (*Salvia hispánica L.*) En agua sobre la glicemia posprandial en sujetos sanos” Su objetivo fue evaluar su efecto a través de la ingesta aguda de semillas de *Salvia hispánica L.* (chía) en agua sobre la contestación glicémica posprandial en individuos saludables, para el presente trabajo se tomaron muestras de sangre con la ayuda del capilar a 15 personas y leídas a través glucómetro para evaluar la glicemia basal en el tiempo 0 y la posprandial a los 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos, distribuidos en tres grupos, el primero con ingesta de agua y pan blanco con 50g de carbohidratos dispuesto, el cual se llamó control; el siguiente con 24 g de chía remojado en agua durante 15 minutos y pan blanco, el cual se llamó grupo chía remojada; el ultimo con 24g chía en agua no remojada y pan blanco, que se llamó grupo chía instantánea. Los resultados se manifestaron a través del área bajo la curva del ABC, encontrándose variaciones significativas en el ABC de los tres grupos evaluados ( $p < 0,05$ ). En el caso del ABC de la chía instantánea se observó un valor mayor a comparación de la preparación control y que la de chía remojado. Como conclusión aportan que el consumo de chía remojada durante 15 minutos en agua, no se observa una subida posprandial en sujetos saludables, en el grupo de chía instantánea resulto ser desfavorable en relación al control de la glicemia, por presentar crecida en el ABC. <sup>(5)</sup>

**Vaca E y Villena M (Trujillo, 2016)**; realizaron su tesis de grado titulada “Efecto del extracto acuoso de semillas de *Salvia hispanica L.* sobre diabetes inducida en *Mus musculus Balb/c*”. Su objetivo del mencionado, fue elaborar la efecto de la misma sobre la diabetes inducida, a través de la disminución de la glicemia. Para el proyecto se usaron como modelo 18 ratas de cepa Mus

musculus Balb/c, de sexo macho y un peso promedio 25 a 30 g. distribuidas en tres grupos, Uno testigo conformado con diabetes provocada recibieron solución salina fisiológica por veintiuno días. Otro problema I y II, con diabetes provocada a ambos, recibieron 2ml de extracto acuoso de semillas de *Salvia hispanica L.* (chía), a través de la vía oral al 1% y 2% por catorce días. Además se trató por los últimos siete días pos- tratamiento los grupos problemas recibieron solución fisiología. Se evaluó la glucosa basal al principio del experimento y después de las 48 horas de haber suministrado el inductor, que fue el aloxano a la dosis 75mg/kg/día en buffer citrato por vía intraperitoneal, y también en los 1, 3, 7,14 y 21 días en todos los grupos de experimentación. Para la medición se tomó la muestra extraída del ápice de la cola y leída con el glucómetro Accu-cheK. Obtuvieron como resultado en la marcha fitoquímica, en las dos concentraciones del extracto acuoso al 1% como al 2%, manifestó flavonoides, taninos, alcaloides, sesquiterpenlactonas. Como conclusión, el extracto acuoso de semillas de *Salvia hispanica L.* presentó efecto positivo como hipoglucemiante hallando que el extracto al 2% es de mayor efectividad. <sup>(6)</sup>

**Mejía A, Zuloeta D y Palacios F (Lima, 2016);** elaboraron el artículo titulada “Efecto hipoglucemiante del consumo de yacón (*Smallantus sonchifolius*) en ratones con diabetes tipo 2 provocados con aloxano”, tuvieron como objetivo determinar su efecto a través de la administración del *Smallantus sonchifolius* (yacón) en ratones albinos con diabetes mellitus tipo 2, evaluados mediante sus valores de glucosa. Distribuidos en un grupo control y grupos tratamientos conformados por 21 ratones en cada grupo, de pesos promedio entre 30 g a 40 g, a los ratones se le administró el aloxano a través de una solución de 0.5gr/ 200 ml de agua destilada por vía intraperitoneal aplicados a la dosis de 0,1 a 0,7 ml/ por 36 días, como medio inductor. Como resultado obtenido en el grupo con tratamiento se observó que en su nivel de glucosa preliminar inducida era 135.30 mg/dL, y se disminuyó a 107.70 mg/dL, a un nivel de confianza al 99%, mostrando así diferencia estadística significativa respecto al valor cuadrado. La glucosa inicial y final del grupo control fue 130.60 mg/dL y 151.45 mg/dL respectivamente, no presento grado de significancia. Estos resultados se interpretaron también a través del estudio anatómo patológico

para observar el efecto citotóxico que ocasionaría el Aloxano como inductor reflejado en el páncreas, el cual se observó malformación de células estructurales y pérdida de los islotes de Langerhans. Se concluyó que el consumo de 100 g de yacón a través de la raíz en ratones inducidos a diabetes mellitus tipo 2 durante un periodo de 34 días disminuye significativamente el nivel de glicemia, esto se puede deberse gracias por su alto contenido de fructooligosacáridos.<sup>(7)</sup>

**Justil C, Angulo P, Justil H y Arroyo J (Lima, 2015);** Elaboraron el artículo titulado “Evaluación de la Actividad Hipoglicemiante del Extracto Acuoso de *Abuta grandifolia* (Mart.) en ratas con Diabetes Inducida por Aloxano”. Tuvieron como objetivo de investigación evaluar su eficacia reductora del extracto acuoso de *A. grandifolia* (Mart.) frente a la glicemia en ratas diabéticas inducidas con aloxano, Para el presente proyecto se tuvieron como población 30 ratas macho de cepa Sprague Dawley, tres meses de edad, con peso promedio entre 230 g a 250 g, las presentes se distribuyeron en 6 grupos, denominados, grupo control negativo, control positivo, los tratados con tres concentraciones del extracto en estudio, los cuales fueron 100, 250 y 500 mg/kg, y el último grupo de glibenclamida a 10 mg/kg. Se provocó la diabetes a través de la administración por vía intraperitoneal a dosis de 100mg/kg de aloxano. Las mediciones de glucosa se tomaron con el glucómetro; los resultados fueron tuvieron efecto hipoglicemiante el grupo de glibenclamida y el grupo del extracto acuoso de *A. grandifolia* (Mart.) de dosis 100 y 250 mg/kg, en comparación del extracto de 250 mg/kg tuvo mejor efecto después de las 6 horas y hasta las 72 horas de su aplicación, concluyendo así mismo que el extracto acuoso de *A. grandifolia* (Mart.) 250mg/kg tiene actividad favorable, reduciendo la glicemia en ratas diabéticas.<sup>(8)</sup>

**Bello V y Inche J (Lima, 2015);** realizó su tesis de grado titulada “Comparación del efecto hipoglucemiante del Extracto hidroalcohólico de las hojas *Smallanthus sonchifolius* (poepp) rob “yacón” frente a un extracto de libre comercio, en ratones hiperglucemicos”. Su objetivo evaluar la actividad hipoglucemiante mediante la administración del extracto hidroalcohólico de las hojas del yacón y en comparación a un extracto de libre comercio a través de

los valores de glicemia en ratones hiperglicémicos inducidos por sobrecarga de glucosa y aloxano, y también normo glicémicos de ambos sexos. En total 50 ratones de 40 g aproximado de peso, para el ensayo con sobrecarga de glucosa (2000 mg/kg) distribuidos en 4 grupos de tratamiento, denominados el grupo I administrado de extracto hidroalcohólico de hojas de yacón a dosis 1000 mg/kg, el grupo II administrado del extracto de libre comercio 30 ml/kg, el grupo III administrado por glibenclamida a 10 mg/kg, y el grupo VI control administrado por suero fisiológico. En tanto para el ensayo con aloxano (70 mg/kg), se usaron 45 ratones de ocho meses de edad con peso promedio de 40 g, los animales que presentaron glucemia mayor a 200 mg/dL eran denominadas hiperglicémicos, distribuidos en 4 grupos de tratamiento, igual que el anterior ensayo. Las medidas de glicemia se tomaron en ayunas en los tiempos, 0, 2, 4, 6 y 24 horas. Los resultados presentó un aumento estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) de los niveles de glucosa sanguínea en la administración del extracto hidroalcohólico de hojas del yacón y de un extracto de libre comercio en ratones normo glicémicos, solo la glibenclamida presentó este efecto a las 24 horas. Se observó una reducción estadística significativa ( $p < 0,05$ ) de los valores de glucosa sanguínea a las 6 horas de administrado los tratamientos, en el caso de ratones hiperglicémicos con sobrecarga oral de glucosa, con la administración del extracto hidroalcohólico de las hojas del yacón y de un extracto de libre comercio así mismo en ratones hiperglicémicos por aloxano. Se concluye así que presenta actividad hipoglucemiante frente a una hiperglicemia inducida, en los extractos de hojas de yacón y el preparado de libre comercio, en tanto en estado de normo glucemia, no presenta efecto hipoglucemiante. <sup>(9)</sup>

**Giraldo L(Lima, 2014)**, realizó su tesis de grado de Magíster en Farmacología Experimental titulada “Efecto del extracto etanólico del fruto de *Physalis peruviana* (aguaymanto) sobre la glucemia en animales de experimentación”, El presente estudio fue determinar la actividad hipoglucemiante del extracto etanólico del fruto aguaymanto en ratas diabéticas inducidas con aloxano, Tuvieron como población 56 ratas machos cepa Holtzman, distribuidas en 7 grupos, los cuales denominados normal, sobre carga de glucosa, otra de sobrecarga de glucosa y glibenclamida, una de insulina y la última de las tres

concentraciones del extracto, al final del proceso se dejó descansar dos semanas, después se distribuyeron en 7 grupos nombrados, grupo normal, grupo aloxano, otro grupo aloxano y glibenclamida, insulina y los últimos tres concentraciones de extracto, pasando un día los animales mostraron valores de glucosa por encima de 250 mg/dL, seguidamente se continuó con el experimento y también se analizó el páncreas a través de un estudio histológico. Los resultados obtenidos, al suministrar las tres concentraciones del extracto se tuvo el efecto hipoglucemiante mostrándose hasta 41.5% de reducción de la glucemia de las ratas del grupo con sobrecarga oral de glucosa, en la experimentación de la inducción de la diabetes con aloxano se observó reducción 4.38% a las dos horas con el extracto de mayor concentración de 600mg/kg, adicional se demostró un menor deterioro del páncreas en el grupo. Se demostró así que el extracto etanólico del fruto aguaymanto, fue efectivo en el grupo con sobrecarga de glucosa y también las aloxánicas.<sup>(10)</sup>

**Tasayco N (Lima, 2007);** realizó su tesis de grado de Magíster en Farmacología Experimental titulada “Actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en ratas con diabetes tipo 1 y 2”. El objetivo del presente proyecto es aclarar si posee la actividad hipoglicemiante en el extracto de las hojas del yacón al 10 % p/v frente a ratas con diabetes mellitus tipo 2, también evaluar su posible mecanismo de acción y su dosis efectiva, comprobar que no muestra actividad hipoglucemiante en ratas con diabetes mellitus tipo 1, sus posibles consecuencias adversas sobre las variables bioquímicas y hematológicas en ratas con diabetes mellitus tipo 2. Para el presente ensayo de la diabetes mellitus tipo I se utilizaron 45 ratas, divididas en cinco grupos de tratamiento, denominados grupo control más suero fisiológico, grupo glibenclamida 10 mg/kg, grupo yacón de 250 mg/kg, grupo yacón 500 mg/kg y grupo 1000 mg/kg; y para el ensayo de la diabetes mellitus tipo 2 se emplearon 24 ratas, divididos en cuatro grupos, denominado normal más suero fisiológico, control positivo más suero fisiológico, glibenclamida 10 mg/kg, y yacón 500 mg/kg, en los dos estudios ratas machos de cepa Holtzman, para el primer caso de peso promedio 200 g y 8 semanas de edad, en el segundo caso de peso promedio

250 g y de 9 semanas de edad. Los resultados observados en la diabetes mellitus tipo 1 no presentó diferenciación alguna significativa en los niveles de glucosa en sangre ( $p>0.05$ ), pero los valores de insulina crecieron significativamente ( $p<0.05$ ). En el caso de la diabetes mellitus tipo 2 los grupos de yacón y glibenclamida acortaron significativamente los valores de glucosa ( $p<0.001$ ); en la evaluación de efectos adversos al grado bioquímico no presentó diferencia significativa ( $p>0.05$ ) y, al grado hematológico los valores de hemáties, hemoglobina y hematocrito redujeron significativamente en el grupo del yacón ( $p<0.05$ ). Como conclusión el extracto hidroalcohólico al 10% p/v de las de yacón si presenta actividad hipoglucemiante en ratas con diabetes mellitus tipo 2, su posible elemento de acción es porque corrigen las concentraciones de insulina en sangre, la dosis óptima oscila entre 500 y 1000 mg/Kg, en el otro caso de la diabetes mellitus tipo 1 no muestra actividad hipoglucemiante ni efectos contrarios significativos. <sup>(11)</sup>

### 2.1.2 Internacionales

**Mejía Castro V. (Guatemala; 2015);** realizó su tesis de grado titulada “Determinación de la actividad hipoglicemiante de las hojas de *Rubus urticifolius*poir. (Mora silvestre) y las hojas de *Rubus rosaefolius*sm. (Frambuesa silvestre) en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina” su objetivo fue determinar su efecto hipoglicemiante de las dos especies vegetales del género *Rubus*. Utilizando como inductor estreptozotocina (STZ). En su presente estudio se usaron ratas diabéticas provocadas con estreptozotocina (STZ), al presentar el valor de glucosa por encima de 200 mg/dl eran declaradas diabéticas. Para el tratamiento usaron dosis de 750 y 1000 mg/dL de los extractos de dos especies vegetales en estudio, en ayunas por vía oral a través de sondas gástricas. La muestra de sangre para la medición de glucosa, se extrajo del extremo distal de cola animal, repitiendo cinco veces, la primera muestra se realiza previamente en la aplicación de los extractos y las siguientes cuatro se aplicaron en un lapso de una hora durante cuatro horas a través del glucómetro. La metodología utilizada se redundó a diario durante cinco días, para el grupo control positivo en el que se administró el medicamento la insulina (referencia), y al grupo control negativo en el que

se le administró agua como medio. Al culminar su proyecto tuvieron como resultado, que el extracto acuoso de *Rubus rosaefolius* no posee actividad hipoglicemiante, mientras que el extracto acuoso de *Rubus urticifolius* si posee actividad hipoglicemiante pero ligero. <sup>(12)</sup>

**Ortiz A (Zaragoza; 2013)** realizó su tesis de grado titulada “Evaluación del Efecto Hipoglucemiante del Extracto Etanólico de *Gnaphalium semiamplexicaule* (gordolobo), en un Modelo de Ratones CD1”. Tuvo como objetivo evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de gordolobo, en un modelo de ratones CD1 hiperglucémicos. En el ensayo hipoglucemiante se utilizaron 6 grupos de 6 ratones con un peso promedio de 40 g. Para la inducción de hiperglucemia por vía subcutánea de glucosa al inicio del ensayo y a los 60 minutos. Al inicio del ensayo los animales recibieron por sonda gástrica: solución salina para el grupo control negativo, dosis del extracto de 25, 50 y 100 mg/kg para los grupos experimentales, glibenclamida y tolbutamida para los grupos positivos. Se midió la glucemia en intervalos de 60 minutos por 5 horas. Las muestras de sangre se adquirieron por incisión en la parte distal de la cola. Para evaluar el posible efecto tóxico, en el ensayo de toxicidad aguda se usaron 24 ratones machos de 35 g formando 4 grupos de 6 animales. Los animales se observaron diariamente durante 14 días. Al final del ensayo se obtuvo los sueros y se extrajeron los riñones, bazo, hígado y corazón y se calculó el peso relativo. En los sueros se determinó TGP/ TGO y electroforesis de proteínas séricas, debido a que los animales tratados mostraron hepatomegalia y con esplenomegalia. Como resultado se observó la actividad hipoglucemiante a una a la dosis de 100 mg/kg del extracto al tiempo 2. No se observaron muertes ni signos de intoxicación visibles, en los animales tratados. El grupo tratado a dosis de 25 mg/kg presentó hepatomegalia y se encontraron diferencias significativas entre las medias de las enzimas transaminasa glutámico pirúvica (TGP o ALT) contra las diferentes concentraciones del extracto y el testigo negativo. Los animales tratados con dosis de 100 mg/kg mostraron una esplenomegalia, en comparación al grupo testigo, no se mostró diferencia significativa en los patrones electroforéticos entre los grupos. Como conclusión según las diferencias estadísticas significativas encontradas se demuestran que el extracto etanólico de

*Gnaphalium semiplexicaule* (gordolobo), a una dosis de 100 mg/kg tiene actividad hipoglucemiante así como efecto en el bazo en el modelo usado; pero con los marcadores biológicos ensayados no encontramos diferencias significativas entre los grupos. A nivel hepático se sugiere una posible alteración celular hepática a una dosis de 25 mg/kg.<sup>(13)</sup>

**Torres A (Zaragoza; 2013)** realizó su tesis de grado titulada “Evaluación del efecto Hipoglucemiante de un extracto acuoso de *Trichocereus peruvianus*, en un modelo de ratones CD1”, su objetivo obtener un extracto acuoso del cactus *Trichocereus peruvianus*, el cual se obtuvo mediante una técnica de extracción mecánica, seguido de un proceso de concentración del mismo por medio de un rotavapor, para después evaluar su supuesta actividad hipoglucemiante mediante los niveles de glucosa en ratones con hiperglucemia temporal, inducida por una carga de glucosa. Se utilizó un modelo animal que se asemeja a la Diabetes Mellitus tipo 2, cuyo tratamiento es con agentes hipoglucemiantes orales. Se trataron 3 grupos de ratones con dosis de 25, 50 y 100 mg/kg del extracto respectivamente, 2 grupos de ratones se trataron con estándares de referencia Glibenclamida y Tolbutamida y un grupo testigo negativo se trató con solución salina. Se midieron los niveles de glucemia a diferentes tiempos durante 240 min. Los resultados se analizaron utilizando un paquete estadístico. El extracto acuoso de *Trichocereus peruvianus*, no mostro efecto hipoglucemiante como se esperaba, sin embargo, se encontró que tiene actividad hiperglucemiante ya que aumentó los niveles de glucemia en los ratones tratados con el mismo, por hiperglucemia temporal.<sup>(14)</sup>

**Pazmiño C (Riobamba; 2011)**, realizó su tesis de grado titulada “Determinación de la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Justicia chlorostachya Leonard* (insulina) en ratones con hiperglicemia inducida”. Tuvieron como objetivo determinar la actividad hiperglucemiante de la *Justicia chlorostachya Leonard* (insulina vegetal) en ratones hiperglucémicos, provocados por sobrecarga de sacarosa en una proporción 4g/Kg de peso, para el estudio usaron el método empírico analítico, los ratones usados tuvieron un peso promedio 30-40 g de peso. Se distribuyeron seis grupos los cuales fueron denominados, Control negativo, Control Positivo

(Acarbosa 0.7 mg/Kg), Dosis I (16 mg de Jc/Kg), Dosis II (32 mg de Jc/Kg), Dosis III (64 mg de Jc/Kg), y Testigo. Evaluando la glicemia en tiempos de 0, 30, 60 y 120 minutos después de la inducción, tomando las muestras de sangre, con el apoyo del glucómetro Progride. Los datos obtenidos se interpretaron estadísticamente a través del ANOVA y la prueba de Tuckey en un intervalo de confianza del 99%. Los resultados indican que presenta efecto hipoglucemiante el extracto hidroalcohólico de *Justicia chlorostachya*, a partir de la dosis más baja utilizada que fue de 16 mg/kg, siendo así un potencial sustituyente e igualmente eficaz que el tratamiento con Acarbosa (0.7mg/Kg de peso). También se evaluó el análisis toxicológico e histopatológico que la dosis administradas reflejaron ser no tóxicas, e histológicamente seguras en los órganos farmacocinéticas involucrados como son el estómago, el hígado y el riñón. Se comprobó mediante este estudio que el uso natural que se le brinda a la insulina vegetal, como hipoglucemiante es seguro y a la vez efectivo, también que los metabolitos secundarios causantes de este benéfico son los compuestos Fenólicos como el Flavónico. <sup>(15)</sup>

**Rosero M (Riobamba; 2010);** realizó su tesis de grado titulada “Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), en ratas (*rattus novergicus*) con hiperglicemia inducida”, Tuvieron como objetivo explicar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de canela , en una población conformada por 18 ratas hiperglucemias producida a través de la administración intraperitoneal de aloxano a 150 mg/Kg peso, divididas en seis grupos, nombrados: Patrón; Control positivo; Control negativo; Grupo I - dosis 0,2 mL de canela; Grupo II - dosis 0,4 mL de canela y Grupo III - dosis 0,6 mL de canela. Se les administro como tratamiento el extracto acuoso de canela elaborado de la corteza, tanto el grupo I, II y III, respectivamente a concentración de 0,6 g/Kg; 1,2 g/Kg; 1,7g/Kg. al grupo control negativo se le administro 1 mg/Kg de glimepirida (amaryl), el grupo patrón y control positivo solo vehículo. Realizado el procedimiento del tratamiento del extracto acuoso de canela, presentó una visible disminución de la glicemia observándose los siguientes valores promedio: patrón 92,7 mg/dL; control positivo 375,0 mg/dL; control negativo 89 mg/dL; Grupo I 85 mg/dL; grupo II 41,5mg/dL; Grupo III 26,5 mg/dL. También mediante la evaluación histopatológica se demostró que

no presenta daño alguno en los órganos como el riñón e hígado. Se concluyó así que el extracto acuoso de la canela elaborado de la corteza no tiene efecto atóxico, y presenta efecto positivo como hipoglucemiante. <sup>(16)</sup>

**Valle D y Carrión M (Santa Cruz; 2007)**; elaboraron su tesis de grado titulada “Actividad Hipoglucemiante de la planta tuna (*Opuntia ficusindica*) en ratones”. Su objetivo determinar la actividad hipoglucemiante de la planta en este caso la tuna. Para el presente proyecto utilizaron 30 ratones machos de cepa Balb/c con una edad de cuatro semanas con un peso promedio entre los 29 a 32 g. distribuidos en tres grupos conformados por 10 ratones. Se tomaron las muestras de sangre para los valores normales a través de la incisión en la vena lateral del ápice de la cola por las mañanas durante un tiempo de tres semanas y en cada grupo se experimentó en un periodo de cinco semanas. Fueron inducidos a una hiperglucemia endógena mediante la administración de glucosa, el primer grupo solo adquirió como tratamiento el extracto de la tuna, el otro grupo recibió glibenclamida se denominó control negativo, y el último grupo suero fisiológico denominado control positivo. Se comparan los resultados con los grupos que reciben extracto de tuna y glibenclamida, observándose que con el extracto de tuna la actividad es lenta en comparación con la glibenclamida que mostró un efecto rápido. <sup>(17)</sup>

## **2.2 Bases Teóricas**

### **2.2.1 *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)**

#### **2.2.1.2 Descripción**

Arbusto: 20-22 cm de alto. Hierba perenne

Tallo: postrado-ascendentes, radicantes.

Inflorescencia: en glomérulos foliosos en grupos de 3 a 6 flores, blancas hermafroditas, de 10 mm de altura.

Flores: pequeñas, hermafroditas, de simetría zigomorfa.

Cáliz: formado por 5 piezas soldadas en la base formando un corto tubo y terminado en 5 dientes.

Corola: entámera, tubular, terminada en 5 lóbulos desiguales.

Androceo: formado por 4 estambres adnados al tubo de la corola, en su mitad superior, filamentos cortos.

Hojas: opuestas, pecioladas; lámina simple, ovadas a ovado elíptica, ápice obtuso a agudo, margen crenado, de 4-6 cm de largo y 2-3 cm de ancho; base obtusa; haz finamente hirsuta y rugosa, envés glandulosa, pubescente. Inflorescencia terminal y axilar, densa y foliosa.

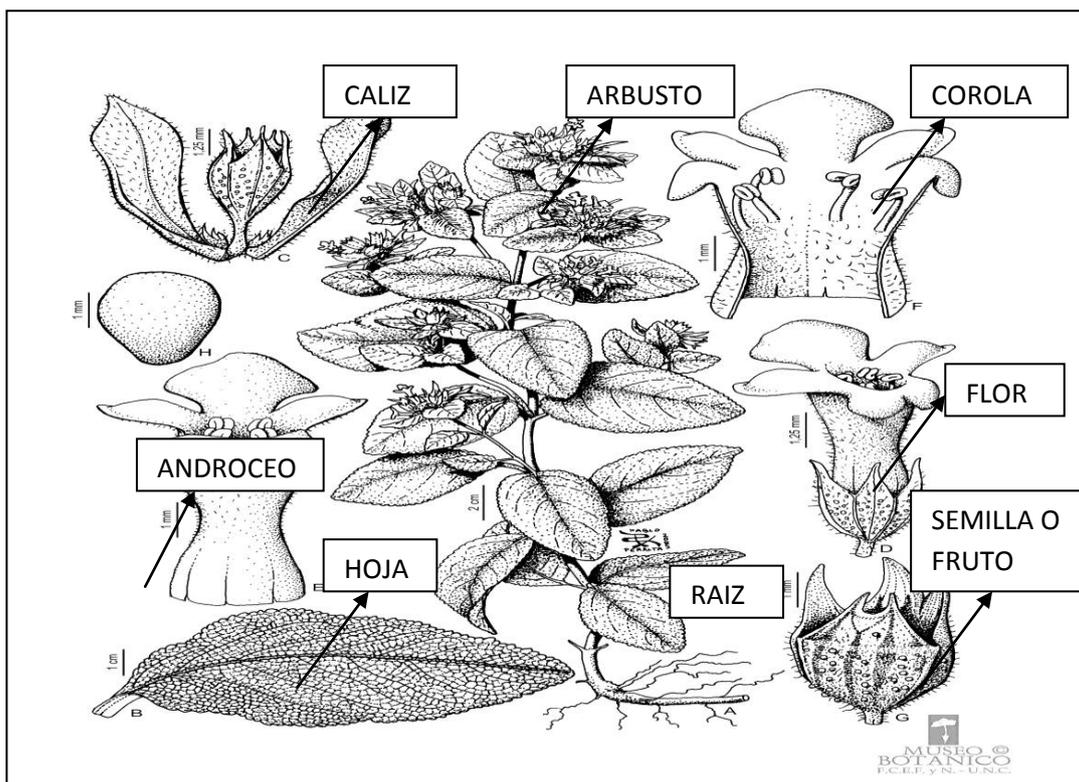


Figura N 2: *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) y sus partes.

Fuente: artículo "Las Labiadas del Noroeste de la Argentina" Epling, C. C. 1939c

### 2.2.1.2 Taxonomía (ver Anexo N 24)

División :Magnoliophyta

Clase :Magnoliopsida

Sub clase:Asteridae

Orden : Lamiales

Familia : Lamiaceae

Género :Lepechinia

Especie:*Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling

Nombre vulgar : "PACHA SALVIA",  
"salvia", "pampa salvia"



Figura 3: *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)

Fuente: Mahabir P. Gupta, "Plantas medicinales originarias en el alto platón andino y la región de los valles centrales de Bolivia, Ecuador y Perú", unido, 2006.

### 2.2.1.3 Hábitat

*Lepechinia meyenii* (Walp.), también llamada salvia, PACHA SALVIA, kotapuriña; es una especie vegetal que se desarrolla en Argentina, Bolivia y Perú entre los 3800 y 4200 msnm. Florece en tierras secas,

llanas y laderas. En el Perú se ha reportado en varios departamentos como Áncash, Cuzco, Huánuco, Cajamarca, Junín, Huancavelica, La Libertad y Puno. <sup>(18)</sup>

Reside ampliamente la sierra peruana. En Cajamarca ocupa la jalca baja, sobre hábitat gramíneo abierto. <sup>(19)</sup>

Esta especie procede principalmente en las localidades altas del ande cercanas al valle del Cuzco como son Pisac, Urubamba, Calca, Limatambo, San Jerónimo, Pachatusan, QoraoySaylla-Huasao. Pero han sido encontradas en menor volumen en los departamentos de Puno, Apurímac y Ayacucho. <sup>(20)</sup>

El Género *Lepechinia* fue descrito por primera vez en el año 1806 por Willdenow tomando así el nombre del botánico Ruso Ivan Ivanovic Lepechin (1737-1802). Epling señaló a los géneros *Algelaguen*, *Stachys*, *Sphacele* y *Astemon* como sinónimos de *Lepechinia*. Actualmente el género comprende treinta y nueve especies, las que ahora fueron acogidas en 8 secciones por Epling y en 2 por Hart. Se encuentran distribuidas en el continente americano y su hábitat es el páramo y sub páramo de altitud entre 3200 – 4500 msnm. <sup>(18)</sup>

*Lepechinia meyenii*, en Tambo Machay, Cuzco a 3700 msnm. En tiempos antiguos esta planta medicinal tendría otro nombre, porque “Salvia” implica un sustituto americano de la planta europea *Salvia officinalis*, lo que significa, que los farmacéuticos-médicos de la conquista, en su afán de encontrar sustitutos a sus agotadas provisiones de plantas medicinales, adoptaron a *L. meyenii* como “Puna salvia” (PACHA SALVIA), su alto contenido en AR (ácido rusmarínico) valida parcialmente este hecho, AU (ácido ursòlico) y AO (ácido oleanólico). <sup>(21)</sup>

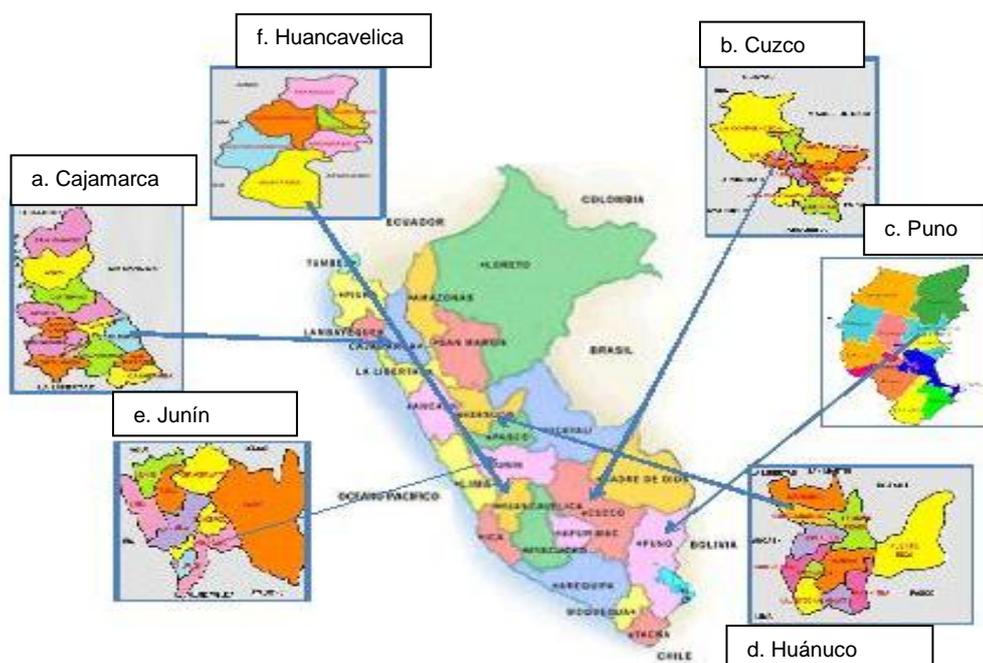


Figura N 4: Localización del Perú de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) en Provincias: a. Cajamarca, distrito Celendín; b. Cusco distrito Quillabamba; c. Puno; distrito San Antonio de Putina; d. Huanuco; distrito Huaycambamba; e. Junín; distrito de Huancayo; f. Huancavelica; distrito de Huaytura.

Fuente Wikipedia.

Salvia Vargas-Llosae es una nueva especie de salvia que apareció en Perú es nacida en la jalca de la Provincia Celendín, Cajamarca en las localidades de Sendamal, Kumulca y Challuayaco, encontrándose por encima de los 3,000 msnm de altitud esto quiere decir que requiere de altitudes elevadas para su desarrollo. Constituyendo poblaciones cortas de la planta. <sup>(22)</sup>

#### 2.2.1.4 Composición química y propiedades de la hoja

En la especie se ha registrado compuestos polifenólicos como el carnosol, diosmetina, ácido cafeico y ácido 2-hidroxicafeico, presentando así efecto antioxidante debido al ácido 2-hidroxicafeico y al carnosol y triterpénicos como el ácido ursólico <sup>(50)</sup>. También se ha apreciado derivados de flavonas como naringenina, derivados de ácido hidroxicinámico como el ácido cumárico y ácido clorogénico,

demostrando así que las hojas de *L. meyenii* presentan efecto antioxidante principalmente.<sup>(21)</sup>

La actividad atribuida a los flavonoides se debe gracias a sus propiedades antiinflamatorias y antioxidantes.<sup>(21)</sup>

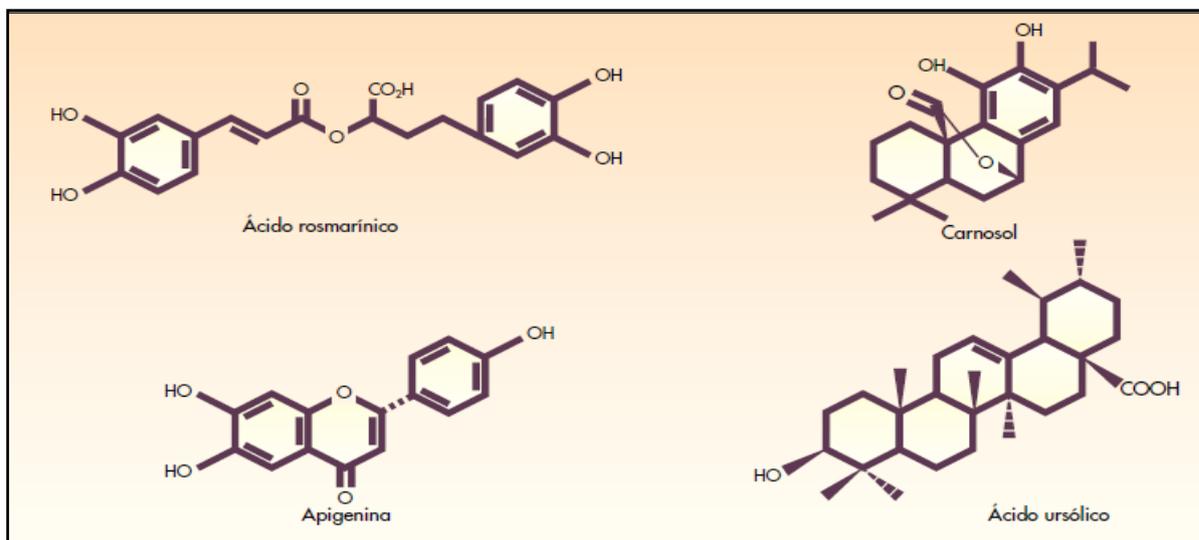


Figura N 5: componentes químicos de *Lepechinia meyenii*.

Fuente: Salvia. Fitoquímica, farmacología y terapéutica, Vol. 16. Núm. 7. Julio 2002. T. Ortega a, M<sup>a</sup> E. Carretero a, Á. M<sup>a</sup> V. Del Fresno; Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia. UCM.

### 2.2.1.5 Efecto farmacológico

En cuanto a los estudios farmacológicos realizados, la especie presenta actividad antibacteriana frente a microorganismos gram positivo (*Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcu sluteus*, *Staphylococcus faecalis*; *Streptococcus beta-hemoliticus*) y también en los gram negativo (*Salmonella enteriitidi*, *Escherichiacoli*, *Shigella flexneri*, *Pseudomona aeruginosa*) y adicionalmente se ha observado su actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Trichophyton mentagrophytes*<sup>(18)</sup>

Las hojas son utilizadas en las siguientes afecciones como el dolor de estómago, como digestivo, para la fiebre tifoidea, reumatismo, ciclo

menstrual, malaria y también ayuda para evitar la tuberculosis. Los pobladores del Callejón de Huaylas, entre Caraz y Huaraz, en la Región de los Libertadores de Wari, lo consumen como infusión la planta entera sola o añadido con culén y orégano blanco para el tratamiento de diarreas, afecciones hepáticas cólicos, y como aperitivo <sup>(18)</sup>

En la medicina ancestral costumbrista son usadas variadas especies de *Lepichinia*, en el caso particular la *Lepechinia meyenii* (Walp.), como emenagogo, antidiabético, abortivo, digestivo, carminativo para el tratamiento de bronquitis, también para tratamiento de tumores uterinos, en el ciclo menstrual, y tratamiento de heridas. Con esto podemos decir que tiene amplias bondades. <sup>(21)</sup>

#### **2.2.1.6 Toxicidad y efectos adversos**

Se ha observado que al administrar prolongadamente el aceite esencial y el extracto alcohólico podrían manifestarse convulsiones epileptiformes. También se ha observado convulsiones seguidas de vómitos e interrumpidas por escenas de obnubilización, hiporreflexia e hipotonía, siendo así más neurotóxico el aceite esencial. En las ratas se ha presentado convulsiones a la dosis de 0,5 g/kg administrados por vía intraperitoneal y llega a ser mortal a 3,2 g/kg. La DL50 estimadas para el aceite esencial son 2,6 g/kg administrados por vía oral en ratas y 5 g/kg vía intradérmica en conejos y cobayos. <sup>(23)</sup>

La toxicidad, es generada por los monoterpenos oxigenados como las tuyonas o también en menor valor al alcanfor, se le concierne a una inactivación del metabolismo oxidativo de las neuronas y/o modulador del canal de cloro coligado a los receptores GABA A y presenta un síndrome parecido al antagonista de picrotoxina. <sup>(24)</sup>

#### **2.2.2. Diabetes**

### 2.2.2.1 Definición

Es una enfermedad crónica que se presenta cuando el páncreas no tiene la capacidad de producir insulina o cuando el organismo no maneja adecuadamente la insulina que se elabora endógenamente. La insulina es una hormona que regula el azúcar en sangre. La presente enfermedad no controlada se manifiesta a través de episodios de hiperglucemia, que con el tiempo daña gravemente varios órganos y sus sistemas, principalmente los nervios y los vasos sanguíneos. <sup>(25)</sup>

Los síntomas que se manifiestan con sed excesiva, hambre, aumento de la respiración, náusea, resequedad en la boca y visión borrosa. <sup>(15)</sup>

### 2.2.2.2 Clasificación

**Tabla N 1: Clasificación de tipos de diabetes**

TIPO DE DIABETES	DEFINICIÓN	SINTOMAS
TIPO 1 (insulino dependiente).	Se manifiesta por una elaboración defectuosa de insulina y requiere la aplicación diaria de esta hormona. <sup>(26)</sup>	Sus síntomas aparecen de manera súbita, consisten principalmente, en excreción excesiva de orina, sed excesiva, hambre constante, pérdida de peso, perturbaciones visuales y cansancio. <sup>(26)</sup>
TIPO 2 (No insulino dependiente).	Se caracteriza por el manejo no eficaz de la insulina. Este tipo de diabetes se manifiesta el 90% de los casos mundiales y se debe habitualmente a la obesidad y a la poca actividad física. Actualmente también se presentan en niños, siendo así un problema mundial, ya no solo exclusivo de personas mayores. <sup>(26)</sup>	Los síntomas pueden ser similares a los de la diabetes de tipo 1, pero a menudo menos intensos y complicados. <sup>(26)</sup>
Diabetes gestacional	Es el estado hiperglucémico que aparece o se manifiesta por primera vez durante el embarazo, quienes lo manifestaron tienen el mayor riesgo de desencadenar hacia la diabetes de tipo 2. <sup>(26)</sup>	Sus síntomas son parecidos a la diabetes de tipo 2, pero se diagnostica en las pruebas prenatales, motivo el paciente presenta síntomas. <sup>(26)</sup>

Fuente: Arnoa A. et al, Criterios y pautas de terapia combinada en la diabetes tipo 2; 17va ed; Barcelona- España; Editorial Andaluza; 2001; p 82-97<sup>(26)</sup>

### **2.2.2.3 Complicaciones**

La diabetes es una enfermedad muy complicada empezando por su génesis y la fisiopatología desencadenada, debido principalmente a la hiperglucemia, la cual genera gran impacto vascular, por sus complicaciones manifestadas, de naturaleza microvascular y macrovascular, lo que le hace peligrosa.<sup>(12)</sup>

#### **2.2.2.3.1 Complicaciones microvasculares**

- Nefropatía es la alteración renal que se producen en el sistema urinario, en los glomérulos y en los túbulos.<sup>(27)</sup>
- Neuropatía es el resultado del daño de los nervios atribuido a acumulados trastornos nerviosos coligados a la diabetes; presentándose en las extremidades, siendo las piernas y los pies las áreas más dañadas, también las afecciones pueden tomar sitio en cualquier órgano, incluso al corazón y el tracto digestivo.<sup>(27)</sup> Estas múltiples causas desarrollan las afecciones propias de la neuropatía diabética, la cual se especifica en neuropatía: periférica, autónoma, proximal y focal, solo diferenciada por las zonas corporales que son afectadas.<sup>(12)</sup>
- Retinopatía diabética, es la causa más particular de la diabetes mellitus, caracterizada por el daño de los vasos del tejido ocular, ocasionando pérdida parcial y total de la visión.<sup>(27)</sup>

#### **2.2.2.3.2 Complicaciones macrovasculares**

- Enfermedad arterial coronaria (EAC): Se manifiesta por endurecerse las arterias que son encargadas de suministrar la sangre hacia el tejido cardíaco. Estas arterias defectuosas no solamente se endurecen, sino que también

se angostan, complicando su función normal de la arteria que es recibir el flujo de sangre. <sup>(30)</sup>

- Enfermedad arterial periférica (EAP): se manifiesta a través de la aterosclerosis afectando varias zonas vasculares, sin dolor. Comparte los factores de riesgo de la EAC, sus mayores factores son el tabaquismo y la diabetes mellitus. <sup>(29)</sup> Sin embargo, al no poder satisfacer el aumento de la demanda circulatoria, aumenta el riesgo de amputación, debido a la vasculopatía que dificulta la cicatrización y el control de la posterior infección, manifestación principal en pacientes diabéticos. <sup>(28)</sup>
- Enfermedad Cerebro Vascular: en pacientes diabéticos es la mayor causa de morbilidad y mortalidad debido a sus condiciones coexistentes de hipertensión arterial y dislipidemia. <sup>(31)</sup>

### 2.2.3. Fármacos Antidiabéticos

#### 2.2.3.1 Hipoglucemiantes orales.

Los hipoglucemiantes orales son un vinculado heterogéneo de drogas que se atribuyen elaborar una disminución en los niveles de glucemia luego de su posterior ingesta, cumpliendo con esta acción gracias a los mecanismos pancreáticos y/o extrapancreáticos. <sup>(32)</sup>

**Tabla N 2: Fármacos antidiabéticos**

FÁRMACOS	MECANISMO DE ACCIÓN	VENTAJAS	INCOVENIENTES	CONTRAINDICACIONES
<u>BIGUANIDAS</u> METFORMINA	Baja la elaboración hepática de la glucosa.	Baja de peso, arregla el perfil lipídico, y ausencia de hipoglucemia.	Hipoglucemias, subida de peso, neuropatía, hepatopatía, e interacciones farmacológicas.	*Insuficiencia renal severa y enfermedad hepática severa. *Insuficiencia cardiaca descompensada y respiratoria. *Alcoholismo y deshidratación. *Utilización de contrastes intravenosos y cirugía mayor.

<u>SULFONILUREAS</u>  GLIBENCLAMIDA GLIPIZIDA GLIMEPIRIDA GLIQUIDONA	Incremento de secreción de insulina pancreática.	Descenso de la glucemia en ayunas y pos-prandiales, son muy usados.	Efectos adversos grasto intestinales, acidosis láctica, insuficiencia renal, tener cuidado en pacientes con insuficiencia hepática, cardiaca o pulmonar.	Insuficiencia renal, excepto el uso de gliquidona que es de eliminación biliar y gliclazida hepática, excepto en el uso glipizida, de eliminación renal. *Alergia a sulfamidas y tiazidas.  *cardiopatía isquémica
<u>INHIBIDORES A LA ALFA GLUCOSIDASA</u>  ASCORBASA MIGLITOL	Baja absorción de glucosa en el intestino.	Ausencia de riesgo de hipoglucemia	Alteraciones gastrointestinales, hepatopatía	No utilizar en hepatopatía severa.
<u>REGULADORES PRANDIALES (METIGLINIDAS)</u>  REPAGLINIDA NATEGLINIDA	Incremento de secreción insulina pancreática.	Inicio de acción rápida, baja la glucemia en ayunas y pos prandiales.	Hepatopatía, aumento de peso	No usar en insuficiencia hepática, ni es aconsejable en insuficiencia renal.
<u>TIAZOLIDINDIONAS</u>  PIOGLITAZONA ROSIPIGLITAZONA	Aumento en el manejo periférico de glucosa.	Descenso de la resistencia a insulina, aumento de uso de glucosa.	Hepatopatía, insuficiencia cardiaca congestiva, aumento de peso, edema	No utilizar: -Insuficiencia cardiaca.  -Hepatopatía  -Osteoporosis  -Estados con tendencia a producir edemas  -Insuficiencia renal.
<u>IDPP-4 (GLIPTINAS)</u>  ALOGLIPTINA LINAGLIPTINA SAXAGLIPTINA SITAGLIPTINA VILDAGLIPTINA	Subida posprandial de incretinas impidiendo la enzima que a su vez no activa las incretinas y estimulan la exudación de insulina en la célula beta e inhabilitan la secreción de glucagón en células alfa pancreáticas.	*Hipoglucemias raras veces, *neutralidad apreciada, *Mecanismo de acción gluco dependiente.	Crecida a desarrollar episodios de pancreatitis.	*Se tiene que ajustarla dosis en personas con insuficiencia renal excepto con el tratamiento linagliptina.  *Chequear constante las enzimas hepáticas en el uso de vildagliptina.  *Evitar vildagliptina en insuficiencia hepática.
<u>ANALOGOS DEL GLP-1</u>  ALBIGLUTIDA DULAGLUTIDA EXENATIDA EXENATIDA LAR LIRAGLUTIDA LIXISENATIDA	Se adhieren a los receptores del GLP1, Incitando la segregación de insulina en las células B e impiden la exudación de glucagón en la células alfa pancreáticas.  Baja la afluencia	Disminución al cuadro de hipoglucemias. *Reducción apreciada.  *Caída flexible de presión arterial.  *Prudente reducción de triglicéridos	*Producen náuseas y vómitos en episodios iniciales, en dosis dependientes.  *Se administra por vía subcutánea  * Crece el riesgo de generar pancreatitis.	*Insuficiencia renal y hepática avanzada.  *Vaciamiento gástrico en la diabetes.

	del vaciamiento gástrico.  Incitan el punto de saturación hipotalámico.		*Se puede presentar subida al riesgo de tumores de células C tiroideas.	
<u>ISGLT-2 (GLIFOZINAS)</u>  DAPAGLIFOZINA CANAGLIFOZINA EMPAGLIFOZINA	Cierran la reabsorción de glucosa por los cotransportadores de sodio-glucosa tipo 2 en el túbulo de la nefrona, ocasionando presencia de glucosa en la orina sin hiperglucemia.	*No provocan hipoglucemias usados de manera separada.  *Producen disminución apreciada gradualmente.  *Baja presión arterial.	Mayor presencia de infecciones genitales y urinarias, en mujeres.  *Riesgos altos de mareos por hipotensión.  *Ligera subida de colesterol total y LDL  *Riesgos altos de cetoacidosis con hiperglucemias mayor a 250 mg.	Escasez renal con filtrado glomerular mayor a 45 ml/min. *Insuficiencia hepática avanzada

(IDPP-4: Inhibidores de la DPP-4; ISGLT-2: Inhibidores de los SGLT-2; FG: Filtrado glomerular).

Fuente: Fármacos antidiabéticos aprobados en España. Junio 2016.  
<http://diabetesmadrid.org>.

## 2.2.4. Fármaco Patrón Empleado en el Ensayo

### 2.2.4.1 Glibenclamida

Pertenece a una clase de medicamento de segunda generación llamados sulfonilureas, es hipoglucemiante oral recetada en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 que no han conseguido la normoglicemia, se caracteriza por la respuesta eficaz terapéutica en la clínica y así como también muchos estudios médicos; desde su primera aparición en 1969.<sup>(33)</sup>

Muestra una favorable absorción administrándolo por vía oral sin diferenciaciones significativas, ni efectos acumulativos si se ingiere junto con los alimentos, muestra un periodo de acción de 24 hrs. mediante un campo de vida media de diez horas. Presentado respuesta en la secreción de Insulina entre un rango de dos a tres horas. Se encuentra unido a proteínas séricas entre un 98 y 99%, siendo su medio de biotransformación hepática elaborando metabolitos

inactivos que son débiles. Segregándose y eliminándose por medio de los metabolitos, el 50% por bilis y el restante 50% por la orina. <sup>(33)</sup>

#### 2.2.4.2 Mecanismo de acción

Incremento de susceptibilidad en las células beta ocasionando hiperglicemia e aumenta la segregación de insulina. Uniéndose a receptores de membrana selectivas de las células beta en los islotes de Langerhans debido a su elevada proximidad a los canales de K<sup>+</sup>. Al aliarse la Glibenclamida a su aceptador se inhibe los canales de K<sup>+</sup> susceptibles al ATP y produce una baja infiltración de la membrana al K<sup>+</sup>. <sup>(33)</sup>

El latente reposo de las células beta se forma por su variable de permeabilidad a los iones K<sup>+</sup>, el descenso de las acciones de los canales K<sup>+</sup> da sitio a la despolarización de la membrana, este descenso diferencial del eventual de la membrana plasmática da lugar a la apertura de los canales de Ca<sup>2+</sup> iónico, que libera la exocitosis mediante la alteración en la actividad enzimática, las gabelas electrostáticas de la membrana y/o traslocación de los gránulos secretores que desencadenan la liberación de insulina, por lo cual la Glibenclamida disminuye los niveles de glucosa en sangre mientras siga su aptitud de coexistencia exógena de segregar insulina. <sup>(33)</sup>



Figura N 6: Mecanismo de Acción de la Glibenclamida. Fuente: DIAB-GLIB

Especialidades Farmacéuticas Ltda. Abril – 2015, Disponible en <http://es.slideshare.net>.

## **2.2.5 Diabetes Inducida**

### **2.2.5.1 Inducción química**

El uso de medios químicos para provocar la diabetes brinda una instrucción detallada de los sucesos bioquímicos y morfológicos que suceden al inicio y final del estado diabético <sup>(34)</sup>. Estas sustancias se caracterizan específicamente por su actividad de depurar las células beta del páncreas y provocando la deficiencia insulínica, otros sobre las células betas pero no las depura. Una tercera condición que aumenta las exigencias endógenas de insulina, debilitando al páncreas y en efecto provoca la diabetes. Este última clase lo crean las hormonas antagonistas de la insulina, anticuerpos anti insulina y determinados agentes quelantes en exclusivo el Zinc <sup>(35)</sup>

Los medios químicos más habituales son el Aloxano y Estreptozotocina como inductor, estos compuestos a dosis de generar diabetes actúan sobre las células betas específicamente.

### **2.2.5.2 Aloxano**

El efecto diabetogénico del Aloxano se explica por presencia de tilos intracelulares, especialmente glutationes, el aloxano genera especies reactivas a oxígeno en un ciclo de reacción de redox, el cual tiene como producto el ácido hialurónico. La autooxidación del ácido hialurónico genera radicales superóxidos, siendo el más importante el radical hidroxilo. Debido a la baja capacidad antioxidante de las células Beta, este radical hidroxilo genera una serie de cambios estructurales en las células pancreáticas lo que conlleva a la muerte celular y la consecuente hiperglicemia <sup>(59)</sup>. La dosis diabetogénica de aloxano en ratas es de 65 mg/kg, pero cuando se administra por vía intraperitoneal (IP), o subcutánea (SC) su dosis efectiva debe ser mayor, por ejemplo, una dosis intraperitoneal por debajo 150 mg/kg puede ser insuficiente para la inducción de la diabetes en esta especie animal. En ratones, las dosis varían entre 100-200 mg / kg por vía intravenosa (IV). <sup>(36)(60)</sup>

## **2.2.6 Extractos Vegetales**

### **2.2.6.1 Definición**

Se determina como el producto líquido adquirido a partir de plantas o parte de ellas que pueden ser hojas, tronco, raíz generalmente a través de varios procesos y solventes. Entre sus variadas elaboraciones galénicas, la tintura madre espagírica (extracto hidroalcohólico en el cual se evidencia todo el poderío de la planta fresca), ofrece y proporciona un elevado nivel cualitativo y cuantitativo para estudio.<sup>(37)</sup>

### **2.2.6.2 Tipos:**

- Extractos fluidos o líquidos
- Extracto semisólido o blando
- Extracto seco
- Crio extracto

## **2.2.7 Extracto hidroalcohólico**

### **2.2.7.1 Definición:**

Los extractos hidroalcohólicos son extractos líquidos concentrados, obtenidos de la extracción de una planta o parte de ella como hoja, tallo, fruto, utilizando como solvente alcohol y agua.<sup>(38)</sup>

### **2.2.7.2. Obtención:**

Se macera colocando la muestra en el solvente y deja unos días; para ello, se usa el material de la planta que se desea extraer, seco y molido que se coloca en un recipiente color ámbar e hermético, se le adiciona agua y alcohol al 70% en una relación 1:1. Se agita y se deja en reposo de 10 a 15 días, moviendo ocasionalmente; cumplido el periodo según la planta y otros medios, se purifica la mezcla; se descarta el desecho y así se obtiene el extracto, se conserva a una temperatura ambiente entre 15 y 20 °C., en un lugar fresco y protegido de luz.<sup>(39)</sup>

Las mezclas alcohol con agua brinda generalmente gran aumento de principios activos encerrado en las plantas. Si solo se trabaja en el extracto con un contenido alcohólico menor al 15% v/v puede malograrse, motivo se genera un medio para el crecimiento de microorganismo. Es debido que por esta característica se suele manejar alcohol para la elaboración de extractos. La USP nos brinda información específica dos procesos puntuales para la elaboración de tinturas: por percolación, designado como proceso “P”, y por maceración como proceso “M”.<sup>(40)</sup>

Mediante la producción de maceración se trata de poner en contacto la droga y el solvente, durante un periodo de días, dando como resultado el equilibrio entre ellos, y depende mucho de los factores que están unidos a la droga, como por modelo, su naturaleza, el dimensión de la partícula, su comprendido de humedad, la abundancia y también factores relacionados al solvente, como modelo, la excelencia y la abundancia. La productividad del extracto se reduce cuando el vínculo droga/solvente crece. Además el incremento de la droga es un medio de acontecimiento, debido a la crecida de la infiltración de la pared celular y la expansión del solvente. La fluidez del equilibrio está en relación al volumen de la partícula de la droga molida, así también el grado de incremento de las células y de la posesión del solvente, como modelo, su viscosidad y su polaridad.<sup>(41)</sup>

## **2.3 Formulación de Hipótesis**

### **2.3.1 Hipótesis general**

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presenta actividad hipoglucemiante en ratas inducidas a hiperglucemia.

### **2.3.2 Hipótesis específicas**

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) contienen clases de metabolitos relacionados con la actividad hipoglucemiante.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presenta actividad hipoglucemiante a diferentes dosis.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presenta actividad hipoglucemiante en comparación a la glibenclamida.

## **2.4 Variables**

### **2.4.1 Variable independiente (V.I).**

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA).

### **2.4.2 Variable dependiente (V.D).**

Actividad hipoglucemiante.

### **2.4.3 Tabla de operacionalización de variables.**

**Tabla N 3: Tabla de operacionalización de variables.**

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA	INSTRUMENTOS
V.I: El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyerii</i> (PACHA SALVIA).	Fitoquímica	Presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, aminoácidos, saponinas, triterpenoides, alcaloides.	Marcha Fitoquímica.	Ficha de observación ad-hoc
V.D: Actividad hipoglucemiante.	Farmacológica  Administración oral de las dosis 250mg/kg; 500mg/kg y 1000mg/kg.	Diferencia de las medidas de glucosa en sangre, en ratas que presentan hiperglucemia.	Glucosa en sangre en mg/ dL	Glucómetro Accu-chek "performa nano"

Fuente: Elaboración propia.

Tabla N 3: Se observa la variables tanto independiente y dependiente, se muestra las dimensiones, sus indicadores, unidad de medida y los instrumentos, respectivamente.

## 2.5 Marco conceptual

- **Ácido ursólico:** es un compuesto natural, que se encuentra presente en varias especies vegetales, principalmente en la familia de las labiadas. Es considerado una especie de fitoquímico con una estructura triterpenoide pentacíclico.
- **Bioterio:** Área de apoyo a los laboratorios del Centro de Diagnóstico de Sanidad Animal, cuenta con infraestructura adecuada para fines de experimentación animal y producción, incluye las áreas de cuarentena de animales, área de animales inoculados y sala de producción exocriados y hamsters que son utilizados en diferentes pruebas del Centro de Diagnóstico. Además cuenta con modernos equipos y condiciones ambientales controladas para la producción de cepas de alta calidad genética y microbiológica.

- Bioterio de experimentación: Destinado solamente para alojar animales durante el tiempo que dure un estudio o una investigación. Se debe tener en cuenta que existan instalaciones con barreras sanitarias establecidas para la protección de las personas así como de los animales, con el equipamiento necesario y los procedimientos normativos operacionales correspondientes para dichos fines.
- Células  $\beta$  pancreáticas: localizadas en el centro del Islote de Langerhans, del páncreas, encargadas de la secreción de insulina, hormona hipoglucemiante.
- Concentración: la cantidad de sustancia presente en un volumen determinado. La concentración es la relación que existe entre la cantidad de una sustancia disuelta y la del disolvente en una disolución.
- Dosis: la dosis del principio activo de un fármaco, referido en unidades de volumen o peso por unidad de toma en función de la presentación, que se dosificara de una vez. También es la cantidad de fármaco efectivo.
- Extracto: Se define como la sustancia que se extrae de otra por varios procedimientos y en forma concentrada, siendo así su característica principal. Se producen especialmente en farmacia.
- Eutanasia: procedimiento humanitario empleado para terminar con la vida de los animales de laboratorio, sin producirles sufrimiento.
- Flavonoides: generalmente se encuentran los metabolitos secundarios presentes en las plantas. Son sintetizados mediante una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través su vía biosintética, cuyo producto es la estructura base que se cicla gracias a una enzima isomerasa.
- Glicemia: es el nivel de glucosa en sangre, el valor normal de la glicemia se sitúa entre 90 a 100 mg/dl en humanos. Asimismo también es el término de referencia al examen bioquímico que mide la glucemia.

- Glucosa: es la principal azúcar que se desplaza en sangre y es la fuente de potencia en el cuerpo para los seres vivos y plantas.
- Hidroalcohólico: formado por una mezcla de agua y alcohol. Se produce a los extractos o tinturas obtenidos de plantas, arrancando primero el agua, dejando evaporar esta y seguidamente depurando el alcohol.
- Hiperglucemia: azúcar o glucosa alta en la sangre. Esta glucosa proviene de los alimentos que uno ingiere.
- Hiperglucemia posprandial: a la glucemia menor a 140 mg/dL, dos horas después de la comida.
- Hipoglucemia: poca glucosa en forma de azúcar en sangre, en el estado agudo se presentan manifestaciones secundarias a descargas adrenérgicas o neuroglucopénicas debido a valores subnormales de glucosa, habitualmente mayor a 60-50 mg/dL.
- Insulina: hormona polipeptídica elaborada por las células beta de los islotes de Langerhans; presenta efectos metabólicos que son anabólicos, favoreciendo así a la síntesis del glucógeno, triacilgliceroles y proteínas.
- Maceración: es una serie de extracción sólido y líquido. El producto sólido cuenta con una fase de compuestos solubles en el líquido extractante.
- Metabolito secundario: son los compuestos químicos condensados por las plantas que desempeñan medios no esenciales en ellas, de forma que su partida no es mortal para el organismo, al opuesto que los metabolitos primarios interponen en las variaciones ecológicas entre la planta y su medio.
- Páncreas: glándula de secreción, recubierta por una delgada capsula de tejido conectivo, de la que parten en profundidad septos o tabiques que contiene los vasos de irrigación, los colectores de secreción exocrina y fibras nerviosas. Esta glándula cumple una doble función tanto exocrina

(secreción de enzimas digestivas) y endocrina (secreción de insulina y glucagón).

- Solubilidad: indica el hecho de que una sustancia se puede disolver, es la capacidad con la que cuenta cierta sustancia para disolverse en otra.
- Screening fitoquímico (tamizaje fitoquímico): se usa inicialmente en la investigación fitoquímica, brindando una orientación clara de la extracción y división de los extractos para la separación de los grupos de gran interés cualitativamente a través de los principales medios químicos presentes en una planta. Consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacción de color y precipitación.

## CAPITULO III METODOLOGÍA

### 3.1 Tipo de estudio y diseño de investigación.

#### 3.1.1 Tipo de estudio

De acuerdo a las características y al alcance de los resultados, es un estudio de tipo:

##### 3.1.1.1 Según el nivel de conocimiento científico:

- **Experimental.**

##### 3.1.1.2 Según la ubicación temporal:

- **Transversal:** Debido a que el estudio se realizó en un determinado tiempo, ya que las variables fueron observadas, después de transcurrir un periodo empírico de 28 días de haber realizado el tratamiento.

##### 3.1.1.3 Según la planificación de toma de datos:

- **Prospectivo:** ya que la recolección de datos se realizara de acuerdo a la ocurrencia de los hechos.

#### 3.1.2 Diseño del estudio

- **Experimental *in vivo*:** Debido a que se trabajó con grupos controles, para nuestro caso grupo control positivo y control negativo, se manipulo la variable independiente, la elección de la muestra fue de tipo probabilístico, para la determinación de la actividad hipoglucemiante.

### 3.2 Población y Muestra

- La población del estudio fitoquímico fueron arbustos de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) dentro de 20 m<sup>2</sup> del distrito de Pucará, en la provincia de Huancayo, departamento de Junín a una latitud de -12,1675, altitud 3362 msnm, coordenadas geográficas 12<sup>0</sup>10'20"S 75<sup>0</sup>08'50" O. y la muestra son 2 kg de hojas frescas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA).

- La población del estudio farmacológico fueron una camada de 200 ratas albinas (*Rattus novergicus*), y la muestra se utilizó 45 ratas albinas (*Rattus novergicus*) de la cepa Holtzman machos de 220-240 g de peso y 2 meses y medio de edad en buen estado de salud; adquiridas en la Universidad Cayetano Heredia.(Anexo N 25 )

Tabla N 4: Criterios de inclusión y exclusión

Inclusión	Exclusión
Ratas machos	Ratas hembras
Ratas de edad dos meses y medio	Ratas de edad de un mes y mayor a tres meses de edad
Peso de ratas entre 220 y 240	Peso de ratas entre 250 a mas
Hojas recolectadas en Pucará	Hojas de todo Huancayo
Hojas enteras	Hojas deterioradas

Fuente: Elaboración propia.

El tamaño de la muestra se calculó a nivel de confianza y el margen de error son 95% y 5%, respectivamente. La selección de la muestra fue probabilística. (Anexo N 28)

### 3.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

#### 3.3.1 Técnicas

Las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) fueron adquiridas en el distrito de Pucara, provincia de Huancayo. (Ubicado a 3362 msnm) con la ayuda de un poblador que conoce la ubicación de esta planta.

El transporte de las hojas desde el lugar que se adquirió, hacia el laboratorio de química orgánica de la UIGV, se realizó, en bolsas de papel limpios para evitar la contaminación y asegurar la ventilación, evitando la putrefacción.

Determinación de la muestra fitoquímica.

- Evaluación macroscópica
- Pruebas de solubilidad
- Marcha Fitoquímica.

### **3.3.2 Instrumentos de recolección de datos**

Ficha de recolección de datos

- a.- para la prueba de solubilidad
- b.- para el rendimiento y tamizaje fitoquímico
- c.- para la actividad hipoglucemiante.

## **3.4 Equipos, Materiales y Reactivos.**

### **3.4.1 Equipos**

Para el trabajo se utilizaron los siguientes equipos:

- Balanza Gramera.- para el pesado de las ratas albinas.
- Balanza Analítica.- para el pesado del estándar de Quercetina.
- Rotavapor.- para concentrar la muestra de PACHA SALVIA
- Estufa.- para la obtención del extracto seco de la PACHA SALVIA.
- Plancha de calentamiento.- para evaporar el solvente de la placa cromatografica.
- Luz UV 254 y 366nm.
- Glucómetro Accu-Chek® Performa Nano para las mediciones de glucosa en las ratas.

### **3.4.2 Materiales**

Para la realización del trabajo se utilizaron los siguientes materiales:

Material estéril de Laboratorio

- Papel Kraft
- Mortero y pilón
- Matraz Erlenmeyer
- Embudo de vidrio

- Papel filtro
- Tubos de ensayo
- Pipetas
- Fiolas de 50 mL
- Peras de Bromo de 250 mL
- Estándar de quercetina
- Estándar de cafeína
- Material quirúrgico
- Jaulas de polietileno
- Tiras reactivas para la medición de la glucosa.
- Sonda nasogástrica
- Jeringa de tuberculina
- Frasco Ámbar 1 L con boca ancha.

### **3.4.3 Reactivos**

Para la realización del trabajo se utilizaron los siguientes reactivos:

- Mayer
- Wagner
- Dragendorff
- ácido Fosfowolframio
- Sonneschein
- Reineckato de amonio
- Shinoda (magnesio + ácido clorhídrico concentrado)
- Cloruro Férrico
- Reactivo de gelatina al 1%
- Hidróxido de sodio al 5% (Reacción de Bortranger)
- Ninhidrina
- Lugol
- Fehling A
- Fehling B
- Alcohol de 70°C
- Metanol

- Etanol
- Cloroformo
- Agua destilada
- Isopropanol
- Butanol
- Dicloro metano
- Éter de petróleo
- Acetona
- Reactivo de Tricloruro de Aluminio al 2%
- Reactivo Metanol : Agua (25:75)
- Reactivo BAW (Butanol : Agua : AAG) (4:3:1)
- Ácido sulfúrico 2 N
- Hidróxido de sodio al 10%
- Reactivo Libermann-Burchard.

### **3.5 Procedimiento experimental**

El procedimiento experimental para el siguiente trabajo consta de dos partes, una parte Fitoquímica en donde se trabajó las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) para obtener un extracto hidroalcohólico que nos sirvió para las pruebas de solubilidad, tamizaje fitoquímico y cromatografía en capa fina.

La segunda parte Farmacológica donde se pudo evidenciar el posible actividad hipoglucemiante de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) en ratas albinas cepa Holtzman mediante la medición de glucosa por el método de sangrado del seno venoso orbital.

#### **3.5.1 Recolección y procesamiento pos cosecha.**

##### **3.5.1.1 Secado de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)**

Se procedió a separar las hojas con cuidado y recolectarlas en papel Kraft, para luego colocarlo a la estufa a una temperatura de 40 °C; se

utilizó esta temperatura para no alterar los metabolitos que queremos evaluar.

### **3.5.1.2 Extracción Hidroalcohólica de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)**

Una vez ya seca las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) son molidas manualmente, y pesada dando 300 gr. en la balanza analítica con apropiada asepsia. Vertemos 1000 mL de alcohol etílico de 70° a la muestra, se coloca en un frasco de vidrio color ámbar y se macera por dos semanas con agitación constante y protegidos de la luz para no alterar los metabolitos.

Después del tiempo transcurrido la muestra *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) es filtrada dos veces con papel Whattman Nro 40, para no dejar pasar las hojas y si solo el líquido para nuestros análisis posteriores.

### **3.5.1.3 Extracto Seco de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)**

Para el procedimiento del extracto seco se lleva el extracto filtrado al rotavapor, equipo que es utilizado para la evaporación del solvente; este equipo consta de una vasija de calentamiento donde ponemos el agua destilada, un brazo que sujeta el balón donde es depositada la muestra y al otro extremo un refrigerante que tiene una terminación para el recojo del alcohol en la muestra. Este trabajo es a una temperatura controlada que no debe de exceder los 50° C, después de 1 día la muestra es llevada a la estufa a 40° C para obtener el extracto seco en forma de melcocha.

La muestra es recolectada en envase protegido de la luz y guardada a temperatura de 2 a 8 °C hasta su utilización para las prueba fitoquímicas ( Anexo N 3;4; 5) y farmacológicas ( Anexo N 29) .

### **3.5.2 Prueba de Solubilidad**

Para esta prueba de Solubilidad sacamos de refrigeración el extracto seco y tomamos poca cantidad de muestra, lo colocamos en seis (06) tubos de ensayo; vertiendo de 3 a 5 ml los solventes como (Agua, Cloroformo, Etanol, Metanol, butanol, acetona, dicloro metano, éter de petróleo y isopropanol) este ensayo nos brinda si los solventes son solubles a la muestra.

Tenemos que tener en cuenta la Polaridad del disolvente ya que esta propiedad brinda información de solubilización en diferentes solutos.

### **3.5.3 Screening fitoquímico o marcha fitoquímica**

Estos ensayos se pueden verificar sobre la muestra; en forma entera, pulverizada o como es más frecuente en extractos que se pudieron obtener de diferentes procedimientos de extracción de la planta y con diferentes solventes.

Son de tipo cualitativo que permiten la identificación de la droga a ensayar, es por lo general la presencia de determinados compuestos específicos derivados del metabolismo secundario de la planta.

También para los ensayos de metabolitos secundarios se les hace prueba pero van a hacer comunes a todas las plantas es por eso que carece de interés de diagnóstico.

Las pruebas para el screening fitoquímico comprenden reacciones de identificación (coloreadas, de precipitación, fluorescencia, micro sublimación).

El procedimiento es poner de 2 a 5mL del extracto de la *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) en los tubos de ensayo para luego agregar de tres (03) a cinco (5) gotas de los reactivos para la identificación de los metabolitos.

**Tabla N 5: Identificación de los metabolitos.**

METABOLITOS PRUEBAS	REACTIVO	COMPRESIÓN DEL ENSAYO
ALCALOIDES	WAGNER	Constituido por yodo-yoduro de potasio, se observa una tonalidad marrón cuando se añade de 3 a 5 gotas.
	MAYER	Conformado por Yoduro de mercurio y potasio, se observa una tonalidad blanca a crema cuando se añade unas 3 a 5 gotas al medio acidulada del extracto
	DRAGENDORFF	Constituido por Yoduro de bismuto y potasio, se observa una tonalidad rojo a naranja cuando se añade unas 3 a 5 gotas al medio acidulada del extracto.
	REINECKATO DE AMONIO	Conformada por $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]2\text{H}_2\text{O}$ , se observa un sedimento de partículas coloides de color rosa cuando se añade de 3 a 5 gotas.
FLAVONOIDES	SHINODA	Conformada por limaduras de magnesio más HCl concentrado, brinda las tonalidad amarillas a rojas (flavonas y flavonoles), diferenciándose entre sí, si la coloración es rojo a magenta (flavanonoles), si son tonalidades rojo, violeta o azul (flavanonas), si son amarillos (isoflavonas), si esta no presenta tonalidad pueden ser isoflavononas, chalconas y auronas.
COMPUESTOS FENOLICOS	CLORURO FERRICO	Conformado por Cloruro férrico diluido en agua, brinda tonalidad azul, verde o negra cuando se añade de 3 a 5 gotas.
TANINOS	DE GELATINA AL 1%	Conformado con Gelatina más cloruro de sodio, da un sedimentado blanco cuando se añade de 3 a 5 gotas.
NAFTANONAS, ANTRAQUININOS Y ANTRANONAS	HIDROXIDO DE SODIO AL 5%( REACCION DE BORTRANGER)	Se observa una coloración roja al añadir de 3 a 5 gotas.
TRITERPENOIDES	LIBERMANN-BURCHARD	Al material de estudio se le añadió 3 gotas de OHAc más 3 ml $\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4$ (50:1), manifestando una coloración rojo a rosado purpura.
SAPONINAS	ESPUMA PERSISTENTE	Agua destilada en agitación constante con la muestra.
GLÚCIDOS	REACTIVO FEHLING A Y B	Al material de estudio se le añade 5 mL de Fehling A y B y se lleva a baño maría, manifestando un sedimento anaranjado ladrillo nos demuestra reacción positiva.
ALMIDÓN	LUGOL	Al material de estudio se le añade 3 gotas de Lugol se manifiesta a tonalidad oscura nos da la reacción positiva.
CETONAS	REACTIVO DE 2,4 DINITROFENILHIDRAZINA (DNPH)	A la muestra se le añade 1 gotas de DNPH si presenta un precipitado amarillo o naranja rojizo nos da la presencia de cetonas en la muestra.
AMINOÁCIDOS	NINHIDRINA	Se le agrega de 3 a 5 gotas a la muestra e inmediatamente es llevada a calentar, la presencia de una coloración rosada medio lila es positiva para aminoácidos.

Fuente: Libro de investigación fitoquímica de Olga Lock

### 3.5.4 Prueba cromatografía en capa fina

Es una técnica utilizada en la actualidad permite la separación de la unión con interés natural.

Su principal ventaja es la versatilidad, velocidad y sensibilidad, al referirnos a la versatilidad nos referimos al empleo de una variedad de adsorbentes, como la Silicagel que se usa generalmente.

Su velocidad es debida a la naturaleza compacta entre la muestra problema y el estándar cuando este absorbe y capta la sensibilidad del medio, se pueden separar cantidades del orden en microgramos.

La evaluación de los principios aislados habitualmente se elabora por medios específicos, la luz UV permite hallar sustancias que captan la longitud de onda alta 365 nm y de onda baja a 254 nm.

Flujograma del ensayo experimental, recolección e identificación de la planta, y la elaboración del extracto hidroalcohólico.

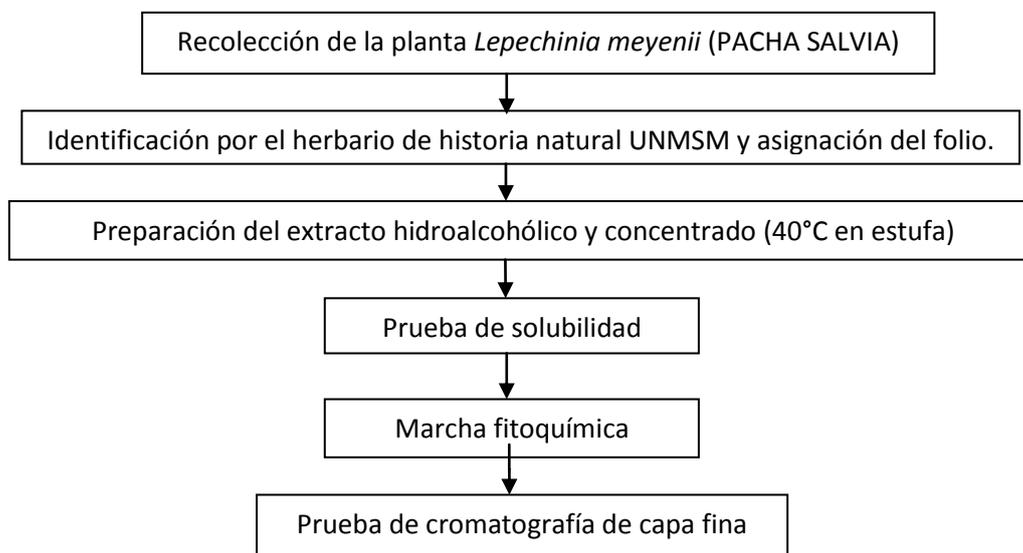


Figura N 7: Flujograma del ensayo experimental, recolección e identificación de la planta, y la elaboración del extracto hidroalcohólico. Fuente: Elaboración propia.

### **A.- Cromatografía en capa fina con revelador para alcaloides.**

Para el ensayo de cromatografía se empleó placa cromatográfica de la marca Merck (TLC Silicagel F<sub>254</sub>) como medio estacionario, para la fase solvente de elución se usó Metanol: Agua en proporción de (25:75) puntualmente, y se inocularon con una jeringa en  $\mu\text{l}$  de la muestra.

Para examinar se empleó el estándar de cafeína en concentraciones de 10 mg/ mL de metanol. Se inocularon 5  $\mu\text{l}$ , caso parecido ocurrió con la muestra.

Una vez contenida la placa cromatográfica las dos inyecciones es sumergida en la fase móvil, donde procederá a la separación de los metabolitos por absorción y polaridad, culminada la elución del activo se saca la placa cromatográfica y se evapora el solvente en una plancha de calentamiento, luego se visualiza las máculas de corrida en la luz UV 254 nm.

Para determinar los alcaloides en la muestra se rocía ácido sulfúrico a 2 % y seguido el reactivo de Dragendorff, como revelador, si se observa manchas naranjas es positiva la identificación.

### **B.- Cromatografía en capa fina con revelador para flavonoides.**

Para el ensayo de cromatografía en capa fina de alcaloides se utilizó la placa cromatográfica de la marca Merck (TLC Silica gel F<sub>254</sub>) como medio estacionario, para el solvente de elución fue BAW (Butanol – Agua - Ácido acético glacial) en proporción de (20:15:5), esta mezcla se colocó en una pera de bromo de 250 mL y se sacudió, observando la presencia de dos fases, el móvil que es menos densa. Además se utilizó una jeringa en  $\mu\text{l}$  para la inyección.

Para la evaluación se usó un estándar de Quercetina® en concentración de 10 mg/ mL de metanol el cual se inoculo 5 µl a la placa cromatográfica, caso igual con la muestra.

Finalizada la corrida, luego es secado mediante la plancha de calentamiento, hasta evaporar el solvente, se observa las máculas en la luz UV a 254 nm, y se usa como revelador el tricloruro de aluminio, si se manifiesta máculas amarillas, quiere decirnos muestra positiva.

### **3.5.5. Prueba de toxicidad aguda oral**

Se determinó la toxicidad aguda por vía oral en ratas, según Guía OECD – Test 423 (Método de Clases) y la evaluación de la Actividad hipoglucemiante por vía oral del extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) mediante la técnica citada en el manual del Cytel y del modelo *in vivo*, del modelo citado: Antidiabetic activity of Paspalum scrobiculatum Linn. in alloxan induced diabetic rats Journal of Ethnopharmacology, Volumen 127, Issue 2, 3 February 2010, Pages 325-328 <sup>(51)</sup>

#### **Animales de experimentación:**

Fueron usadas ratas albinas machos de cepa Holtzman con 8 a 10 semanas de edad de un peso promedio de 220 - 240 g +/- 20g.; originadas del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El proceso de cuarentena para la aclimatación a las condiciones ambientales (30°temperatura y menor a 80% de humedad), y conductuales fue de cinco días.

El total de animales para todo el ensayo fueron distribuidos de la siguiente forma: Un grupo de 3 ratas con una repetición y un control (total 9, 3 de cada grupo), para la prueba de toxicidad aguda oral y otros 6 grupos de 6 animales por cada tratamiento, con un grupo control positivo y uno control negativo, ratas normales (sin inducción), para el ensayo farmacológico.

#### **Evaluación de la Toxicidad Aguda Oral - Método de clases (DL50):**

Se evaluó la Toxicidad aguda oral del extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA), que fue administrado oralmente de acuerdo con la guía OECD Test 423<sup>(42)</sup>, mediante el uso de una sonda nasogástrica 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 en condiciones adecuadas.

La prueba incluyó un tratamiento del extracto hidroalcohólico con una sobrecarga de 2000 mg/Kg de peso corporal. El volumen de administración de la muestra diluida en agua destilada es de 1 ml, al grupo control se le administró agua destilada, solo para comparar con el grupo de sobrecarga del extracto. La mortalidad fue visualizada diariamente hasta los 14 días.

Después de la ingesta de dosis, se elaboró un rastreo 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 realiza registros de peso corporal a los animales de experimentación, para evaluar si hay alteración de aumento o pérdida.

Las evaluaciones y valores de concentración ensayados son explicados en la siguiente tabla:

**Tabla N 6: Tratamientos de experimentación con *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) por peso promedio.**

Dosis(mg / Kg rata)	N° de animales	Peso promedio por grupos(g)
2000	3	224.70
2000 (repetición)	3	226.82
Control	3	222.50

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla N 6: Se observa la dosis y número de ratas con su peso para la Prueba de Toxicidad Aguda Oral.

### 3.5.6 Evaluación de la actividad hipoglucemiante

El ensayo involucro seis grupos de experimentación.

Las evaluaciones y valores de concentración ensayados son detallados en la siguiente tabla:

**Tabla N 7: Dosis de experimentación con *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)**

<b>Grupo</b>	<b>Animales</b>	<b>Dosis</b>
Control negativo	6	0
Hiperglucémicas 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.

En la Tabla N 7 : Se observa el tratamiento experimental con la glibenclamida (control positivo) y *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA), lo cual también se observa la distribución por cada grupo experimental en número de ratas.

#### **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, motivo que se encuentren en ayunas y no haya ninguna alteración que pueda manifestarse por su alimentación. Los animales fueron mantenidos en jaulas de polietileno con tapas de acero inoxidable que aloja el agua y alimento y distribuidos al azar, porque el trabajo según el diseño es aleatorio, seis ratas, en cada grupo.

### **Administración del extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) como tratamiento:**

La dosificación del extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA). Se realizó por vía oral mediante sonda nasogástrica. Se administró un volumen de 1mL del extracto diluido en agua destilada en sus diferentes concentraciones a todos los animales inducidos con diabetes. El suministro de alimento se restableció cuatro horas después de la dosificación. El acceso al agua y alimento fue en condiciones adecuadas, de temperatura, humedad y fotoperiodo (12 horas de luz y 12 horas de oscuridad).

### **Inducción de diabetes experimental por Aloxano monohidratado:**

El inductor Aloxano® fue administrado por vía intraperitoneal en un volumen de administración de 1ml, en función de la dosis de 60 mg/kg de peso corporal, disuelto en solución 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 basal. Se determinaron glicemias mayores a 200 mg/dl de glucosa, consideradas como una diabetes química positiva. Todos los animales ensayados alcanzaron y superaron este valor. <sup>(55)(57)(61)</sup>

### **Glibenclamida**

La glibenclamida fue administrada por vía oral, por tanto, el volumen de administración máximo fue de 1ml, en función de la dosis de 40 mg/kg de peso corporal, hasta los 28 días de experimentación.

Con la finalidad de comparar el grupo de ratas hiperglucémicas tratadas con glibenclamida como mis tres grupos de ratas hiperglucémicas tratadas con el extracto de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA). En el grupo de ratas hiperglucémicas administradas glibenclamida como tratamiento las definimos para nuestro proyecto como control positivo.

### **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. Técnica citada en el Manual de CEEA. <sup>(58)</sup>

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. <sup>(57)</sup>

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.

Se tomó las muestras en un periodo tiempo de días el cual en nuestro proyecto fueron 0, 7, 14, 21 y 28 días (Tabla N 11).

También se realizó el comportamiento de la curva de hiperglucemia en los grupos, se tomó para ello los promedios de los valores solo del día 28, el cual fue el último día de la experimentación (Figura N 7) y (Figura N 8).

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

Se utilizaron 36 ratas machos, cuales se dividieron en 6 grupos; como indica la Tabla N 6.

El motivo porque se prefirió las ratas de sexo macho en nuestro proyecto fue para evitar un falso positivo ya que las hembras podrían ocasionarlo debido que tienen periodo de ovulación.

Las ratas duraron 28 días con diabetes ya que estaban con tratamientos.

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

### **Estimación de glucosa sérica**

- **Evaluación de la glicemia**

**Día 0:** Semana de pre-tratamiento, se midió glucosa basal de los animales de experimentación.

**Día 7:** Semana 1 Post inducción con Aloxano, 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 hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) en las tres concentraciones y se administró glibenclamida al grupo control positivo.

**Día 14:** Semana 2 Post inducción con Aloxano. Se continuó con el tratamiento con extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) y se midió la glucosa de todos los animales de experimentación. Se continuó con la administración de glibenclamida al control positivo, para tener una comparación con el extracto, para ver si tiene actividad hipoglucemiante.

**Día 21:** Semana 3. Post inducción con Aloxano. Penúltima semana de tratamiento con extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) 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. Post inducción con Aloxano. Última semana de tratamiento con extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) y se realizó la última medición de glucosa de todos los animales de experimentación.

## Condiciones de Ensayo:

Las condiciones de temperatura, humedad y fotoperiodo en el tiempo de experimentación se registraron en los siguientes parametros:

Temperatura (°C): 22 + 2°C;

Humedad (%) :< 70 %;

Luz, Oscuridad: 12 L: 12 O.

El consumo de agua y alimento en condiciones adecuadas.

— Flujograma del ensayo experimental, Ensayo farmacológico hipoglucemiante.

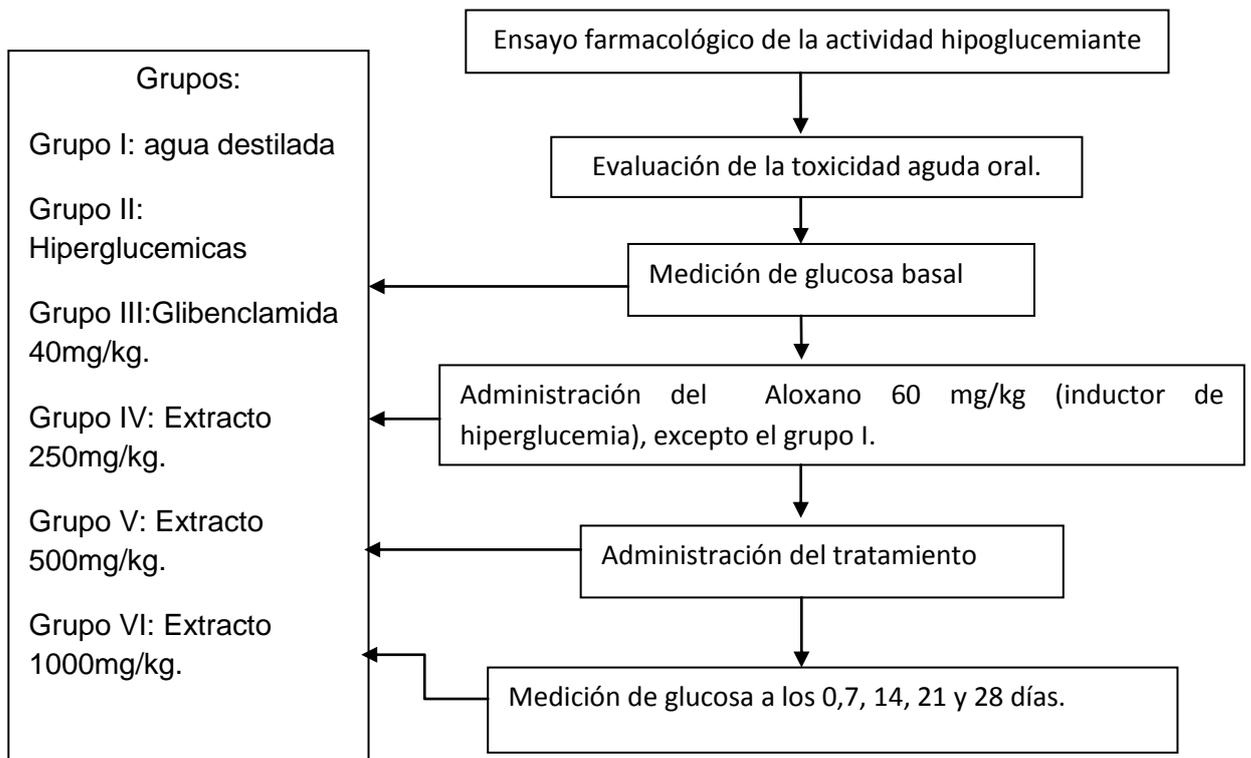


Figura N 8: Flujograma del ensayo experimental, Ensayo farmacológico hipoglucemiante. Fuente: Elaboración propia.

### **3.5.7 Procesamiento de datos**

El análisis estadístico se realizará con Software Microsoft Excel 2016. Se utilizará la prueba de test de comparación múltiple (Test de Tukey) ANOVA para determinar existen diferencias significativas entre los datos los cuales son los tratamientos.

- **Análisis estadístico:**

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

## CAPÍTULO IV RESULTADOS

### 4.1 Presentación de resultados

#### 4.1.1 Ensayo de solubilidad

Los resultados fueron los siguientes:

**Tabla N 8: Prueba de solubilidad**

<b>PRUEBA DE SOLUBILIDAD</b>		
Solventes 3ml	Extracto seco 3ml	Resultado de Solubilidad
Éter Petróleo	Extracto seco en tubos de ensayo	(-)
Cloroformo		(-)
Dicloro Metano		(-)
Acetona		(++)
Butanol		(-)
Isopropanol		(-)
Etanol		(+++)
Metanol		(+++)
Agua		(+++)

Fuente: Elaboracion propia.

Dónde:

(-) Insoluble

(+) Poco soluble

(++) Soluble

(+++) Muy soluble

En la Tabla N°8: Se observa que el extracto hidroalcoholico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) es muy soluble en etanol, metanol y agua, en acetona es soluble, en éter de petróleo, cloroformo, dicloro metano, butanol y isopropanol son insolubles.

#### 4.1.2 Marcha Fitoquímica

Los resultados fueron los siguientes:

**Tabla N 9: Identificación de metabolitos primarios**

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS PRIMARIOS			
Metabolitos Primarios	Reactivo de identificación	Reacción positiva	Resultado
Glúcidos	Fehling A y B	Precipitado anaranjado ladrillo	(++)
Almidón	Lugol	Tonalidad oscura	(+)
Cetonas	2,4 DNPH	Tonalidad rojizo	(+)
Aminoácidos	Ninhidrina	Tonalidad oscuro violácea	(+++)

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla N 9: Se observa la presencia de aminoácidos es total, en glucidos es moderada y tanto almidones como cetonas es leve.

**Tabla N 10: Identificación de metabolitos secundarios**

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS			
Metabolitos secundarios	Reactivo de identificación	Reacción positiva	Resultado
Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco	(++)
	Wagner	Precipitado marrón	(++)
	Dragendorff	Precipitado rojo o naranja	(+++)
	Reineckato de amonio	Tono rosa	(+)
Flavonoides	Shinoda	Tono rojo	(++)
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	Tono verde	(+++)
Taninos	Gelatina al 1%	Precipitado blanco	(-)
Naftaquinonas,	Reacción de	Tono rojo	

antraquinonas, y antranonas.	Bortranger		(-)
Saponinas	Espuma	Espuma persistente	(+++)
Triterpenoides	Reacción Libermann-Burchard	Tono rojo purpura	(+++)

Fuente: Elaboracion propia.

En la Tabla N 10: Se observa la presencia de alcaloides, compuestos fenolicos, saponinas y triterpenoides, es moderada y total. Con respecto a los flavonoides es moderada .

Dónde:

- (-) La coloración o precipitado no se evidencia
- (+) La coloración o precipitado es leve
- (++) La coloración o precipitado es moderado
- (+++) La coloración o precipitado es total

#### 4.1.3 Cromatografía de capa fina

##### 4.1.3.1 Cromatografía de capa fina con revelador para alcaloides

Las muestras en análisis de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) dio positivo para alcaloides, con el revelador Dragendorff, se observo en la luz a 254 nm manchas naranjas, cabe decir que es una confirmación de la marcha fitoquímica. (Anexo N 3)(Figura N 20 )

Rf muestra: 0.90

Rf estándar cafeína: 0.74

##### 4.1.3.2 Cromatografía de capa fina con revelador para flavonoides

Las muestras en análisis de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) dio positivo para flavonoides, con el revelador tricloruro de aluminio, se observo en la luz UV a 254 nm, máculas amarillas, cabe decir que es una confirmación de la marcha fitoquímica. (Anexo N 3)(Figura N 19)

Rf muestra: 0.80

Rf estándar quercetina: 0.68

#### 4.1.4 Toxicidad Aguda Oral:

El extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) 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 hidroalcohólico es mayor a 5000 mg de producto/Kg de peso corporal (> 5,0 g/Kg).

**Tabla N 11: Resultados de la Toxicidad Aguda Oral**

<b>Dosis(mg/Kg rata)</b>	<b>Mortalidad Machos Muertos/Total</b>
2000	0/3
2000 (repetición)	0/3
Control	0/3

Fuente:Elaboracion propia.

En la Tabla N 11: Se observa los resultados de la Toxicidad Aguda Oral que no hubo ningún animal muerto por intoxicación de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA).

#### 4.1.4 Actividad hipoglucemiante

De acuerdo con los resultados obtenidos la muestra analizada del extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presenta actividad hipoglucemiante en el modelo estudiado, a las dosis de 250, 500 y 1000 mg de muestra/Kg de peso corporal. Estos resultados son significativos en comparación con el control y a las dosis ensayadas.

Para evaluar la actividad hipoglucemiante sobre los diferentes tratamientos con niveles de significancia del 95% ( $p < 0.05$ ) por un test de ANOVA y luego por uno de comparación múltiple (Test de Tukey-Kramer) (Anexo N 23,24) para determinar si existen diferencias significativas. Tabla N 12.

Los valores de glucosa sérica de cada uno de los grupos fueron registrados semanalmente y la variación de la glicemia (expresado en porcentaje) fue reportado, en la Tabla N 12 y Grafico N 7.

Los datos son mostrados en la siguiente tabla:

**Tabla N 12: Glucosa sérica de la actividad hipoglucemiante**

Glucosa sérica (mg/dl)							
Grupo/Dosis	Basal	Día 0	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28	Nivel de significancia
Control negativo	90.83 ± 4.22	105.5 ± 3.1	104.5 ± 6.21	105.17 ± 4.18	105.5 ± 4.35	105.50 ± 4.76	----
Hiperglicemicas s/t	89 ± 3.69	463.33 ± 42.29	480.33 ± 39.83	498.5 ± 38.89	513.17 ± 33.44	528 ± 31.21	----
Glibenclamida 40 mg/kg	90 ± 2.76	472.83 ± 38.56	304.67 ± 58.48	154 ± 8.85	112.5 ± 6.95	92.67 ± 2.94	* p < 0.05
250 mg/kg	90.83 ± 3.13	461.33 ± 48.22	347.83 ± 23.50	285 ± 29.97	227.17 ± 25.15	193 ± 16.10	*p <0.05
500 mg/kg	94.83 ± 4.52	502.17 ± 40.77	321.17 ± 22.92	271.17 ± 15.06	212.33 ± 6.10	188.33 ± 12.04	* p < 0.05
1000 mg/kg	92.67 ± 6.77	493 ± 15.44	295.33 ± 35.88	217.83 ± 8.68	154.33 ± 15.15	109.83 ± 6.15	* p < 0.05

Fuente: elaboración propia.

\* p < 0.05= Existen diferencias significativas con respecto al control (ratas hiperglicemicas), según el test de Tukey-Kramer; ±DS (desviación estándar).

De acuerdo con el porcentaje de actividad hipoglucemiante, se encontró los sgte valores tomados del último día de tratamiento día 28 del promedio de cada grupo de tratamiento: Glibenclamida: 82.45 %, 250 mg/kg: 62.88%, 500 mg/kg: 64.33% y 1000 mg/kg: 79.20%. Ver Gráfico N 9.

También con los valores tomados de la glucosa sérica (mg/dL) el día 28, el último día de los tratamientos, teniendo como datos el valor promedio y la desviación estándar de cada grupo. Ver Gráfico N 10.

**Grafico del % de actividad hipoglucemiante de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)**

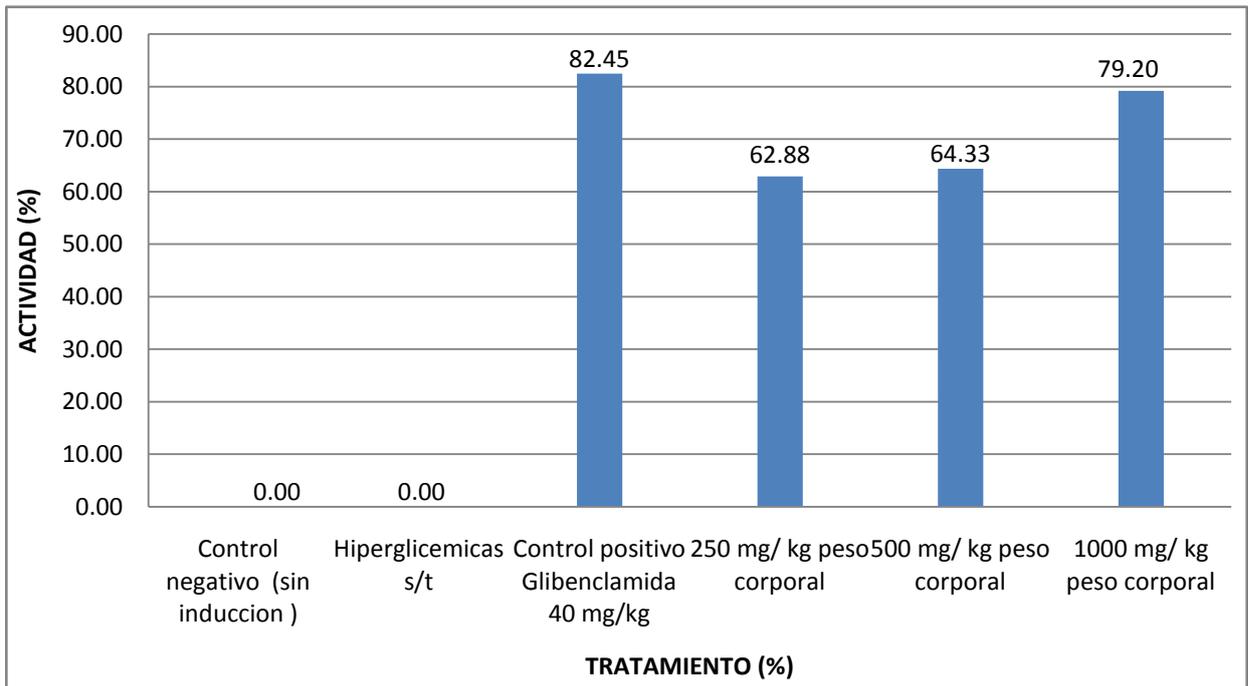


Figura N 9: Grafico de barras de la actividad hipoglucemiante, Análisis estadístico en % con respecto a las hiperglicemicas.

Fuente: Elaboracion propia.

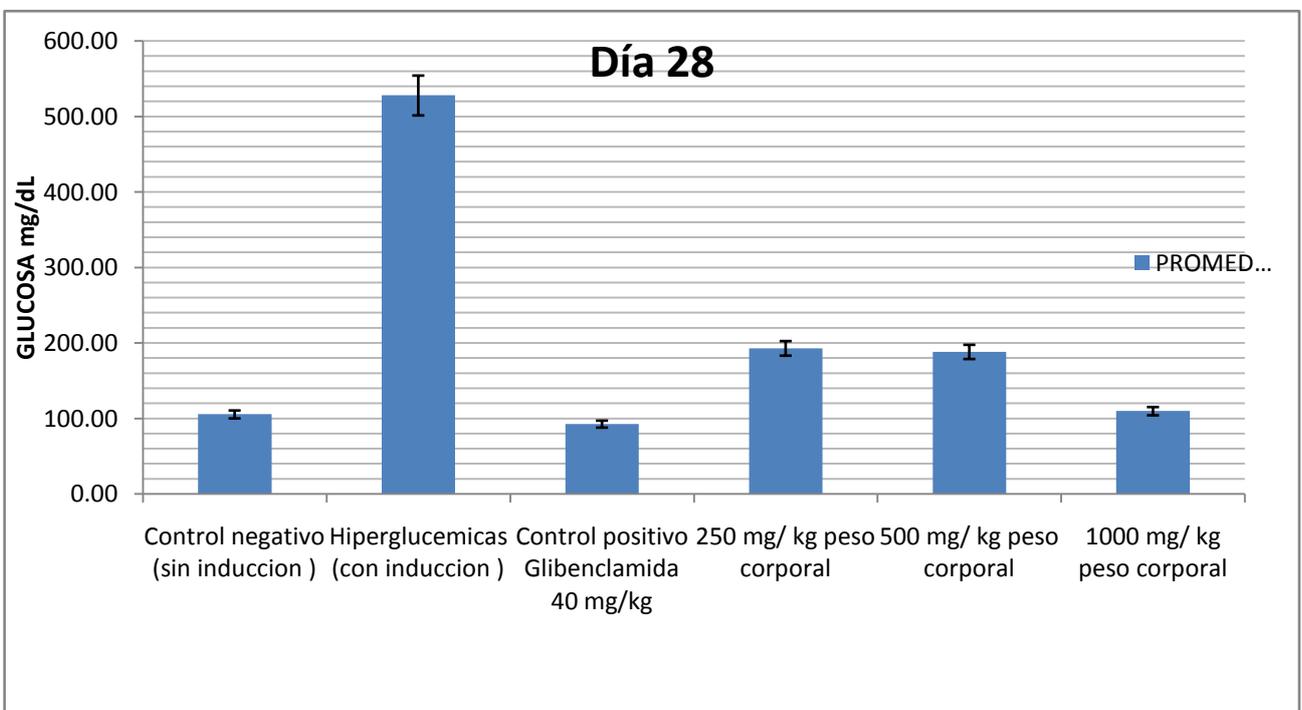


Figura N10: Grafico de glucosa de todos grupos del día 28,teniendo los valores del promedio y desviacion estandar.

Fuente: Elaboracion propia.

#### 4.1.5 Análisis estadístico

Descripción del plan experimental, modelo y estimación puntual.

Las fuentes de variación controladas en este experimento son:

— Variable respuesta: Nivel de glucosa

Factor principal:

Dosis - concentración. (Niveles: 5):

- “Control negativo sin inducción”
- “Hiperglucemias sin tratamiento”
- “Control positivo Glibenclamida 40mg/kg”
- “Concentración 250 mg/kg peso corporal”
- “Concentración 500 mg/kg peso corporal”
- “Concentración 1000 mg/kg peso corporal”.

Factor secundario o factor bloque:

Intervalo de tiempo. (Niveles: 6): Diseño en bloques completos al azar.

Nivel de confianza: 95%

Nivel de significancia: 5%

El modelo matemático es análogo al de un diseño de dos vías de efectos principales con una sola réplica:

$$y_{ih} = \mu + \alpha_i + \theta_h + \varepsilon_{ih},$$

Donde:

$Y_{ih}$  denota el nivel de glucosa evaluado en el grupo-concentración  $i$ -ésimo ( $i=1,2,6$ ) del  $h$  –ésimo intervalo de tiempo ( $h = 1,2,\dots,7,6$ ).

$\mu$  denota la concentración media del nivel de glucosa,

$\alpha_i$  denota el efecto diferencial (respecto a la media  $\mu$ ) en la concentración del nivel de glucosa del grupo concentración  $i$ ésimo,

$\theta_h$  denota el efecto diferencial (respecto a la media  $\mu$ ) en la concentración del nivel de glucosa del  $h$  – ésimointervalo de tiempo,

$\varepsilon_{ih}$  denota la parte de la respuesta  $Y_{ih}$  no explicada por el modelo. Se asume que los  $\varepsilon_{ih}$  son todos ellos independientes e idénticamente distribuidos según una  $N(0,\sigma)$ .

**Tabla N 13: Factores intersujetos**

Factores inter-sujetos			Etiqueta de valor	N
Dosis				
Control Negativo Sin Inducción	INTERVALOS DE TIEMPO DE MEDIDAS DE GLUCOSA	1	BASAL SIN INDUCCION	6
		2	0 DIA	6
		3	7 DIA	6
		4	14 DIA	6
		5	21 DIA	6
		6	28 DIA	6
Hiperglicemicas sin tratamiento	INTERVALOS DE TIEMPO DE MEDIDAS DE GLUCOSA	1	BASAL SIN INDUCCION	6
		2	0 DIA	6
		3	7 DIA	6
		4	14 DIA	6
		5	21 DIA	6
		6	28 DIA	6
Control positivo Glibenclamida 40 mg/kg	INTERVALOS DE TIEMPO DE MEDIDAS DE GLUCOSA	1	BASAL SIN INDUCCION	6
		2	0 DIA	6
		3	7 DIA	6
		4	14 DIA	6
		5	21 DIA	6
		6	28 DIA	6
250 mg/ kg peso corporal	INTERVALOS DE TIEMPO DE MEDIDAS DE GLUCOSA	1	BASAL SIN INDUCCION	6
		2	0 DIA	6
		3	7 DIA	6
		4	14 DIA	6
		5	21 DIA	6
		6	28 DIA	6
500 mg/ kg peso corporal	INTERVALOS DE TIEMPO DE MEDIDAS DE GLUCOSA	1	BASAL SIN INDUCCION	6
		2	0 DIA	6
		3	7 DIA	6
		4	14 DIA	6
		5	21 DIA	6
		6	28 DIA	6
1000 mg/ kg peso corporal	INTERVALOS DE TIEMPO DE MEDIDAS DE GLUCOSA	1	BASAL SIN INDUCCION	6
		2	0 DIA	6
		3	7 DIA	6
		4	14 DIA	6
		5	21 DIA	6
		6	28 DIA	6

**Tabla N 14: Estadísticos descriptivos**

<b>Estadísticos descriptivos</b>				
Variable dependiente: GLUCOSA (mg/dl)				
Dosis	INTERVALOS DE TIEMPO DE MEDIDAS DE GLUCOSA	Media	Desviación estándar	N
Control Negativo Sin Inducción	BASAL SIN INDUCCION	90,8333	4,62241	6
	0 DIA	105,5000	3,39116	6
	7 DIA	104,5000	6,80441	6
	14 DIA	105,1667	4,57894	6
	21 DIA	105,5000	4,76445	6
	28 DIA	105,5000	4,76445	6
	Total	102,8333	7,10935	36
Hiperglicemicas sin tratamiento	BASAL SIN INDUCCION	89,0000	3,68782	6
	0 DIA	463,3333	42,29263	6
	7 DIA	480,3333	39,83298	6
	14 DIA	498,5000	38,89344	6
	21 DIA	513,1667	33,44498	6
	28 DIA	528,0000	31,20897	6
	Total	428,7222	158,72197	36
Control positivo Glibenclamida 40 mg/kg	BASAL SIN INDUCCION	90,0000	2,75681	6
	0 DIA	472,8333	38,56121	6
	7 DIA	304,6667	58,47963	6
	14 DIA	154,0000	8,85438	6
	21 DIA	112,5000	6,94982	6
	28 DIA	92,6667	2,94392	6
	Total	204,4444	145,13569	36
250 mg/ kg peso corporal	BASAL SIN INDUCCION	90,8333	3,43026	6
	0 DIA	461,3333	52,82297	6
	7 DIA	347,8333	25,74037	6
	14 DIA	285,0000	32,82682	6
	21 DIA	227,1667	27,54935	6
	28 DIA	193,0000	16,09969	6
	Total	267,5278	122,37145	36
500 mg/ kg peso corporal	BASAL SIN INDUCCION	94,8333	4,95648	6
	0 DIA	502,1667	44,66057	6
	7 DIA	321,1667	25,10312	6
	14 DIA	271,1667	16,49747	6
	21 DIA	212,3333	6,68331	6
	28 DIA	188,3333	12,04436	6
	Total	265,0000	130,69594	36
1000 mg/ kg peso corporal	BASAL SIN INDUCCION	92,6667	6,77249	6
	0 DIA	493,0000	15,44021	6
	7 DIA	295,3333	35,88129	6
	14 DIA	217,8333	8,68140	6
	21 DIA	154,3333	15,14816	6
	28 DIA	109,8333	6,14546	6
	Total	227,1667	139,89292	36

**Tabla N 15: Variable dependiente- glucosa**

<b>Gran media</b>				
Variable dependiente: GLUCOSA (mg/dl)				
Dosis	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
Control Negativo Sin Inducción	102,833	,821	101,157	104,510
Hiperglicemicas sin tratamiento	428,722	5,690	417,101	440,344
Control positivo Glibenclamida 40 mg/kg	204,444	4,835	194,570	214,319
250 mg/ kg peso corporal	267,528	5,074	257,166	277,890
500 mg/ kg peso corporal	265,000	3,795	257,249	272,751
1000 mg/ kg peso corporal	227,167	2,977	221,087	233,247

**Tabla N 16: Glucosa - Descriptivos**

<b>Descriptivos</b>								
GLUCOSA (mg/dl)								
	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
BASAL SIN INDUCCION	36	91,3611	4,64237	,77373	89,7904	92,9319	84,00	104,00
0 DIA	36	416,3611	145,92408	24,32068	366,9875	465,7347	102,00	576,00
7 DIA	36	308,9722	116,66643	19,44441	269,4980	348,4465	95,00	540,00
14 DIA	36	255,2778	128,96281	21,49380	211,6430	298,9125	99,00	546,00
21 DIA	36	220,8333	141,55272	23,59212	172,9388	268,7279	98,00	552,00
28 DIA	36	202,8889	153,53320	25,58887	150,9407	254,8371	89,00	565,00
Total	216	249,2824	159,50213	10,85275	227,8910	270,6738	84,00	576,00

**Tabla N 17: Intervalos de tiempo de medida de glucosa**

<b>Estadísticos descriptivos</b>			
Variable dependiente: GLUCOSA (mg/dl)			
INTERVALOS DE TIEMPO DE MEDIDAS DE GLUCOSA	Media	Desviación estándar	N
	BASAL SIN INDUCCION	91,3611	4,64237
0 DIA	416,3611	145,92408	36
7 DIA	308,9722	116,66643	36
14 DIA	255,2778	128,96281	36
21 DIA	220,8333	141,55272	36
28 DIA	202,8889	153,53320	36
Total	249,2824	159,50213	216

**Tabla N 18: prueba de efectos inter-sujetos, Suma de cuadrados.**

**Pruebas de efectos inter-sujetos**

Variable dependiente: GLUCOSA (mg/dl)

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	2138938,41 <sup>a</sup>	5	427787,682	26,971	,000
Intersección	13422611,23	1	13422611,23	846,252	,000
Intervalos_tiempo	2138938,412	5	427787,682	26,971	,000
Error	3330861,361	210	15861,245		
Total	18892411,00	216			
Total corregido	5469799,773	215			

a. R al cuadrado = ,391 (R al cuadrado ajustada = ,377)

En la tabla N 18 de pruebas de efectos inter-sujetos, la significancia obtenida (p\_valor) es menor que el nivel de significancia por lo que se rechaza la hipótesis nula. El coeficiente R cuadrado es 0.391 es decir la bondad de ajuste del modelo puede ser expresado en un 40%.

Variabilidad nivel de glucosa explicada por el modelo formulado: 39.1 %

Por tanto se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el nivel de glucosa del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) en ratas con diabetes.

Concluyendo que existe interacción significativa. El nivel de glucosa del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) en ratas con diabetes depende de la combinación concreta en el tipo de grupo concentración empleado, de tal modo que no es posible comparar niveles glucosa sin considerar el grupo concentración.

**Tabla N 19: Anova**

ANOVA					
GLUCOSA (mg/dl)	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2138938,412	5	427787,682	26,971	,000
Dentro de grupos	3330861,361	210	15861,245		
Total	5469799,773	215			

Tal como se observa en la tabla ANOVA, el valor P para grupo y días es menor que  $\alpha = 0,05$ . Por lo que se rechaza la hipótesis nula. Por tanto, hay diferencias significativas tanto por grupos como por intervalos de tiempo.

**Decisión:**

Como el p\_valor obtenido para el modelo planteado es (0.000) y es menor que el nivel de la significancia (0.05) se rechaza la hipótesis nula y se concluye que El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presentan actividad hipoglucemiante en ratas inducidas a hiperglucemia.

**4.1.6 Contrastación de hipótesis**

Para la contrastación de la hipótesis se procedió a aplicar, análisis descriptivo e inferencial con el programa SPSS versión 22.

La prueba estadística ANOVA, que permite la comparación de las puntuaciones medias entre más de dos grupos muestra, como es el caso de la investigación, que considera un grupo de control negativo otro control positivo y cuatro grupos experimentales. El propósito de esta prueba es establecer si existe o no diferencias significativas entre los grupos.

He1: El extracto hidroalcohòlico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) si contienen metabolitos relacionados con la actividad hipoglucemiante.

Ho: El extracto hidroalcohòlico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) no contienen metabolitos relacionados con la actividad hipoglucemiante.

Luego de realizar la marcha fitoquímica se determinó la presencia de tipos metabolitos como compuestos fenólicos, flavonoides, y triterpenoides que podrían ser los responsables de la actividad hipoglucemiante (Tabla N 9) (Anexo N 4), por lo que se acepta la primera hipótesis específica.

Decisión: En consecuencia, se rechaza la hipótesis nula.

He2: El extracto hidroalcohòlico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) si presenta actividad hipoglucemiante a diferentes dosis.

Ho: El extracto hidroalcohòlicode las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) no presenta actividad hipoglucemiante a diferentes dosis.

Se encontró significatividad en los resultados estadísticos del Anova y el test de Tukey. Se utilizaron tres dosis del extracto hidroalcohòlico de las hojas de *Lepechinia meyenii*. Por lo que se segmenta en 3 sub hipótesis específica.

Al evidenciarse el p-valor menor a 0.05 se puede aceptar la primera sub hipótesis específica: “El extracto hidroalcohòlico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presentan actividad hipoglucemiante a 250 mg/kg en ratas hiperglucémicas”, debido a que muestra una diferencia estadísticamente significativa. (Tabla N 12)

Al evidenciar un p-valor menor a 0.05 se puede aceptar la segunda sub hipótesis específica: “El extracto hidroalcohòlico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presentan actividad hipoglucemiante a 500mg/kg en

ratas hiperglucémicas”, debido a que muestra una diferencia estadísticamente significativa. (Tabla N 12)

Al evidenciar un p-valor menor a 0.05 se puede aceptar la segunda sub hipótesis específica: “El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presentan actividad hipoglucemiante a 1000 mg/kg en ratas hiperglucémicas”, debido a que muestra una diferencia estadísticamente significativa. (Tabla N 12)

Decisión: En consecuencia se rechaza la hipótesis nula.

He3: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) si presenta actividad hipoglucemiante en comparación a la glibenclamida.

Ho: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) no presenta actividad hipoglucemiante en comparación a la glibenclamida.

Luego de realizar la diferencia en porcentaje tomados el ultimo día de tratamiento (día 28) con respecto al promedio de cada grupo, se observan los siguientes valores: Glibenclamida: 82.45 %, extracto 250 mg/kg: 62.88%, extracto 500 mg/kg: 64.33% y extracto 1000 mg/kg: 79.20%. (Figura N 9). Al evidenciar que la dosis de 250, 500 y 1000mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA), debido a que se muestra una diferencia menor a la glibenclamida 40 mg/kg, por lo que no se acepta la tercera hipótesis.

Decisión: En consecuencia se acepta la hipótesis nula.

Hg: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) si presentan actividad hipoglucemiante en ratas inducidas a hiperglucemia.

Ho: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) no presentan actividad hipoglucemiante en ratas inducidas a hiperglucemia.

Se acepta la hipótesis general al comprobar que las tres concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii*(PACHA SALVIA) presenta actividad hipoglucemiante. (Tabla N 12)(Figura N 7, N 8)

Decisión: en consecuencia se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis general.

#### **4.2. Discusión de resultados.**

En el procedimiento del ensayo de solubilidad el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA), se determinó que es muy soluble en compuestos polares como etanol, metanol y agua (Tabla N 8, Anexo N 5); esto puede ser debido por los compuestos presentes en el extracto, son principalmente polares como los compuestos fenólicos, flavonoides, y alcaloides <sup>(52;38)</sup>, triterpenoides por ser saponinas heterosidas. <sup>(53,38)</sup>

La marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA); determinó la existencia de compuestos fenólicos como flavonoides; triterpenoides y alcaloides. (Tabla N 10, Anexo N 4). Por otro lado, en la investigación de Arenas Chavez CA et al."Efecto antiinflamatorio de la fracción flavonoide de *Lepechinia meyenii* (walp.) Epling (salvia) sobre leucocitos en pacientes con artritis reumatoide". Se determinó en el extracto metanólico la presencia de compuestos fenólicos como flavonoides, coincidiendo con nuestra investigación. <sup>(21)</sup>. <sup>(41)</sup> Por otro lado, en la investigación de Castro Juárez CJ et al. "Uso medicinal de plantas antidiabéticas en el legado etnobotanico oaxaqueño". Se determinó la presencia de los Triterpenoides y flavonoides, identificados con actividad antioxidante e inhibitoria de enzimas del metabolismo de carbohidratos. Estos metabolitos poseen efecto evidente en la regulación de la glucemia bajo previos bioensayos *in vivo* o *in vitro*., coincidiendo con nuestra investigación. <sup>(50)</sup>

Se procedió a la identificación por cromatografía de capa fina, al compuesto fenólico “flavonoides” , debido a que se le atribuye la actividad hipoglucemiante <sup>(21, 41, 50)</sup>. En el proceso de identificación de flavonoides se logró una buena separación con el sistema de solventes Butanol: Ácido acético: Agua (20:5:15), (Anexo 3). Se obtuvo para la muestra del extracto Rf. de 0.80 la cual fue comparada con el estándar de quercetina que obtuvo un Rf de 0.68, demostrándose así probablemente la presencia de flavonoides en el extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA). En el proceso de identificación de alcaloides se logró una buena separación con el sistema de solventes Metanol:Agua (25:75), (Anexo N 3). Se obtuvo para la muestra del extracto Rf. de 0.90 la cual fue comparada con el estándar de cafeína que obtuvo un Rf de 0.74, demostrándose así probablemente la presencia de alcaloides en el extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA), cabe mencionar que el proceso solo es una confirmación del screening fitoquímico.

El extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) en la dosis de 2000 mg/kg de peso corporal no produjo muerte, y no se presentaron signos de toxicidad, sin cambios representativos durante los 14 días de visualización, en los animales de experimentación. <sup>(42)</sup> Se presentó aumento e incremento en el peso corporal y en el análisis macroscópico no se registraron lesiones algunas. Esto apoya trabajos anteriores en donde los extractos hidroalcohólicos de productos naturales no causan mortalidad ni daño.

La presente investigación ha demostrado que el extracto hidroalcohólico de hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presenta actividad hipoglucemiante en ratas albinas, evidencian efecto hipoglucemiante en la dosis utilizadas en la investigación (250, 500,1000mg/kg), (Tabla N 12). Las dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg muestran diferencias significativas de ( $p < 0.05$ ), este hecho puede estar relacionado con la presencia de algunos metabolitos en el extracto, demostrando que a mayor dosis y días de tratamiento mayor actividad antidiabética (hipoglucemiante), pero en comparación a la glibenclamida 40 mg/kg es menor.

Los resultados de la prueba, indica una disminución ( $p < 0.05$ ) en los niveles de glucosa en sangre en las ratas diabéticas inducidas con Aloxano. (Tabla N19)

Esto sugiere que el extracto hidroalcohólico de la *Lepichinia meyenii* (PACHA SALVIA) mejora la utilización fisiológica de la glucosa y, por lo tanto, la mejora en los niveles de glucosa en ratas diabéticas. Esto también reafirma que la prueba realizada en el presente modelo es una medida e indicador de la capacidad de las células para usar glucosa, la principal fuente de energía del cuerpo.<sup>(43)</sup>

La investigación fitoquímica tiene presencia de flavonoides<sup>(45)</sup> que poseen acción hipoglucémica, así como también propiedades antioxidantes. Algunos flavonoides tienen propiedades hipoglucémicas porque mejoran las elevaciones de la glucosa y metabolismos oxidativos de los estados diabéticos.<sup>(46)</sup> También ejercen un efecto estimulante sobre la secreción de insulina por cambiar la concentración de  $Ca^{++}$ .<sup>(46)</sup>

Es muy probable que los flavonoides sean responsables de esta función ya que se ha comprobado su participación en las fases originarias de acción de la insulina en el hígado y músculos de ratas *in vivo* y uno de sus mecanismos de acción es que se ligan a receptores de insulina, potencializan la función de la enzima tirosina quinasa de los receptores de insulina (Agullo et al. 1997).<sup>(47)</sup>

Los resultados mostraron una disminución significativa de la concentración de glucosa sanguínea, por efecto de la glibenclamida, (Figura N9, N10) en comparación con el extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA). 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 (Katzung, 2005).<sup>(56)</sup>

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 Conclusiones

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presenta compuestos fenólicos como flavonoides y triterpenoides que podrían ser los responsables de la actividad hipoglucemiante.
2. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) presenta actividad hipoglucemiante a dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg.
3. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) a la dosis de 1000 mg/kg tiene la actividad hipoglucemiante de 79.20% siendo menor en comparación a la Glibenclamida 40 mg/kg (control positivo) 82.45%.

#### 5.2 Recomendaciones

1. Realizar investigaciones para la elucidación estructural del flavonoide y triterpenoides específico, mediante un análisis instrumental el cual puede servir para la elaboración de un nuevo Fitomedicamento.
2. Se recomienda seguir la investigación de la planta *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) como antihiperoglucemiante, para ampliar y mejorar la información sobre su actividad hipoglucemiante.
3. Se recomienda para futuras investigaciones de la *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA), identificar la relación, de los ácido fenólicos, el ácido rosmarínico (AR), ácido triterpénicos como el ácido oleanólico (AO) y el ácido ursólico (AU), si presentan y si le confieren actividad hipoglucemiante.

## REFERENCIAS

1. Guía de práctica clínica para el diagnóstico, tratamiento y control de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención r.m. n° 719-2015/minsa (2016). Organización Mundial de la Salud (2014). Diabetes, disponible en línea. Ginebra. Disponible en: <http://www.who.int/diabetes/es/>. Fecha de visita: 04 de noviembre de 2015.
2. International Diabetes Federation (2014). Key findings 2014, disponible en línea. Bruselas. Disponible en: <http://www.idf.org/diabetesatlas/update-2014>. Fecha de visita: 04 de noviembre de 2015.
3. Sociedad Peruana de Endocrinología (2008). Definición y Diagnóstico. En: Guía Peruana de Diagnóstico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 2, disponible en línea. 1ra.edición. Lima: Mujica y Asociados S.A.C. p. Disponible en: <http://www.endocrinoperu.org>. Fecha de visita: 04 de marzo de 2015.
4. Organización Mundial de la Salud (2014). Global status report on non communicable diseases 2014, disponible en línea. Ginebra. Disponible en: <http://www.who.int/nmh/publications/ncdstatus-report-2014/en/>. Fecha de visita: 04 de noviembre de 2015.
5. Carreño T. y Castagnino M. “Evaluación del efecto del consumo agudo de semillas de chía (*Salvia hispánica L.*) En agua sobre la glicemia posprandial en sujetos sanos”. [Tesis de grado] Lima: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas; 2017.
6. Vaca Meza E. y Villena Alcantara M. “Efecto del extracto acuoso de semillas de *Salvia hispanica L.* sobre diabetes inducida en *Mus musculus Balb/c*”. [Tesis de grado]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2016.
7. Mejía Vasquez A., Zuloeta Guerrero D. y Palacios Morales F. “Efecto hipoglucemiante del consumo de yacón (*Smallantus sonchifolius*) en ratones

diabéticos tipo 2 inducidos con aloxano”. Revista científica de ciencias de salud 9:1 2016 - ISSN 2306-0603.

8. Carlos Justil G , Pedro Angulo H, Hugo J. y Jorge A. “Evaluación de la Actividad Hipoglicemiante del Extracto Acuoso de *Abutagrandifolia* (Mart.) en Ratas con Diabetes Inducida por Aloxano” Rev Inv Vet Perú 2015; 26(2): 206-212.
9. Bello Sánchez V. y Inche Cabello J. “Comparación del efecto hipoglucemiante del Extracto hidroalcohólico de las hojas *Smallanthus sonchifolius* (poepp) rob “yacón” frente a un extracto de libre comercio, en ratones hiperglucemicos”. [Tesis de grado].Lima: Universidad Norber Wiener; 2015.
10. Giraldo Bardalama L. “Efecto del extracto etanolico del fruto de *Physalis peruviana* (aguaymanto) sobre la glucemia en animales de experimentación”. [Tesis de posgrado] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
11. Tasayco Yataco N. “Actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en ratas con diabetes tipo 1 y 2”. [Tesis de Pos grado] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2007.
12. Mejía Castro V. “Determinación de la actividad hipoglicemiante de las hojas de *Rubus urticifolius*poir. (Mora silvestre) y las hojas de *Rubus rosaefolius*sm. (Frambuesa silvestre) en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina”. [Tesis de grado] Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala; 2015.
13. Ortiz Arvea A. “Evaluación del Efecto Hipoglucemiante del Extracto Etanólico de *Gnaphalium semiamplexicaule* (gordolobo), en un Modelo de Ratones CD1”. [Tesis de grado] Zaragoza: Universidad Nacional Autónoma de México; 2013

14. Torres Luna A. "Evaluación del efecto Hipoglucemiante de un extracto acuoso de *Trichocereus peruvianus*, en un modelo de ratones CD1"[Tesis de grado] Zaragoza: Universidad nacional autónoma de México; 2013.
15. Pazmiño Chiliza C. "Determinación de la actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcoholico de *Justicia chlorostachya leonard* (insulina) en ratones con hiperglicemia inducida."[Tesis de grado] Riobamba: Escuela superior Politecnica de Chimborazo; 2011.
16. Rosero Herrera M. "Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de canela (*cinnamomum zeylanicum*), en ratas (*rattus novergicus*) con hiperglicemia inducida"[Tesis de grado] Riobamba: Escuela superior Politecnica de Chimborazo; 2010.
17. Valle Acosta D. y Carrión Orellana M. "Actividad Hipoglucemiante de la planta tuna (*opuntia ficus indica*) en ratones"[Tesis de grado]; Santa Cruz: Universidad Cristiana de Bolivia; 2007.
18. Castillo Romero P. "Estudio químico y de actividad antioxidante en *Lepechinia meyenii* (walp.)",[Tesis de Posgrado]; Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2004.
19. Galán de Mera A y Sánchez Vega I;"Principios de botánica farmacéutica", UPAGU fondo editorial, Cajamarca: 2013.
20. Isau Huamantupa, et al "Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados de la ciudad del Cusco" Rev. peru. biol. 18(3): 283 - 291 (Diciembre 2011) © Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM.
21. Alberto A. et al "Efecto antiinflamatorio de la fracción flavonoide de *Lepechinia meyenii* (walp.) Epling (salvia) sobre leucocitos de pacientes con artritis reumatoide". Rev Peru Med Exp Salud Pública; 2017.
22. Abundio Sagástegui A. y Rodríguez Rodríguez E."Una nueva especie de Salvia (*Lamiaceae*) del Norte de Perú" Rev. Perú. biol. 19(2): 139 - 142 (Agosto 2012) © Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM.

23. Newall C. A, Anderson L. A y Phillipson J. D. Herbal Medicines. A Guide for Health care Professionals. London: The Pharmaceutical Press, 1996; p. 231-2.
24. Hold K. M, Sirisoma N. S, Ikeda T, Narahashi T y Casida J.E. Alpha-Thujone (the active component of absinthe): gamma amino butyric acid type A receptor modulation and metabolic detoxification. Proc Natl AcadSci USA 2000; 97(8):3826-31.
25. Luck O, Investigación Fitoquímica métodos de estudio de productos naturales; Lima- Perú; Editorial Universitaria Pontificia Universidad Católica; 1988. pp. 213
26. Arnoa A, y otros, Criterios y pautas de terapia combinada en la diabetes tipo 2; 17va ed; Barcelona- España; Editorial Andaluza; 2001; p 82-97.
27. National Institute of and Digestive and Kidney Diseases, 2011. Neuropatías diabéticas: el daño de los nervios en personas con diabetes. Disponible en: [www.diabetes.niddk.nih.gov/spanish/indexsp.aspx](http://www.diabetes.niddk.nih.gov/spanish/indexsp.aspx).
28. Miladinova Todorova V. Complicaciones crónicas de la diabetes Mellitus tipo 2. [Trabajo de grado] Madrid: Universidad Complutense; 2010.
29. Isea J, Viloría J, Ponte N. et al. Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo. 10(1). Mérida, Venezuela. 2012. Disponible en: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S169031102012000400013&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S169031102012000400013&script=sci_arttext).
30. Libby P, Theroux P. Pathophysiology of Coronary Artery Disease. Circulation, 2005. Disponible en: <https://doi.org/10.1161/Circulation.AHA.105.537878>.
31. Guía Técnica: Guía de Práctica Clínica para el Diagnóstico, Tratamiento y Control de la Diabetes Mellitus Tipo 2 en el Primer Nivel de Atención. Elaborado por: Ministerio de Salud – Dirección General de Intervenciones

Estratégicas en Salud Pública. Editor: Dirección de Prevención de Enfermedades No Transmisibles y Oncológicas© MINSA, 2016

32. Guffante Serrano I. "Screening de actividad antioxidante y citotóxica en Artemia salina DE: Arcyto phyllumthy mifolium, Salvia squalens, Justicia chlorostachya, Myrcian thes rhopaloides, Dalea mutisii" [Tesis de grado] Riobamba: Escuela superior Politecnica de Chimborazo; 2013.
33. Figuerola Pino D. et al. Diabetes mellitus. editor. Medicina interna. 14ª ed. Madrid: Harcourt, 2000. p. 2192-230.
34. Lisson A. R. 1999 Glibenclamida en Diabetes Mellitus Servicio de endocrinología, Hospital Nacional E. Rebagliati Martins, Instituto peruano de la seguridad social. Rev. Farmaco I Terap (Lima) 6 (1-2)
35. Rerup C.C. Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. Pharmacol. Rev.1970. 22: (4) 485-518.
36. Kadota L, Midorikawa O. Diabetogenic action of organic reagents; destructive lesion of islets of Langerhans caused by sodium diethyl dithiocarbamate and potassium ethyl xanthate. JournalLab. Clinc. Med. 1951, 38: 671-88.
37. Llumiguano Taris L. "evaluación del efecto hipoglicemiante del extracto de hojas de chapuca o uvilla silvestre (*physalis peruviana*). en ratas (*rattus norvegicus*) con hiperglicemia inducida". [Tesis de grado]; Riobamba, escuela superior politécnica de Chimborazo facultad de cienciasescuela de bioquímica y farmacia, Ecuador, 2014.
38. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudios de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural, Ediciones Omega S.A. Barcelona 2003; <https://redsa.com.mx/extractos-hidroalcoholicos.html>.
39. Ortuño Sanchez M. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes, España, Aiyana Ediciones, 2016.p 224.

40. Sharapin N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos; Colombia., Publicado por Convenio Andrés Bello., 2000., p. 41, 62-64, 157, 158,164. Disponible en : [www.asturnatura.com/especie/salviaofficinalis](http://www.asturnatura.com/especie/salviaofficinalis).
41. Arenas Chavez C. A. et al. "Efecto antiinflamatorio de la fracción flavonoide de *Lepechinia meyenii* (walp.) Epling (salvia) sobre leucocitos de pacientes con artritis reumatoide". Rev Peru Med Exp Salud Pública, 2018; p 35(1):55-61.
42. OECD. Acute Oral Toxicity. 1999, OECD Guidelines for Testing of chemicals: OECD, Paris, France. OECD Test Guideline 423: Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method (2001).
43. Ali M.A , Sultana M.C. et al, "Antidiabetic activity of ethanolic extract of *Semecarpus anacardium* (linn.) Stem barks in normal and alloxan induced diabetic rats," International Journal of Pharmaceutical Science and Research, 2015. vol. 3, no. 8, p. 2680–2685
44. Nawwar M, et al. Flavonoid lactates from leaves of *Marrubium vulgare*. Phytochemistry 1989; p 28:3201.6.
45. Song Y, Manson J.E, Buring J.E, Howard D, Simin Liu S. Associations of dietary flavonoids with risk of type 2 diabetes, and markers of insulin resistance and systemic inflammation in women: a prospective study and cross-sectional analysis.
46. J Am Coll Nutr 2005; 24(5):376–846. Hii C. S, Howell S.L. Effects of flavonoids on insulin secretion and Ca<sup>2+</sup> handling in rat islets of Langerhans. J Endocrinol 1985; 107:1–8.
47. Agullo G, Gamet P.L, et al B .Relationship between flavonoids structure and inhibitions of phosphatidy linositol – 3- July 1997. 53(11):1649-1657
48. Kinasa: A comparison with tyrosine kinase and protein kinase on inhibition. Biochempharmacol. 1997; 53:1649-1657.

49. Manual de diabetes; Madrid; fármacos para diabetes tipo 2. Citado en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/cybertesis/223/Tasayco\\_yn.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/cybertesis/223/Tasayco_yn.pdf).
50. Castro J, Villa R, Ramirez G. y Mosso G. "Uso medicinal de plantas antidiabéticas en el legado etnobotánico oaxaqueño". Revista cubana de plantas medicinales 2014, 19(1) 101-120. Universidad de la sierra Sur. Oaxaca, México.
51. Antidiabetic activity of *Paspalum scrobiculatum* Linn in alloxan induced diabetic rats Journal of Ethno pharmacology, Volumen 127, Issue 2, 3 February 2010, Pages 325-328.
52. Cartaya O. y Reynaldo I. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones Cultivos Tropicales, vol. 22, núm. 2, 2001, p. 5-14. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas La Habana, Cuba.
53. Díaz Solares M. et al. Evaluación cualitativa de metabolitos secundarios en extractos de variedades e híbridos de *Morus alba* L. (morera) Revista Cubana de Plantas Medicinales 2015;20(3):358-366.
54. "Perú: Enfermedades No Transmisibles y Transmisibles, 2014", Instituto Nacional de Estadística e Informática, Lima, abril 2015.
55. Héctor Vélchez C. et al. Actividad hipoglucemiante de los extractos de *Smallanthus sonchifolius* "yacón" y *Vitis vinífera* "uva" en ratas con diabetes inducida por aloxano. Lima Perú, 2018. Arnaldoa 25 (2): 539-564.
56. Katzung B. 2005. Farmacología básica y clínica. 9ª ed. México: Manual Moderno. 1152 p.
57. Idael Hinojosa y Dener Soto. "Efecto Hipoglucemiante del extracto acuoso del fruto de la berenjena (*solanum melongena*) en ratas inducidas a Diabetes mellitus tipo 2. [Tesis de Grado] Lima. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. 2018.

58. Manual de CEEA, Consejo superior de investigación Científica. Disponible en: [www.user.cnb.csic.es/~animalario/CEEA/CEEA\\_Tecnicas61](http://www.user.cnb.csic.es/~animalario/CEEA/CEEA_Tecnicas61).
59. Lenzen S. "The mechanisms of alloxan and streptozocin induced diabetes". *Diabetología*. 2008 Feb; p 51(2):216-26. Epub 2007 Dec 18. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18087688>.
60. Llumiguano T. "Evaluación del efecto hipoglicemiante del extracto de hojas de chapuca o uvilla silvestre (*physalis peruviana*) en ratas (*rattus norvegicus*) con hiperglicemia inducida". Riobamba, Ecuador 2014. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec>.
61. Srinivasan K. and Ramarao P, "Animal models in type 2 diabetes research: an overview," *Indian Journal of Medical Research*, vol. 125, no. 3, p. 451–472, 2007.

## ANEXOS

### Anexo N 1: Hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)

#### Anexo N 1.1: Secado de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)



Figura N 11: Secado de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)

#### Anexo N 1.2: Maceración hidroalcohólica de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA).



Figura N 12: Maceración hidroalcohólica de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)

**Anexo N 2: Extracción hidroalcohólica de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA).**

**Anexo N 2.1: Filtración de la maceración:** Una vez pasado el tiempo de maceración se procede a al filtrado correspondiente con papel Whattman.



Figura N 13: Filtrado del extracto hidroalcohólico de las hoja de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)

**Anexo N 2.2: Extracción del alcohol:** La muestra filtrada es llevada al rotavapor para así concentrar y poder evaporar el alcohol.



Figura N 14: Muestra filtrada en el rotavapor

**Anexo N 3: Prueba de cromatografía en capa fina con reveladores para alcaloides y flavonoides.**

**Anexo N 3.1: Preparación del medio para la corrida CCF:** Preparando el reactivo de BAW (butanol-ácido acético glacial-agua) (20:5:15) para la prueba de flavonoides y para alcaloides (metanol-agua) (25:75)



Figura 15: Preparando el reactivo BAW para CCF

**Anexo N 3.2: Inoculación :** Preparando las medidas de la placa para la inoculación de los estándares de quercetina y cafeína y las muestras de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA).



Figura N 16: Marcando la placa de Silicagel para la inoculación del estandar de quercetina

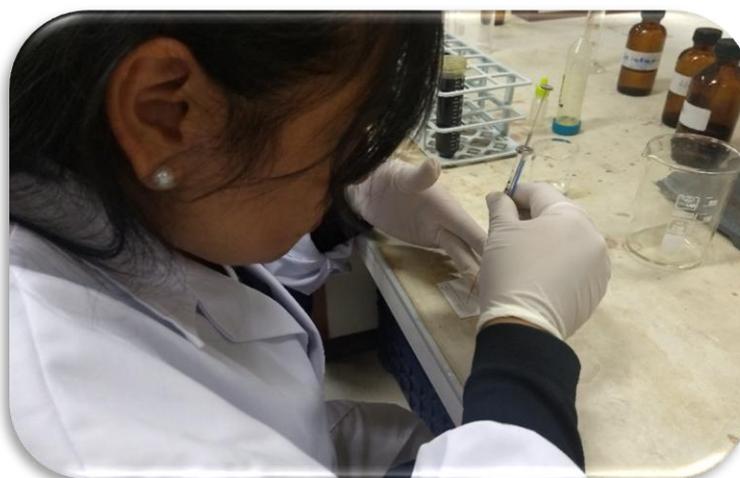


Figura N 17: Marcando la placa de Silicagel para la inoculación del estandar de cafeína

**Anexo N 3.3: Reactivos e Implementos usados en la cromatografía de capa fina y las corridas correspondientes.**



Figura N 18: Implementos usados para CCF y las placas con sus respectivas corridas

**Anexo N 3.4: Resultados de la corrida de quercetina y cafeína, en el extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA).**

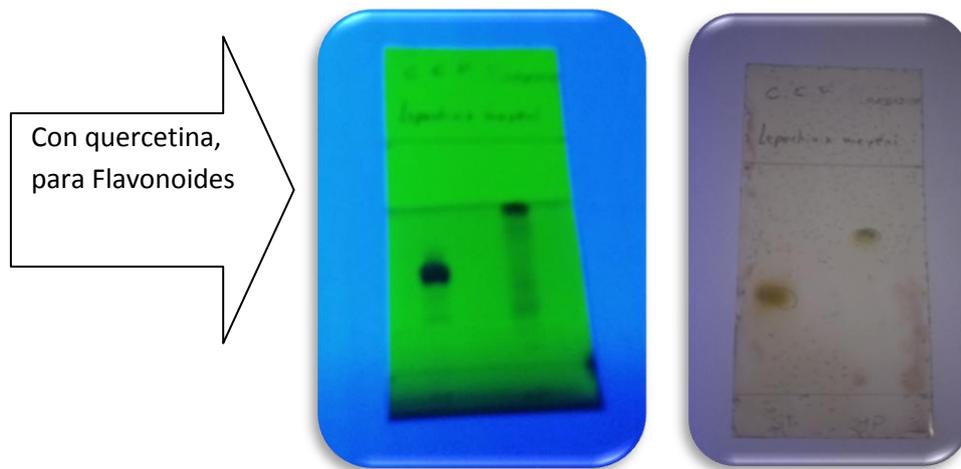


Figura N 19: Placa con el revelador tricloruro de aluminio y visto en luz UV 254nm.

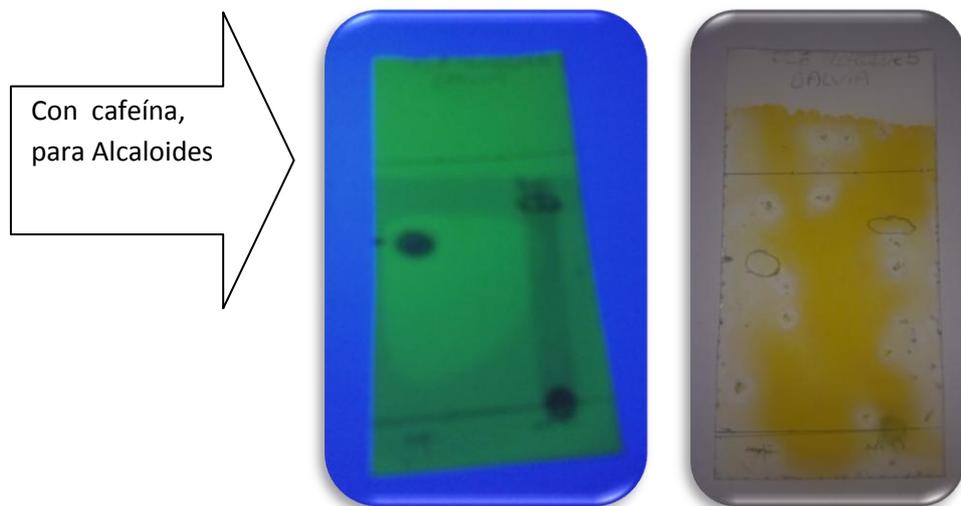


Figura N 20: Placa con el revelador ácido sulfúrico 2% más reactivo Dragendorff y visto en luz UV 254nm.

#### **Anexo N 4: Marcha fitoquímica de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)**

**A.-** Se procede a poner la muestra en os tubos de ensayo y acto seguido se hechan los reactivos siempre comparandolos con un blanco y se procede a ver los resultados.

Figura N 21: Muestra obtenida de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) y el reactivo de Libermann- Burchard.





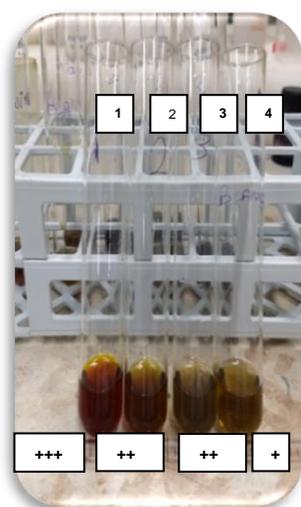
Figura N 22: Reactivos usados en la Marcha Fitoquímica



Leyenda:

13. Reactivo de Libermann-Burchard +extracto.

Figura N 23: 13)Coloración rojo púrpura, observado en la marcha fitoquímica.



Leyenda:

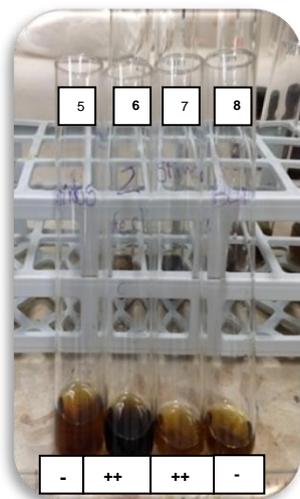
1. Reactivo Dragendorff + extracto.

2. Reactivo Wagner + extracto.

3. Reactivo Mayer+ extracto.

4. Reactivo Reineckato de amonio + extracto.

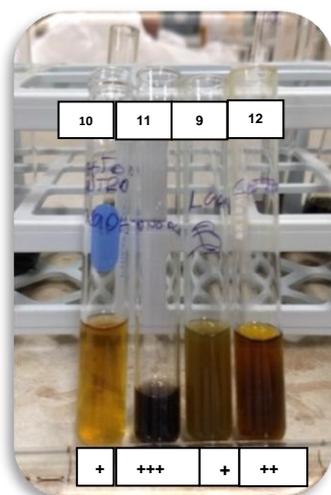
Figura N 24: 1) Coloración rojo naranjado, 2)pp marón 3) pp blanco 4)coloracion rosa, observado en la marcha fitoquímica.



Leyenda:

- 5. Reactivo Gelatina + extracto.
- 6. Reactivo  $FeCl_3$  + extracto.
- 7. Reactivo Shinoda+ extracto.
- 8. Reactivo Bortranger +extracto.

Figura N 25: 5) sin pp blanco,6) coloración verde, 7) coloración roja, 8) sin presencia de coloración roja, observado en la marcha fitoquímica.



Leyenda:

- 9. Reactivo Lugol +extracto.
- 10. Reactivo 2,4 DNPH +extracto.
- 11. Reactivo Ninhidrina +extracto.
- 12. Reactivo Fehling a y b + extracto.

Figura N 26: 9) coloración oscura; 10) coloración rojiza,11) coloración violaceo oscuro, 12) pp anaranjado ladrillo, observado en la marcha fitoquímica.

**Anexo N 5: Prueba de solubilidad del extracto seco de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA)**

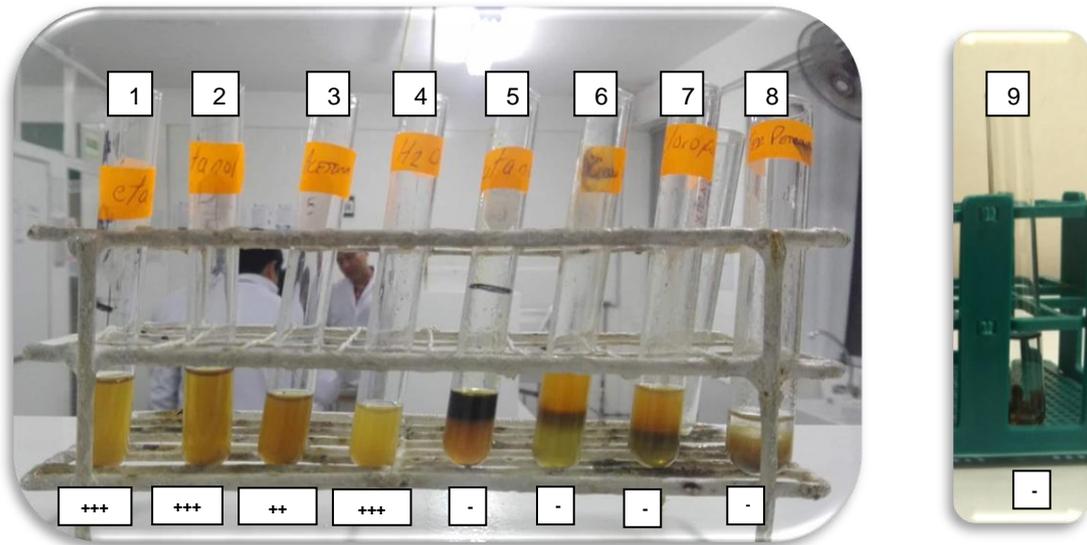


Figura N 27: Resultados del ensayo de la Solubilidad

Leyenda:

1. Etanol+extracto
2. Metanol+extracto
3. Acetona +extracto
4. Agua destilada+extracto
5. Butanol +extracto
6. Dicloro +extracto
7. Cloroformo+extracto
8. Eter de petroleo+ extracto
9. Isopropanol+extracto

## Anexo N 6: Pesado de los animales de experimentación



Figura N 28: Manejo de la rata para su pesado



Figura N 29: Peso de la rata

## Anexo N 7: Pesado de la Glibenclamida, para la dosis correspondiente



Figura N 30: Peso de la glibenclamida tableta



Figura N 31: Triturando las tabletas de glibenclamida

**Anexo N 8: Administración oral del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) a los animales de experimentación.**



Figura N 32: Administración del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Lepechinia meyenii* ( PACHA SALVIA) en las ratas a través de sonda nasogástrica

**Anexo N 9: Sangrado por el método del seno retro orbital.**



Figura N 33: colocando el capilar para la extracción de la muestra de sangre.



Figura N 34: extracción de sangre por el metodo seno retro orbital.



Figura N 35:obteniendo la muestra de sangre.

#### Anexo N 10: Valores basales de glucosa

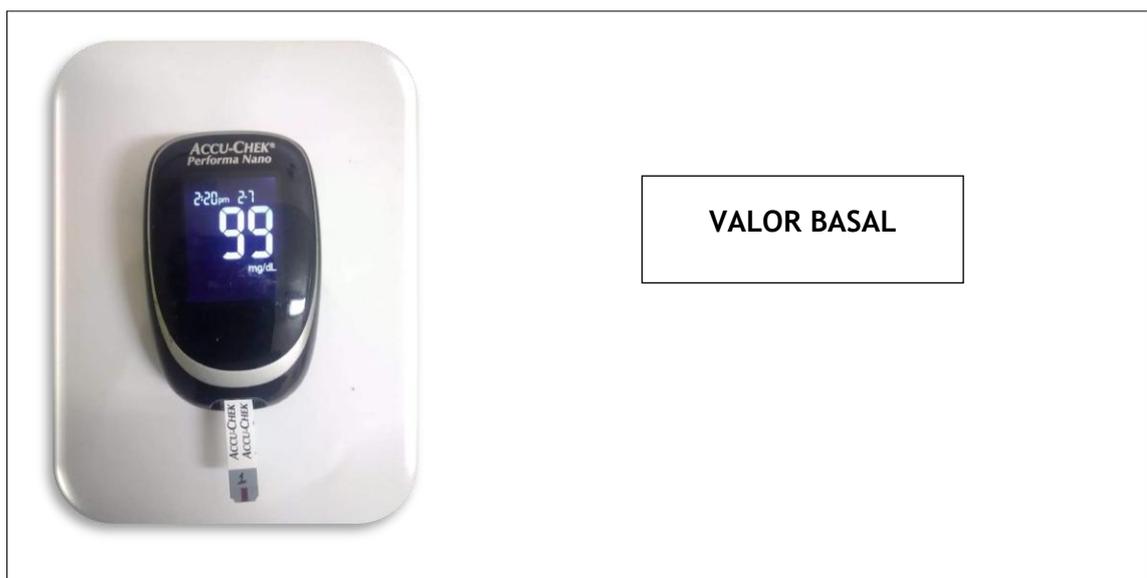


Figura N 36: Valor basal de la glucosa tomado el día 0

## Anexo N 11: Valores de induccion de hiperglucemia en ratas inducidas

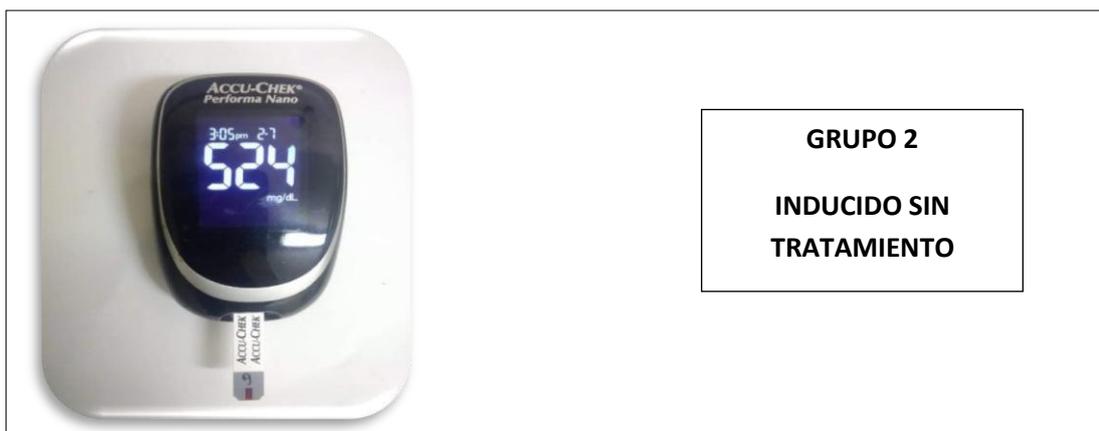


Figura N 37: Valor de glucosa tomado el día 7, del grupo sin tratamiento

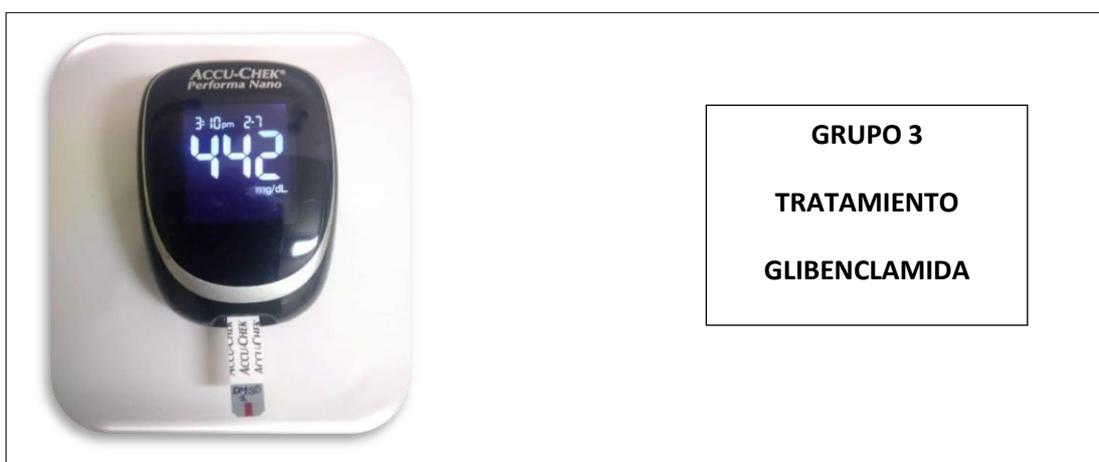


Figura N 38: Valor de glucosa tomado el día 7, del grupo de tratamiento de glibenclamida inducidas a hiperglucemia

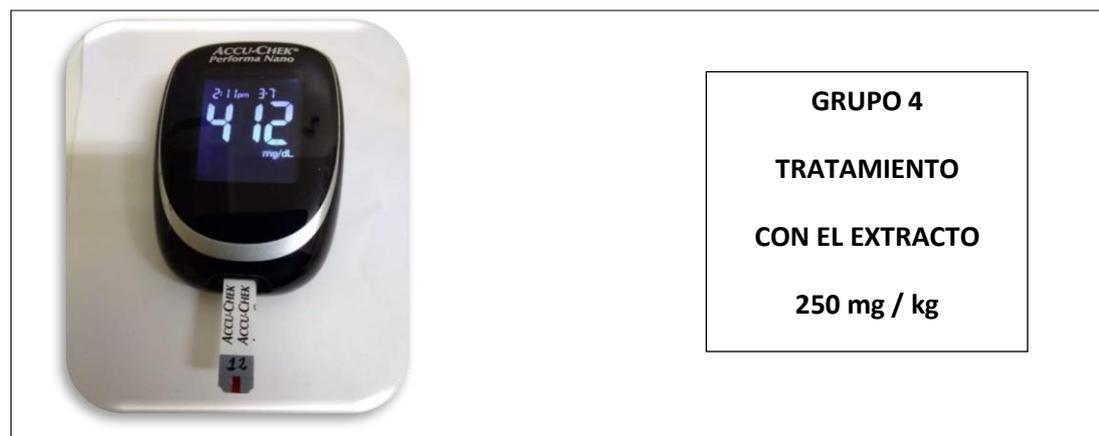


Figura N 39: Valor de glucosa tomado el día 7, del grupo de tratamiento del extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) a 250 mg/kg inducidas a hiperglucemia



Figura N 40: Valor de glucosa tomado el día 7, del grupo de tratamiento del extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) a 500 mg/kg inducidas a hiperglucemia

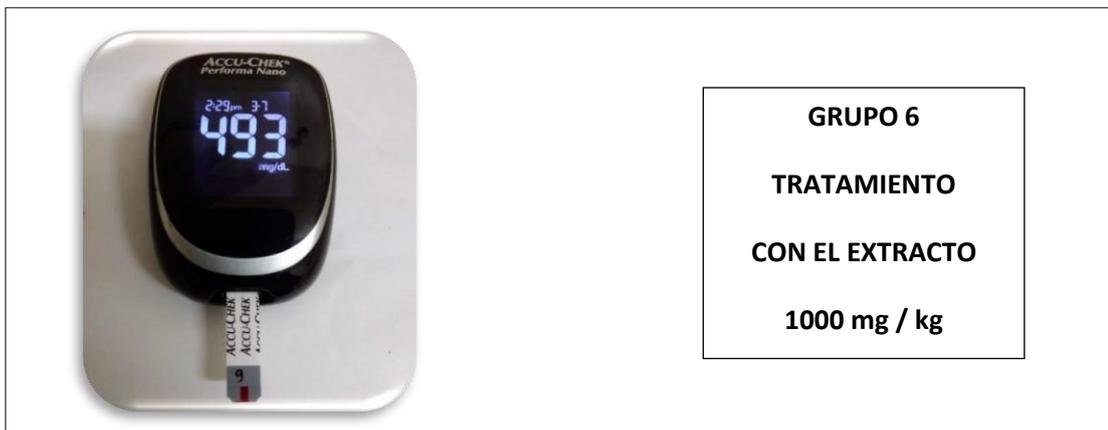


Figura N 41: Valor de glucosa tomado el día 7, del grupo de tratamiento del extracto hidrosalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) a 1000 mg/kg inducidas a hiperglucemia

**Anexo N 12: Valores de glucemia al día 28(final del tratamiento) en ratas inducidas**



Figura N 42: Valor de glucosa tomado el día 28, del grupo de tratamiento con glibenclamida a 40 mg/kg



Figura N 43: Valor de glucosa tomado el día 28, del grupo de tratamiento con el extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) a 250 mg/kg



Figura N 44: Valor de glucosa tomado el día 28, del grupo de tratamiento con el extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) a 500 mg/kg



Figura N 45: Valor de glucosa tomado el día 28, del grupo de tratamiento con el extracto hidroalcohólico de *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) a 1000 mg/kg.

**Anexo N 13: Condiciones brindadas a las ratas durante el proceso de tratamientos.**

Ratas Cepa Holtzman



Figura N 46: Condiciones de las ratas durante el proceso de tratamiento

Evaluación del peso corporal de las ratas ensayadas



Figura N 47: Evaluación del peso corporal de las ratas ensayadas

Capilares usados para la toma de muestra



Figura N 48: Capilares usados para la toma de muestra de sangre

Anexo N 14 Instrumentos de Recolección de Datos.



## UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

FICHA OBSERVACION AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) EN RATAS INDUCIDAS A HIPERGLUCEMIA.

MARCHA FITOQUIMICA DE <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA)				
Nº	METABOLITO	Reactivo de Reacción	Reacción Positiva	Resultado
1	PRIMARIO	CARBOHIDRATOS	Fehling A y Fehling B	Precipitado anaranjado ladrillo
2		ALMIDON	Lugol	Coloración oscura
3		CETONAS	2,4 DNPH	Formación de anillo rojizo
4		AMINOACIDOS	Ninhidrina	Coloración violácea
5	ALCALOIDES	Mayer	Precipitado blanco	
		Wagner	Precipitado marrón	
		Dragendorff	Precipitado rojo o naranja	
		Reineckato de amonio	Coloración rosa	
6	SECUNDARIO	COMPUESTOS FENOLICOS	Cloruro férrico	Coloración verde
7		TANINOS	Gelatina 1%	Precipitado denso blanco
8		FLAVONOIDES	Shinoda	Flavanoles: Rojo a magenta
9		NAFTAQUINONAS, ANTRAQUINONAS Y ANTRANONAS	Bortranger (NaOH 5%)	Coloración roja
10		SAPONINAS	Espuma	Espuma persistente
11		TRITERPENOIDES	Libermann-Burchand	Coloración rojo purpura

Leyenda:

(-) : La coloración o precipitado no se evidencia.

(++) : La coloración o precipitado es moderada.

(+) : La coloración o precipitado es leve.

(+++): La coloración o precipitado es total.

Anexo N 15: VALIDACIÓN DEL Anexo N 14 A



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
**FACULTAD DE CIENCIA FARMACÉUTICA Y BIOQUÍMICA**  
**HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO**

FICHA OBSERVACION AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Lepechinia meyeri* (PACHA SALVIA) EN RATAS INDUCIDAS A HIPERGLUCEMIA. (RENDIMIENTO Y TAMIZAJE FITOQUÍMICO)

**I. DATOS GENERALES**

1.1- Apellidos y nombres del experto: Olivera Gallegos Erik  
 1.2- Cargo e institución donde labora: Coordinador de Asesoría de la calidad UCV  
 1.3- Título profesional: Gerente, Ingeniería Registro colegio profesional: 22522  
 1.4- Grado académico: Bachiller Mención: 12-18  
 1.5- Nombre de instrumento: Manejo Fitoquímico  
 1.6- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia, le solicitamos que, en base a su criterio y experiencia profesional valide dicho instrumento.

Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

1.-Muy poco	2.-Poco	3.-Regular	4.-Aceptable	5.-Muy aceptable
-------------	---------	------------	--------------	------------------

N°	INDICADORES	CRITERIOS	PUNTUACION				
			1	2	3	4	5
1.-	Claridad	El instrumento esta con el lenguaje adecuado					✓
2.-	Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.					✓
3.-	Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y Tecnológicos.					✓
4.-	Organización	El instrumento tiene una organización lógica.					✓
5.-	Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elementos que conforman el instrumento.					✓
6.-	Intencionalidad	Es adecuado para relacionar las variables en mención.					✓
7.-	Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la farmacéutica como de la bioquímica.					✓
8.-	Coherencia	Existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y las variables.				✓	
9.-	Metodología	La estrategia responde al propósito de la problemática de la investigación					✓
10.-	Pertinencia	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.					✓
Total parcial :							
Total :							

**II. OPINION DE APLICABILIDAD:** aplicable

**III. PROMEDIO DE VALORACION:** 4.7

Universidad Peruana Cayetano Heredia  
 Servicio de Control de Calidad

\_\_\_\_\_  
 FIRMA DEL EXPERTO  
 D.F. Erik Olivera Gallegos  
 C.O.F.P. 20522

Puntuación

11-20	No valido, reformular
21-30	No valido, modificar
31-40	Valido, mejorar
41-50	Valido, aplicar

Figura N 49: Validación de instrumento del Anexo N 14 A

Anexo N 16: VALIDACIÓN DE Anexo N 14 B



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
 FACULTAD DE CIENCIA FARMACÉUTICA Y BIOQUÍMICA  
 HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO

FICHA OBSERVACION AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Lepachinia meyanii* (PACHA SALVIA) EN RATAS INDUCIDAS A HIPERGLUCEMIA. (MARCHA FITOQUÍMICO)

I. DATOS GENERALES

1.1- Apellidos y nombres del experto: Mg. Dr. Carlos C. P.  
 1.2 - Cargo e institución donde labora: Q.F.  
 1.3 - Título profesional: Q.F. Registro colegio profesional: 07767  
 1.4 - Grado académico: MAESTRO Mención: MARCHA FITOQUÍMICA  
 1.5 - Nombre de instrumento: MARCHA FITOQUÍMICA  
 1.6 - Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia, le solicitamos que, en base a su criterio y experiencia profesional valide dicho instrumento.

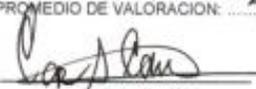
Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

1.-Muy poco	2.-Poco	3.-Regular	4.-Aceptable	5.-Muy aceptable
-------------	---------	------------	--------------	------------------

N°	INDICADORES	CRITERIOS	PUNTUACION				
			1	2	3	4	5
1.-	Claridad	El instrumento esta con el lenguaje adecuado					✓
2.-	Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.					✓
3.-	Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y Tecnológicos.				✓	
4.-	Organización	El instrumento tiene una organización lógica.					✓
5.-	Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elementos que conforman el instrumento.					✓
6.-	Intencionalidad	Es adecuado para relacionar las variables en mención.					✓
7.-	Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la farmacéutica como de la bioquímica.					✓
8.-	Coherencia	Existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y las variables.					✓
9.-	Metodología	La estrategia responde al propósito de la problemática de la investigación					✓
10.-	Pertinencia	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.					✓
Total parcial :							
Total :							

II. OPINION DE APLICABILIDAD: APLICABLE

III. PROMEDIO DE VALORACION: 4.8

  
 FIRMA DEL EXPERTO

Puntuación	
11-20	No valido, reformular
21-30	No valido, modificar
31-40	Valido, mejorar
41-50	Valido, aplicar

Figura N 50: Validación de instrumento del Anexo N 14 B



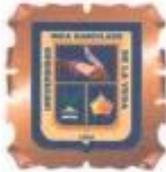
## UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

FICHA OBSERVACION AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS  
 PARA LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO  
 HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Lepechinia meyenii*  
 (PACHA SALVIA) EN RATAS INDUCIDAS A HIPERGLUCEMIA.

PRUEBA DE SOLUBILIDAD DE <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA)				
POLARIDAD	Nº	SOLVENTES	IDENTIFICACIÓN	RESULTADOS
	1	ETER PETROLEO	Soluble o insoluble	
	2	CLOROFORMO	Soluble o insoluble	
	3	DICLORO METANO	Soluble o insoluble	
	4	ACETONA	Soluble o insoluble	
	5	BUTANOL	Soluble o insoluble	
	6	ISOPROPANOL	Soluble o insoluble	
	7	ETANOL	Soluble o insoluble	
	8	METANOL	Soluble o insoluble	
	9	AGUA	Soluble o insoluble	

Leyenda:	
(-) :Insoluble.	(++) : Moderadamente Soluble.
(+) :Poco Soluble.	(+++): Totalmente Soluble.

Anexo N 18: VALIDACIÓN DEL Anexo N 17 A



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
**FACULTAD DE CIENCIA FARMACÉUTICA Y BIOQUÍMICA**  
**HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO**

FICHA OBSERVACION AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) EN RATAS INDUCIDAS A HIPERGLUCEMIA, (SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO)

**IV. DATOS GENERALES**

1.1- Apellidos y nombres del experto: Oliver Gallea, Cole  
 1.2- Cargo e institución donde labora: Coord. Asesoría de la Calidad, UNP  
 1.3- Título profesional: Mag. en Farm. Registro colegio profesional: 20562  
 1.4- Grado académico: Ph.D. Mención: FP 12-15  
 1.5- Nombre de instrumento: Solubilidad por Inmersión  
 1.6- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia, le solicitamos que, en base a su criterio y experiencia profesional valide dicho instrumento.

Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

1.-Muy poco	2.-Poco	3.-Regular	4.-Aceptable	5.-Muy aceptable
-------------	---------	------------	--------------	------------------

N°	INDICADORES	CRITERIOS	PUNTAJACION				
			1	2	3	4	5
1.-	Claridad	El instrumento esta con el lenguaje adecuado					✓
2.-	Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.					✓
3.-	Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y Tecnológicos.				✓	
4.-	Organización	El instrumento tiene una organización lógica.					✓
5.-	Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elementos que conforman el instrumento.					✓
6.-	Intencionalidad	Es adecuado para relacionar las variables en mención.					
7.-	Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la farmacéutica como de la bioquímica.			✓		
8.-	Coherencia	Existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y las variables.				✓	
9.-	Metodología	La estrategia responde al propósito de la problemática de la investigación					✓
10.-	Pertinencia	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.				✓	
Total parcial :							
Total :							

V. OPINION DE APLICABILIDAD: aplicable

VI. PROMEDIO DE VALORACION: 38

Universidad Peruana Cayetano Heredia  
 Servicio de Control de Calidad

\*\*\*\*\*  
 FICHA DE OBSERVACION  
 CURP: 20532

Puntuación	
11-20	No valido, reformular
21-30	No valido, modificar
31-40	Valido, mejorar
41-50	Valido, aplicar

Figura N 51: Validación de instrumento del Anexo N 17 A

Anexo N 19: VALIDACION DEL Anexo N 17 B



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
**FACULTAD DE CIENCIA FARMACÉUTICA Y BIOQUÍMICA**  
**HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO**

FICHA OBSERVACION AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Lepechinla mayeni* (PACHA SALVA) EN RATAS INDUCIDAS A HIPERGLUCEMIA. (SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO)

**I.- DATOS GENERALES**

1.1- Apellidos y nombres del experto: Mg. W. Felipe C. Cano P.  
 1.2- Cargo e institución donde labora: Q.F. Registro colegio profesional: 07767  
 1.3- Título profesional: Q.F.  
 1.4- Grado académico: MAGISTER Mención: SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO  
 1.5- Nombre de instrumento: SOLUBILIDAD DEL EXTRACTO  
 1.6- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia, le solicitamos que, en base a su criterio y experiencia profesional valide dicho instrumento.

Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

1.-Muy poco	2.-Poco	3.-Regular	4.-Aceptable	5.-Muy aceptable
-------------	---------	------------	--------------	------------------

N°	INDICADORES	CRITERIOS	PUNTUACION					
			1	2	3	4	5	
1.-	Claridad	El instrumento este con el lenguaje adecuado						✓
2.-	Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.						✓
3.-	Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y Tecnológicos.						✓
4.-	Organización	El instrumento tiene una organización lógica.						✓
5.-	Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elementos que conforman el instrumento.						✓
6.-	Intencionalidad	Es adecuado para relacionar las variables en mención.						✓
7.-	Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la farmacología como de la bioquímica.						✓
8.-	Coherencia	Existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y las variables.						✓
9.-	Metodología	La estrategia responde al propósito de la problemática de la investigación						✓
10.-	Pertinencia	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.						✓
Total parcial:								
Total:								

II.- OPINION DE APLICABILIDAD: CONFORME

III.- PROMEDIO DE VALORACION: 50

Puntuación	
11-20	No valido, reformular
21-30	No valido, modificar
31-40	Valido, mejorar
41-50	Valido, aplicar

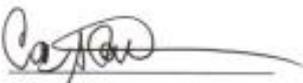
  
 FIRMA DEL EXPERTO

Figura N 52: Validación de instrumento del Anexo N 17 B

Anexo N 20 Instrumentos de Recolección de Datos.



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
 FICHA OBSERVACION AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA ACTIVIDAD  
 HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE  
*Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) EN RATAS INDUCIDAS

ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE								
DOSIS	GRUPO	RATA	GLUCOSA (mg/dL)					
			BASAL SIN INDUCCION	BASAL CON INDUCCION	7 DIA	14 DIA	21DIA	28DIA
Control negativo (sin induccion )	I	1						
		2						
		3						
		4						
		5						
		6						
		Promedio						
Hiperglicemicas sin tratamiento	II	7						
		8						
		9						
		10						
		11						
		12						
		Promedio						
Control positivo Glibenclamida 40 mg/kg	III	13						
		14						
		15						
		16						
		17						
		18						
		Promedio						
250 mg/ kg peso corporal	IV	19						
		20						
		21						
		22						
		23						
		24						
		Promedio						
500 mg/ kg peso corporal	V	25						
		26						
		27						
		28						
		29						
		30						
		Promedio						
1000 mg/ kg peso corporal	VI	31						
		32						
		33						
		34						
		35						
		36						
		Promedio						

Anexo N 21: VALIDACIÓN DEL Anexo N 20 A



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
**FACULTAD DE CIENCIA FARMACÉUTICA Y BIOQUÍMICA**  
**HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO**

FICHA OBSERVACION AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Lepechinia meyenii*(PACHA SALVA) EN RATAS INDUCIDAS A HIPERGLUCEMIA.(ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIOANTE).

**I. DATOS GENERALES**

1.1.- Apellidos y nombres del experto: Olivar Callejas, Gaire  
 1.2.- Cargo e institución donde labora: Coordinador de Asesoramiento de la Facultad-URVH  
 1.3.- Título profesional: Químico Farmacéutico Registro colegio profesional: 20522  
 1.4.- Grado académico: Bachiller Mención: ISO 17025  
 1.5.- Nombre de instrumento: Subscripción de Datos experimental con Alaxana  
 1.6.- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia, le solicitamos que, en base a su criterio y experiencia profesional valide dicho instrumento.

Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

1.-Muy poco	2.-Poco	3.-Regular	4.-Aceptable	5.-Muy aceptable
-------------	---------	------------	--------------	------------------

N°	INDICADORES	CRITERIOS	PUNTUACION					
			1	2	3	4	5	
1.-	Claridad	El instrumento esta con el lenguaje adecuado						✓
2.-	Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.						✓
3.-	Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y Tecnológicos.						✓
4.-	Organización	El instrumento tiene una organización lógica.						✓
5.-	Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elementos que conforman el instrumento.						✓
6.-	Intencionalidad	Es adecuado para relacionar las variables en mención.						✓
7.-	Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la farmacéutica como de la bioquímica.						✓
8.-	Coherencia	Existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y las variables.						✓
9.-	Metodología	La estrategia responde al propósito de la problemática de la investigación						✓
10.-	Pertinencia	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.						✓
Total parcial :								
Total :								

II. OPINION DE APLICABILIDAD: Corporar

III. PROMEDIO DE VALORACIÓN: 50

Universidad Peruana Cayetano Heredia  
 Servicio de Control de Calidad  
 CQFP 20522

Puntuación	
11-20	No valido, reformular
21-30	No valido, modificar
31-40	Valido, mejorar
41-50	Valido, aplicar

Figura N 53: Validación de instrumento del Anexo N 20 A

Anexo N 22: VALIDACIÓN DEL Anexo N 20 B



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**  
**FACULTAD DE CIENCIA FARMACÉUTICA Y BIOQUÍMICA**  
**HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO**

FICHA OBSERVACION AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Lepechinia meyenii* (PACHA SALVIA) EN RATAS INDUCIDAS A HIPERGLUCEMIA. (ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE).

I. DATOS GENERALES

1.1- Apellidos y nombres del experto Mg. J. Cabello A. Sano P.  
 1.2- Cargo e institución donde labora: Q.F. Registro colegio profesional: 07767 1.3- Título profesional: Q.F.  
 1.4- Grado académico: MAGISTER Mención:   
 1.5- Nombre de instrumento: ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE  
 1.6- Instrucciones: Luego de analizar el instrumento y cotejar la investigación con la matriz de consistencia, le solicitamos que, en base a su criterio y experiencia profesional valide dicho instrumento.

Nota: Para cada criterio considere la escala de 1 a 5 donde:

1.-Muy poco	2.-Poco	3.-Regular	4.-Aceptable	5.-Muy aceptable
-------------	---------	------------	--------------	------------------

Nº	INDICADORES	CRITERIOS	PUNTUACION				
			1	2	3	4	5
1.-	Claridad	El instrumento esta con el lenguaje adecuado					✓
2.-	Objetividad	El instrumento evidencia recojo de datos observables.					✓
3.-	Actualidad	El instrumento se adecua a los criterios científicos y Tecnológicos.					✓
4.-	Organización	El instrumento tiene una organización lógica.					✓
5.-	Suficiente	Son suficientes en cantidad y calidad los elementos que conforman el instrumento.					✓
6.-	Intencionalidad	Es adecuado para relacionar las variables en mención.					✓
7.-	Consistencia	Se basa en aspectos teóricos científicos de la farmacéutica como de la bioquímica.					✓
8.-	Coherencia	Existe coherencia y relación de los ítems, indicadores, las dimensiones y las variables.					✓
9.-	Metodología	La estrategia responde al propósito de la problemática de la investigación					✓
10.-	Pertinencia	El instrumento muestra la relación entre los componentes de la investigación y su adecuación al método científico.					✓
Total parcial :							
Total :							

II.- OPINION DE APLICABILIDAD: APLICABLE

III.- PROMEDIO DE VALORACION: 48

Firma del Experto

Puntuación	
11-20	No valido, reformular
21-30	No valido, modificar
31-40	Valido, mejorar
41-50	Valido, aplicar

Figura N 54: Validación de instrumento del Anexo N 20 B

**Anexo N 23: ANALISIS ESTADISTICO DE VARIANZA**

Control negativo (sin induccion )	Hiperglicemicas sin tratamiento	Control positivo Glibenclamida 40 mg/kg	250 mg/ kg peso corporal	500 mg/ kg peso corporal	1000 mg/ kg peso corporal	
107	565	96	174	210	112	
110	500	94	180	186	119	
100	540	94	188	180	112	
99	560	94	197	175	110	
108	510	89	200	190	104	
109	493	89	219	189	102	
<b>105.50</b>	<b>528.00</b>	<b>92.67</b>	<b>193.00</b>	<b>188.33</b>	<b>109.83</b>	
Análisis de varianza de un factor						
<b>RESUMEN</b>						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Control negativo (sin induccion )	6	633	105.5	22.7		
Hiperglicemicas sin tratamiento	6	3168	528	974		
Control positivo Glibenclamida 40 mg/kg	6	556	92.66666667	8.666666667		
250 mg/ kg peso corporal	6	1158	193	259.2		
500 mg/ kg peso corporal	6	1130	188.3333333	145.0666667		
1000 mg/ kg peso corporal	6	659	109.8333333	37.76666667		
<b>ANÁLISIS DE VARIANZA</b>						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F exp	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	817798.5556	5	163559.7111	678.01	0.00	2.53
Dentro de los grupos	7237	30	241.2333333			
Total	825035.5556	35				

Análisis estadístico de varianza

## Anexo N 24: ANALISIS ESTADISTICO PRUEBA DE TUKEY

Diferencia honestamente significativa			HSD	27.26537589	
Multiplicador (Valor Q alfa de tukey)			Mul	4.3	
Cuadrado de error medio (suma de cuadrados y grados de libertad entre grupos)			Mse	241.2333333	
Tamaño de cada uno de los grupos (número de elementos en cada grupo-cuenta)			n	6	
	<b>Hiperglicemicas sin tratamiento</b>	<b>Control positivo Glibenclamida 40 mg/kg</b>	<b>250 mg/ kg peso corporal</b>	<b>500 mg/ kg peso corporal</b>	<b>1000 mg/ kg peso corporal</b>
<b>Hiperglicemicas sin tratamiento</b>	-----	<b>435.33</b>	<b>335.00</b>	<b>339.67</b>	<b>418.17</b>

Análisis estadístico de prueba de Tukey



**Anexo N 25 MATRIZ DE CONSISTENCIA**  
**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**

TITULO:ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) EN RATAS INDUCIDAS A HIPERGLUCEMIA								
PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA	INSTRUMENTOS	METODOLOGIA
¿El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) presenta actividad hipoglucemiante en ratas inducidas a hiperglucemia?	Evaluar la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) en ratas inducidas a hiperglucemia.	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) presenta actividad hipoglucemiante en ratas inducidas a hiperglucemia.	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) .	Fitoquímica	Presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, aminoácidos, saponinas, triterpenoides, alcaloides.	Marcha fitoquímica .	Ficha de observación ad-hoc	<p style="text-align: center;">TIPO: La investigación que se realiza es de tipo experimental de enfoque cuantitativo.</p> <p style="text-align: center;">DISEÑO: Experimental</p> <p style="text-align: center;">NIVEL: Aplicativo</p> <p style="text-align: center;">POBLACIÓN</p>
PROBLEMA ESPECIFICO	OBJETIVOS ESPECIFICOS	HIPOTESIS ESPECIFICA	VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA	INSTRUMENTOS	
<p>¿Qué clases de metabolitos presentará el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA)?</p> <p>¿A qué dosis el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia</i></p>	<p>Identificar clases de metabolitos existentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) que se relacionan con la actividad hipoglucemiante.</p> <p>Determinar la actividad hipoglucemiante en varias</p>	<p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) contienen clases de metabolitos relacionados con la actividad hipoglucemiante.</p> <p>El extracto hidroalcohólico</p>	Actividad hipoglucemiante	Farmacológica Administración oral de las dosis 250mg/kg; 500mg/kg y 1000 mg/kg.	Diferencia de las medidas de glucosa en sangre, en ratas que presentan hiperglucemia.	Glucosa en sangre en mg/ dL	Glucometro Accu- chek ® "performa nano"	La población del estudio fitoquímico fueron arbustos de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) dentro de 20 m2 del distrito de Pucará, en la provincia de Huancayo, departamento de Junín a una latitud de -12,1675, altitud 3362 msnm, coordenadas geográficas 12010'20"S 75008'50" O.

<p><i>meyenii</i> (PACHA SALVIA) presentará actividad hipoglucemiante en ratas inducidas a hiperglucemia?</p> <p>¿Cuál será la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) en comparación a la glibenclamida?</p>	<p>dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) en ratas inducidas a hiperglucemia.</p> <p>Determinar la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) en comparación a la glibenclamida.</p>	<p>de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) presenta actividad hipoglucemiante a diferentes dosis.</p> <p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA) presenta actividad hipoglucemiante en comparación a la glibenclamida.</p>						<p>La población del estudio farmacológico fueron una camada de 200 ratas albinas (<i>Rattus norvegicus</i>)</p> <p>MUESTRA 2kg de hojas frescas de <i>Lepechinia meyenii</i> (PACHA SALVIA).</p> <p>45 ratas albinas (<i>Rattus norvegicus</i>) de la cepa Holtzman machos de 220-240 g de peso y 2 meses y medio de edad en buen estado de salud; adquiridas en la Universidad Cayetano Heredia.</p> <p>INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS : Ficha de recolección de datos</p> <p>a.- para la prueba de solubilidad b.- para la marcha fitoquímica c.- para la actividad hipoglucemiante.</p> <p>ANALISIS ESTADISTICO Software SPSS 22 ,ANOVA y test de Tukey.</p>
---	--	--	--	--	--	--	--	---

La versión del software es SPSS 22. Se utilizó ANOVA (análisis de varianza).

 **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° 235-USM-2018**

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

La muestra vegetal (planta completa) recibida de **Carmen Rosa López Cáceres y Judith Irene Olgado Fuentes**, estudiantes de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, ha sido estudiada y clasificada como: ***Lepechinia meyenii*** (Walp.) Epling; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: ASTERIDAE**

**ORDEN: LAMIALES**

**FAMILIA: LAMIACEAE**

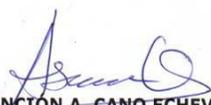
**GENERO: *Lepechinia***

**ESPECIE: *Lepechinia meyenii*** (Walp.) Epling

Nombre vulgar : "Pacha salvia"  
Determinado por: Blgo. Severo Baldeón Malpartida

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

Lima, 13 de junio de 2018

   
**M<sup>ca</sup>. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Figura N 55: Constancia del herbario de la UMMSM del Museo de Historia Natural

Anexo N 27



Figura N 56: Certificado de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por las ratas Holtzman

Anexo N 28

 UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

---

Servicio de Control de Calidad

Lima, 25 de julio del 2018

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

S.D.

Mediante la presente se pone en conocimiento lo siguiente:

La Bachiller **Olgado Fuentes, Judith Irene y López cánceres, Carmen Rosa**, egresadas de la facultad de ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la prestigiosa Universidad Inca Garcilaso de la Vega; están haciendo su tesis de Investigación en "Actividad Hipoglucemiante del extracto hidroalcoholico de las hojas de *Lepechinia meyenii* (Pacha Salvia) en ratas inducidas a hiperglicemia" en los laboratorios de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Se expide este documento para fines pertinentes.

Atentamente,

  
Bigo. **JULIO HIDALGO ASCENCIO**  
Coordinador de Toxicología

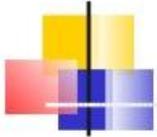
---

UNIVERSIDAD ACREDITADA INTERNACIONALMENTE CON MENCIÓN ESPECIAL EN  
INVESTIGACIÓN

Figura N 57: Certificado de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por el uso del laboratorio

## Anexo N 29

SEGÚN LAS NORMAS APA.



# Proceso de Muestreo

---

Tamaño de la Muestra.

- Fórmula:  
Población finita:  $n = Z^2 p * q N / e^2 (N-1) + Z^2 p * q$
- Donde:  
n = tamaño de la muestra.  
N= Población o universo.  
Z = nivel de confianza.  
p = probabilidad a favor.  
q = probabilidad en contra.  
e = error muestral.

Figura N 58: Proceso de muestreo

Fuente: <http://normasapa.net/wp-content/uploads/2016/11/muestreo-4-728-2.jpg>

### CALCULANDO:

$$n = 45 \times (1.96)^2 \times (1-0.50) \times 0.50 / (0.05)^2 \times (45-1) + (1.96)^2 \times 0.50 \times (1-0.50)$$

$$n = 40.37$$

Para garantizar una estimación con un nivel de confianza del 95% y una precisión de 5%.

### Anexo N 30

En la parte farmacológica tenemos 3 dosis que son: 250, 500 y 1000 de mg/Kg de peso.

Entonces eso quiere decir que se va a preparar una dosis de 250 mg por kg del animal, como la rata pesa en promedio de 240 gramos hacemos una regla de tres simples y sacamos la dosis para cada rata.

a.- 250mg-----1000g

X----- 240g

x= 60mg

b.- 500mg-----1000g

X-----240g

x= 120mg

c.- 1000mg-----1000g

X-----240g

x= 240mg

60mg x 6 ratas = 360mg

360mgx 7dias=2520mg

Entonces pesamos 2.52 g del extracto, disuelto en 42ml de agua destilada.

Como cada grupo consiste de 6 animales y la aplicación es diaria podemos sacar por el total de ratas y de los días aplicados.

De igual forma pasa con el fármaco de Glibenclamida que es de 5 mg de activo. Se pesó un promedio de 20 tabletas con un promedio de 100 miligramos (0.10 g) por tableta.

Eso quiere decir que por cada 100 mg tenemos 5 mg de Glibenclamida, y nuestra dosis es de 40 mg/Kg . Entonces aplicamos la regla de tres simples.

40 mg -----1000g

X-----240g

X = 9.6 mg x cada rata.

100mg-----5mg

X-----9.6 mg

X= 192 mg x 6 animales= 1152 mg x 7dias= 8.064 g x 4 semanas= 32.26 g

Entonces para todo el procedimiento se usa 32.26 g de glibenclamida, disuelto en 168 ml de agua destilada.