

T
615.19
A62

**NO SALE A
DOMICILIO**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

TÍTULO

“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam.

Presentado por

Bach. APAGÜEÑO ARÉVALO CLAUDIO ADRIANO

Bach. DÁVILA LAGE JUNIOR JAIR

Asesora:

Ing. MARITZA GRANDEZ RUIZ Dra.

Co-Asesora:

Q.F. PATRICIA UTIA TORREJÓN

Iquitos-Perú

2012



00103

PRESENTE POR:
APAGÜEÑO ARÉVALO CLAUDIO ADRIANO
4010 A.
Iquitos, 25 de 09 de 2013



UNAP



Facultad de Farmacia y Bioquímica

"Año de la Integración Nacional y el Reconocimiento de Nuestra Diversidad"

ACTA DE SUSTENTACION

En la ciudad de Iquitos, Provincia de Maynas, Departamento de Loreto, a los 31 días del mes de DICIEMBRE del dos mil doce, siendo las 10:20 horas, los Miembros del Jurado Calificador de Tesis designados según Resolución de Coordinación N° 157-FFB-UNAP-2012, integrados por los señores docentes que a continuación se detalla:

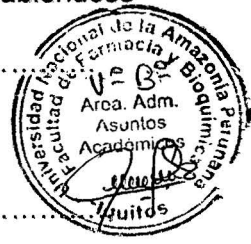
- Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Mgr. Presidenta
- Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG Miembro
- ING. REYNA GLADYS CÁRDENAS DE REÁTEGUI Miembro



Se constituyeron en el Auditorio de la Facultad de Ingeniería Química, para proceder a dar inicio al Acto Académico de Sustentación Pública de la Tesis Titulada "EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam.", presentado por los Bachilleres: CLAUDIO ADRIANO APAGÜÑO ARÉVALO y JUNIOR JAIR DÁVILA LAGE, para optar el TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO, que otorga la UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA, de acuerdo a la Ley Universitaria N° 23733 y el Estatuto General de la UNAP vigente.

Luego de haber escuchado con atención la exposición de los sustentantes, y habiéndose formulado las preguntas respectivas, las cuales fueron respondidas:

SATISFACTORIAMENTE



Los miembros del Jurado Calificador llegaron a las siguientes conclusiones:

- 1.- La Tesis ha sido APROBADO POR EXCELENCIA
- 2.- Observaciones NINGUNA

Siendo las 11:30 horas se dio por concluido el Acto Académico de Sustentación Pública de la Tesis, felicitándoles a los sustentantes por su EXCELENTE EXPOSICION

Frída Enríqueta Sosa Amay

Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Mgr.
Presidenta

Henry Vladimir Delgado Wong

Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG
Miembro

Reyna Gladys Cardenas de Reategui

ING. REYNA GLADYS CÁRDENAS DE REÁTEGUI
Miembro

RESUMEN

Se determinó el tamizaje fitoquímico, actividad toxicológica y efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. a dosis de 250 mg/kg P.C. y 500 mg/kg de P.C. Se realizó un estudio descriptivo, experimental-prospectivo. En el tamizaje fitoquímico se utilizaron diferentes reactivos para la identificación de los metabolitos secundarios tales como: alcaloides (reactivo Dragendorff) presentó una coloración de rojo a naranja, taninos (FeCl₃) coloración azul, flavonoides (Shinoda) coloración rojo, saponinas presencia de espuma y azúcares reductores (reactivo de Fehling) un precipitado rojo. En la toxicología se realizó el ensayo de toxicidad sub-crónica a dosis repetida durante 14 días, en esta prueba se utilizaron ratas albinas de la cepa Holtzmann de ambos sexo, 24 machos y 24 hembras con un peso promedio de 220 + 10 g divididos en seis grupos, 2 grupos de control negativo y cuatro grupos de la muestra problema; el extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. a dosis 250 y 500 mg/kg/P.C. se administró a diario por 14 días y se registró el peso corporal de las ratas cada 3 días, durante el tiempo de estudio, no se observó signos de toxicidad, sus peso corporal permaneció constante y similares a los controles negativos, en la observación macroscópica de los órganos no presentó alteración alguna, estuvo dentro de los valores normales establecidos, en el análisis histopatológico de los hígados no presentó anomalías. En la farmacología se determinó la actividad hipoglucemiante, la hiperglicemia inducida en ratas albinas machos cepa Holtzmann mediante el estudio experimental. Los extractos a dosis de 250 y 500 mg/Kg P.C. se administraron por vía oral después de la primera semana de la inducción de diabetes experimental con solución de estreptozotocin (administrado por vía intraperitoneal) a ratas albinas normoglicémicos con previo ayuno de 12 horas. 40 ratas fueron asignadas aleatoriamente a 4 grupos; el primer grupo recibió glibenclamida (control positivo), el segundo grupo recibió suero fisiológico (control negativo) y los otros 2 grupos recibieron las dosis correspondientes de la planta en estudio (*Alternanthera halimifolia* a dosis de 250 y 500 mg/kg P.C.), después de administrar las respectivas sustancias, se cuantificó la glicemia a los 7, 14, 28 y 35 días. Al final del estudio se realizó la eutanasia de todos los animales por dislocación cervical.

Según los resultados el extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. a dosis de 250 mg/kg P.C. disminuye los niveles de glucosa en un 47.69% (7-35 días) de estudio y *Alternanthera halimifolia* Lam. dosis de 500 mg/kg P.C. disminuye los niveles de glucosa en 52.07% (7-35 días) de estudio; siendo la dosis de 500 mg/Kg P.C. la que más se aproximó al control positivo (glibenclamida con una disminución de 65.89%). Encontrándose disminución y aumento estadístico significativo ($p < 0.05$) de la glicemia, comparado con el basal hiperglucémico y los grupos controles (positivo y negativo).

Palabras claves: *Alternanthera halimifolia* Lam., tamizaje fitoquímico, dosis repetida, actividad hipoglicemiante, ratas albinas cepa holtzmann.

ABSTRACT

We determined the phytochemical screening, toxicological activity and hypoglycemic effect of the ethanolic extract of *Alternanthera halimifolia* Lam. With a dose of 250 mg/kg P.C. and 500 mg/kg P.C. We developed a descriptive, prospective-experimental study. In the phytochemical screening, we used different reagents for the identification of secondary metabolites such as: Alkaloids (Dragendorff reagent) presented a color from red to orange, Tannins (FeCl₃ reagent) presented a blue color, Flavonoids (Shinoda) presented a red color, and reducing sugars (Fehling reagent) with a precipitated red color. In toxicology, we did a test of sub-chronic toxicity with a dose held for 14 days; in this test we used Holtzmann albino rats and they were of both sexes, 24 males and 24 females with an average weight of 220 ± 10 g were divided into 6 groups, 2 negative control groups and 4 groups of test sample, the ethanol extract of *Alternanthera halimifolia* Lam. with a dose of 250 and 500 mg/kg P.C. was administered daily for 14 days and the body weight was registered every 3 days during the study, signs of toxicity were not observed, body weight remained constant and similar to the negative controls; in the macroscopic observation of the organs did not show any alteration, these were within established values and histopathological analysis of livers there was no abnormality. In pharmacology was determined the hypoglycemic activity, the hyperglycemia induced in male albino rats in the experimental study. The extracts with a dose of 250 and 500 mg/kg P.C. were administered orally after the first week of the induction of experimental diabetes with streptozotocin solution (administered intraperitoneally) to albino normoglycemic rats without food for 12 hours. 40 rats were randomly assigned to 4 groups: the first group received glibenclamide (positive control), the second group received physiological saline (negative control) and the other 2 groups received the doses of the plant under study (*Alternanthera halimifolia* with a dose of 250 and 500 mg/kg P.C.) after the administration of the substances, glycaemia was quantified at 7, 14, 28 and 35 days. At the end of the study were euthanized all the animals by cerebral dislocation. According to the results, the ethanol extract of *Alternanthera halimifolia* Lam. with a dose of 250 mg/kg P.C. reduces the glucose level in a 47.69% (7-35 days of study) and *Alternanthera halimifolia* Lam. with a dose of 500 mg/kg P.C. reduces glucose levels in a 52.07% (7-35 days of study), being the dose of 500 mg/kg P.C. that was closer to the positive control (glibenclamide with a decrease of 65.89%). For that reason, we found statistically a significant decrease and increase ($p < 0.05$) of glycemia compared with basal hyperglycemic and control groups (positive and negative).

Keywords: *Alternanthera halimifolia* Lam., phytochemical screening, repeated dose, hypoglycemic activity, Holtzmann albino rats.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a una persona que influyó en mi desarrollo personal y mi futuro profesional, el que me inspiró a enfocarme en el tema de mi tesis mi abuelito ORESTES APAGÜEÑO RIOS⁺ para tivejez con cariño.

A mis padres Régulo Apagüeño y Patricia Arévalo por su apoyo incondicional y estima para lograr uno de mis objetivos personales, no los decepcionare.

A mis hermanos Ángel, Karina; Paolo, y a toda mi familia en general que siempre están cuando se los necesita.

A todos los alumnos de esta prestigiosa facultad de farmacia y bioquímica que luchan día a día por ser los mejores y dejar en alto el nombre de nuestra primera casa de estudios.

De: *Claudio Adriano Apagüeño Arévalo*

Dedico este trabajo a las 2 personas mas admirables y maravillosas de este mundo, a mí madre Marissa Lage y a mí mamita Isabel del Castillo, por que son mi motivación para salir adelante.

A mis hermanos Franco, Jose Luis y Angélica, para que tengan como ejemplo lo que estoy logrando; que con esfuerzo y dedicación se logran las cosas. A toda mi familia en general por que siempre están pendientes y apoyándome en lo que realizo.

A mis papito Lizardo Lage⁺ que fue un padre ejemplar y admirado por todos sus hijos y nietos, fue la persona que hizo que mí vida cambie totalmente. Gracias papito por todos los consejos.

A nuestros compañeros y amigos: Raúl, Alex, Stephani, Eveling, Adrian, Génesis, Jonathan⁺, Greysi, Alexander, Jeanneth, Cinthya, Glendy, Giraldo, Ivonny, Selene, Manrique, Aldo, Pelegrino, Miguel, Jim Anthony, Arturo, Eddie, Luna, Neyser, Char-Franck, Luis Alberto, Norma y a todos los demás chicos que compartieron momentos inolvidables en las aulas de la universidad y que jamás olvidaremos por que la amistad es el valor que enseña que en lo bueno y lo malo siempre están allí haciendo ruido o en silencio.

De: *Junior Jair Dávila Lage*

AGRADECIMIENTO

A Dios y a nuestros padres por darnos la vida y las enseñanzas para afrontar los obstáculos que se presentan y presentaran en este largo camino de la vida.

A nuestras profesoras, asesoras, orientadoras pero sobre todo amigas MARITZA GRANDEZ RUIZ y PATRICIA UTIA TORREJON por todo el apoyo, paciencia y comprensión que nos tienen, por confiar en nosotros y brindarnos sus conocimientos.

A nuestros profesores y amigos CHARLES OCAMPO FALCON y HENRY DELGADO WONG por orientarme y brindarme sus conocimientos que son útiles en mi vida personal e indispensable en la parte laboral.

A nuestro amigo Jorge Mesía Pinto-Catalao por su apoyo en el desarrollo de este proyecto de tesis.

INDICE

| | Pág. |
|---|-------------|
| CAPÍTULO I | 01 |
| I.- INTRODUCCION | 02 |
| Planteamiento del problema | 03 |
| II.- OBJETIVOS | 04 |
| Generales | 04 |
| Específicos | 04 |
| CAPÍTULO II | 05 |
| III.- MARCO TEORICO | 06 |
| Antecedentes | 06 |
| Clasificación taxonómica | 08 |
| Descripción botánica | 09 |
| Estudios químicos | 10 |
| Diabetes | 10 |
| Diabetes tipo 1 | 11 |
| Diabetes tipo 2 | 12 |
| Diferencia entre diabetes tipo 1 y tipo 2 | 13 |
| Signos y síntomas | 15 |
| Insulina | 17 |
| Glibenclamida | 18 |
| Toxicología | 19 |
| Toxicología aguda | 20 |
| Toxicología a dosis repetida | 21 |
| Métodos de inducción de Diabetes | 22 |
| Alloxano | 22 |
| Estreptozotocin | 23 |

| | |
|--|----|
| IV.-DEFINICIONES OPERACIONALES | 25 |
| Operacionalizacion de variables independientes | 26 |
| Operacionalizacion de variables dependientes | 27 |
| V.- HIPOTESIS | 30 |
| CAPÍTULO III | 31 |
| VI.- METODOLOGIA | 32 |
| CAPÍTULO IV | 41 |
| Resultados | 42 |
| Discusión | 60 |
| Conclusión | 66 |
| Recomendaciones | 67 |
| Referencias Bibliográficas | 68 |
| Definición de términos | 77 |
| Anexos | 79 |

INDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|---|------|
| FIGURA 1.- Diagrama beta-oxidación de la glucosa | 13 |
| FIGURA 2.- Diagrama disminución de la concentración intracelular de mioinositol | 13 |
| FIGURA 3.- Diagrama glucosilación de la albúmina | 14 |
| FIGURA 4.- Diagrama glucosilación de la hemoglobina | 14 |
| FIGURA 5.- Células del páncreas | 14 |
| FIGURA 6.- Células del páncreas | 14 |
| FIGURA 7.- Peso promedio (g) de las ratas de sexo macho durante el tratamiento | 43 |
| FIGURA 8.- Peso promedio (g) de las ratas de sexo hembra durante el tratamiento | 44 |
| FIGURA 9.- Concentración sérica de glucosa basal/hiperglicemia/35 días | 48 |
| FIGURA 10.- Promedio de glucosa sérica en los grupos de tratamiento | 50 |
| FIGURA 11.- Porcentaje de variación de glucosa entre el 7 al 35 día | 51 |
| FIGURA 12.- Variación de pesos de los grupos de tratamiento | 53 |
| FIGURA 13.- Relación peso/glucosa basal de los grupos de tratamiento | 55 |
| FIGURA 14.- Relación peso/glucosa al día 7 de tratamiento | 56 |
| FIGURA 15.- Relación peso/glucosa al día 14 de tratamiento | 57 |
| FIGURA 16.- Relación peso/glucosa al día 28 de tratamiento | 58 |
| FIGURA 17.- Relación peso/glucosa al día 35 de tratamiento | 59 |

INDICE DE TABLAS

| | Pág. |
|---|------|
| TABLA 1.- Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de <i>Alternanthera halimifolia</i> Lam | 42 |
| TABLA 2.- Peso promedio de las ratas de sexo macho con * $p > 0.05$ durante el tratamiento | 43 |
| TABLA 3.- Peso promedio de las ratas de sexo hembra con * $p > 0.05$ durante el tratamiento | 44 |
| TABLA 4.- Identificación macroscópica de los órganos de las ratas de sexo macho | 45 |
| TABLA 5.- Identificación macroscópica de los órganos de las ratas de sexo hembra | 46 |
| TABLA 6.- Porcentaje de peso relativo de órganos de ratas albinas de sexo macho | 47 |
| TABLA 7.- Porcentaje de peso relativo de órganos de ratas albinas de sexo hembra | 47 |
| TABLA 8.- Concentración sérica de glucosa basal/hiperglicemia/35 días | 48 |
| TABLA 9.- Promedio de glucosa sérica en los grupos de tratamiento | 49 |
| TABLA 10.- Porcentaje de variación de glucosa entre el 7 al 35 día | 51 |
| TABLA 11.- Variación de pesos de los grupos de tratamiento | 52 |
| TABLA 12.- Relación de peso corporal/glucosa sérica durante tiempo de tratamiento | 54 |

TÍTULO

**“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera
halimifolia* Lam.**

CAPITULO I

1. INTRODUCCION

La Diabetes Mellitus es un desorden metabólico que afecta a aproximadamente 143 millones de personas en el mundo y de acuerdo a las proyecciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se espera que en el año 2030 el número de pacientes diabéticos se aproxime a 300 millones.⁽¹⁰⁾ La medicina tradicional como parte esencial de la cultura de los pueblos, ha sido durante siglos el único sistema guardián de las generaciones pasadas donde, casi el 80% de los habitantes de la tierra confían en ella para resolver sus principales necesidades de salud, está basada como todo conocimiento empírico en la observación y la experiencia, realizadas éstas en el entorno medioambiental específico de cada grupo humano y desde la perspectiva sociocultural propia.⁽⁶⁸⁾

El 2011 en el Perú, los estudios realizados por el Dr. M. Zubiato, han reportado cifras de prevalencia de Diabetes Mellitus tipo 2 que oscilan entre el 1.6% encontrando en Lima, 0.4% en Cusco, 1.8% en Pucallpa, hasta el 5% encontrado en Piura.⁽⁶⁸⁾ El Perú posee unas 25000 especies de plantas conocidas, de las cuales se utilizan 1400 especies con propiedades medicinales de uso popular y solo un pequeño porcentaje de estas y sus derivados se comercializan dentro y fuera del país. El uso de extractos vegetales es una alternativa válida para la población, dadas las bajas condiciones económicas y la poca accesibilidad de la población de escasos recursos a las instituciones de salud, por tanto surge como una opción la medicina natural y alternativa, las cuales revaloran el uso de plantas medicinales con acciones preventivas o curativas sobre algunas afecciones o sintomatologías.

Dentro de estas plantas medicinales usadas en etnofarmacología, se encuentra *Alternanthera halimifolia* Lam. "ojo de pollo", la cual posee una importante propiedad terapéutica frente a la Diabetes Mellitus, sin embargo existen poca información sobre el estudio preclínico farmacológico y toxicológico de la misma. Considerando el uso de las plantas medicinales, en la medicina tradicional y que nuestro país presenta una alta tasa de personas con Diabetes Mellitus, se hace necesario realizar una investigación sobre la actividad toxicológica e

hipoglucemiante de *Alternanthera halimifolia* Lam. "ojo de pollo", para determinar la inocuidad y efectividad de la misma.

En el 2010 en la región Loreto, la Diabetes Mellitus fue la tercera causa de morbilidad siendo mayor en personas de 50 años en un 5 % según datos del Hospital Regional de Loreto.⁽³⁵⁾ En la Provincia de Maynas, en los meses de enero a septiembre del 2001 se registraron 1500 casos en el distrito de Iquitos. Según el perfil epidemiológico del Hospital III-EsSALUD-Iquitos, en nuestra ciudad la diabetes está dentro de las primeras 5 enfermedades de importancia; es una de las enfermedades que genera gran discapacidad y altos costos asociados a sus complicaciones. El tratamiento de primera línea para la diabetes, es la dieta y el tratamiento farmacológico que controla la hiperglucemia en ayunas y postprandial, sin embargo la ciencia sigue buscando nuevas moléculas que controlen mejor la hiperglucemia y tengan menos efectos adversos.^(38,51) En la actualidad existe una amplia riqueza de plantas usadas en la medicina tradicional, pero se conoce poco o nada sobre el efecto tóxico que pudiera causar, por tanto se hace necesario la realización de un estudio toxicológico el cual aportará mayor información sobre los peligros que puede causar el uso de éstas para la salud humana.

De acuerdo a lo planteado y basándonos en las revisiones etnobotánicas, ya que reporta su uso para el tratamiento de la diabetes mellitus en nuestra región⁽¹⁴⁾ se hace necesario un estudio para determinar la efectividad e inocuidad de extractos de plantas como *Alternanthera halimifolia* Lam.

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

Por lo que en el presente trabajo se plantea: ¿Qué efecto tóxico e hipoglucemiante tiene el extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. en ratas albinas?

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

2. OBJETIVOS:

2.1. General

Determinarla fitoquímica y la actividad toxicológica e hipoglucemiante del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. en ratas albinas cepa Holtzmann.

2.2. Específicos

- Obtener el extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam.
- Realizar el tamizaje fitoquímico de la dosis con mayor actividad hipoglucemiante, del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam.
- Determinar la toxicidad sub-crónica a Dosis Repetida del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam., a dosis de 250 mg/Kg P.C. y 500 mg/Kg P.C. en ratas albinas cepa Holtzmann.
- Determinarla actividad hipoglucemiante del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam., a dosis de 250 mg/Kg P.C. y 500 mg/Kg P.C. en ratas albinas cepa Holtzmann.

CAPITULO II

3. MARCO TEÓRICO

3.1 ANTECEDENTES

3.1.1 ESTUDIOS FARMACOLÓGICOS

Lastra, J. (2000), menciona que el género *Alternanthera* de la familia *Amaranthaceae* se utiliza como antiinflamatorio y contra la diabetes.⁽⁴²⁾

Deas, M.*et al.* (1997), mencionan que en su estudio sobre el efecto hipoglucemiante del *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada) utilizaron el método de glucosa oxidasa para medir glicemia.⁽¹⁸⁾

Miyamoto, K.*et al.* (1996), reportan que debido a las propiedades antioxidantes que poseen los taninos, éstos han sido usados para diversas enfermedades incluyendo cáncer, enfermedades cardiovasculares y artritis.⁽⁴⁴⁾

Guerra J. *et al.* (2001), reportan que en su evaluación del efecto hipoglucemiante del extracto de *Aloe vera* L. en ratas, trabajaron con insulina y tolbutamida como control positivo. Además utilizaron alloxano a dosis de 200 mg/Kg P.C. por vía intraperitoneal para inducir hiperglucemia en ratas Wistar.⁽³⁰⁾

Rojo, D. *et al.* (2002), determinaron la concentración de glucosa en sangre de las ratas de laboratorio en los periodos de evaluación de 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 min. mediante el método de glucosa oxidasa en un analizador automático de la Boheringer Mnheim modelo Hitachi System 704.26.⁽⁵⁹⁾

Naranjo, J.*et al.* (2003), mencionan que los alcaloides y flavonoides presentes en el extracto de *Tecomastans* Linn, son los posibles responsables de la acción hipoglucemiante y el efecto

“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam.”

mostrado por la dosis máxima (500 mg/Kg) evaluada en roedores en comparación con la glibenclamida.⁽⁴⁶⁾

Sifuentes, E. (2004), evaluó la actividad hipoglucemiante de los frutos de *Solanum sessiliflorum* a dosis de 250 y 500 mg/Kg P.C., demostrando la efectividad del alloxano para inducir diabetes experimental y la actividad de *Solanum sessiliflorum* para disminuir la glucosa en sangre de ratas hiperglucemias a dosis de 250 mg/Kg P.C.⁽⁶³⁾

Campos, M. (2005), sostiene que en su tesis acerca del estudio farmacognóstico y determinación de la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso del fruto de *Solanum sessiliflorum* “cocona” en ratas albinas con diabetes alloxánica, la dosis de 1000 mg/Kg P.C. de este extracto disminuyó las concentraciones de glucosa sanguínea.⁽¹³⁾

Grandez, M. *et al.* (2005), menciona que el extracto etanólico de *Solanum sessiliflorum* (cocona) a la dosis de 250 y 500 mg/Kg P.C. presenta actividad hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes alloxánica.⁽²⁶⁾

3.1.2. ESTUDIOS TOXICOLÓGICOS

Sánchez Yactayo, G. (2010), refiere que el estudio del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Uncaria guianensis* (Aubl) Gmel. administrada por vía oral, a dosis de 100 y 300 mg/Kg P.C. no provoca signos clínicos de toxicidad en ratas albinas cepa Holtzmann, durante los 90 días de evaluación.⁽⁶¹⁾

Tenazoa Wong, D. (2006), nos dice que el extracto acuoso liofilizado de *Uncaria guianensis* (Aubl) Gmel. a dosis de 100 y 300 mg/Kg P.C. no presenta signos clínicos de toxicidad en ratas albinas cepa Holtzmann, durante 90 días.⁽⁶⁶⁾

3.2. CLASIFICACION TAXONOMICA DE LA *Alternanthera halimifolia* Lam. "ojo de pollo"

Clasificación taxonómica planteada por Epíteto Específico Lam:

| | |
|-------------------|---|
| Reino | : Plantae |
| Phylum | : Magnoliophyta |
| Clase | : Magnoliopsida |
| Orden | : Caryophyllales |
| Familia | : Amaranthaceae |
| Género | : <i>Alternanthera</i> |
| Especie | : <i>Halimifolia</i> |
| Nombre Científico | : <i>Alternanthera halimifolia</i> Lam. |
| Nombre Común | : ojo de pollo |

3.2.1 Características generales de la especie

Hierbas anuales o perennes, ocasionalmente subarbustos o arbustos, a veces, con tallos suculentos, generalmente con anillos concéntrico de haces vasculares, ocasionalmente con fotosíntesis tipo C4. Hojas con nervadura pinnada, venas poco visibles, a veces suculentas, sin estípulas, alternas u opuestas, simples, enteras u onduladas, a veces aserradas o lobadas. Flores dispuestas en cimas densas, axilares o terminales, con brácteas y bractéolas que por sus colores, frecuentemente son la parte más atractiva de las inflorescencias. Flores bisexuales, raro unisexuales, sésiles o brevemente pediceladas; perianto reducido, frecuentemente inaparente, con simetría radial; 3-5 tépalos libres o ligeramente soldados; androceo con los estambres opuestos a los tépalos, en general en igual número, filamentos a menudo soldados en la base; ovario con 2-3 carpelos, súpero, con placentación parietal, estigmas 1-3, elongados o capitados, primordio seminal 1 a escasos. Fruto generalmente un aquenio, utrículo o cápsula circuncisa (pixidio), generalmente acompañado de perianto y o brácteas persistentes, secas o

carneas; semillas con embrión curvo o doblado espiralmente, con presencia de perispermo en reemplazo del endosperma. ⁽⁴⁰⁾

Familia cosmopolita muy numerosa con más de 2300 especies, generalmente presente en zonas alteradas, áridas u ocupando hábitats salinos. Algunas especies pueden penetrar como malezas en regiones más frías o áridas, pero la mayoría se encuentra en áreas más cálidas. Algunos representantes son más o menos acuáticos. ⁽⁴⁰⁾

3.2.2. Descripción botánica de *Alternanthera halimifolia* Lam.

Tallos o difusión y enraizamiento o ascendente y la formación de arbustos de 1 m de altura, tallos ramificados, glabros o más o menos hirsutas con pelos estrellados; hojas elípticas a ovadas, 2-10 cm de largo, 6.1 cm de ancho, agudas en el ápice y mucronulate, cuneadas o atenuadas en la base; pelos estrellados más numerosos por debajo de las anteriores; cabezas de flores axilares, redondeadas o subcilíndricas, de 4-8 mm de largo, 6 mm de ancho; flores ligeramente imbricadas o subsquarrose, glabro o pubescente con tricomas simples, las brácteas y bracteolas ovadas, acuminadas, de unos 3 mm de largo, sépalos triangular-lanceoladas, agudas a acuminadas, sépalo externo 3.5 -4 mm largos, interior 2,5-3 mm de largo, anteras 1-1.5 mm de largo; laciniada pseudostaminodia, algo más corta de poco más largo que los estambres.

Desde Chile hacia el norte a lo largo de la costa de Ecuador, pero se encontró también como una mala hierba ocasionalmente lejos de esta zona, se produce la mayor parte del archipiélago de las tierras bajas áridas del cimero de las montañas húmedas, a veces constituyen una parte importante de la vegetación del terreno en el bosque de Scalesia. Ejemplares examinados: Isabel, San Cristóbal, San Salvador, Santa Cruz. La diferencia en el tamaño de la hoja es grande y parece ser una respuesta directa al medio ambiente. ⁽³⁾

3.2.3. Usos tradicionales:

Alternanthera halimifolia Lam. es usado por su propiedad hipotensora y para el tratamiento de la diabetes; en la sierra esta planta se usa para distensiones musculares. ⁽²²⁾

3.2.4. Estudios químicos:

Alternanthera halimifolia Lam. presenta alcaloides, triterpenos, carotenos, azúcares reductores, saponinas, fenoles y taninos, principios amargos y flavonoides. ⁽⁶⁴⁾

3.3. DIABETES

La Diabetes Mellitus es un desorden metabólico que afecta a aproximadamente 143 millones de personas en el mundo y de acuerdo a las proyecciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se espera que en el año 2030 el número de pacientes diabéticos se aproxime a 300 millones ^(10,67) Es una enfermedad caracterizada por la desregulación del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, debido a una completa o relativa insuficiencia en la secreción y/o acción de la insulina. ⁽⁴⁹⁾

Diabetes Mellitus es una enfermedad caracterizada por el desorden del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, debido a una completa o relativa insuficiencia en la secreción y/o acción de la insulina; ⁽⁴³⁾ así, la hipertrigliceridemia está relacionada con la resistencia a la insulina y la intolerancia a la glucosa observada en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2. ⁽²⁸⁾ El estrés oxidativo y el daño tisular resultante son características de las enfermedades crónicas y parecen ser el elemento clave en la producción de complicaciones secundarias durante la Diabetes. ⁽⁹⁾

La Diabetes se caracteriza por el exceso de glucosa (azúcar) en la sangre y ocurre cuando el páncreas, una glándula situada debajo del estómago, no produce suficiente insulina. La insulina es la hormona necesaria para llevar el azúcar desde la sangre hasta las células. Las células utilizan el azúcar como energía para hacer funcionar el cuerpo. Cuando el cuerpo no tiene suficiente insulina, el azúcar se acumula en la sangre en niveles elevados y pone a la persona en riesgo de que sufra serios problemas de salud, incluyendo:

La Diabetes es una enfermedad en la que el organismo no produce insulina o no la utiliza adecuadamente. La insulina es una hormona necesaria para transformar el azúcar, el almidón y otros alimentos en la energía que necesitamos para nuestra vida cotidiana. Aunque tanto los

factores genéticos como medioambientales, tales como la obesidad y la falta de ejercicio, parecen desempeñar roles importantes, la causa de la diabetes continúa siendo un misterio.

Para determinar si un paciente tiene Diabetes latente o Diabetes, los profesionales de la salud realizan una prueba de glucosa en el plasma en ayunas (GPA) o una prueba oral de tolerancia a la glucosa (POTG). Con cualquiera de esas dos pruebas, puede diagnosticarse la diabetes latente o la diabetes. La American Diabetes Association recomienda la prueba de GPA porque es más económica, rápida y fácil de realizar.

La Diabetes Mellitus se clasifica en los siguientes tipos:

3.3.1 Diabetes Tipo 1

También conocida como Diabetes juvenil o Diabetes dependiente de la insulina (insulina-dependiente), es una enfermedad crónica en la que el páncreas produce escasa o nula cantidad de insulina, que es la hormona necesaria para convertir a la glucosa en energía. Aunque este tipo de Diabetes puede desarrollarse a cualquier edad, no obstante es típico que se haga patente clínicamente en la edad infantil o en la adolescencia.⁽⁴⁾

La glucosa es la principal fuente de energía de las células de los músculos y de otros tejidos. El aporte de la necesaria glucosa procede de los alimentos y del hígado. Durante la digestión, la glucosa es absorbida por la mucosa intestinal y pasa a la sangre. En circunstancias normales, la glucosa llega al interior de las células con la ayuda de la hormona insulina.

La hormona insulina procede del páncreas, donde es elaborada por unas células aglomeradas en los islotes de Langerhans. Cuando se come el páncreas libera insulina en la corriente sanguínea. Cuando la insulina circula por la sangre actúa como una llave que abriera unas microscópicas puertas que permitieran la entrada de la glucosa en el interior de las células: la consecuencia inmediata es que la actividad de la insulina hace descender el nivel de la glucosa circulante en la sangre o glucemia. Cuando el nivel de la glucemia desciende también desciende la secreción de insulina por el páncreas.

El hígado actúa como un órgano central para el almacenamiento y la manufactura de glucosa. Cuando bajan los niveles de insulina (por ejemplo, cuando uno lleva tiempo sin comer) el hígado libera la glucosa almacenada para mantener sus niveles dentro de la normalidad.

En la Diabetes tipo 1, es el sistema inmunitario (un sistema eminentemente defensivo) el que ataca y destruye a las células pancreáticas que producen la insulina (enfermedad por mecanismo autoinmunitario): la consecuencia es que el individuo con diabetes tipo 1 produce escasa o ninguna insulina, por lo que la glucosa, en lugar de ser transportada al interior de las células, se acumula en la corriente sanguínea (hiperglucemia).

3.3.2 Diabetes Mellitus Tipo 2

La Diabetes Mellitus tipo 2 es una enfermedad que dura toda la vida, caracterizada por altos niveles de azúcares en la sangre. Se presenta cuando el cuerpo no responde correctamente a la insulina, una hormona secretada por el páncreas. La Diabetes Mellitus tipo 2 es la forma más común de esta enfermedad. ⁽⁴⁾

La mayoría de los alimentos que comemos se convierten en glucosa. El páncreas, uno de los órganos cerca del estómago del cuerpo, crea una hormona que se llama insulina para ayudar al cuerpo a usar la glucosa. En las personas con Diabetes, la insulina no funciona bien. Como consecuencia, el contenido de azúcar y grasa en sangre aumenta. ⁽³⁷⁾

Por lo general la Diabetes Mellitus tipo 2 se desarrolla gradualmente. La mayoría de las personas con esta enfermedad tienen sobrepeso en el momento del diagnóstico. Sin embargo la Diabetes Mellitus tipo 2 puede presentarse también en personas delgadas, especialmente en los ancianos. ⁽³⁷⁾

Los antecedentes familiares y genéticos juegan un papel importante en la Diabetes Mellitus tipo 2. Un bajo nivel de actividad, una dieta deficiente y el peso excesivo (especialmente alrededor de la cintura) aumentan significativamente el riesgo de desarrollar este tipo de Diabetes. ⁽²⁴⁾

**“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam.”**

A. Transporte de Glucosa en el Organismo

Para que la glucosa entre en la célula es necesario 2 condiciones: que las células tengan suficientes receptores y que la insulina sea capaz de abrir los receptores de las células.

Los transportadores de glucosa en sangre son: GLUT 1: Todos los tejidos, especialmente eritrocitos y neuronas. GLUT 2: Células beta de los islotes de Langerhans, hígado, riñón e intestino GLUT 3: Neuronas del encéfalo, riñón, placenta y otros tejidos. GLUT 4: Músculo y tejido adiposo. GLUT 5: Intestino y Riñón.

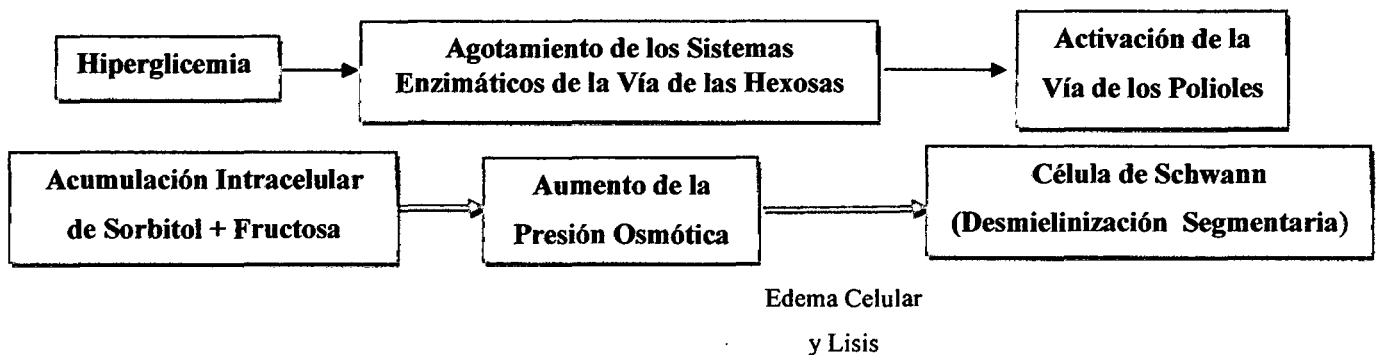


Figura 01. Diagrama Beta-Oxidación de la Glucosa

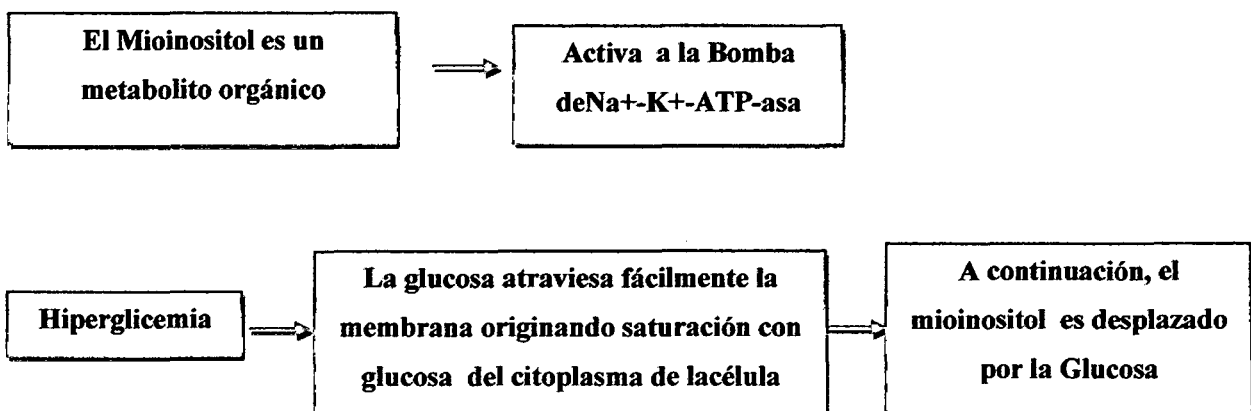


Figura 02. Diagrama Disminución de la Concentración Intracelular de Mioinositol

“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam.”

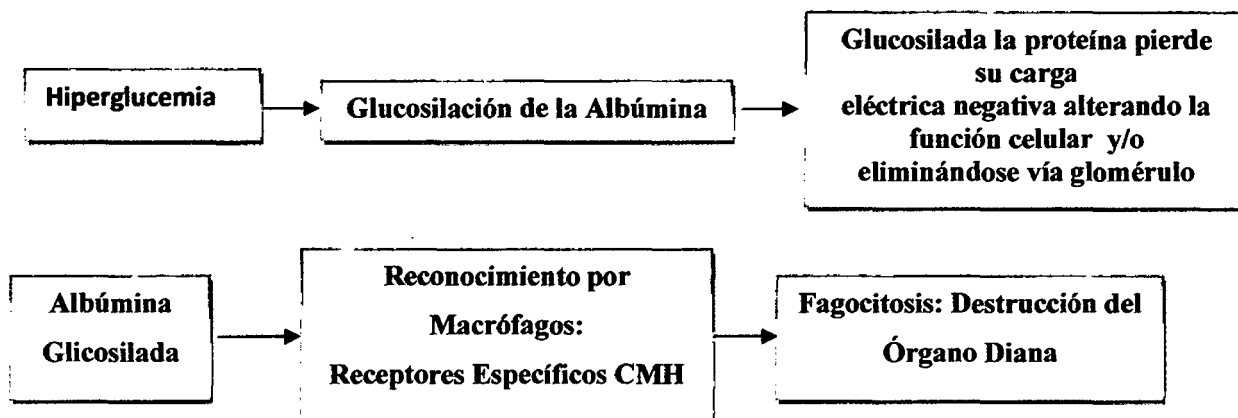


Figura 03. Diagrama Glucosilación de la Albúmina

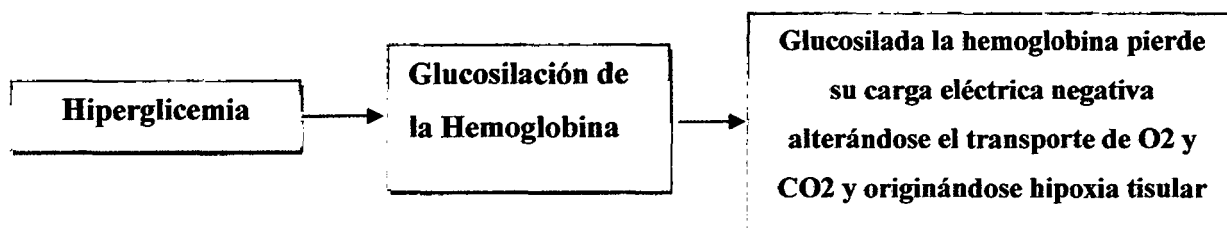
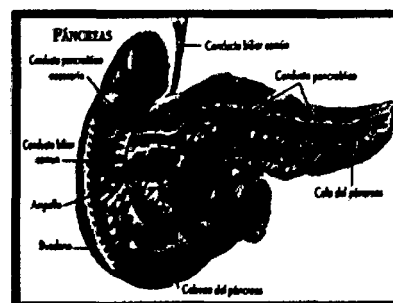
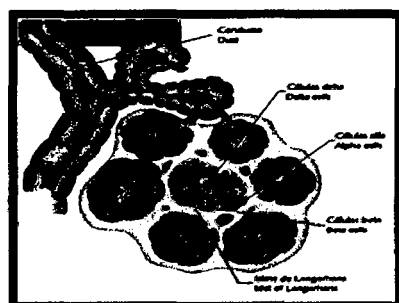


Figura 04. Diagrama Glucosilación de la Hemoglobina

3.3.3 Fisiopatología de la Diabetes

Normalmente cuando la insulina se acopla a sus receptores en las células diana, recién la glucosa puede ingresar al citoplasma y ser utilizado.

Páncreas: una glándula de secreción mixta endocrina y exocrina.



Figuras 05 y 06. Células del Páncreas

B. Los signos y síntomas de Diabetes Mellitus:

- 1. Eliminación excesiva de orina y mucha sed:** Cuando un exceso de azúcar (glucosa) se acumula en la sangre, se elimina un exceso de líquidos de los tejidos orgánicos a través del riñón. La consecuencia es la sed, que hace beber más y orinar más de lo habitual.
- 2. Hambre excesiva:** Sin disponer el organismo de la suficiente insulina para metabolizar la glucosa y proveer de energía a las células, los músculos y todos los tejidos orgánicos llegan a estar muy escasos de energía. La consecuencia es el hambre excesiva del paciente diabético, que persiste aún después de haber comido.
- 3. Pérdida de peso:** A pesar de comer más de lo habitual para aliviar el hambre, se pierde peso, a veces con gran rapidez. Sin la energía que aporta la glucosa, los músculos y otros tejidos orgánicos adelgazan.
- 4. Fatiga:** Las consecuencia de la escasez de energía en las células de los tejidos orgánicos es el cansancio físico y la irritabilidad.
- 5. Visión borrosa:** Si los niveles de azúcar en la sangre son demasiado elevados (*hiperglucemia*) pueden disminuir los líquidos de los tejidos orgánicos, entre ellos los del cristalino, lo que puede condicionar dificultades en la visión.⁽⁸⁾

C. Complicaciones de Diabetes Mellitus

- 1. Enfermedad cardiovascular.** La Diabetes tipo 1 incrementa significativamente el riesgo de padecer diversos problemas cardiovasculares, entre los que se incluyen: aterosclerosis con estrechez segmentaria de las arterias, hipertensión arterial, enfermedad coronaria con crisis anginosa (angina de pecho), ictus por accidente vascular cerebral. De hecho, el 75% de los pacientes con diabetes tipo 1 muere a causa de algún tipo de enfermedad cardiovascular.

- 2. Neuropatías** (lesiones de los nervios periféricos). El exceso de azúcar en la sangre puede provocar lesiones en las paredes de los pequeños vasos (capilares) que irrigan los nervios, especialmente los de las extremidades inferiores. Estas lesiones se manifiestan por parestesias (sensación de hormiguillas en el territorio nervioso y/o adormecimiento), quemazón o dolor, que habitualmente comienzan por los dedos de los pies y que ascienden poco a poco. En el hombre la lesión de los nervios periféricos puede ser responsable de una disfunción eréctil.
- 3. Nefropatía** (lesión renal). La hiperglicemia lesiona primariamente los glomérulos renales, minúsculos ovillos de vasos que filtran la sangre, lo que conduce a una insuficiencia renal progresiva que puede exigir, al final de su evolución, el tratamiento con diálisis o trasplante. Nefropatía Diabética: Pérdida de proteínas glucosilada. Depósito de inmunocomplejos en el Mesangio (Fagocitosis)
- 4. Retinopatía diabética** (lesión de los vasos de la retina). La consecuencia es la ceguera. La diabetes tipo 1 también aumenta el riesgo de padecer cataratas y glaucoma.
- 5. Pie diabético** (lesiones en los pies). El escaso riego sanguíneo en las partes más periféricas o distales de los pies, provocado por las estenosis de los vasos sanguíneos a consecuencia de la aterosclerosis, hace que pequeñas lesiones accidentales evolucionen hacia graves infecciones.
- 6. Enfermedades de la piel.** La diabetes tipo 1 hace a la piel más susceptible a las infecciones bacterianas y por hongos.
- 7. Osteoporosis.** La diabetes tipo 1 se asocia con una disminución de la densidad mineral del hueso.

3.4 INSULINA

La insulina es la principal hormona encargada de disminuir los niveles de glucosa en sangre. Esta hormona aumenta el transporte de glucosa al interior de las células y su conversión a glucógeno; además aumenta la oxidación del azúcar. Favorece el proceso de síntesis de lípidos y disminuye tanto la movilización de grasa de los depósitos, como su oxidación en el hígado; además, aumenta el transporte de algunos aminoácidos en las células blanco. Estas acciones ocurren rápidamente, no obstante, se sabe que la insulina ejerce acciones más tardías, por ejemplo el ser un factor de crecimiento celular.

3.4.1 Mecanismo de Acción de la Insulina

- A. La insulina se une a su receptor de insulina IRS activándolo. El Sustrato Receptor de la Insulina (IRS) tiene dos subunidades a y dos subunidades b con actividad de tirosinquinasa.

- B. El IRS activado estimula a la fosfolipasa C la cual degrada al 4,5 difosfato de fosfatidil-Inositol (PIP₂) en 1,4,5, Trifosfato de Inositol IP₃ y diacilglicerol DAG. El IP₃ origina actúa sobre la membrana del retículo endoplasmático liberándose calcio al citoplasma, aumentando su concentración.

- C. El Incremento de la concentración del calcio citoplasmático origina:
 - 1. Liberación de transportadores de glucosa preformados desde las vesículas de Golgi.
 - 2. Estimula la transcripción genética de transportadores de glucosa .El DAG estimula la mitosis y degradación de la insulina

La insulina es degradada por hidrólisis: Hepática (35%) y Renal (65%) en el Endotelio de los capilares peritubulares. La degradación de la insulina es catalizada por la acción de la enzima Glutación-Insulino-Transhidrogenasa o Insulinasa.

3.5. GLIBENCLAMIDA

3.5.1. Mecanismo de Acción

La glibenclamida es un hipoglucemiante oral del grupo de las sulfonilureas. La disminución de la glucosa sanguínea se basa en la liberación de insulina por el páncreas, la cual depende de la funcionalidad de las células β en los islotes pancreáticos. La glibenclamida puede ser efectiva en paciente que no responde a una o más sulfonilureas. Adicionalmente la glibenclamida produce un efecto diurético leve ya que incrementa la depuración de agua libre por el riñón.

3.5.2. Farmacocinética

Después de administrada una dosis de glibenclamida se alcanza su pico de absorción a la hora siguiente, y su administración regular no tiene efecto de depósito en los tejidos. Su vida media es de aproximadamente 10 horas. El efecto hipoglucemiante sanguíneo persiste por 24 horas después de su administración matutina en pacientes diabéticos que no están en ayuno. La glibenclamida se convierte en dos metabolitos principales, siendo eliminados por la bilis y la orina, aproximadamente en un 50% por cada vía. Esta eliminación por las dos vías es cualitativamente diferente a las otras sulfonilureas, las cuales se excretan principalmente por orina. Las sulfonilureas se unen ampliamente a las proteínas plasmáticas (enlace no iónico), por lo que su desplazamiento por otros medicamentos puede incrementar su acción hipoglucemiante.

3.5.3. Indicaciones de su Uso

La glibenclamida se usa en asocio con la dieta para disminuir los niveles de glucosa sanguínea en paciente diabéticos no-insulino dependiente (Tipo 2) cuya hiperglicemia no se ha logrado controlar con dieta únicamente. En pacientes en quienes se inicia el tratamiento con glibenclamida, se le debe enfatizar en el control de la ingesta calórica y el control de peso, especialmente en el paciente diabético obeso.

3.5.4. Contraindicaciones

Está contraindicado en pacientes con hipersensibilidad a la glibenclamida o en pacientes con cetoacidosis diabética (en coma o no) que deben ser tratados con insulina. Disfunción hepática y renal severa. Diabéticos insulino-dependientes. Embarazo. No deben ingerirse bebidas alcohólicas. ⁽²⁹⁾

3.6. LA TOXICOLOGÍA

La toxicología es la ciencia que trata sobre los efectos adversos de los productos químicos en los seres vivos (desde las algas marinas hasta los humanos, pasando por el resto de la flora y la fauna). Sin embargo, es posible utilizarlos con seguridad (su efecto depende de la dosis y la exposición) si se toma la debida precaución en su manejo y se aprovechan sus propiedades de modo "aceptablemente seguro".

El objetivo de los estudios toxicológicos es evaluar los efectos adversos ligados a las distintas dosis, a fin de encontrar ese grado de seguridad aceptable. Los estudios de toxicidad aguda y con dosis repetidas deben realizarse como mínimo en dos especies de mamíferos y en animales de ambos sexos. ^(47, 12, 21)

Para los estudios de toxicidad a dosis repetidas se exige que una de las especies sea de roedores y la otra de no roedores. Habitualmente se utilizan ratones, ratas y perros, pero en muchos casos se llevan a cabo estudios complementarios en animales de otras especies, por ejemplo conejos, cobayas y monos.

La vía de administración debe ser la que corresponde al futuro uso terapéutico del fármaco. Sin embargo, el desarrollo clínico puede entrañar la administración de la sustancia por otras vías, por ejemplo, la intravenosa, en aras de obtener datos sobre sus efectos más inmediatos o acerca de su farmacocinética o biodisponibilidad sistémica absoluta. Por lo tanto, aunque se está desarrollando un fármaco para ser administrado en

forma de comprimidos, suele ser necesario disponer de algunos datos sobre su toxicidad por vía intravenosa.

3.6.1. Toxicidad Aguda

Consiste en administrar una sola dosis o varias dosis en un solo día. Actualmente, para evitar el sufrimiento innecesario de los animales, la determinación exacta de la dosis mediana letal (DL50) con su intervalo de confianza no se considera precisa.^(21, 23) No obstante, los experimentos de toxicidad aguda junto con los de farmacología de seguridad deben permitir la extrapolación aproximada de la dosis letal en las especies estudiadas. Los animales deben ser observados durante dos semanas y los órganos se someten a exámenes histopatológicos exhaustivos.⁽⁷⁾

La toxicidad aguda tiene por objeto determinar los efectos de una dosis única y muy elevada de una sustancia. Usualmente, el punto final del estudio es la muerte del animal y la toxicidad aguda se expresa por la dosis letal 50, que viene a representar más o menos la dosis de la sustancia que produce la muerte en el 50% de los animales. La observación de los animales se lleva a cabo después de la administración de la sustancia y dura hasta 14 días, después de los cuales los animales son sacrificados y autopsiados.

A. Periodo de Observación: Al menos 14 días, pero no rígidos. En este se determinará: reacciones tóxicas, inicio y término de periodo de recobrado. El tiempo en que los signos aparecen y desaparecen y cuando mueren (esto es importante).

B. Exámenes Clínicos: Se realizan: una vez al día (o más), necropsia a los moribundos y muertos, observaciones de: cambios en la piel y los pelos, ojos y membranas mucosas, respiratorio, circulatorio, autónomo y central, actividad somatomotora.

C. Signos Clínicos: Comportamiento, temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letárgica, sueño-coma, tiempo en que mueren lo más preciso posible, peso: a los tiempos 0, 7 y 14.

D. Patología: Necropsia de todos los animales, Cambios patológicos groseros deberán registrarse en animales que sobrevivan 24 o más horas. ⁽²⁰⁾

3.6.3. Toxicidad a Dosis Repetida

Consiste en la administración diaria de la sustancia en desarrollo durante varias semanas o meses. Los estudios de toxicidad a dosis repetida se clasificaban en sub-agudos o sub-crónicos con una duración de entre dos semanas y tres meses, y crónicos, con una duración de más de seis meses. ^(71, 23, 48) Esta clasificación es ambigua y actualmente se refiere simplemente a la duración de la administración, por ejemplo estudios de cuatro semanas o de tres meses, etc. ⁽³⁹⁾

El objetivo principal de los estudios de toxicidad es predecir los efectos no deseados que podrían presentarse en humanos. Por lo tanto, las normas exigen utilizar dosis altas que provoquen efectos tóxicos, siempre que sea posible, y también dosis bajas e inocuas.

En estos estudios se realizan pruebas de laboratorio (hematología, bioquímica, etc.) y un examen histopatológico final. Además, deben permitir averiguar si las eventuales lesiones orgánicas son reversibles o si persisten después de suspender la administración. Para poder llevar a cabo ensayos clínicos con medicamentos para administración local (cutánea, ocular, vaginal, etc.) es necesario disponer de estudios de tolerabilidad local en animales. Asimismo, para fármacos inyectables se estudia la reacción del tejido en el lugar de inyección. Las características de los estudios de toxicidad a dosis repetidas en animales dependen de la duración de los ensayos clínicos previstos. ^(47, 39)

3.7. METODOS DE INDUCCION DE DIABETES MELLITUS

3.7.1. Inducción Química

El uso de agentes químicos para producir diabetes, permite realizar estudios detallados de los eventos bioquímicos y morfológicos que ocurren durante y después de la inducción de estado diabético. ⁽¹⁵⁾ Existen varias clases de agentes químicos. Los primeros (alloxano) y el actual (STZ), son sustancias con citotoxicidad específica que destruyen a las células β del páncreas y causan un estado de deficiencia primaria de insulina. El segundo grupo lo constituyen agentes que actúan sobre las células β pero no las destruyen. ⁽¹⁵⁾

A. Alloxano

Aunque desde hace muchos años se conoce la actividad diabetógena de esta sustancia, el mecanismo de acción es un desconocido. Algunas evidencias indican que el efecto del alloxano es mediado por una interacción a nivel de membrana en la célula β . En ocasiones no se produce diabetes con la administración de alloxano en animales que normalmente desarrollan esta respuesta, aun cuando esta se utilice en dosis recomendables. ^(29,52)

El alloxano es una sustancia química capaz de provocar diabetes en animales de experimentación, esta sustancia tiene toxicidad específica para las células beta del páncreas, se ha empleado en diversos estudios para evaluar posibilidades terapéuticas, en un modelo de diabetes tipo 1. Se ha postulado que el alloxano produce una masiva reducción en la liberación de insulina por la destrucción selectiva de las células beta de los islotes de Langerhans que han sido atribuidas a la generación de radicales libres que inducen ruptura del DNA. ⁽⁴³⁾

B. Estreptozotocin (STZ)

La STZ es un derivado de la nitrosourea aislado del *Streptomyces sachromogenes* con actividad antibiótica y antineoplásica de amplio espectro.⁽³⁷⁾ Se trata de un potente agente alquilante que interfiere con el transporte de glucosa.⁽⁵⁴⁾ y la función de la glucocinasa.⁽⁵⁶⁾ e induce múltiples puntos de ruptura en doble hélice del DNA.⁽¹⁵⁾

La sensibilidad a la STZ varía según la especie animal, la cepa, el sexo, la edad y el estado nutricional. El modo y ruta de su administración resultan determinantes para su efecto. El modelo de baja dosis múltiple de estreptozotocin ha sido ampliamente utilizado para estudiar los acontecimientos inmunológicos que conducen a la insulinitis y muerte celular.^(33, 73) Sin embargo, sigue produciendo diabetes incluso en ausencia de células T y B funcionantes, lo que sugiere que, aún a estas dosis, permanece cierto grado de toxicidad sobre las células.⁽⁵²⁾

De este modo, se ha utilizado el modelo de administración de STZ como modo de producir un modelo de DM2 en los roedores ya adultos.⁽⁷¹⁾ La principal ventaja de los modelos basados en administración de fármacos es que el grado de alteración de las células puede ser regulado de acuerdo con la dosis de toxina administrada.⁽⁷³⁾

1. Mecanismo de Acción de la Estreptozotocin (STZ)

La Estreptozotocin produce insulino deficiencia pancreática por la destrucción progresiva de las células β en la rata.⁽¹¹⁾

En este sentido, la STZ actúa como un caballo de Troya, ya que su molécula consta esencialmente de glucosa ligada a un fragmento reactivo de nitrosourea, y como tal es internalizada a través de los transportadores celulares de glucosa. Una vez dentro, el fragmento de nitrosourea es liberado y ejerce su actividad tóxica. Dado que las

*“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam.”*

células β pancreáticas son más activas que las demás en la captación de glucosa, también resultan más sensibles al efecto tóxico de la STZ produciendo: ⁽²⁹⁾

- a) Metilación del DNA, dado que la STZ opera como donador de óxido nítrico en los islotes pancreáticos, induciendo la muerte de las células β .
- b) Destrucción autoinmune de células β .
- c) Inhibición de la enzima N-acetil-beta-D-glucosamidasa que cataliza la ruptura de N-acetilglucosamida unida a una proteína de 135 kD enlazada por un oxígeno (O-glicosilación). Comparadas con otras células, las β producen más cantidad de esta enzima por lo que pueden ser particularmente sensibles al efecto del compuesto. ^(33, 53, 73)

4. DEFINICIONES OPERACIONALES.

4.1. VARIABLES

4.1.1. Variable independiente

Extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam.

4.1.2. Variable dependiente

- Tamizaje fitoquímico de metabolitos secundarios
- Toxicidad sub-crónica a dosis repetida de la sustancia evaluada, en las dosis ensayadas.
- Actividad hipoglucemiante de la sustancia evaluada, en las dosis ensayadas.

4.2.1. INDICADORES:

- **Indicadores de la Variable Independiente**

Dosis de 250 mg/Kg y 500 mg/Kg. de *Alternanthera halimifolia* Lam. (mg/Kg)

- **Indicadores de la Variable Dependiente**

- a. Metabolitos secundarios

Flavonoides, alcaloides, terpenos, triterpenos, saponinas, entre otros

- b. **Indicadores de toxicidad sub crónica**

- Niveles de glucosa en sangre en los grupos experimentales. (mg %)
- Signos clínicos tóxicos en los grupos experimentales: muerte, alteraciones macroscópicas de órganos y sistemas.
- Signos clínicos tóxicos e histopatología de hígado de ratas, en los grupos experimentales: signos y síntomas de mayor duración.

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam."

4.3. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

| VARIABLE INDEPENDIENTE | DEFINICIÓN | DEFINICIÓN OPERACIONAL | INDICADOR | INDICE |
|---|---|--|---|---------------------------------|
| Extracto etanólico de <i>Alternanthera halimifolia</i> Lam. | Producto de la extracción de metabolitos secundarios obtenidos por maceración y concentración de la muestra | Extracción por maceración en etanol por 48h Posteriormente filtrado, concentrado a 60-70°C | - Dosis de 250 mg/Kg y 500 mg/Kg de <i>Alternanthera halimifolia</i> Lam. | Volumen de inculo mg/Kg de P.C. |

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE Alternanthera halimifolia Lam."

| VARIABLE DEPENDIENTE | DEFINICIÓN CONCEPTUAL | DEFINICIÓN OPERACIONAL | INDICADOR | INDICE |
|---|---|--|---|--------------------------|
| <p>Efecto hipoglucemiante de la sustancia evaluada, en las dosis ensayadas.</p> | <p>Acción de disminuir los niveles de glucosa e incrementar los valores de insulina en sangre tras la administración de sustancias con dicha capacidad.</p> | <p>Se indujo hiperglucemia experimental con STZ al a dosis de 40mg/kg. de peso después de 48 horas; se procede a la toma de muestra de sangre de la vena caudal para evaluar el índice de hiperglucemia; se toma como valor mínimo 110 mg/dl; extracto etanólico de la <i>Alternanthera halimifolia</i> Lam. a dosis de 250 y 500 mg/kg P.C., y el extracto grupo de ratas; después de la administración de las especies en estudio se tomó muestras de sangre para medir el nivel de glucemia. El tiempo de evaluación es: basal (pre tratamiento) 1er día y luego al 7mo, 14avo, 28avo y 35avo día post tratamiento.</p> | <p>Promedio de Glucosa en sangre, en los diferentes grupos experimentales</p> | <p>mg/dL (mg %)</p> |

Alternanthera halimifolia Lam."

| | | | | |
|---|--|--|---|---|
| <p>Toxicidad Sub-crónica a dosis repetida</p> | <p>Consiste en la administración diaria de la sustancia en desarrollo durante varias semanas</p> | <p>El ensayo se llevó a cabo según lo establecido por la OECD para este tipo de estudio. Se confeccionaron 4 grupos de tratamiento a razón de 8 animales por grupo por cada sexo. Se administró 2 dosis una mínima y una máxima de 250 y 500 mg/Kg respectivamente. La administración se realizó por vía oral mediante cánula intragástrica durante 14 días previo cálculo del volumen de inoculo para cada animal en estudio de acuerdo a su peso corporal, al final se hizo una última toma de muestra de los animales, con el objetivo de realizar las pruebas de bioquímica clínica correspondientes</p> | <p>Signos Tóxicos</p> <p>Macrohistopatología de órganos vitales</p> | <p>salivación descarga nasal diarrea urinación piloerección fasciculaciones temores debilidad, reflejo de los miembros posteriores jadeo disnea apnea hipoapnea</p> |
|---|--|--|---|---|

| | | | | |
|-------------------------------|---|---|---|---|
| <p>Evaluación fitoquímica</p> | <p>Consiste en identificación los componentes químicos presente en extracto vegetal</p> | <p>La muestra se macera 50 ml de etanol al 96% durante 24 a 48 horas, luego se filtra el extracto etanólico y el filtrado se distribuye en alícuotas de 5 ml en 5 tubos de ensayos para identificar: azúcares reductores, saponinas, aminoácidos y aminos, cumarinas, fenoles y taninos. La muestra se macera con 50 ml de agua destilada durante 24 a 48 horas, luego se filtra y distribuye en alícuotas de 5 ml en 8 tubos de ensayo, para identificar alcaloides, azúcares reductores, fenoles y taninos, saponinas, flavonoides, mucílagos, principios amargos y principios astringentes y glucósidos.</p> | <p>Metabolitos Secundarios: -Alcaloides -Taninos -Saponinas -Esteroides -Quinonas -Terpenos -Flavonoides</p> <p>Reacciones de coloración y precipitación de los diferentes metabolitos secundarios presentes</p> | <p>+++ Abundante ++ Moderado + Leve 0 Ausente - No se realizo</p> |
|-------------------------------|---|---|---|---|

“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera*
halimifolia Lam.”

4.4. HIPÓTESIS

El extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. presenta efecto hipoglucemiante y no presenta toxicidad en ratas albinas.

CAPITULO III

5. METODOLOGÍA

5.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

5.2 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El estudio de tipo descriptivo permitió observar que fue *experimental- prospectivo*

- **Experimental:** Porque existe manipulación deliberada de variables, con el fin de investigar las posibles relaciones causa – efecto.
- **Prospectivo:** Porque el estudio se desarrolló hacia delante en el tiempo.

5.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

5.3.1 Población Animal: Para este estudio se utilizaron ratas albinas cepa Holtzmann, de sexo macho, con pesos entre 220g \pm 10g procedentes del Centro Nacional de Producción de Biológicos del INS-MINSA, con sede en Lima con certificado de Salud. Las ratas fueron sometidas a condiciones de aclimatación y acondicionamiento por 14 días en el bioterio de la facultad de farmacia y bioquímica, con la finalidad de que se adapten a su entorno ambiental; además durante este periodo estuvieron bajo observación permanente.

5.3.2 Muestra Animal: Se utilizaron 86 ratas albinas machos y hembras, para formar los grupos experimentales según protocolo de estudio. La muestra esta constituida por ratas albinas *Rattus norvegicus*, cepa Holtzmann, de sexo macho, que cumplan los criterios de inclusión.

- **Criterios de Inclusión:** Ratas jóvenes, adultas y sanas y Ratas machos con peso corporal de 220g \pm 10g.
- **Criterios de Exclusión:** Ratas con alteraciones que muestren signos evidentes de enfermedad y Ratas que hayan sido utilizados en evaluaciones anteriores.

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera*
halimifolia Lam."

5.3.3 Población Vegetal: conformada por los individuos de *Alternanthera halimifolia* Lam. de los ambientes de la facultad de Farmacia y Bioquímica en el caserío de Nina Rumi distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas departamento de Loreto.

5.3.4 Muestra Vegetal: la muestra de *Alternanthera halimifolia* Lam. fue de 250 g de muestra seca. Para la recolección de la muestra vegetal se tuvo en cuenta los siguientes factores: hábitat de la planta, diámetro de la planta, hora de recolección durante las horas de luz natural.

- **Criterios de Inclusión:** Plantas en buen estado sin presencia de hongos y plantas con longitud mayor a 50cm de altura

- **Criterios de Exclusión:** Aquellos que no cumplan los criterios de inclusión.

6. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

6.1 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO

La planta se colectó en la comunidad de Nina Rumi, distrito de San Juan, Provincia de Maynas, Departamento de Loreto, serán identificadas en el *Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana* (Iquitos-Perú). Luego se realizó el secado de la muestra al aire libre al resguardo de la luz directa, para evitar la pérdida de ciertos metabolitos. Posteriormente la muestra seca se pesó y trituró para colocarla en un frasco de vidrio con boca delgada para la maceración respectiva con 5 L de etanol medicinal al 96% dejando 2 semanas en maceración.

El macerado fue filtrado, obteniendo la solución etanólica que se concentró en el Rotavapor para la obtención del extracto, si hubiese restos de etanol se hizo secar en baño maría para obtener una mayor cantidad de la muestra

6.2 Actividad hipoglucemiante del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam.

Se utilizaron 40 ratas albinas de sexo macho asignadas aleatoriamente y distribuidas en 4 grupos de 10 individuos cada uno, de la siguiente manera:

Grupo 1: Glibenclamida (control positivo)

Grupo 2: Suero fisiológico (control negativo)

Grupo 3: Extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* a dosis de 250 mg/Kg

Grupo 4: Extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* a dosis de 500 mg/Kg

Los animales de experimentación fueron sometidos a ayuno de 12 horas antes de la inoculación del extracto etanólico. Al finalizar el tiempo de evaluación, se sacrificaron los animales teniendo en cuenta los principios éticos de experimentación en los animales.

Para mayor visualización los animales fueron identificados con ácido pícrico sobre determinadas áreas del cuerpo, posteriormente se pesó las mismas en una balanza común de 1000 g de capacidad, los datos se registraron en las tarjetas de recolección de datos (ver Anexo 1).

En la evaluación de la actividad hipoglucemiante, los resultados de la determinación de glucosa se registrarán en la ficha de recolección de datos (**Ver Anexo 03**). Los registros de datos se hizo antes de la terapia (basal), a los 7, 14, 28 y 35 días post tratamiento.

6.2.1 Inducción experimental de hiperglucemia.

La inducción de hiperglucemia (glucosa en sangre) se realizó mediante el método descrito por Pérez A. (2004) y modificado por Amaya A. (2007).

Posterior al ayuno de 12 horas, a los animales se tomó una muestra basal de sangre de la vena caudal, con capilares heparinizados de 75 µl. de volumen, y se determinó la glucemia basal por el método de glucosa oxidasa; luego se les inoculó una solución de Estreptozotocin a 0.01M disuelto en Buffer Citrato a un pH 4.5 a una dosis de 40 mg/kg P.C. para inducirles diabetes experimental; la administración de Estreptozotocin se realizó por la mañana a una hora establecida, a dosis de una vez por semana durante 35 días y , hasta obtener los niveles de hiperglucemia. Se tomó como valor mínimo 200 mg/dl.

6.2.2 Tratamiento de los grupos experimentales

Inmediatamente después de evaluar el basal hiperglucémico de las ratas se administró por vía oral el extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. a dosis de 250 mg/kg P.C. y 500 mg/kg P.C. Al control positivo se le administró glibenclamida a dosis de 5 mg/kg. por vía oral durante 28 días a una hora establecida por las mañanas. La glibenclamida fue disuelta en solución salina momentos antes de su administración.

Evaluación.

La glucemia se evaluó por un pre tratamiento de 7° días y la hiperglucemia se evaluó a los 7, 14, 21, 28 y 35 días post tratamiento. Se evaluó lo siguiente:

Peso corporal: Se realizó un control de peso corporal a todos los animales para determinar la variación de los pesos.

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera
halimifolia* Lam."

En el esquema (Ver Anexos 01, 03) se muestra el flujo completo del proceso de recolección y análisis de datos seguido en el presente trabajo, donde se puede observar el orden secuencial de los procedimientos descritos.

6.3 Toxicidad sub-crónica a dosis repetida del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam.

Se formaron 4 grupos con tratamiento del extracto etanólico (2 grupos de hembras y 2 grupos de machos) a razón de 8 animales por grupo, que estuvo formado por animales por cada sexo, distribuido de la siguiente manera:

- Grupo 1: Suero fisiológico (control negativo), sexo macho.
- Grupo 2: Suero fisiológico (control negativo), sexo hembra.
- Grupo 3: Extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* a dosis de 250 mg/Kg P.C. sexo macho.
- Grupo 4: Extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* a dosis de 250 mg/Kg P.C. sexo hembra.
- Grupo 5: Extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* a dosis de 500 mg/Kg P.C. sexo macho.
- Grupo 6: Extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* a dosis de 500 mg/Kg P.C. sexo hembra.

El ensayo se llevó a cabo según lo establecido por la OECD para este tipo de estudio. Se administró 2 dosis una mínima y una máxima de 250 y 500 mg/Kg respectivamente.

La administración se realizó por vía oral mediante cánula intragástrica durante 14 días luego se sacrificó a los animales y se realizó el examen histopatológico del hígado.

En los ensayos toxicológicos la observación y registro de signos clínicos se realizará al menos dos veces al día diariamente, se registrará el estado clínico, tiempo de aparición, tiempo de permanencia y tiempo de reversibilidad de los mismos. Los signos clínicos de toxicidad se registrarán según protocolo de estudio (Ver Anexo N° 06 y 07).

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera*
halimifolia Lam."

Se realizaron la necropsia en las primeras horas de la mañana, primero se pesarán a los animales y luego se realizará el sacrificio por dislocación cervical, luego se procederá a extraer los órganos, registrando coloración, consistencia, peso, tamaño y/o alteraciones macroscópicas (Ver Anexo N° 09); posteriormente se secarán, pesarán, y colocarán los órganos en una solución de formol al 10% para el estudio histopatológico.

6.4 Tamizaje Fitoquímico de *Alternanthera halimifolia* Lam.

Se preparó el extracto etanólico pesando 250 gramos de muestra seca previamente molidas o trituradas y se agregó 500 ml de etanol al 96%; dejándolo en maceración durante 24 a 48 horas y se filtró.

El método que se utilizó para el tamizaje de las muestras fue el descrito por Olga Look y adoptado por la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNAP, con el protocolo de estudio respectivo.

La identificación de la presencia o ausencia de los metabolitos secundarios como son: alcaloides, saponinas, azúcares reductores, aminoácidos y aminos, cumarinas, fenoles, taninos, flavonoides, mucílagos, principios amargos, principios astringentes y glucósidos (Ver Anexo 12).

Técnica Operatoria:

Pesar 50 g de muestra seca molida y agregar EtOH 95 %, refluja 1 hora, filtrar, concentrar el extracto etanólico:

- Tomar 15 g, extraer con HCl 5 %, alcalinizar NaOH 20 %, extraer con CHCl₃ y CHCl₃: EtOH (3:2): Extracción clorofórmico, y extracción clorofórmico:etanólico (por separado), concentrar, extraer con HCl 5 % y filtrar (obtención solución ácida). Esta solución ácida sirve para identificación de alcaloides (dragendorff, mayer, reineckato de amonio y otros).
- Tomar 20 g, extraer con éter de petróleo: Extracción con éter de petróleo (EP) solución A: CCD bidimensional silicagel, EP: Acetona (80:20) y EP:Et₂O:HOAc (75:25:1), Rev. L.B. Esteroides

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE Alternanthera halimifolia Lam."

Residuo: Extraer con EtOH: H₂O (1:7), 60 °C, obtención de solución B sirve para identificar flavonoides (shinoda), antraquinonas (bortrager), taninos (gelatina FeCl₃), saponinas (espuma).

- Tomar 10 g pptar. Con Pb(AcO)₂ 5 %: Filtrado, extraer con CHCl₃, secar con (Na₂SO₄), concentrar, CC alúmina neutra activada, eluir con CHCl₃MeOH (90:10)

Extraer 5 ml: CCD silicagel, CHCl₃:Me₂CO(90:10); Reactivo hidroxamato férrico; Reactivo vainilina-ac. Ortofosfórico, sirve para la identificación de sesquiterpenlactonas y cumarinas.; CCD silicagel CH₂Cl₂:MeOH(87:12:1); Reactivo R. Raymond sirve para la identificación de Cardiotónicos. (Ver Anexos 10, 11).

6.5 Materiales de Laboratorio:

- Aguja descartable N° 25.
- Jeringa descartable 1ml.
- Probetas.
- Hoja de bisturí.
- Tubos de ensayo.
- Gradilla metálica.
- Micro pipetas.
- Guantes quirúrgicos N°7
- Tijeras quirúrgicas.
- Algodón hidrófilo.
- Marcador de vidrio.
- Mascarillas descartables.
- Papel toalla.
- Papel filtro.
- Soporte Universal.
- Bandejas plásticas con tapa de malla metálica.
- Biberones.

7 CONSIDERACIONES ETICAS:

PROTECCIÓN DE LOS DERECHOS DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN: En las investigaciones biomédicas tienen una responsabilidad ética de salvaguardar la salud y el bienestar de los animales de experimentación, preservándolos de cualquier daño, dolor y sufrimiento innecesario antes, durante y después del periodo de estudio sin contar que además para el científico, el término de “buen uso”, indica la necesidad de poder contar con animales homogéneos en cuanto a genética, salud, edad, alimentación, peso, etc. para que los resultados puedan ser confiables. ⁽³²⁾

Para este estudio se siguieron las líneas que marca el Comité para la Investigación y la Ética de la IASP 86 en lo concerniente a los aspectos éticos de los experimentos que implican dolor o sufrimiento a los animales. ⁽³³⁾

Las consideraciones éticas que se tuvo en cuenta son:

- Los animales de experimentación estuvieron expuestos al mínimo dolor necesario para alcanzar los objetivos de la investigación.
- La duración del experimento fue la más corta posible.
- Se utilizaron pequeños grupos de animales, lo necesario para demostrar o rechazar la hipótesis de trabajo.

8 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

- Calculo de la media y desviación estándar como medidas de tendencia central, que son presentados mediante tablas y gráficas.
- Los gráficos utilizados en el trabajo son: gráficos de barras, para representar las variaciones de peso corporal y gráficos de barras para representar las variables cuantitativas.

*“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam.”*

- Los datos se procesaron mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA) con un nivel de significancia de $p \leq 0.05$ y Prueba de Scheffé para realizar comparaciones de promedios entre los grupos experimentales.

Para el análisis estadístico se empleó ANOVA (OneWay) del programa SPSS versión 18.0. Se consideró estadísticamente significativo cuando $p < 0.05$.

CAPITULO IV

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

RESULTADOS

TABLA 01: Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de Muestra botánica de *Alternanthera halimifolia* Lam.

| METABOLITOS SECUNDARIOS | PRUEBAS | RESULTADO |
|-------------------------------|-----------------------|-----------|
| | <i>Dragendorff</i> | +++ |
| | <i>Mayer</i> | ++ |
| Alcaloides | <i>Wagner</i> | + |
| Triterpenos y Esteroides | <i>Salkowski</i> | + |
| Quinonas | <i>Bornträger</i> | 0 |
| Cumarinas | <i>Baljet</i> | - |
| Carotenos | <i>Carr – Price</i> | - |
| Aceites Esenciales- Grasas | <i>Reactivo Sudán</i> | - |
| | <i>Reactivo</i> | |
| Azúcares reductores | <i>Fehling</i> | +++ |
| Saponinas | <i>Espuma</i> | ++ |
| | <i>Cloruro</i> | |
| Fenoles y Taninos | <i>Férrico</i> | +++ |
| Aminoácidos | <i>Ninhidrina</i> | - |
| Glicósidos | | |
| Cardiotónicos | <i>Reactivo Kedde</i> | - |
| Flavonoides | <i>Shinoda</i> | +++ |
| Mucílagos | <i>Tacto</i> | - |
| Princ. Amargos y | | |
| Astring. | <i>Sabor</i> | - |
| Glicósidos | <i>Molish</i> | - |

(+++) Abundante; (++) Moderado; (+) Leve; (0) Ausente; (-) No se realizo

“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam.”

TABLA 02: Peso promedio de las ratas de sexo macho con $*p > 0.05$ durante el tratamiento

| PESO (g) GRUPO | BASAL X \pm s.d | (DIA 7) X \pm s.d | (DIA 14) X \pm s.d |
|---|---|---|--|
| 1 (Control Negativo) Suero fisiológico | 210 \pm 7.91 | 211 \pm 4.18 | 214 \pm 5.48* |
| 3 (Experimental) 250 mg/kg P.C | 203 \pm 9.75 | 208 \pm 6.71 | 214 \pm 5.48* |
| 5 (Experimental) 500 mg/kg P.C. | 234 \pm 16.73 | 226 \pm 21.91 | 232 \pm 16.43* |

Se indica los promedios y desviación estándar del peso corporal de ratas albinas de sexo macho de los grupos experimentales, desde el inicio hasta los 14 días de tratamiento.

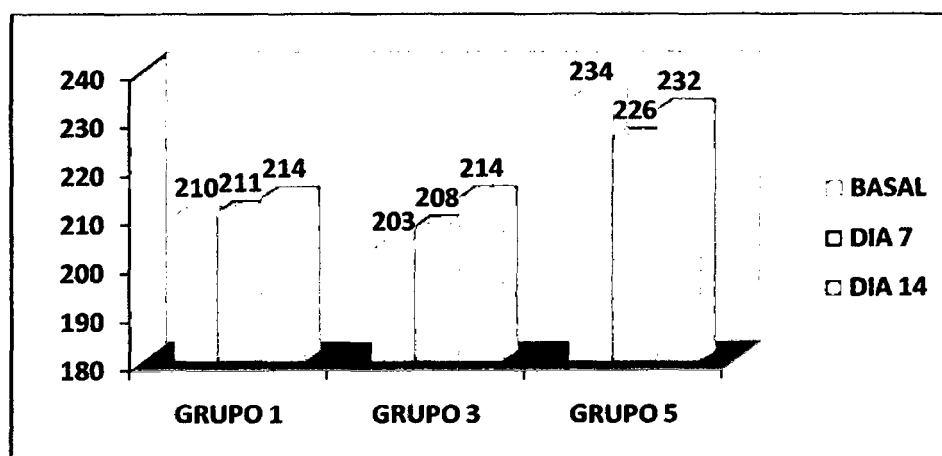


Figura 07: Peso promedio (g) de las ratas de sexo macho durante el tratamiento

“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam.”

TABLA 03: Peso promedio de las ratas de sexo hembra con $*p > 0.05$ durante el tratamiento

| PESO (g) GRUPO | BASAL X \pm s.d | (DIA 7) X \pm s.d | (DIA 14) X \pm s.d |
|---|---|---|--|
| 2 (Control Negativo) Suero fisiológico | 207 \pm 6.71 | 211 \pm 7.58 | 220 \pm 0.000 |
| 4 (Experimental) 250 mg/kg P.C | 209 \pm 5.43 | 213 \pm 5.70 | 220 \pm 0.000 |
| 6 (Experimental) 500 mg/kg P.C. | 222 \pm 8.37 | 221 \pm 5.48 | 230 \pm 12.25 |

Se indica los promedios y desviación estándar del peso corporal de ratas albinas de sexo hembra de los grupos experimentales, desde el inicio hasta los 14 días de tratamiento.

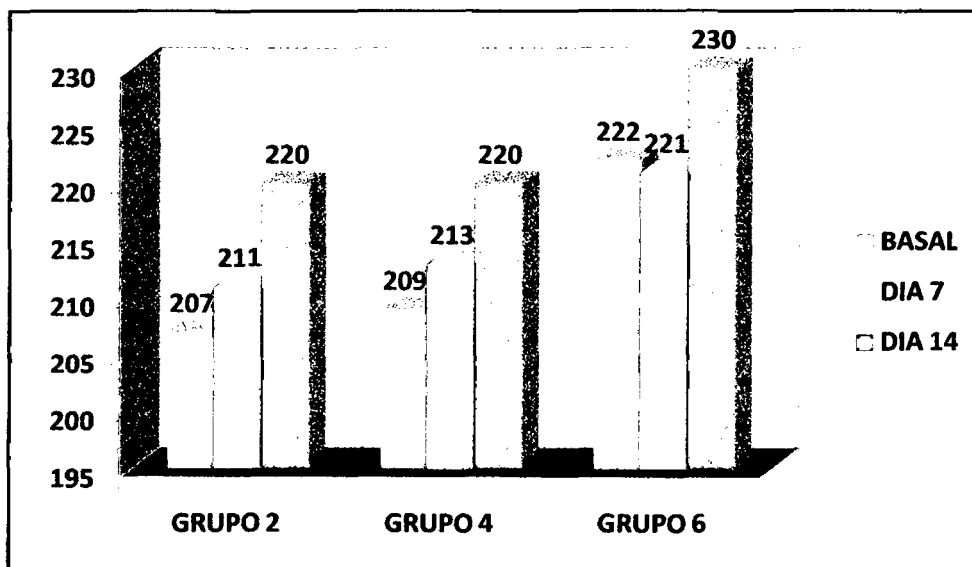


Figura 08: Peso promedio (g) de las ratas de sexo hembra durante el tratamiento

**"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."**

TABLA 04: Identificación macroscópica de los órganos de las ratas de sexo macho

| ORGANOS | Control Negativo (Grupo 1) | (Experimental) 250 mg/Kg P.C. (Grupo 3) | (Experimental) 500 mg/Kg P.C. (Grupo 5) |
|----------------|---|--|--|
| REBRO | Color : <i>Crema</i> Consistencia : <i>Blando</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.486</i> | Color : <i>Crema</i> Consistencia : <i>Blando</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.422</i> | Color : <i>Crema</i> Consistencia : <i>Blando</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.453</i> |
| ORAZÓN | Color : <i>Rojo grisáceo</i> Consistencia : <i>Semi duro, textura firme.</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.442</i> | Color : <i>Rojo grisáceo</i> Consistencia : <i>Semi duro, textura firme.</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.420</i> | Color : <i>Rojo grisáceo</i> Consistencia : <i>Semi duro, textura firme.</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.417</i> |
| LMONES | Color : <i>Rosado cremoso</i> Consistencia : <i>Gelatinoso - Blando</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.605</i> | Color : <i>Rosado cremoso</i> Consistencia : <i>Gelatinoso - Blando</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.619</i> | Color : <i>Rosado cremoso</i> Consistencia : <i>Gelatinoso - Blando</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.659</i> |
| BAZO | Color : <i>Rojo vinoso y homogéneo</i> Consistencia: <i>Textura firme, contorno</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.265</i> | Color : <i>Rojo vinoso y homogéneo</i> Consistencia: <i>Textura firme, contorno</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.245</i> | Color : <i>Rojo vinoso y homogéneo</i> Consistencia: <i>Textura firme, contorno</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.250</i> |
| HIGADO | Color : <i>Rojo vinoso y homogéneo</i> Consistencia: <i>Suave, textura firme, contorno liso</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>3.292</i> | Color : <i>Rojo vinoso y homogéneo</i> Consistencia: <i>Textura firme, contorno liso</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>3.304</i> | Color : <i>Rojo vinoso y homogéneo</i> Consistencia: <i>Textura firme, contorno liso</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>3.385</i> |
| RIÑONES | Color : <i>Rojo grisáceo y homogéneo</i> Consistencia: <i>Suave, textura firme.</i> Tamaño: <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.732</i> | Color : <i>Rojo grisáceo y homogéneo</i> Consistencia: <i>Suave, textura firme,</i> Tamaño: <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.732</i> | Color : <i>Rojo grisáceo y homogéneo</i> Consistencia: <i>Suave, textura firme,</i> Tamaño: <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.706</i> |

Indicadores macroscópicos de los principales órganos de ratas albinas de sexo macho tratadas con *Alternanthera halimifolia* Lam.

**“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam.”**

TABLA 05: Identificación macroscópica de los órganos de las ratas de sexo hembra

| GANOS | Control Negativo (Grupo 2) | (Experimental) 250 mg/Kg P.C. (Grupo 4) | (Experimental) 500 mg/Kg P.C. (Grupo 6) |
|--------------|---|--|--|
| REBRO | Color : <i>Crema</i> Consistencia : <i>Blando</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.598</i> | Color : <i>Crema</i> Consistencia : <i>Blando</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.560</i> | Color : <i>Crema</i> Consistencia : <i>Blando</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.486</i> |
| RAZÓN | Color : <i>Rojo grisáceo</i> Consistencia : <i>Semi duro, textura firme.</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.411</i> | Color : <i>Rojo grisáceo</i> Consistencia : <i>Semi duro, textura firme.</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.390</i> | Color : <i>Rojo grisáceo</i> Consistencia : <i>Semi duro, textura firme.</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.442</i> |
| MONES | Color : <i>Rosado cremoso</i> Consistencia : <i>Gelatinoso - Blando</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.637</i> | Color : <i>Rosado cremoso</i> Consistencia : <i>Gelatinoso - Blando</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.699</i> | Color : <i>Rosado cremoso</i> Consistencia : <i>Gelatinoso - Blando</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.605</i> |
| BAZO | Color : <i>Rojo vinoso y homogéneo</i> Consistencia: <i>Textura firme, contorno</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.244</i> | Color : <i>Rojo vinoso y homogéneo</i> Consistencia: <i>Textura firme, contorno</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.279</i> | Color : <i>Rojo vinoso y homogéneo</i> Consistencia: <i>Textura firme, contorno</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.350</i> |
| GADO | Color : <i>Rojo vinoso y homogéneo</i> Consistencia: <i>Suave, textura firme, contorno liso</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>3.074</i> | Color : <i>Rojo vinoso y homogéneo</i> Consistencia: <i>Textura firme, contorno liso</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>3.176</i> | Color : <i>Rojo vinoso y homogéneo</i> Consistencia: <i>Textura firme, contorno liso</i> Tamaño : <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>3.292</i> |
| ÑONES | Color : <i>Rojo grisáceo y homogéneo</i> Consistencia: <i>Suave, textura firme, cubierta brillante</i> Tamaño: <i>Normal</i> Peso Relativo: <i>0.616</i> | Color : <i>Rojo grisáceo y homogéneo</i> Consistencia: <i>Suave, textura firme, Tamaño: Normal</i> Peso Relativo: <i>0.670</i> | Color : <i>Rojo grisáceo y homogéneo</i> Consistencia: <i>Suave, textura firme, Tamaño: Normal</i> Peso Relativo: <i>0.732</i> |

Indicadores macroscópicos de los principales órganos de ratas albinas de sexo hembra tratadas con *Alternanthera halimifolia* Lam.

El análisis estadístico no evidenció diferencia significativa ($p > 0.05$) del Porcentaje de Peso Relativo del grupo tratado con *Alternanthera halimifolia* Lam. con respecto al grupo control negativo en ambos sexos, como se muestra en la Tabla 06 y 07

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam."

TABLA 06: Porcentaje de peso relativo de órganos de ratas albinas de sexo macho tratados con *Alternanthera halimifolia* Lam.

| ÓRGANOS GRUPO | CEREBRO X ± s.d | CORAZON X ± s.d | PULMONES X ± s.d | BAZO X ± s.d | HIGADO X ± s.d | RIÑONES X ± s.d |
|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| Rango Normal ⁴² | 0.3 – 0.5 | 0.3 – 0.45 | 0.4 – 0.71 | 0.17 – 0.28 | 3.02 – 3.94 | 0.61 – 0.77 |
| 1 (Control Negativo) | 0.486 ± 0.03 | 0.442 ± 0.09 | 0.605 ± 0.07 | 0.265 ± 0.14 | 3.292 ± 1.22 | 0.732 ± 0.03 |
| 3 (Experimental) 250 mg/Kg P.C. | 0.422 ± 0.06 | 0.420 ± 0.06 | 0.619 ± 0.07 | 0.245 ± 0.023 | 3.304 ± 0.20 | 0.732 ± 0.06 |
| 5 (Experimental) 500 mg/Kg P.C. | 0.453 ± 0.03 | 0.417 ± 0.05 | 0.659 ± 0.16 | 0.265 ± 0.03 | 3.385 ± 0.17 | 0.706 ± 0.03 |

TABLA 07: Porcentaje de peso relativo de órganos de ratas albinas de sexo hembra tratados con *Alternanthera halimifolia* Lam.

| ÓRGANOS GRUPO | CEREBRO X ± s.d | CORAZÓN X ± s.d | PULMONES X ± s.d | BAZO X ± s.d | HÍGADO X ± s.d | RIÑONES X ± s.d |
|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| Rango Normal ⁴² | 0.45 – 0.6 | 0.3 – 0.45 | 0.43 – 0.71 | 0.17 – 0.28 | 3.02 – 3.94 | 0.56 – 0.76 |
| 2 (Control Negativo) | 0.598 ± 0.03 | 0.411 ± 0.04 | 0.637 ± 0.13 | 0.244 ± 0.22 | 3.074 ± 0.22 | 0.616 ± 0.03 |
| 4 (Experimental) 250 mg/Kg P.C. | 0.560 ± 0.03 | 0.390 ± 0.04 | 0.699 ± 0.04 | 0.279 ± 0.07 | 3.176 ± 0.23 | 0.670 ± 0.03 |
| 6 (Experimental) 500 mg/Kg P.C. | 0.561 ± 0.03 | 0.420 ± 0.05 | 0.670 ± 0.17 | 0.261 ± 0.04 | 3.268 ± 0.25 | 0.668 ± 0.16 |

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam."

TABLA 08: Concentración sérica de glucosa basal/hiperglicemia/35 días

| GRUPO | BASAL x ±s.d | HIPERGLICEMIA x ±s.d | GLUCOSA A LOS 35 DIAS x ±s.d |
|--|------------------------|--------------------------------|--|
| 1 (Control Positivo) | 91.72 ± 13.61 | 280.67 ± 20.54* | 95.71 ± 12.44* |
| 2 (Control Negativo) | 81.42 ± 15.29 | 327.84 ± 56.76* | 329.33 ± 33.43 |
| 3 (Experimental) 250 mg/Kg P.C. | 79.61 ± 13.32 | 263.35 ± 53.89* | 137.74 ± 22.10* |
| 4 (Experimental) 500 mg/Kg P.C. | 77.40 ± 6.27 | 235.68 ± 44.50* | 112.95 ± 17.24* |

Se muestran los promedios y desviación estándar de los valores de glucosa sérica encontrados en las ratas albinas cepa Holtzmann de sexo macho durante todo el procedimiento del estudio. Existe significancia en la hiperglicemia, los grupos 1, 2, 3, 4 tienen un *p<0.05 y también existe significancia en la glucosa a los 35 días de tratamiento, los grupos 1, 3, 4 tienen un *p<0.05.

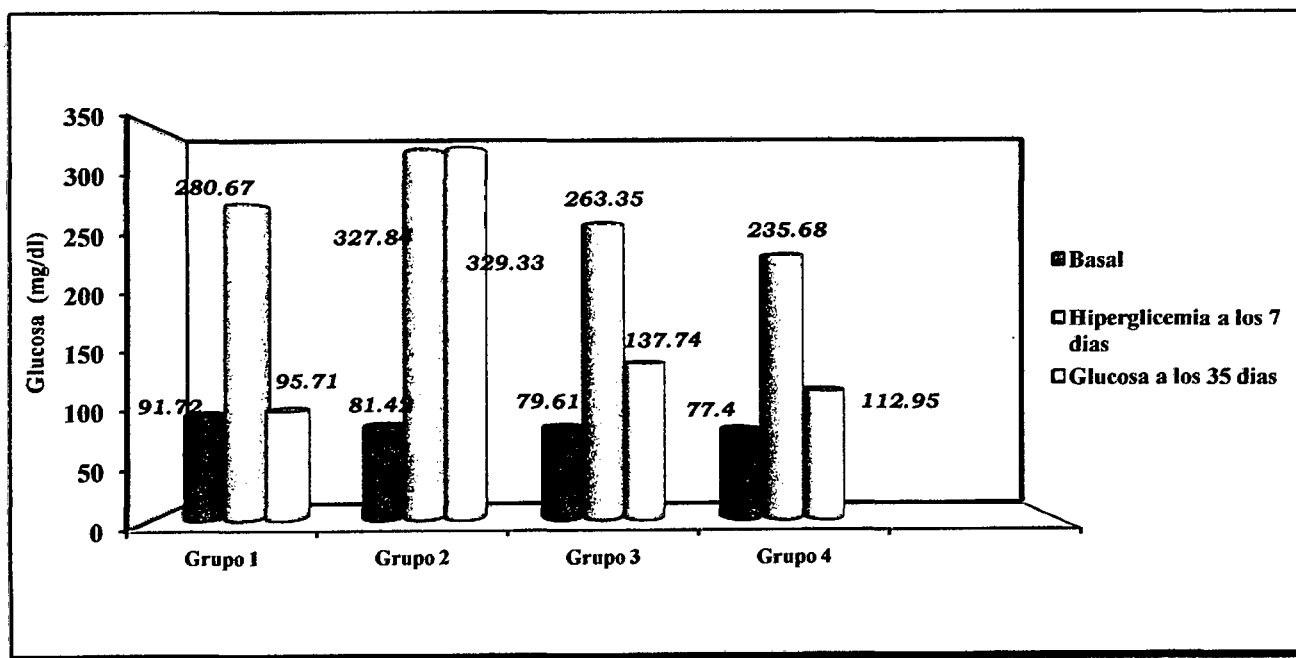


Figura 09: Concentración sérica de glucosa basal/hiperglicemia/35 días



00103

“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam.”

En la Figura 09 Se muestra la concentración de glucosa sérica entre la glucosa basal, glucosa hiperglicémica y la glucosa a los 35 días de tratamiento.

En el grupo 1: Control positivo (glibenclamida 5 mg/kg), se observa una clara diferencia entre la glucosa basal (91.72 mg/dL) y la glucosa hiperglicémica (280.67 mg/dL) y la glucosa a los 35 días de tratamiento (95.71 mg/dL), el cual tuvo un efecto esperado de normoglicemia al final del experimento.

En el grupo 2: Control negativo (suero fisiológico 0.9%), se observa el incremento de los niveles de glucosa desde el basal (81.42 mg/dL), la glucosa hiperglicémica (327.84 mg/dL), hasta los 35 días del ensayo.

En el grupo 3: *A. halimifolia* Lam. dosis 250 mg/kg se observa la diferencia entre el nivel de glucosa basal (79.61 mg/dL) y la glucosa hiperglicémica (263.75 mg/dL) y una disminución a los 35 días de tratamiento (137.74 mg/dL) con respecto a la hiperglicemia de los 7 días de ensayo.

En el grupo 4: *A. halimifolia* Lam. dosis 500 mg/Kg se observa que los niveles de glucosa basal (77.4 mg/dL) difieren de los niveles de glucosa hiperglicémica a los 7 días (235.68 mg/dL), y luego disminuye a los 35 días de tratamiento (112.95 mg/dL)

TABLA 09: Promedio de glucosa sérica en los grupos de tratamiento

| GRUPOS | GLUCOSA | HIPERGLICEMIA | (14 DIAS) | (28 DIAS) | (35 DIAS) |
|---------------------------------|---------|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | (7DIAS) | x ±s.d | x ±s.d | x ±s.d |
| 1 (Control Positivo) | | 280.67 ± 20.54 | 228.49 ± 18.77* | 155.98 ± 31.88* | 95.71 ± 12.44* |
| 2 (Control Negativo) | | 327.84 ± 56.76 | 326.89 ± 39.27 | 320.14 ± 37.43 | 329.33 ± 33.43 |
| 3 (Experimental) 250 mg/Kg P.C. | | 263.35 ± 53.89 | 138.09 ± 38.85* | 107.91 ± 20.99* | 137.74 ± 22.10* |
| 4 (Experimental) 500 mg/Kg P.C. | | 235.68 ± 44.50 | 139.04 ± 30.23* | 125.15 ± 28.76* | 112.95 ± 17.24* |

Se muestran los promedios y desviación estándar de los valores de glucosa sérica encontrados en las ratas albinas cepa Holtzmann de sexo macho durante todo el procedimiento del estudio. Existe significancia a los 28 día de tratamiento en el grupo 1 con un $p < 0.05$ y también existe significancia a los 35 días de tratamiento, en el grupo 1 con un $p < 0.05$.

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam."

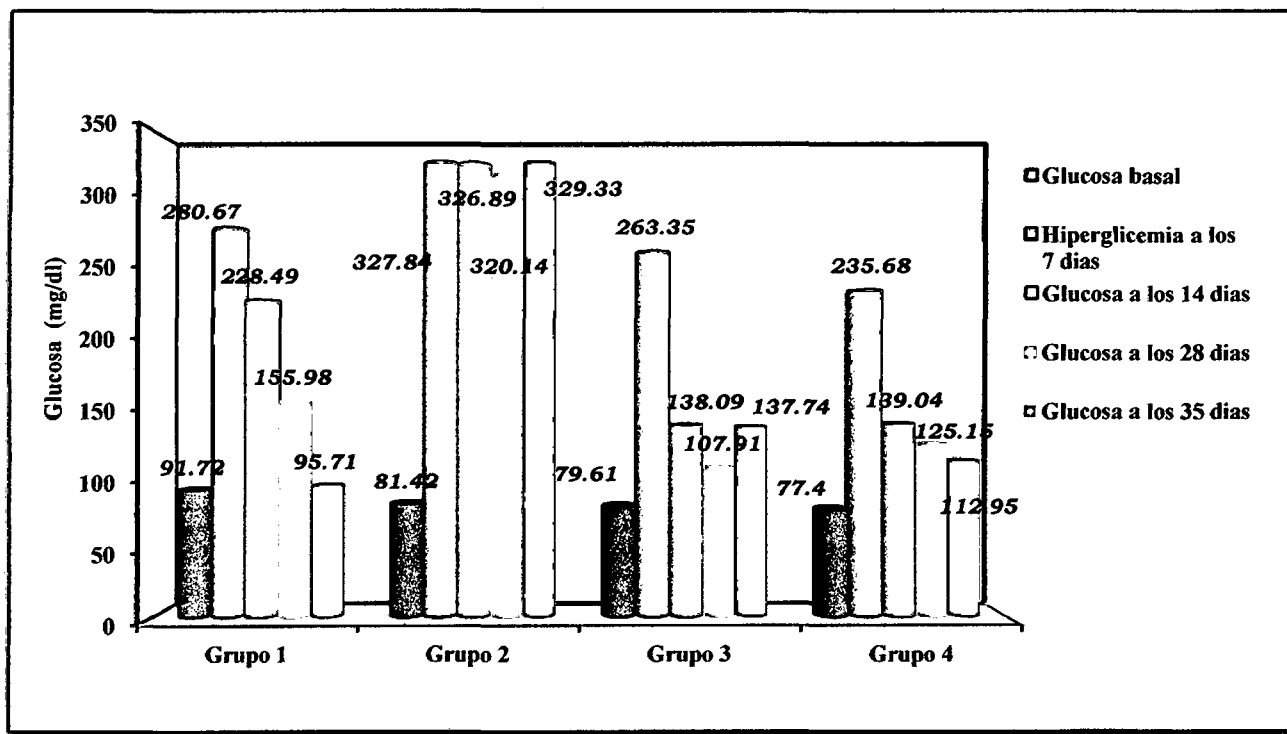


Figura 10: Promedio de glucosa sérica en los grupos de tratamiento

En la Figura 10 Se muestra la concentración de glucosa sérica en todos los grupos de experimentación durante 7, 14, 28 y 35 días de tratamiento.

En el grupo 1: Control positivo (glibenclamida 5 mg/kg), se aprecia el incremento del nivel de glucosa (280.67 mg/dL) y una disminución progresiva a los 14 (228.49 mg/dL), 28 (155.98 mg/dL) y 35 (95.71 mg/dL) días de tratamiento.

En el grupo 2: Control negativo (suero fisiológico 0.9%), los niveles de glucosa se mantienen constante (327.84 mg/dL), hasta los 35 días del ensayo (329.33 mg/dL).

En el grupo 3: *A. halimifolia* Lam. dosis 250 mg/kg se observa un incremento de los niveles de glucosa a los 7 días de tratamiento (263.75 mg/dL) y una disminución posterior a los 14, 28 (107.91 mg/dL).

En el grupo 4: *A. halimifolia* Lam. dosis 500 mg/Kg se observa una disminución progresiva de los niveles de glucosa a los 14, 28 y 35 días (112,95 mg/dL).

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam."

TABLA 10: Porcentaje de variación de glucosa entre el 7 al 35 día

| GRUPOS \ GLUCOSA | VARIACIÓN DE GLUCOSA x (7-14 DIAS) | VARIACIÓN DE GLUCOSA x (7-28 DIAS) | VARIACIÓN DE GLUCOSA x (7-35 DIAS) |
|---------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| 1 (Control Positivo) | 18.59% | 44.43% | 65.89% |
| 2 (Control Negativo) | 0.29% | 2.35% | 0.45% |
| 3 (Experimental) 250 mg/Kg P.C. | 47.56% | 59.02% | 47.69% |
| 4 (Experimental) 500 mg/Kg P.C. | 41.00% | 46.89% | 52.07% |

Se muestran el porcentaje de variación de glucosa sérica encontrados en las ratas albinas cepa Holtzmann de sexo macho durante todo el procedimiento del estudio tratados.

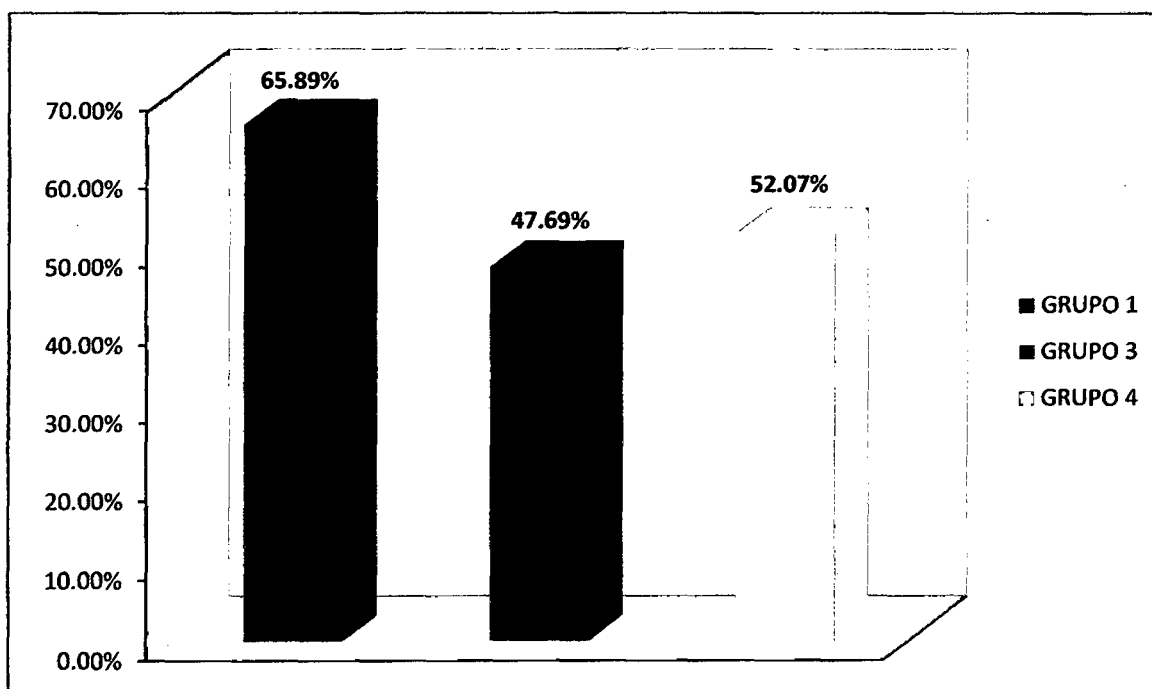


Figura 11: Porcentaje de variación de glucosa entre el 7 al 35 día

**“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam.”**

En la Figura 11 Se muestra el porcentaje de disminución de la concentración de glucosa sérica de los grupos 1, 3 y 4 durante los 35 días de ensayo.

En el grupo 1: Control positivo (glibenclamida 5 mg/kg), se aprecia una disminución del nivel de glucosa de 65.89% en relación del día 7 (hiperglicemia), hasta el día 35 tratamiento.

En el grupo 3: *A. halimifolia* Lam. dosis 250 mg/kg se aprecia una disminución del nivel de glucosa de 47.69% en relación del día 7 (hiperglicemia), hasta el día 35 tratamiento.

En el grupo 4: *A. halimifolia* Lam. dosis 500 mg/Kg se aprecia una disminución del nivel de glucosa de 52.07% en relación del día 7 (hiperglicemia), hasta el día 35 tratamiento.

TABLA 11: Variación de pesos de los grupos de tratamiento

| GRUPO | PESO (g) | PESO BASAL (DÍA) x ±s.d | PESO CORPORAL | | | |
|---------------------------------|----------|-------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | | (7 DIAS) x ±s.d | (14 DIAS) x ±s.d | (28 DIAS) x ±s.d | (35 DIAS) x ±s.d |
| 1 (Control Positivo) | | 207.00 ± 9.49 | 205.00 ± 8.49 | 199.00 ± 4.59 | 203.50 ± 9.44 | 229.00 ± 13.70 |
| 2 (Control Negativo) | | 207.00 ± 9.49 | 207.50 ± 3.54 | 199.00 ± 8.76 | 197.50 ± 4.86 | 200.50 ± 5.50 |
| 3 (Experimental) 250 mg/Kg P.C. | | 207.00 ± 9.49 | 218.00 ± 5.38 | 193.00 ± 7.89 | 195.50 ± 7.25 | 231.50 ± 12.70 |
| 4 (Experimental) 500 mg/Kg P.C. | | 207.00 ± 9.49 | 216.00 ± 12.20 | 204.50 ± 9.56 | 214.00 ± 12.65 | 246.50 ± 20.10 |

Se muestran el promedio y desviación estándar del peso corporal de ratas albinas de todos los grupos experimentales, desde el inicio hasta los 35 días de tratamiento.

**“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam.”**

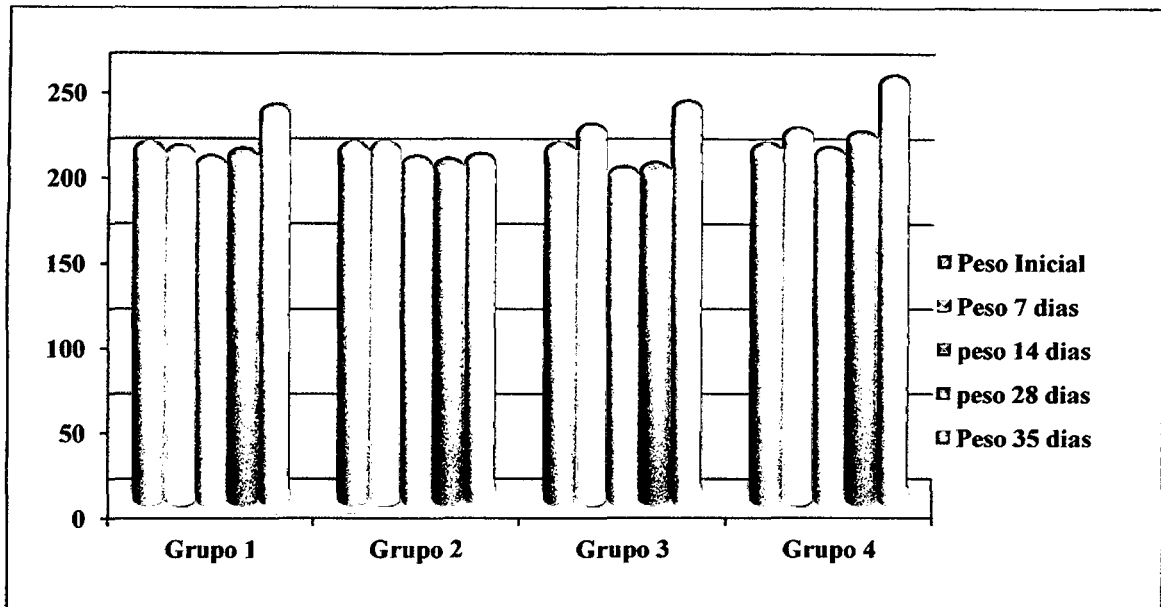


Figura 12: Variación de pesos de los grupos de tratamiento

En la Figura 12 Se muestra el peso promedio de los animales de experimentación en todos los grupos experimentales durante 7, 14, 28 y 35 días de estudio.

En el grupo 1: Control positivo (glibenclamida 5 mg/kg), se observa un incremento del peso corporal a los 7 días (205 g) para luego disminuir a los 14 días (199 g), posteriormente se observa un incremento del peso corporal a los 28 (203.5 g) y 35 (229g) días de tratamiento respectivamente.

En el grupo 2: Control negativo (suero fisiológico 0.9%), se observa una disminución progresiva del peso corporal de los animales de experimentación a los 14, 28 y 35 días de tratamiento respectivamente.

En el grupo 3: *A. halimifolia* Lam. dosis 250 mg/kg se observa un incremento del peso corporal a los 7 días (218 g) para luego disminuir a los 14 días (193 g) y 28 (195.5 g) respectivamente; posteriormente se aprecia un incremento a los 35 días de tratamiento respectivamente (231 g).

En el grupo 4: *A. halimifolia* Lam. dosis 500 mg/Kg se observa un incremento del peso corporal a los 7 días (216 g) para luego disminuir a los 14 días (204 g) y 28 (214 g) respectivamente; posteriormente se aprecia un incremento a los 35 días de tratamiento respectivamente (246.5 g).

TABLA 12: Relación de peso corporal/glucosa sérica durante tiempo de tratamiento

| PESO(g)/GLUCOSA(mg/dL) | DIAS | | | | | | | | | |
|----------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|------------------------------------|------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------------|------------------------|
| | (1 DIA) | | (7 DIAS) | | (14 DIAS) | | (28 DIAS) | | (35 DIAS) | |
| | PESO CORPORAL x \pm s.d | GLUCOSA A x \pm s.d | PESO CORPORAL L x \pm s.d | GLUCOSA A x \pm s.d | PESO CORPORAL AL x \pm s.d | GLUCOSA x \pm s.d | PESO CORPORAL x \pm s.d | GLUCOSA SA x \pm s.d | PESO CORPORAL AL x \pm s.d | GLUCOSA x \pm s.d |
| GRUPOS | | | | | | | | | | |
| 1 (Control Positivo) | 207.00 \pm 9.49 | 91.72 \pm 13.61 | 205.00 \pm 8.49 | 280.67 \pm 20.54 | 199.00 \pm 4.59 | 228.49 \pm 18.77* | 203.50 \pm 9.44 | 155.98 \pm 31.88* | 229.00 \pm 13.70* | 95.71 \pm 12.44* |
| 2 (Control Negativo) | 207.00 \pm 9.49 | 81.42 \pm 15.29 | 207.50 \pm 3.54 | 327.84 \pm 56.76 | 199.00 \pm 8.76 | 326.89 \pm 39.27 | 197.50 \pm 4.86 | 320.14 \pm 37.43 | 200.50 \pm 5.50 | 329.33 \pm 33.43 |
| 3 (Experimental) 250 mg/Kg P.C. | 207.00 \pm 9.49 | 79.61 \pm 13.32 | 218.00 \pm 5.38 | 263.35 \pm 53.89 | 193.00 \pm 7 | 138.09 \pm 38.85* | 195.50 \pm 7.25 | 107.91 \pm 20.99* | 231.50 \pm 12.70* | 137.74 \pm 22.10* |
| 4 (Experimental) 500 mg /Kg P.C. | 207.00 \pm 9.49 | 77.40 \pm 6.27 | 216.00 \pm 12.20 | 235.68 \pm 44.50 | 204.50 \pm 9.56 | 139.04 \pm 30.23* | 214.00 \pm 12.65 | 125.15 \pm 28.76* | 246.50 \pm 20.10* | 112.95 \pm 17.24* |

Se indica los promedios y desviación estándar del peso corporal - glucosa de ratas albinas de sexo macho, de todos los grupos experimentales, desde el inicio hasta los 35 días de tratamiento.

**"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."**

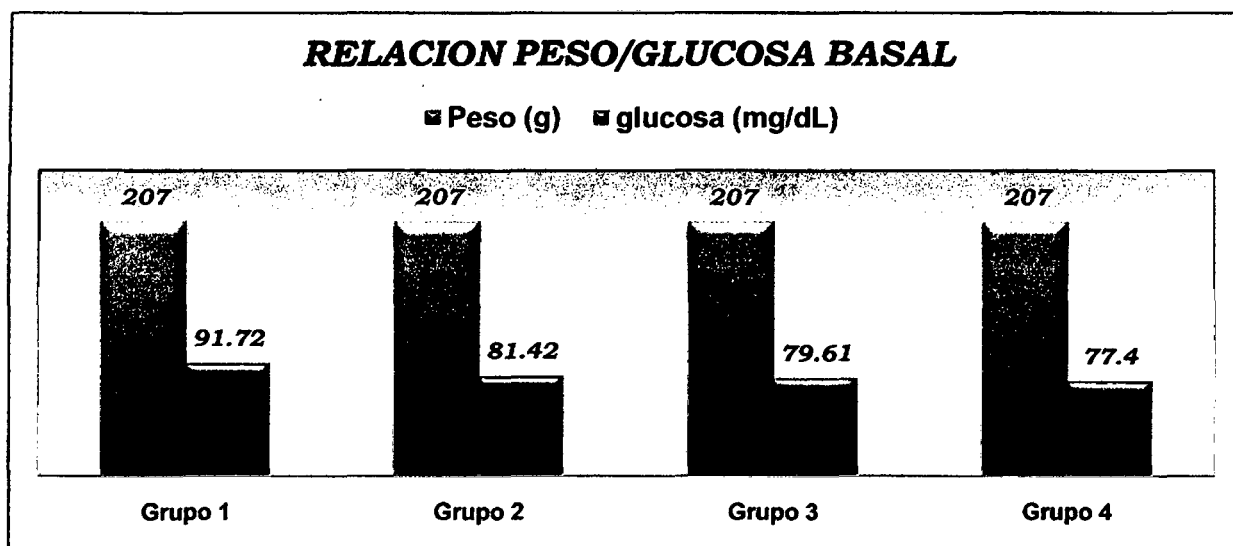


Figura 13: Relación peso/glucosa basal de los grupos de tratamiento

En la Figura 13 Se muestra la relación Peso/glucosa sérica basal de los animales de experimentación.

En el grupo 1: Control positivo (glibenclamida 5 mg/kg), se observa la relación peso/glucosa sérica de 207 g y 91.72 mg/dL respectivamente en el inicio del ensayo.

En el grupo 2: Control negativo (suero fisiológico 0.9%), se observa la relación peso/glucosa sérica de 207 g y 81.42 mg/dL respectivamente en el inicio del ensayo.

En el grupo 3: *A. halimifolia* Lam. dosis 250 mg/kg se observa la relación peso/glucosa sérica de 207 g y 79.61 mg/dL respectivamente en el inicio del ensayo.

En el grupo 4: *A. halimifolia* Lam. dosis 500 mg/Kg se observa la relación peso/glucosa sérica de 207 g y 77.4 mg/dL, respectivamente en el inicio del ensayo.

**“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam.”**

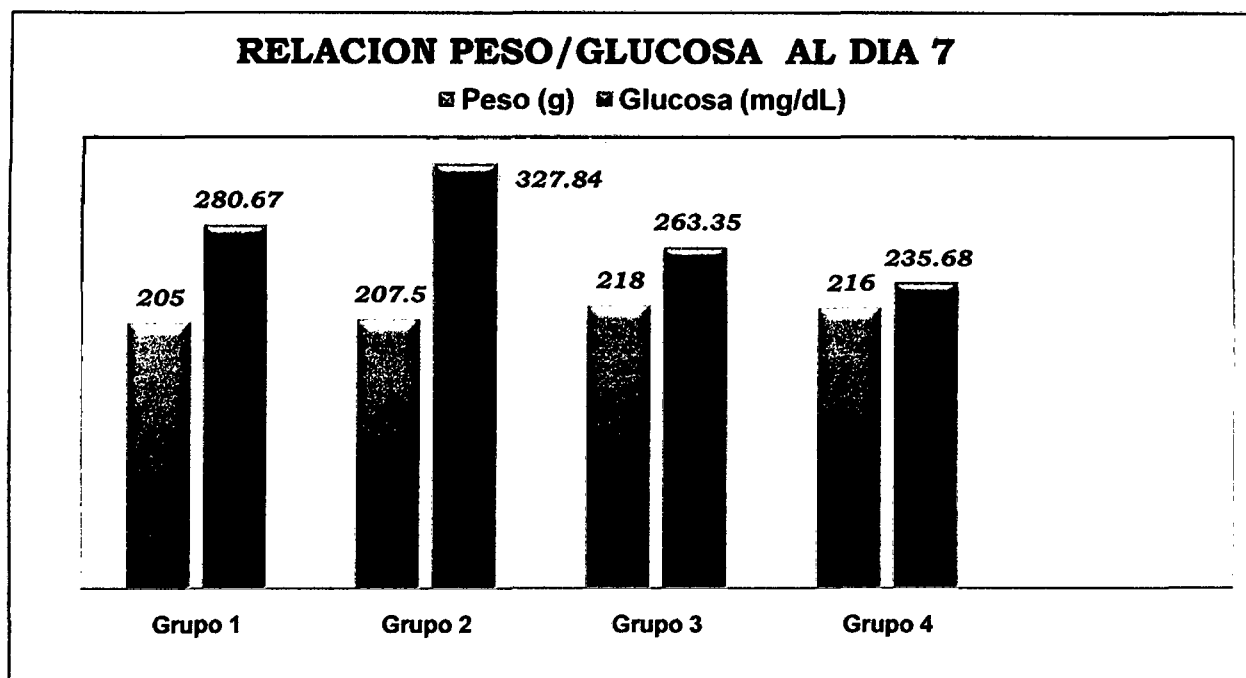


Figura 14: Relación peso/glucosa al día 7 de tratamiento

En la Figura 14 Se muestra la relación Peso/glucosa sérica al día 7(hiperglicemia) de los animales de experimentación.

En el grupo 1: Control positivo (glibenclamida 5 mg/kg), se observa la relación peso/glucosa sérica de 205 g y 280.67 mg/dL, respectivamente en el día 7 del ensayo

En el grupo 2: Control negativo (suero fisiológico 0.9%), se observa la relación peso/glucosa sérica de 207.5 g y 327.84 mg/dL, respectivamente en el día 7 del ensayo.

En el grupo 3: *A. halimifolia* Lam. dosis 250 mg/kg se observa la relación peso/glucosa sérica de 218 g y 263.35 mg/dL, respectivamente en el día 7 del ensayo.

En el grupo 4: *A. halimifolia* Lam. dosis 500 mg/Kg se observa la relación peso/glucosa sérica de 216 g y 235.68 mg/dL, respectivamente en el día 7 del ensayo.

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam."

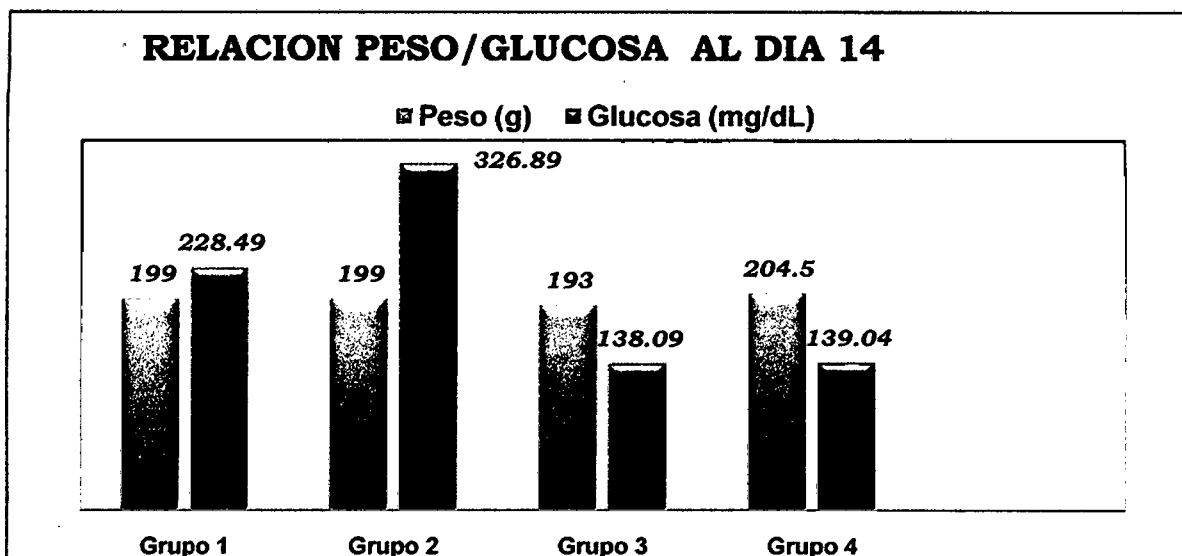


Figura 15: Relación peso/glucosa al día 14 de tratamiento

En la Figura 15 Se muestra la relación Peso/glucosa sérica al día 14 de los animales de experimentación.

En el grupo 1: Control positivo (glibenclamida 5 mg/kg), se observa la relación peso/glucosa sérica de 199 g y 228.49 mg/dL, respectivamente en el día 14 del ensayo observando una ligera disminución del peso corporal en relación al peso basal y del día 7.

En el grupo 2: Control negativo (suero fisiológico 0.9%), se observa la relación peso/glucosa sérica de 199 g y 326.89 mg/dL, respectivamente en el día 14 del ensayo observando una ligera disminución del peso corporal en relación al peso basal y del día 7.

En el grupo 3: *A. halimifolia* Lam. dosis 250 mg/kg se observa la relación peso/glucosa sérica de 193 g y 138.09 mg/dL, respectivamente en el día 14 del ensayo observando una ligera disminución del peso corporal en relación al peso basal y del día 7.

En el grupo 4: *A. halimifolia* Lam. dosis 500 mg/Kg se observa la relación peso/glucosa sérica de 204 g y 139.04 mg/dL, respectivamente en el día 14 del ensayo observando una ligera disminución del peso corporal en relación al peso basal y del día 7.

*"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam."*

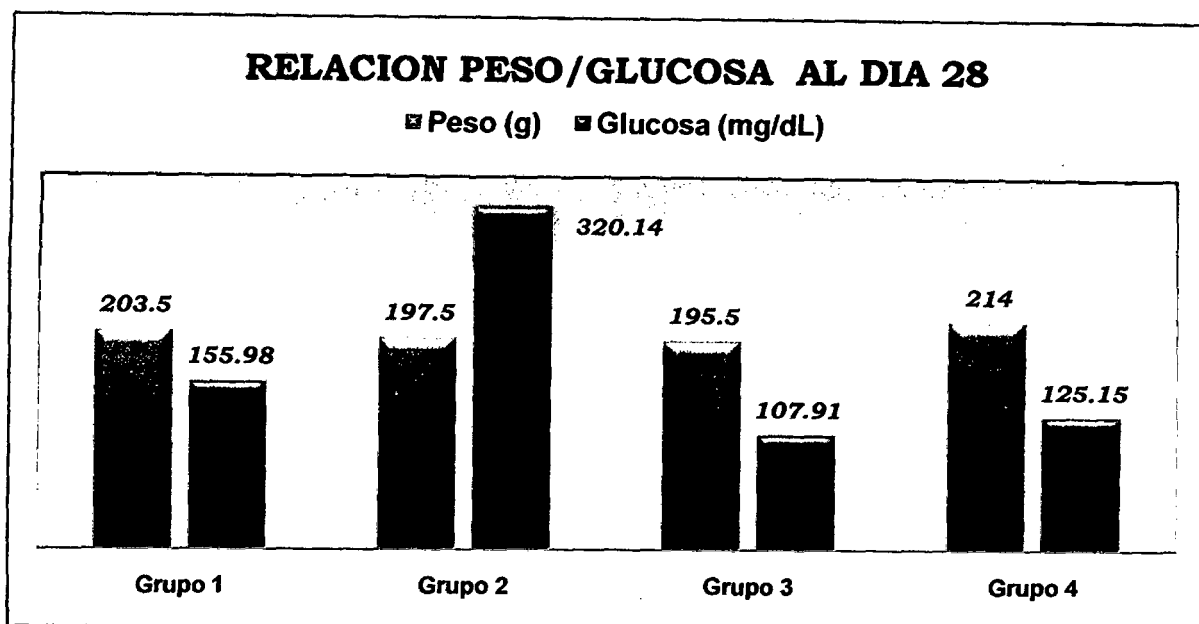


Figura 16: Relación peso/glucosa al día 28 de tratamiento

En la Figura 16 Se muestra la relación Peso/glucosa sérica al día 28 de los animales de experimentación.

En el grupo 1: Control positivo (glibenclamida 5 mg/kg), se observa la relación peso/glucosa sérica de 203.5 g y 155.98 mg/dL, respectivamente en el día 28 del ensayo observando un ligero aumento del peso corporal en relación al peso basal y del día 7 y 14 respectivamente

En el grupo 2: Control negativo (suero fisiológico 0.9%), se observa la relación peso/glucosa sérica de 197.5 g y 320.14 mg/dL, respectivamente en el día 28 del ensayo observando una ligera disminución del peso corporal en relación al peso basal y del día 7 y 14 respectivamente.

En el grupo 3: *A. halimifolia* Lam. dosis 250 mg/kg se observa la relación peso/glucosa sérica de 195.5 g y 107.91 mg/dL, respectivamente en el día 28 del ensayo observando un ligero aumento del peso corporal en relación al peso basal y del día 7 y 14 respectivamente

En el grupo 4: *A. halimifolia* Lam. dosis 500 mg/Kg se observa la relación peso/glucosa sérica de 214 g y 125.15 mg/dL, respectivamente en el día 28 del ensayo observando un ligero aumento del peso corporal en relación al peso basal y del día 7 y 14 respectivamente.

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam."

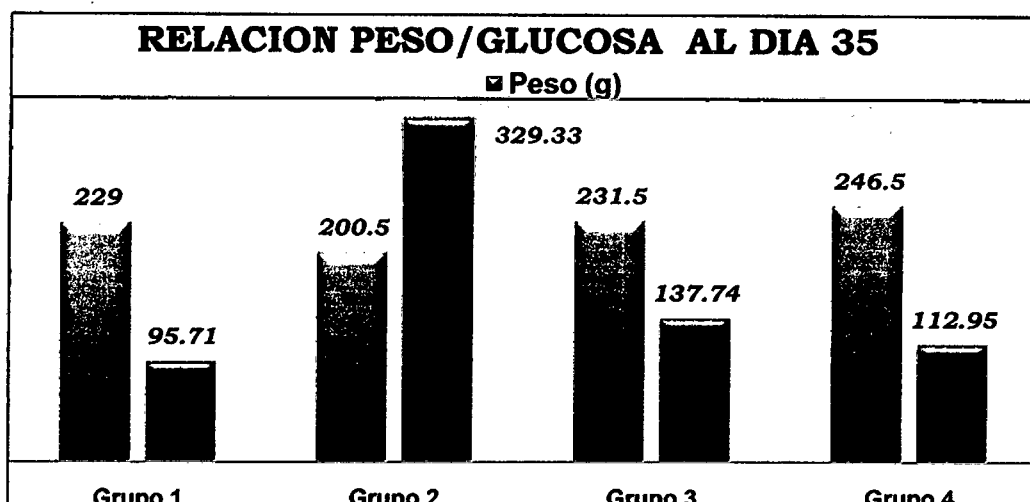


Figura 17: Relación peso/glucosa al día 35 de tratamiento

En la Figura 17 Se muestra la relación Peso/glucosa sérica al día 35 de los animales de experimentación.

En el grupo 1: Control positivo (glibenclamida 5 mg/kg), se observa la relación peso/glucosa sérica de 229 g y 95.71 mg/dL, respectivamente en el día 35 del ensayo observando un ligero aumento del peso corporal en relación al peso basal y del día 7, 14 y 28 respectivamente.

En el grupo 2: Control negativo (suero fisiológico 0.9%), se observa la relación peso/glucosa sérica de 200.5 g y 329.33 mg/dL, respectivamente en el día 35 del ensayo observando una ligera disminución del peso corporal en relación al peso basal y del día 7, 14 y 28 respectivamente.

En el grupo 3: *A. halimifolia* Lam. dosis 250 mg/kg se observa la relación peso/glucosa sérica de 231.5 g y 137.74 mg/dL, respectivamente en el día 35 del ensayo observando un ligero aumento del peso corporal en relación al peso basal y del día 7, 14 y 28 respectivamente.

En el grupo 4: *A. halimifolia* Lam. dosis 500 mg/Kg se observa la relación peso/glucosa sérica de 246.5 g y 112.95 mg/dL, respectivamente en el día 35 del ensayo observando un ligero aumento del peso corporal en relación al peso basal y del día 7, 14 y 28 respectivamente.

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio proporcionan una valiosa información, sobre el posible efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam., en un modelo de diabetes experimental con Estreptozotocin, por 35 días de inducción y tras la administración oral del extracto etanólico *Alternanthera halimifolia* Lam. durante 28 días, en ratas albinas machos cepa Holtzmann.

Se han caracterizado varios tipos de Diabetes Mellitus (DM), pero los más comunes son la DM tipo 1 y la DM tipo 2. Actualmente existen, modelos experimentales que han sido desarrollados para investigar la fisiopatología de la DMT 1 y DMT 2 utilizando sustancias químicas como el Estreptozotocin (STZ). Es por eso que en el presente trabajo se evaluó el efecto hipoglucemiante de *Alternanthera halimifolia* Lam. y para ello se utilizó el modelo experimental de diabetes tipo 2 inducida por STZ. ^(71, 52) El STZ destruye específicamente las células β del páncreas, es muy conveniente para este fin, otros químicos utilizados en la actualidad son el alloxano. ^(15, 52)

El Estreptozotocin a dosis altas destruye a todas las células beta de los islotes pancreáticos, mientras que a dosis bajas causan insulinitis y formación de anticuerpos anti-islotes.⁽¹¹⁾ Mora H. (2009) ⁽⁴⁵⁾, evaluó el efecto diabetogénico en ratas Wistar tras la administración de tres dosis de STZ, con el fin de evaluar la sensibilidad de los mismos, la dosis de 30 mg/kg P.C. no produjo hiperglucemia; la dosis de 50 mg/kg P.C. generó una diabetes estable durante al menos 20 días después de una única administración; la dosis de 75 mg/kg P.C. presentó un alto efecto diabetogénico produciendo la muerte al 100% de los individuos.

Szkudelski T. (2001) ⁽⁶⁵⁾, Cisneros R. (2010) y Pérez F. (2004), estudiaron dosis bastante amplias, en el caso de ratas albinas lo más frecuente es que se utilice una dosis endovenosa única de 40 a 60 mg/kg P.C. este rango fue efectivo cuando aplicaron una sola vez intraperitonealmente; pero cuando utilizaron una dosis única de 40 mg/kg/pc. fue insuficiente para la inducción de diabetes, por tal motivo la administración se realizó sistemáticamente cada 7 días para la inducción de diabetes experimental. En el presente trabajo se utilizó dosis bajas de STZ, como 40 mg/kg P.C. administradas cada 7 días durante el tiempo de estudio que

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

fue de 35 días, la misma que resultó muy efectivo, produciendo hiperglucemia (X=276.89mg/dl) valores deseados en la inducción de DMT2, al comparar con lo reportado por los autores anteriormente mencionados.

La inducción de hiperglucemia experimental se realizó con STZ, en ratas albinas machos cepa Holtzmann, observándose aumento de los niveles séricos de glucosa (X=276.89mg/dl.) estadísticamente significativa ($p < 0.05$), éste aumento puede deberse a la administración de STZ durante los 35 días de estudio con la dosis determinada, debido a que disminuye la secreción de insulina de las células β del páncreas en 1%, produciendo disminución de la actividad de las células dando como resultado una diabetes mellitus experimental. Los resultados de nuestro ensayo se asemejan a lo reportado por Pérez F. (2004), quien indica que al inducir hiperglucemia experimental con STZ, a dosis de 45 mg/kg/pc., en ratas albinas cepa Sprague Dawley, los niveles de glucosa aumentaron a 300 mg/dl.

Autores como Adeyemiet al. (2009) ⁽¹⁾, demostraron que el extracto de *Annona muricata* tiene efecto hipoglucemiante en ratas cepa Wistar inducidos con STZ disminuyendo de 207 a 197.70 mg/dl., estos resultados demuestran que hubo una disminución en los niveles de glucosa. Esto podría deberse a que los alcaloides presentes en *Annona muricata*, pueden reparar las células beta y aumentar la secreción de insulina y adrenalina. La actividad hipoglucemiante del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. puede deberse a los compuestos químicos que tiene la especie tales como los taninos, el cual es considerado como antioxidante por su capacidad de eliminar los radicales libres previniendo así la aparición de muchas enfermedades degenerativas. Esta información concuerda con Murillo et al. (2006) ya que reportan que la actividad antioxidante de los extractos de la especie *Bauhiniak albreyeri* Harns podría estar relacionada con el uso de esta planta como antidiabético. Al respecto Naranjo et al. (2003), mencionan la presencia de alcaloides y flavonoides en el extracto fluido de *Tecomastans* Linn como posibles responsables del efecto hipoglucemiante sin ahondar mucho en el tema. ⁽⁴⁶⁾

En los resultados obtenidos sobre el peso corporal, la disminución del mismo en el grupo control negativo tratado con suero fisiológico, puede deberse a la deficiencia de insulina por falta de funcionamiento del páncreas o por pérdida de sensibilidad de los receptores de

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

insulina; ya que el STZ destruye las células β , manifestándose la hiperglucemia la cual da como resultado la disminución de la entrada de la glucosa en las células, disminuyendo la utilización de la glucosa por varios tejidos, observándose un desgaste de los mismos y como consecuencia descenso del peso corporal. ^(29, 73)

Miyamoto, K. *et al.* (1996), reportan que debido a las propiedades antioxidantes que poseen los taninos, éstos han sido usados para diversas enfermedades incluyendo cáncer, enfermedades cardiovasculares y artritis. ⁽⁴⁴⁾ En la identificación de los metabolitos secundarios del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. se obtuvieron como resultado la presencia de taninos, alcaloides, azúcares reductores y flavonoides, los cuales cumplen un papel importante en la disminución de la glucemia.

Lastra, J. (2000), menciona que el género *Alternanthera* de la familia *Amaranthaceae* se utiliza como antiinflamatorio y contra la diabetes. ⁽⁴²⁾ En relación al estudio de la actividad hipoglucemiante del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. perteneciente a la familia *Amaranthaceae* si presenta actividad hipoglucemiante frente diabetes tipo 2.

Sánchez Yactayo. G. (2010), refiere que el estudio del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Uncaria guianensis* (Aubl) Gmel. administrada por vía oral, a dosis de 100 y 300 mg/Kg P.C. no provoca signos clínicos de toxicidad en ratas albinas cepa Holtzmann, durante los 90 días de evaluación. ⁽⁶¹⁾ En el estudio de la toxicidad sub-crónica a dosis repetida del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam, a dosis de 250 y 500 mg/Kg P.C. administrada por vía oral en ratas albinas cepa Holtzmann no presentó signos de toxicidad alguno durante el tiempo de estudio que fue de 14 días.

Grandez *et al* (2005) aun sin publicar, asegura que la dosis 250 y 500 mg/Kg P.C. del extracto etanólico de *Solanum sessiliflorum* D. "cocona" obtuvo actividad hipoglucemiante, disminuyendo los valores glucosa sanguínea de 596.5 a 307.08 y 463.35 a 365.25 mg/dl respectivamente, en los animales de experimentación. ⁽²⁶⁾ En los grupos tratados con *Alternanthera halimifolia* Lam. a dosis 250 mg/kg P.C. (grupo 3), y a dosis 500 mg/kg P.C. (grupo 4) y Glibenclamida a dosis 5 mg/kg P.C. (grupo 1), el peso corporal presento bajas en la segunda semana de tratamiento y un incremento en la cuarta y quinta semana de

“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam.”

tratamiento, esto puede deberse a que la *Alternanthera halimifolia* Lam. y la Glibenclamida, sensibilizan a los receptores de insulina o mejoran el funcionamiento pancreático favoreciendo que la glucosa, que se encuentra en la sangre se una a su receptor de insulina transportando la glucosa al interior de la célula, y así se puede mantener o incrementar el peso corporal en el estado de la diabetes mellitus tipo 2. ⁽²⁶⁾

Deas, M. *et al.* (1997), mencionan que en su estudio sobre el efecto hipoglucemiante del *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada) utilizaron el método de glucosa oxidasa para medir glicemia. ⁽¹⁸⁾ En el estudio de la actividad hipoglucemiante del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. a dosis de 250 y 500 mg/Kg P.C. también se utilizó el método de glucosa oxidasa para medir la glicemia en ratas albinas cepa Holtzmann.

Rojo, D. *et al.* (2002), determinaron la concentración de glucosa en sangre de las ratas de laboratorio en los periodos de evaluación de 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 min. mediante el método de glucosa oxidasa en un analizador automático de la Boheringer Mnheim modelo Hitachi System 704.26. ⁽⁵⁹⁾ En relación al estudio de la actividad hipoglucemiante del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam., se determinó la glicemia sérica de las ratas albinas cepa Holtzmann cada 7 días (1, 7, 14, 28 y 35 días), se utilizó el método de glucosa oxidasa.

Sifuentes C. *et al.* (2006). Observo que *Solanum sessiliflorum* “cocona”, *Alternanthera halimifolia* Lam. y *Terminalia catappa* L. “castañilla”, a dosis de 250 mg/Kg a 10% y 500 mg/Kg a 20%, redujeron los valores de glucosa sanguínea de las ratas albinas. La especie *Alternanthera halimifolia* Lam. a dosis de 500 mg/Kg P.C. al 20% obtuvo diferencia estadística respecto a las demás especies, demostrando que provoca mayor tendencia a reducir la glucosa sérica en animales de experimentación, por lo tanto la especie a dosis 500 mg/Kg P.C. fue la especie con mayor actividad hipoglucemiante seguida de “cocona” y “castañilla”

En relación a la determinación del efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. a dosis de 250 y 500 mg/Kg P.C. los resultados obtenidos sobre los niveles de glucosa sérica, demuestran que el extracto etanólico presenta efecto hipoglucemiante al reducir los niveles de glucosa sérica entre el día 7 y día 35 en un 47.69% y 52.07% al administrar dosis de 250 mg/kg P.C. y 500 mg/kg P.C. respectivamente. Se observa que al duplicar la dosis de 250 a 500 mg/Kg P.C. solo aumentó en un 4.38 % la reducción de

“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam.”

los niveles de glucosa sérica, entonces en este estudio no se cumple que al aumentar la dosis se tiene un mayor efecto.

Guerra J. et al. (2001), reportan que en su evaluación del efecto hipoglucemiante del extracto de Aloe vera L. en ratas, trabajaron con insulina y tolbutamida como control positivo. Además utilizaron alloxano a dosis de 200 mg/Kg P.C. por vía intraperitoneal para inducir hiperglucemia en ratas Wistar. ⁽³⁰⁾ En el estudio de la actividad hipoglucemiante del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam., se trabajó con glibenclamida como control positivo a dosis de 5 mg/Kg/ P.C. y se utilizó estreptozotocin para inducir Diabetes Mellitus tipo 2 a dosis de 40 mg/Kg P.C. administrada por vía intraperitoneal en ratas albinas cepa Holtzmann.

Campos, M. (2005), sostiene que en su tesis acerca del estudio farmacognóstico y determinación de la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso del fruto de *Solanum sessiliflorum* “cocona” en ratas albinas con diabetes alloxánica, la dosis de 1000 mg/Kg P.C. de este extracto disminuyó las concentraciones de glucosa sanguínea. ⁽¹³⁾ En relación al estudio de la actividad hipoglucemiante del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. administradas a dosis de 250 y 500 mg/Kg P.C. en ratas albinas diabéticas inducidas con estreptozotocin, la dosis de 250 mg/Kg P.C. fue la que mostró mejor significancia en comparación a la dosis de 500 mg/Kg P.C., debido a que del día 7 a los 35 días de estudio el porcentaje de variación de la glucosa sérica de la dosis de 250 mg/Kg P.C. fue 47.69% y de la dosis de 500 mg/Kg P.C. fue 52.07%; entonces se llegó a la conclusión que al duplicar la dosis de 250 a 500 mg/Kg P.C. el porcentaje de variación de glucosa sérica no duplica, solo aumentó en un 4.38%.

Éste hallazgo incentiva a la utilización del extracto etanólico de *Alternanthera halmifolia* Lam. por su efecto hipoglucemiante comprobado y debido a que presenta menos toxicidad, esto se corrobora con lo reportado por Ríos I., et al ⁽⁵⁷⁾ en estudios realizados sobre la toxicidad del extracto por el método de dosis repetida de 90 días, los cuales indican que la administración diaria del extracto acuoso liofilizado de *Abuta rufescens* A., no provoca mortalidad ni signos clínicos tóxicos que indiquen daño sistémico durante el ensayo, no

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

observándose cambios macroscópicos significativos en corazón, riñones, hígado y otros órganos. La información publicada por Ríos I., et al, nos hace considerar que el extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. no presenta efectos tóxicos sistémicos. Con los resultados obtenidos demostramos que el uso del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. puede ser una alternativa o un coadyuvante en el tratamiento de DM2, gracias a sus compuestos químicos, efecto hipoglucemiante y a su inocuidad demostrada experimentalmente.

CONCLUSIONES

- ✓ En el desarrollo del tamizaje fitoquímico, la presencia de compuestos tales como: taninos, flavonoides alcaloides, saponinas y azúcar reductores nos permite asumir que estos metabolitos secundarios cumplen un papel importante en la reducción de la glucosa sérica para el tratamiento de la diabetes tipo 2.
- ✓ En el estudio toxicológico sub-crónico de dosis repetida; análisis histopatológico y observación macroscópica de los órganos extraídos de las ratas hembras y machos; presentaron resultados favorables para nuestro estudio, estando dentro de valores normales establecidos en la literatura durante el tiempo de estudio, esto permite asumir que la especie *Alternanthera halimifolia* Lam. no es tóxica para el tratamiento de la Diabetes Tipo 2.
- ✓ En el presente trabajo se determinó el efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. en ratas albinas con hiperglucemia experimental inducida, estos resultados proveen evidencias para reducir los niveles séricos de glucosa. El método de inducción de hiperglucemia experimental con estreptozotocina en ratas albinas demostró ser eficiente según las condiciones experimentales de trabajo.
- ✓ El extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam. a dosis de 250 mg/kg P.C., demostró ser más efectiva y más significativa que la dosis de 500 mg/Kg P.C. reduciendo los niveles séricos de glucosa desde la primera semana hasta el último día de tratamiento en un (47.69%); comparando con el control positivo: Glibenclamida 5 mg/Kg P.C. que fue (65.89%); la dosis de 500 mg/Kg P.C. fue la que más se aproximó al control positivo con un (52.07%), duplicando la dosis se esperó que la reducción de glucosa sérica se duplique pero no fue así, entonces en el estudio realizado no se cumple que al aumentar la dosis de 250 a 500 mg/Kg P.C. la reducción de glucosa se duplique, solo aumentó la reducción en un 4.38%.

RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar estudios mas exhaustivos teniendo en cuenta la función hepática, durante y después del tratamiento con el extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* (Lam.), para detectar y corregir en forma temprana los posibles daños que se puedan presentar.
- ✓ Realizar estudios de toxicidad especial, como el ensayo de anomalías en la cabeza del espermatozoide de ratón y el ensayo de inducción de micronúcleo.
- ✓ Incluir dentro de las pruebas bioquímicas, marcadores de daño pancreático y hepático TGO Y TGP.
- ✓ Incluir dentro de las pruebas bioquímicas, parámetros como insulina.
- ✓ Realizar el estudio toxicológico de dosis límite para confirmar a que dosis es toxico la especie botánica.
- ✓ Realizar estudios clínicos en personas con problemas de hiperglucemias.
- ✓ Determinar la toxicidad de los principios activos presentes en extracto etanólico de *Alternanthera halimifolia* Lam.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Adeyemi, David Olawale. Anti-Hiperglicémico activities of *Annona muricata* (Linn). Revista Research Paper Afro Ethno Mednet. Cam (2009) 6(1): 62 al 69.
2. Almeida I, Bahia MF. Geles – Aspectos Fundamentéis. Revista portuguesa de farmacia. Orden dos Farmacéuticos. 2007; pp3
3. *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. In Pittier, Man. Plant. Usual. Venez. 145. 1926
4. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2009; 32 (Supp 1): S62-S67.
5. Bailey y Day, 1989, Alarcón-Aguilar et al., 1998, Aybar et al., 2001.
6. Bailey CJ and Day C. (1989) Traditional plant medicines as treatments for diabetes. Diabetes Care 8:553-564.
7. Bakke OM. Requerimientos para el estudio clínico de nuevos fármacos. 1. El desarrollo preclínico. *InvestClínBioét*2000; 36: 25 - 28.
8. Barroso, I. (2005) *Diabet. Med.* 22, 517-535
9. Baynes JW, Thrope SR. (1999). Role of oxidative stress in diabetic complications. A new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, 48:1-9.
10. Boyle JP, Honneycutt AA, Narayan KM, Hoerger TJ, Geiss LS, Chen H, Thompson TJ (2001). Projections of diabetes burden through 2050: impact of changing demography and disease prevalence in US. *Diabetes Care* 24:1936-1940.

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

11. Bolzan AD, Bianchi MS. Genotoxicity of streptozotocin. *Mutat Res* 2002; 512 (2-3): 121-34.
12. Brimblecombe RW, Dayan AD. Preclinical toxicity testing. En: Burley DM, Clarke JM, Lasagna L (eds.) *Pharmaceutical medicine*. 2ª ed. Londres: Edward Arnold, 1993:12-32.
13. Campos, M. 2005. Tesis para obtener el título de biólogo: Estudio hipoglicemiante del extracto liofilizado de *Solanum sessiliflorum* Dunal "cocona" a la dosis de 1000 mg/kg. Universidad Mayor de San Marcos. 82pp.
14. Capasso F., T. Gaginella, G. Grandolini & A.A. Izzo (2003) *Phytotherapy*. Springer-Verlag Berlín Heidelberg.
15. Carrasco-Figueroa, R: The mechanism of alloxan hypoglycemia Proc. Am. Diabetes Assoc., 7:277-287, 2001.
16. Cerrutti, T. 1995. Descripción Botánica del "ojo de pollo". Informe técnico del Instituto de Medicina Tradicional. DOC. IMET – EsSalud. Iquitos – Perú. 10 pp.
17. Clayton G.D. y Clayton F.E., dirs., *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*, 3ª edición revisada, John Wiley & Sons Inc., Estados Unidos, 1978 (60)
18. Deas, M; Seucjo, A. & Gonzalez, R. 1997. Estudio del efecto hipoglicemiante del *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada) con el uso de un ensayo biológico en ratones. Editorial Ciencias Médicas. Rev. Cubana Plant Med. 2 (1): 15 – 18 pp.
19. Delgado H 2005. Estudio de la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de *Solanum sessiliflorum* "cocona" en "ratas albinas" IMET – EsSALUD.

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

20. Delgado Wong, Henry y otro. Estudio del Potencial Toxicológico a Dosis Repetida durante 90 días de *Uncaria tomentosa* (Willd), DC. En *rattus Norvegicus* cepa holtzmann. Iquitos-Perù, 2007
21. Derelanko MJ, Hollinger MA, (eds). *CRC Handbook of toxicology*. Boca Raton, 1995.
22. Ducke, J. & Vasquez, R. 1994. *Amazonian Ethobotanical Dictionary USA*. 215pp.
23. Evans AG. Nonclinical drugtesting. En: Mathieu M (ed.) *New drug development: A regulatory overview*. 3ª ed. Walham: Parexel Int., 1994:15-33.
24. Gayton, Artur C. *Tratado de Fisiología Médica*. Edición VII. Madrid. El sevier Science; 2007. Pag. 1005-1079.
25. Grau A, Kortsarz A, Aybar M, Sánchez Riera A, Sánchez S (2001). El retorno del Yacón. *Ciencia Hoy*, 2001, 11(63):24-32.
26. Grandez, m; Garcia, l; Rivadeneyra, n; Cabrera, a. & Suarez, j. 2005. Identificación del extracto responsable de la actividad hipoglucemiante del fruto liofilizado de *Solanum sessiliflorum* (cocona) y evaluación fitoquímica en Iquitos. Informe técnico Facultad de Ingeniería Química – UNAP. 48pp.
27. Gregg et al., *Annals of Internal Medicine*, 2007.
28. Gingsberg HN (1994). Lipoprotein metabolism and its relationship to atherosclerosis. *Medicinal and Clinical North America* 78:1-20.
29. Goldner, M.G. and Gomori, G.: Studies on the mechanism of alloxan diabetes. *Endocrinology*. 35:245-248 2000.

*“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam.”*

30. Guerra, J; Perez, M; Isada, M; Moron, F. & Guerra, R. 2001. Efecto hipoglicemiante de extractos de Aloe vera L. en ratas. Facultad de Ciencias Médicas “Mariana Grajales”. Holguín. 5(3): 89 – 104pp.
31. Guide to the care and use of experimental animals. Vol. 1. Canadian Council on Animal Care (1993). Disponible en: URL: www.ccac.ca/en/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/GUIDE/ENGLISH/V1_93
32. Wolford S. T., Schroer R. A., Gohs F. X., Gallo P.P., Brodeck M, Falk HB, Ruhren R (1986). Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 18: 161-188.
33. Holstad M, Sandler S. A transcriptional inhibitor of TNF-alpha prevents diabetes induced by multiple low-dose streptozotocin injections in mice. *J Autoimmun* 2001; 16 (4): 441-7.
34. Hospital II – Iquitos Red Asistencial Loreto – HAI. Area de Estadística. 2010.
35. Hospital III – Iquitos Red Asistencial Loreto – EsSalud. Área de Epidemiología. 2007 – 2008 – 2009 – 2010
36. Hospital III – Iquitos Red Asistencial Loreto –HRL. Área de Estadística. 2010.
37. Houssay, B.A. and Penhous, J.C.: Pancretic diabetes and hypophysectomy in the snake *xenodonmerremii*. *Acta Endocrinol.*, 35: 313-323 2001
38. Huerta-Reyes M, Aguilar-Rojas A, Zamilpa A, Tortoriello J. Conocimientos básicos en propiedad industrial. Una guía para la solicitudes de patente para investigadores mexicanos en el área de estudio de las plantas. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat.* 2009; 8(1): 41-51.

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

39. IPCS (Programa Internacional de Seguridad de las Sustancias Químicas), Chemical Safety, Fundamentals of Applied Toxicology, Módulo de formación núm. 1, Ginebra, 1992
40. Kiesling, 1994; Judd *et al.*, 1999.
41. Kloucek P, B Svobodova, Polesny Z, Langrova I, Smrcek S, Kokoska L, Actividad antimicrobiana de algunos medicamentos utilizados en cortezas de la Amazonía peruana. . (2007).
42. Lastra, J. 2000. Plantas medicinales.
43. López GR, Ventura PM, Rodríguez RM, Casas BJ, Hernández PM, Arias GA. Efectos de un extracto hidroalcohólico de *Bidens alba* en ratas normales y con diabetes aloxánica. Acta Farm. Bonaerense. 2001; 20(2):89-93.
44. Miyamoto, K; Kishi, N; Murayama, T; Furukawa, T. & Koshiura, R. 1996. Induction of cytotoxicity of peritoneal exudate cells by agrimony in, a novel immunomodulatory tannin of Agrimonia pilosa Ledeb. Cancer Immuno Immun other; 27(1): 59 – 62pp.
45. Mora H., Ángela C.; Aragón N., Diana M.; Ospina G., Luis F; Caracterización del Estrés Oxidativo en Ratas Wistar Diabeticas por Estreptozotocina. Vitae, Vol. 16, Núm. 3, , pp. 311-319. Universidad de Antioquia. Colombia. septiembre, 2009.
46. Naranjo, J; Corral, A; Rivero, G; Fernadez, M. & Perez, P. 2003. Efecto hipoglicemiante del extracto fluido de *Tecomastans Linn* en roedores. Revista cubana Med. Milit. 32 (1): 13 – 17pp.

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

47. Non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals. ICH harmonised tripartite guideline. 16 de Julio 1997.
48. Note for guidance on toxicokinetics: A guidance for assessing systemic exposure in toxicology studies (CPMP/ICH/384/95).
49. O'Brien RM, Granner DK (1996). Regulation of gene expression by insulin. *Physiological Reviews* 76:1109-1161.
50. Ortega A., Micó J.I Symposium de Dolor en Reumatología: Modelos animales de dolor. *Reumatol. Clin.* [Internet] 2006 [acceso 06 de Setiembre del 2009] 2 Supl 1: S2-4 Disponible en: <http://www.doyma.es>.
51. Palacios EE. Economía y plantas medicinales. *Boletín CSI*. 2004; 52: 28-31.
52. Rakieten, N., Rakiten, M.L. and Nadkarni, M.V.: Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemo therap. Rep.*, 29: 91-98, 2004.
53. Reddy S, Wu D, Elliott RB. Low dose streptozotocin causes diabetes in severe combined immune deficient (SCID) mice without immune cell infiltration of the pancreatic islets. *Autoimmunity* 2000; 20 (2): 83-92.
54. Reid, Pd.: Animal models of diabetes mellitus: A review. *Lab. Animal*, pp 40-45, May-June, 2005
55. Regional de Salud Loreto. Unidad de Estadística e Informática. Iquitos – Perú. 1,996.
56. Rerup, C.C.: Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. *Pharmacol.Rev.*, 22(4):485-518, 2003

“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam.”

57. Ríos I, F. Efecto hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Abuta rufescens* a dosis de 5 y 10mg/kg/pc, en ratas albinas. Laboratorio de Farmacología y Toxicología. IMET – EsSALUD. 2004.
58. Ríos I, F. Evaluación analgésico (periférico y central) del extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Abuta rufescens* a dosis de 100 y 200 mg/kg, ratones albinos. Laboratorio de Farmacología y Toxicología. IMET – EsSALUD. 2004.
59. Rojo, D; Bell, L; Cancio, E. & Iglesias, R. 2002. Efecto del extracto hipoglicemiante de *Petiveria alliacea* L sobre el consumo de glucosa por los eritrocitos. Editorial Ciencias Médicas. Rev Cubana Invest Bioméd. 21(3): 161 – 168pp.
60. Rubio Terrés C, Duque I, Tristán C, Galende I. Estudios de toxicología animal necesarios para la investigación clínica y el registro de medicamentos de uso en humanos: conclusiones de la Conferencia Internacional de Armonización (I). *Med Clin (Barc)* 1993; 1 01: 705 - 16.
61. Sanchez Yactayo. Guido Antonio. Evaluación del Potencial toxicológico a dosis repetidas durante 90 días del extracto acuoso liofilizado de hoja de *Uncaria guianensis* (aubi). Gmel en ratas albinas cepa holtzmann. Iquitos-Perú, 2010
62. Schumenam de Aluja Alnin. Derechos de los animales. Gaceta Médica de Méjico N° 131 (1) pag. 49-63. Jan-Feb. 1995.
63. Sifuentes, E. 2004. Evaluación preliminar de dosis y concentraciones de *Solanum sessiliflorum* Dunal “cocona” como hipoglicemiante en diabetes experimental. Práctica Pre – Profesional II. Facultad de Ciencias Biológicas – UNAP. Iquitos – Perú. 38pp.
64. Silva, D. H. & Garcia, J. 1997. La Medicina Tradicional en Loreto. Instituto Peruano de Seguridad Social. Iquitos – Perú. 108pp.

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

65. Szkudelski, T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 50: 536-546.
66. Tenazoa Wong, Deysi Viviana. Evaluación Toxicológica a dosis repetida durante 90 días del extracto liofilizado de *Uncaria guianensis* (Aubi.) Gmel. En ratas albinas cepa holtzmann. Iquitos-Perú, 2006
67. Tiwari A. and Rao J. (2002). Diabetes mellitus and multiple therapeutic approaches of phytochemicals; Present status and future prospects. *Current Science* 83(1), 30-38
68. UICN, OMS, WWF (1993). Directrices sobre conservación de plantas medicinales. Organización Mundial de la salud (OMS), Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) y Word Wild Life (WWF), Gland, Switzerland.
69. Utia, P 2005. Estudio del efecto hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de *Pseudelephantopus spiralis* (Less) Cronquist "mata pasto" a la dosis de 100mg/kg a 0.5% en "ratas albinas" IMET – EsSALUD. 18pp.
70. Utia Torrejón, Patricia. Evaluación Toxicológica a dosis repetida durante 90 días del latex liofilizado de *crotón lechieri* Muell. Arg. En ratas albinas Instituto de Medicina Tradicional Essalud-iquitos-2006. Iquitos-Perú, 2007
71. Wang Z, Gleichmann H. GLUT2 in pancreatic islets: crucial target molecule in diabetes induced with multiple low doses of streptozotocin in mice. *Diabetes* 2005; 47 (1): 50-6.
72. WHO (1999) *WHO Monographs on selected medicinal plants*. Geneva.

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

73. Yang Z, Chen M, Fialkow LB, Ellett JD, Wu R, Nadler JL. The novel anti-inflammatory compound, lisofylline, prevents diabetes in multiple low-dose streptozotocin-treated mice. *Páncreas* 2003; 26 (4): e99-104
74. Zahner D, Malaisse WJ. Kinetic behaviour of liver glucokinase in diabetes. I. Alteration in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetes Res* 2000; 14 (3): 101-8.

DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

1. **Control:** Caso, grupo o individuo seleccionado para usarlo como referencia en un estudio por sus características específicas, como edad, sexo, raza, estatus económico, etc. Término relacionado: patrón, estándar.
2. **Control, grupo:** Grupo seleccionado o establecido necesariamente antes de un estudio, integrado por humanos, animales, células, etc., en todo idéntico al grupo que se estudia, y mantenido en la misma situación y condiciones que éste, pero sin someterlo a la exposición.
3. **Cuarentena:** Período de aislamiento impuesto a un ser vivo u objeto que proviene de un lugar lejano por cuarenta días.
4. **Desmielinización Segmentaria:** Lesión histológica de numerosas afecciones humanas del sistema nervioso periférico. Se caracteriza por la destrucción, eliminación o pérdida de la vaina de mielina de los nervios. Esta lesión no afecta al axón. Los restos de mielina son eliminados pudiendo ser remielinizados de nuevo.
5. **Dislocación cervical:** Acción o efecto de separar el cráneo de la columna vertebral.
6. **Efecto:** Cualquier cambio producido por una sustancia química sobre un sistema biológico concreto.
7. **Extracto:** Es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, a menudo usando un solvente como etanol o agua. Los extractos pueden comercializarse como tinturas o en forma de polvo.
8. **Estreptozotocin:** Estreptozotocin (estreptozocina, STZ, Zanosar) es un químico natural que es especialmente tóxico para las células beta productoras de insulina del páncreas de los mamíferos. Se utiliza en medicina para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer de los islotes de Langerhans la investigación médica
9. **Flavonoides:** Son pigmentos vegetales con un marcado poder antioxidante, que previenen el envejecimiento celular y los procesos degenerativos. Su estructura química es variada: fenoles, indoles, alilsulfuros, etc.
10. **Glucosa:** Es un azúcar que es utilizado por los tejidos como forma de energía al combinarlo con el oxígeno de la respiración. Cuando comemos el azúcar en la sangre se eleva, lo que se consume desaparece de la sangre, para ello hay una hormona reguladora que es la insulina producida por el páncreas.
11. **Glucosilación:** Incorporación de grupos glicosilo a otros compuestos, especialmente de naturaleza proteica. Ver glucosilación no enzimática.

*“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam.”*

12. **Hipoglucemia:** La hipoglucemia es un desajuste en el metabolismo de los niveles de "azúcar" (glucosa) en la sangre. con una glucemia < 50 mg/dL.
13. **Hiperglucemia:** Se define como un nivel de azúcar en la sangre que es superior al rango normal de 80-120 mg / dl. Para la persona que no es diabética, una de ayuno normal (sin comida 12 horas antes de la prueba) el nivel de glucosa es inferior a 126 mg / dl.
14. **Isquemia:** Sufrimiento celular causado por la disminución transitoria o permanente del riego sanguíneo y consecuente disminución del aporte de oxígeno (hipoxia), de nutrientes y la eliminación de productos del metabolismo de un tejido biológico. Este sufrimiento celular puede ser suficientemente intenso como para causar la muerte celular y del tejido al que pertenece (necrosis).
15. **Nefropatía:** Enfermedad renal. Los mecanismos del daño renal son: isquemia, nefrotoxicidad, infección, depósito de sustancias (p. ej., amiloides, sales cálcicas, etc.), inmunopatológicas y obstrucción urinaria.
16. **Peso corporal:** Es la masa del cuerpo en kilogramos. También se le llama masa corporal. En algunos países como Estados Unidos se mide en libras en vez de kilogramos.
17. **Retinopatía:** La proliferación y afectación de los vasos sanguíneos del interior del ojo por la diabetes mellitus produce la retinopatía diabética.
18. **Sulfonilúrea:** son un conjunto heterogéneo de drogas que se caracterizan por producir una disminución de los niveles de glucemia luego de su administración por vía oral, cumpliendo con este propósito a través de mecanismos pancreáticos y/o extrapancreáticos.

ANEXOS

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam."



UNAP

Herbarium Amazonense - AMAZ
Centro de Investigación de Recursos Naturales

CERTIFICADO N° 66

LA COORDINADORA DEL HERBARIUM AMAZONENSE, AMAZ-CIRNA, DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

CERTIFICA:

Que, la muestra botánica presentada por los Bach. **APAGUEÑO ARÉVALO CLAUDIO ADRIANO** y **DÁVILA LAGE JUNIOR JAIR**; Son parte de la tesis titulada "EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* (Lam.). FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA-2012"; de la Facultad de Farmacia y Bioquímica; los cuales fueron verificados e identificados en este Centro de Enseñanza e Investigación AMAZ, CIRNA-UNAP, que a continuación se indican:

| NOMBRE COMUN | NOMBRE CIENTIFICO | FAMILIA |
|----------------|--|---------------|
| "ojo de pollo" | <i>Alternanthera halimifolia</i> (Lam.) Standley ex Pittier | AMARANTHACEAE |

Se expide el presente certificado al interesado para los fines que se estime conveniente.

Iquitos, 20 de Diciembre del 2012

Atentamente,



B^{ga.} FELICIA DÍAZ JARAMA
Coordinadora, AMAZ-CIRNA-UNAP

Dirección: Pevás/Nanay - Iquitos, Perú

Centro de Investigación de Recursos Naturales

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

ANEXO N° 01

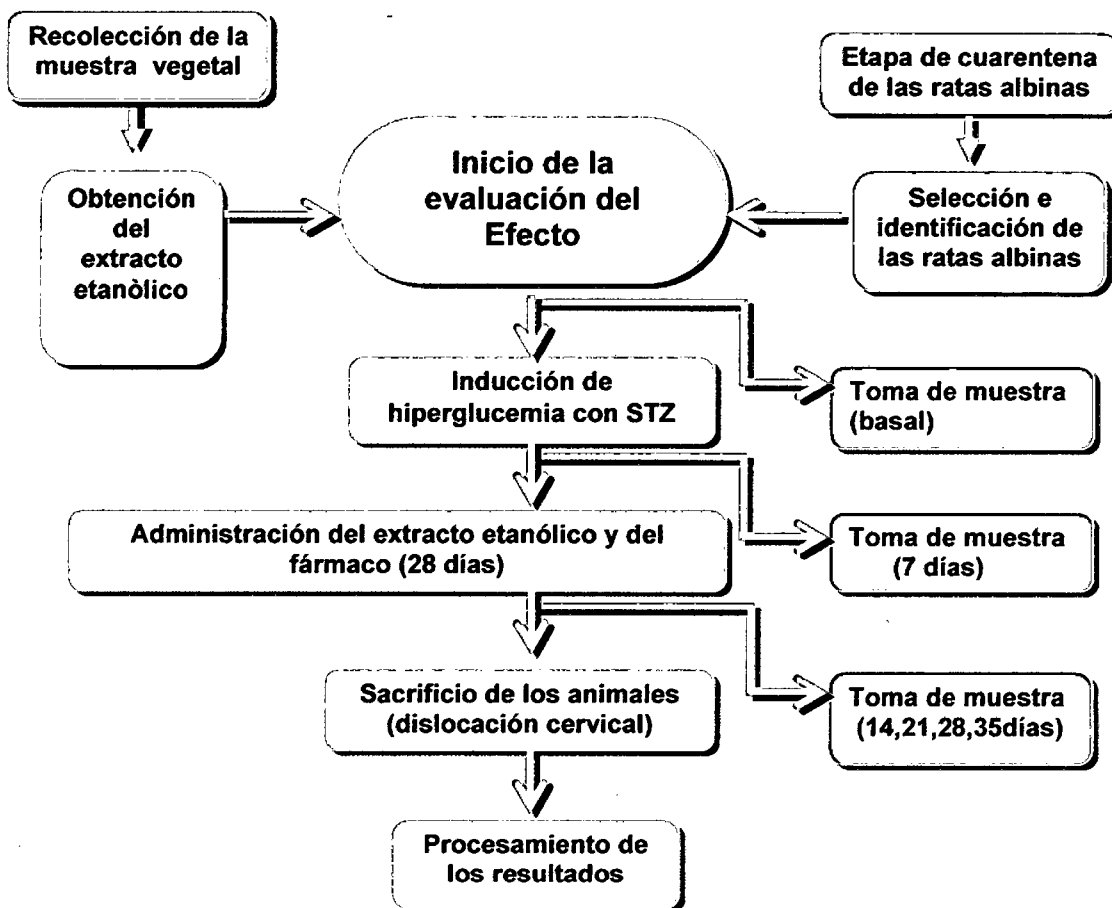
Tarjeta de Registro

| Ensayo:..... | | | |
|----------------|---------------|-----------------------|---------------|
| Producto:..... | | | |
| Fecha:..... | | Sexo:..... | |
| Dosis:..... | | | |
| MARCA | PESO (gr.) | VOLUMEN DE INOCULO | OBSERVACIONES |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

*"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam."*

ANEXO N° 02

Esquema de la Actividad Hipoglucemiante



"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

ANEXO N° 03

Ficha de Recolección de Datos para los Niveles de Glucosa

Grupo experimental: _____

Sustancia : _____

Dosis : _____

Fecha : _____

| Marca | Glucosa basal/add de STZ | 7 días | 14 días | 28 días | 35 días |
|--------------|-------------------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

ANEXO N°04

Método para Determinar el Nivel de Glucosa en Suero de Sangre de Ratas
Albinas

✓ **Metodología Glucosa Oxidasa**

En el método GOD-POD, en un primer paso la glucosa oxidasa cataliza la oxidación de la D-glucosa a ácido D-glucónico con formación de peróxido de hidrógeno. Éste es utilizado por la peroxidasa para oxidar a la 4-aminofenazona y al fenol, dando lugar a una quinonamina coloreada. La intensidad de color será proporcional a la concentración de glucosa presente inicialmente. (En ocasiones se utilizan otros sustratos en lugar de 4-aminofenazona+fenol, tales como o-dianisidina, guayacol y ABTS.).

✓ **Preparación (estándar) reactivo de trabajo**

Medir con probeta el volumen de agua destilada indicado en el rótulo. Transvasar el contenido del envase de reactivo a un frasco definitivo resuspendiéndolo en una parte del agua de reconstitución. Agregar el resto de agua hasta completar el volumen final, arrastrando el remanente de polvo que pudiera quedar adherido a las paredes del frasco. Homogenizar y facetar.

✓ **Técnica para Suero o Plasma**

En tres tubos de fotocolorímetro marcados:

B = Blanco

St = Standard

D = Desconocido

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

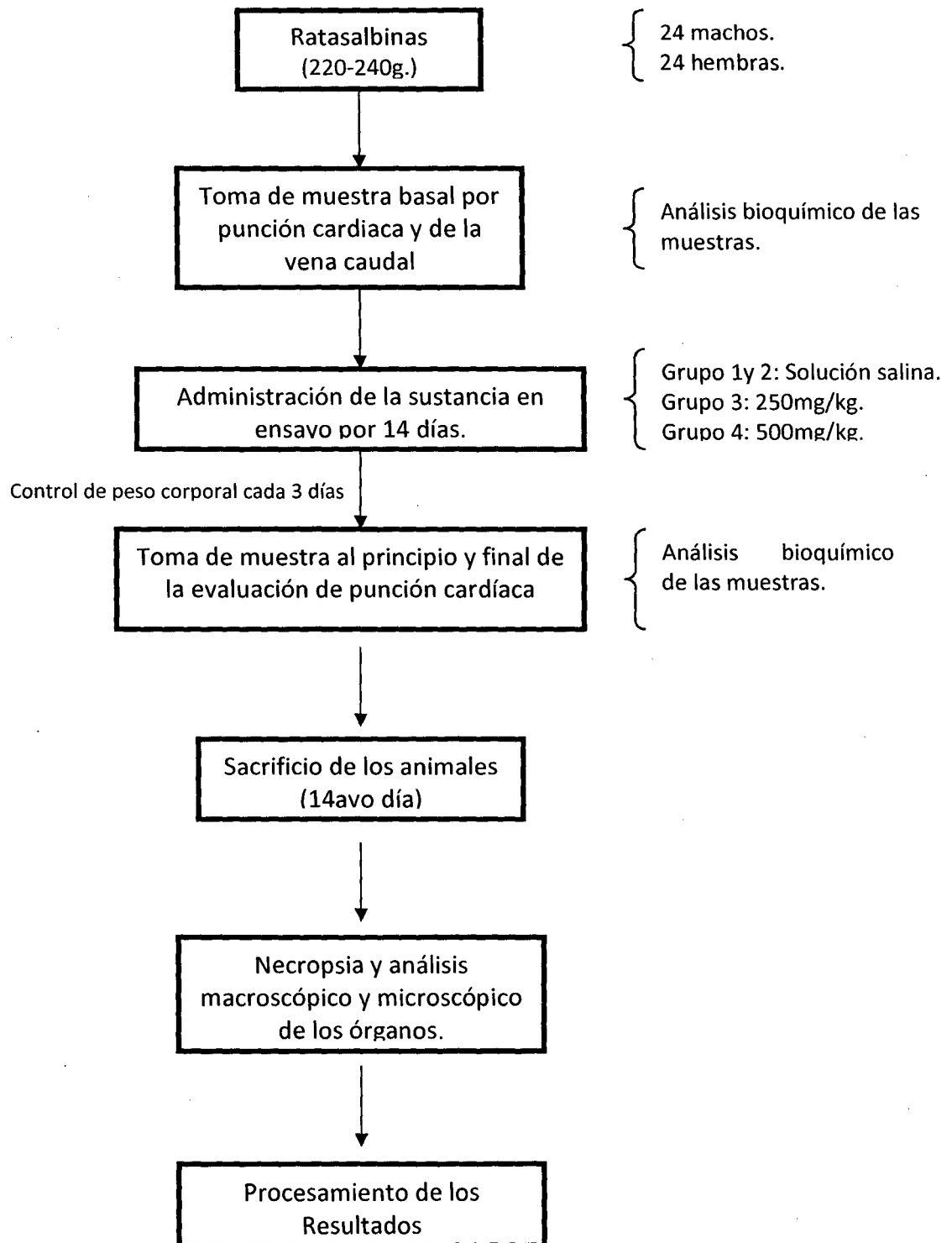
Colocar:

| | B | S | D |
|---------------------------------------|-------|-------|-------|
| Standard de glicemia | ----- | 10ul | ----- |
| Muestra o suero | ----- | ----- | 10ul |
| Reactivo de trabajo (Glucosa-Oxidasa) | 1ml | 1ml | 1ml |

Incubar 05 minutos en baño maría a 37° C, luego leer en espectrofotómetro a 505nm de longitud de onda, llevando el aparato a cero con el blanco.

ANEXO N° 05

Esquema de la Actividad Toxicológica a Dosis Repetida



ANEXO N° 06

Observaciones de Signos Clínicos

Órgano/Sistema: Signos Clínicos.

| |
|---|
| - Autónomo: Salivación, descarga nasal, diarrea, urinación, piloerección, exoftalmo, membranas nictitantes relajadas, rinorrea, sudoración. |
| - Comportamiento: Sedación, cabeza caída, posición sentada con cabeza erguida, depresión severa. Inquietud, acicalamiento excesivo, irritabilidad, comportamiento agresivo, hostilidad defensiva, fiereza, actividad bizarra, confusión. |
| - Sensorial: Reflejo derecho, sensibilidad al dolor, reflejo corneal, reflejo de los miembros posteriores, sensibilidad al sonido y al tacto. |
| - Neuromuscular: Actividad disminuida o incrementada, fasciculaciones, temores, debilidad, reflejo de los miembros posteriores (ausente o disminuida), tono muscular, ataxia, convulsiones, postración, debilidad de miembros posteriores. |
| - Cardiovascular: Alteración (incremento o disminución) de la frecuencia cardíaca, vaso constricción, vasodilatación, hemorragia. |
| - Respiratorio: Jadeo, disnea, apnea, hipoapnea. |
| - Ocular: Lagrimación, ptosis, nistagmo, midriasis, miosis, cicloplejia, Reflejo pupilar luminoso. |
| - Gastrointestinal: Salivación, náuseas, diarrea, evacuaciones sanguinolentas, constipación, defecación. |
| - Cutáneas: piloerección, alopecia, sacudidas (perro mojado), eritema, edema, hinchazón, necrosis. |

Tomado de: McNamara, B. P. New concepts in safety evaluation mehlman, M.A. shapiro, R.E. And blumenthal, H. Eds. Hemisphere publishing, New York (1976).Chap. 4 Según Ecobichon, D. J. (1992).

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

ANEXO N° 07

Registro de Signos Tóxicos.

MACHOS / HEMBRAS

| Signostóxicos | Marca | Observaciones | Tiempo de aparición | Tiempo de permanencia | Tiempo de reversibilidad |
|----------------------|--------------|----------------------|----------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| Autónomo | | | | | |
| Comportamiento | | | | | |
| Sensorial | | | | | |
| Neuromuscular | | | | | |
| Cardiovascular | | | | | |
| Respiratorio | | | | | |
| Ocular | | | | | |
| Gastrointestinal | | | | | |
| Cutáneas | | | | | |

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

ANEXO N° 09

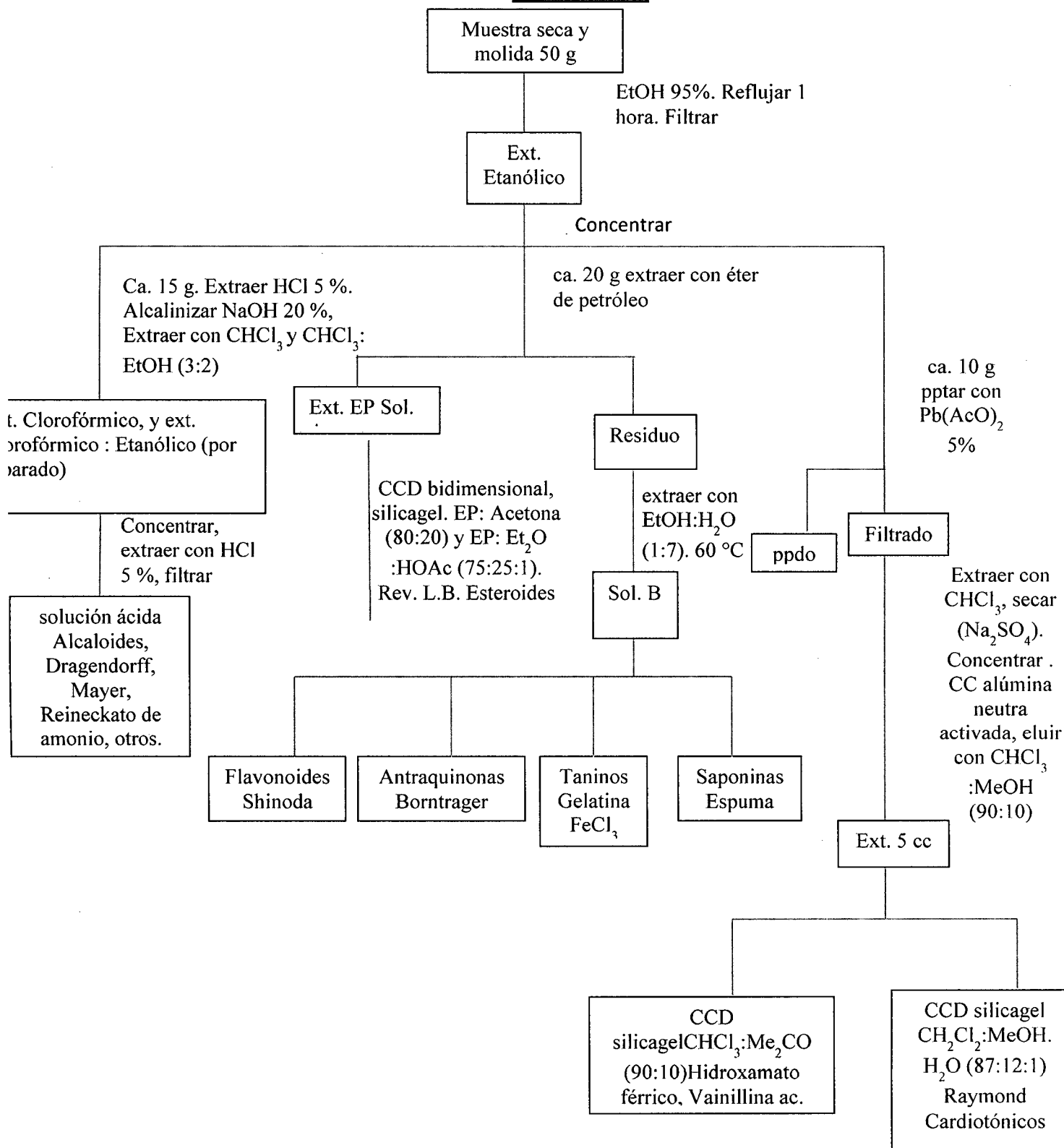
Observaciones Macroscópicas de los Órganos

MACHOS/HEMBRAS

| Órgano | Coloración | Consistencia | Alteraciones Macroscópicas |
|-------------------------|-------------------|---------------------|-----------------------------------|
| Cerebro | | | |
| Corazón | | | |
| Pulmones | | | |
| Bazo | | | |
| Hígado | | | |
| Riñones | | | |
| Estómago | | | |
| Intestino Delgado | | | |
| Testículos/Ovários | | | |
| Glândulas Suprarrenales | | | |

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

ANEXO N°10



"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

ANEXO N°11

Reacciones de Coloracion y Precipitacion para Grupos Funcionales

| MÉTODO | PROCEDIMIENTO | COLOR | APLICACIÓN Y COMENTARIO |
|--|---|--|--|
| FEHLING | a: 35 g CuSO ₄ .5H ₂ O/500 ml H ₂ O b: 175 g sal de Rochelle + 50 g NaOH/500 ml H ₂ O | ppdo. rojo | Pos: Aldehídos y otros grupos reductores; neg: aldehídos aromáticos y cetonas |
| TOLLENS | R: 1a + 1b Fresco. 5-10 mg Ms/1ml R. Dejar 5 min., calentar R: 2 ml AgNO ₃ 5 % + 1 gtNaOH 10% + NH ₄ OH 2 % hasta aclarar Sol. fresca. Ms + R. Calentar. | ppdo. Negro o espejo de plata | Pos: Aldehídos aromáticos y alifáticos, aminas aromáticas; neg: cetonas. |
| CLORURO FÉRRICO | 1-2 gts Ms/2 ml H ₂ O o MeOH + 1 gt FeCl ₃ 1%/ H ₂ O O MeOH | Coloresintensos | Pos: Fenoles; -OH enólicos. |
| GELATINA-CLORURO DE SODIO | R: 1 g gelatina/100 ml H ₂ O + 10 g NaCl. Ms + 1 gt R. | ppdo. | Pos: Taninos. |
| MERINI-BETTOLO | 5 mg Ms/5 ml CCl ₄ + 1 ml SbCl ₅ 2%/CCl ₄ | ppdo. Amarillo ppdo. Rojo a Violeta | Pos: Flavonas, flavonoles, flavononas, Pos: Chalconas |
| SHINODA | Ms + limadura Mg + HCl conc. | Tonos Rojos | Pos: Núcleo de y-benzopirona (flavonoides, si se añade alcohol isoamílico y agita, el color pasa a la capa isoamílica). Excepto chalconas, dihidrochalconas, auronas, catequinas e isoflavononas. |
| LIEBERMANN-BURCHARD | 1 mg Ms/pocasgotasHOAc + 3 ml Ac ₂ O/H ₂ SO ₄ (50:1). | Verde, azul verdoso (vía rojo o azul) | Pos: Esteroides contenido 2 C=C conj. O formados por deshidratación con H ₂ SO ₄ . |
| CLORURO FÉRRICO | R: 1 gt FeCl ₃ /100 ml H ₂ O. Ms + 1 gt R. | Azul, verde negro | Pos: Comp. fenólicos, taninos. |
| DRAGENDORFF (YODURO DE BISMUTO Y POTASIO) | a: 8 g Bi(NO ₃) ₃ .5 H ₂ O/20 ml HNO ₃ . b: 27,2 g KI/50 ml H ₂ O. Mezclar, reposar, decantar supernadante. Diluir a 100 ml | Rojo a naranja | Agregar a solución ácida de alc. |
| NOLLER | R: FeCl ₃ o SbCl ₃ anh. 0,1 %/SOCl ₂ . Ms + 0,2 ml R. | Cambioscoloración / 60°C | Triterpenoides. |

"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia*
Lam."

ANEXO N°12

Resumen General de los Resultados Obtenidos en el Tamizaje Fitoquímico de la Muestra en Estudio

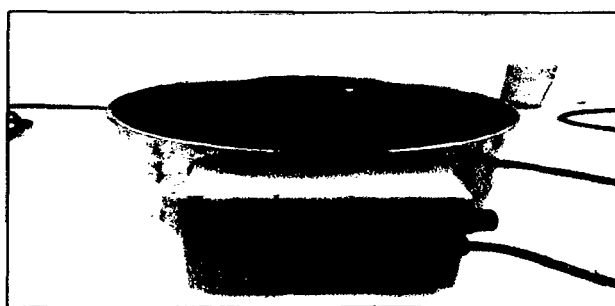
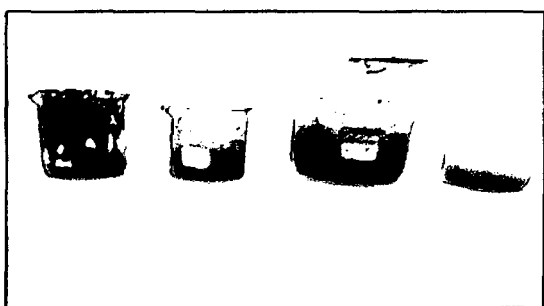
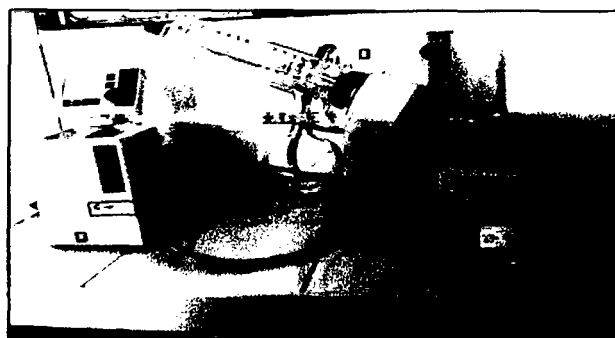
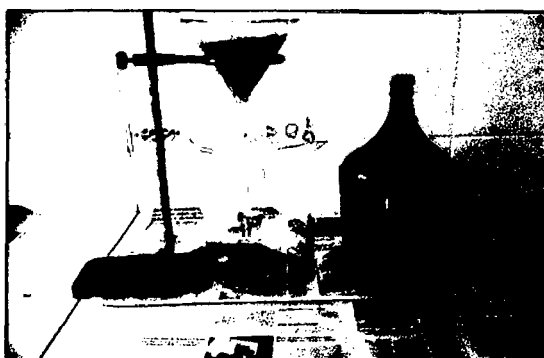
| METABOLITOS SECUNDARIOS | PRUEBAS | RESULTADO |
|-------------------------------|-----------------------------|-----------|
| | <i>Dragendorff</i> | |
| Alcaloides | <i>Mayer</i> | |
| | <i>Wagner</i> | |
| Triterpenos y Esteroides | <i>Salkowski</i> | |
| Quinonas | <i>Bornträger</i> | |
| Cumarinas | <i>Baljet</i> | |
| Carotenos | <i>Carr – Price</i> | |
| Aceites Esenciales- Grasas | <i>Reactivo Sudán</i> | |
| Azúcares reductores | <i>Reactivo Fehling</i> | |
| Saponinas | <i>Espuma</i> | |
| Fenoles y Taninos | <i>Cloruro Férrico</i> | |
| Aminoácidos | <i>Ninhidrina</i> | |
| Glicósidos Cardiotónicos | <i>Reactivo Kedde</i> | |
| Flavonoides | <i>Shinoda</i> | |
| Mucílagos | <i>Tacto</i> | |
| Princ. Amargos y Astring. | <i>Sabor</i> | |
| Glicósidos | <i>Molish</i> | |

(+++)
(++) Moderado; (+) Leve; (0) Ausente; (-) No se realizó

*“EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam.”*

ANEXO N°13

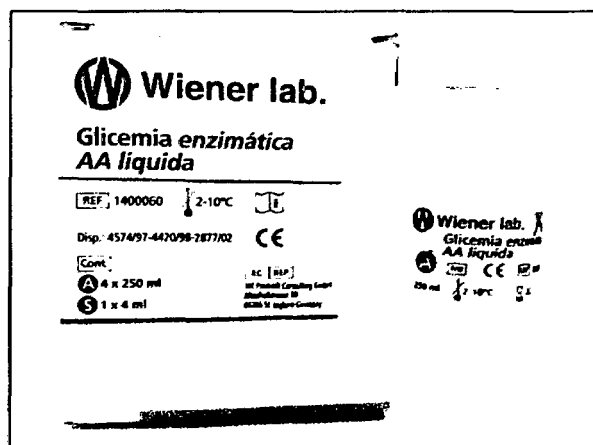
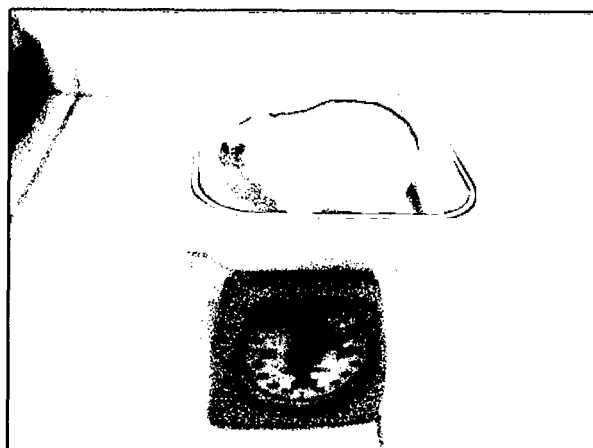
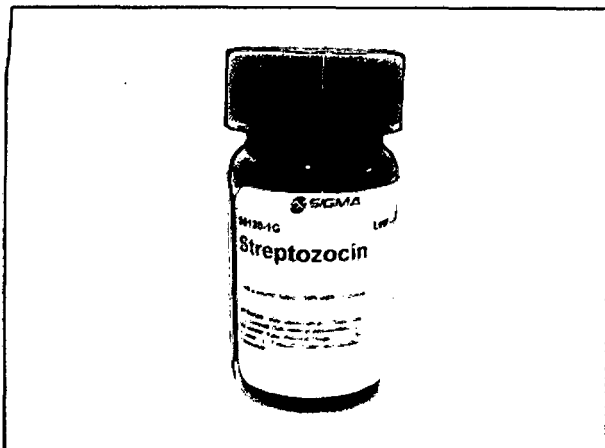
Imágenes de los Ensayos que se Realizaron



*"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam."*

ANEXO N°14

Imágenes de los Ensayos que se Realizaron



"EVALUACIÓN FITOQUÍMICA, ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA E HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Alternanthera halimifolia* Lam."

ANEXO N°15

Imágenes de los Ensayos que se Realizaron

