

15.321
53

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



Validación de la Actividad Hipoglicemiante de *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith
"abuta", *Solanum sessiliflorum* Dunal "cocona", *Alternanthera halimifolia* (Lam.)
Standl. ex Pittier "ojo de pollo", *Pseudelephantopus spiralis* (Less.) Cronquist
"mata pasto" y *Terminalia catappa* L. "castanilla" en diabetes experimental,
Loreto-Perú

TESIS

Para optar el título profesional de:

BIOLOGO

Autores:

Elsa Cecilia Sifuentes Mesía
Cecilia Patricia Contreras Cerdeña



Iquitos – Perú

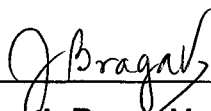
2009

DONADO POR:

Sifuentes Mesía, Elsa Cecilia
Iquitos, 18 de 05 de 2011

“Validación de la Actividad Hipoglicemiante de *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith “abuta”, *Solanum sessiliflorum* Dunal “cocona”, *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier “ojo de pollo”, *Pseudelephantopus spiralis* (less.) Cronquist “mata pasto” y *Terminalia catappa* L. castanilla” en diabetes experimental, Loreto-Perú”

Tesis sustentada y aprobada el día 14 de Enero del 2009, en la Sala de Conferencias de la facultad de Ciencias Biológicas”, según Acta de Sustentación adjunta, por el JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR designado con Resolución Directoral N° 026-2005-DEFP- B-FCB-UNAP; integrado por los siguientes profesionales:



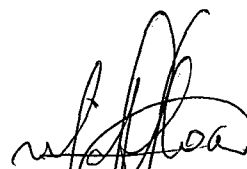
Blga. Janeth Braga Vela, M.Sc.

Presidente



Blga. Blanca María Díaz Bardales, Dra.

Miembro



Blgo. Manuel Flores Arévalo, Dr.

Miembro



Blgo. Felipe Ríos Isern

Asesor



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela de Formación Profesional de Biología
Plaza Serafín Filomazo S/N Telef. 28-6121, Anexo 18 y 20
IQUITOS - PERÚ

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Iquitos, a los Catorce días del mes de Enero del 2009 y siendo las 12.15 horas, el Jurado Calificador y Dictaminador que suscribe, designado con R.D. N° 026-2005-DEFP-B-FCB-UNAP, presidido e integrado por:

Blga. JANETH BRAGA VELA, MSc.
Blga. BLANCA MARÍA DÍAZ BARDALES, Dra.
Blgo. MANUEL FLORES ARÉVALO, Dr.

Se constituyó en la Sala de Conferencias de la Facultad de Ciencias Biológicas, para calificar la tesis titulada: "Validación de la Actividad Hipoglicémica de *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith "abuta", *Solanum sessiliflorum* Dunal "cocona", *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier ojo de pollo", *Pseudelephantopus spirralis* (Less.) Cronquist "mata pasto" y *Terminalia catappa* L. "castanilla" en diabetes experimental, Loreto - Perú", que realizaron las Brs. en Ciencias Biológicas, ELSA CECILIA SIFUENTES MESÍA de la Promoción I-2004, graduada de Bachiller con R.R. N° 0940-2005-UNAP de fecha 26 de Abril del 2005 y CECILIA PATRICIA CONTRERAS CERDEÑA de la Promoción II-2003, graduada de Bachiller con R.R. N° 0152-2005-UNAP de fecha 18 de Enero del 2005.

Después de sustentada la Tesis, las bachilleres fueron sometidas a un interrogatorio sobre el tema en cuestión, habiendo absuelto en forma adecuada las observaciones y objeciones que fueron formuladas por los miembros del Jurado Calificador y Dictaminador.

Luego de la deliberación y votación, el Jurado Calificador y Dictaminador dio como veredicto aprobar la Tesis por unanimidad, quedando las candidatas aptas para ejercer la profesión de Biólogo, previo otorgamiento del Título Profesional por la autoridad Universitaria competente, y su correspondiente inscripción en el Colegio de Biólogos del Perú.

Terminado el acto, el Presidente del Jurado Calificador y Dictaminador levantó la sesión siendo las 13.40 horas y en fe de lo cual, todos los integrantes del Jurado Calificador y Dictaminador suscriben la presente Acta por triplicado.


PRESIDENTE


MIEMBRO


MIEMBRO

DEDICATORIA

**A Dios por
permitirme vivir
este hermoso
logro que gracias
a él lo he
alcanzado.**

**Con todo mi
amor a mis
padres Eleazar
Sifuentes y Nita
Mesía que son mi
motor y motivo
para continuar
luchando por mis
metas e ideales.**

**Con cariño a mis
hermanos Eleazar
y Martín Sifuentes,
gracias por ser
parte de mi vida y
por la fortaleza
que me brindan
diariamente**

**A mis familiares y
amigos por sus
bendiciones.**

Cecilia Sifuentes

DEDICATORIA

**Con amor y cariño
a mi querida madre
Carmen Patricia,
por ser la luz que
me guía, me cuida
y me fortalece, a mi
Padre José Roberto
por su ayuda y
apoyo moral
durante mi carrera,
a mi hermana
Eilleen Janeth por
su paciencia y
tolerancia.**

A mi hijita:

**Ariana Isabel,
alegría, motor de
superación y
motivo de mi
existencia.**

A mi mama Camucha:

**Por su gran apoyo y
confianza en mi persona a lo
largo de mi vida.**

A mi esposo:

**Angel Ruíz Salas,
por apoyarme en
el camino de mi
superación**

Cecilia Contreras.

AGRADECIMIENTO

- ***Al Dr. José Betancourt Badell QEPD y Blgo. Felipe Ríos Isern asesores de este trabajo de tesis, por su constante, perseverante, acertado y desinteresado apoyo.***
- ***Al Instituto de Medicina Tradicional - IMET, en la persona de su Director Dr. Roberto Inchaustegui, por las facilidades brindadas de las instalaciones donde se realizaron las pruebas experimentales.***
- ***A la Química Farmacéutica Patricia Utia, por sus acertadas observaciones durante la redacción de la tesis.***

INDICE

| | |
|---|-----|
| Página del Jurado y Asesor..... | ii |
| Acta de Sustentación de Tesis..... | iii |
| Dedicatoria..... | iv |
| Agradecimiento..... | vi |
| Lista de Anexo..... | ix |
| Lista de Fotos..... | x |
| I. INTRODUCCION..... | 1 |
| II. OBJETIVOS..... | 3 |
| III. REVISION DE LITERATURA..... | 4 |
| 3.1. Antecedentes..... | 4 |
| 3.2. Marco teórico..... | 7 |
| 3.2.1. Diabetes..... | 7 |
| - Definición..... | 7 |
| - Sintomatología..... | 7 |
| - Clases de diabetes..... | 7 |
| • Tipo 1..... | 7 |
| • Tipo 2..... | 8 |
| • Diabetes gestacional..... | 8 |
| • Otros tipos de diabetes..... | 8 |
| - Causas de la diabetes..... | 9 |
| 3.2.2. Diabetes experimental..... | 9 |
| 3.2.3. Características generales de las plantas..... | 10 |
| - <i>Abuta grandifolia</i> (Mart.) Sandwith..... | 10 |
| - <i>Terminalia catappa</i> L..... | 12 |
| - <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal..... | 13 |
| - <i>Pseudelephantopus spiralis</i> (Less.) Cronquist..... | 14 |
| - <i>Alternanthera halimifolia</i> (Lam.) Standl. ex Pittier..... | 16 |

| | |
|--|----|
| IV. MATERIALES Y METODOS..... | 17 |
| 4.1. Material..... | 17 |
| 4.2. Métodos..... | 19 |
| 4.2.1. Recolección del material vegetal..... | 19 |
| 4.2.2. Identificación del material vegetal..... | 19 |
| 4.2.3. Obtención del extracto acuoso liofilizado de la corteza de <i>Abuta grandifolia</i> (Mart.), las hojas de <i>Terminalia catappa</i> , toda la planta de <i>Alternanthera halimifolia</i> (Lam.), las hojas de <i>Pseudelephantopus spiralis</i> (Less.)..... | 19 |
| 4.2.4. Obtención del extracto acuoso liofilizado de los frutos de <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal..... | 20 |
| 4.2.5. Evaluación de la actividad hipoglicemiante..... | 20 |
| - Animales del ensayo..... | 20 |
| - Administración de las sustancias..... | 22 |
| - Evaluación..... | 23 |
| V. RESULTADOS..... | 27 |
| VI. DISCUSION..... | 35 |
| VII. CONCLUSIONES..... | 40 |
| VIII. RECOMENDACIONES..... | 41 |
| IX. RESUMEN..... | 43 |
| X. BIBLIOGRAFIA..... | 44 |
| ANEXO..... | 50 |

Lista de Anexo

| | |
|--|----|
| Anexo 1: Fotos..... | 51 |
| Anexo 2: Certificado de identificación de las especies vegetales..... | 58 |
| Anexo 3: Flujograma de obtención de extracto acuoso liofilizado..... | 59 |
| Anexo 4: Flujograma del Procedimiento experimental..... | 60 |
| Anexo 5: Cálculo de dosificación del alloxano y del extracto acuoso liofilizado de las especies vegetales..... | 61 |
| • Preparación del alloxano..... | 61 |
| • Preparación del extracto acuoso liofilizado de las plantas medicinales en estudio. | 63 |
| Anexo 6: Cálculo de los datos obtenidos por el espectrofotómetro (Valores de absorbancia)..... | 65 |
| Anexo 7: Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante de los extractos vegetales en estudio, insulina, Suero fisiológico y control negativo..... | 66 |

Lista de Fotos

- **Foto 1:** Frontis del Instituto de Medicina Tradicional. IMET – EsSalud.
- **Foto 2:** Corteza de *Abuta grandifolia*
- **Foto 3:** Fruto y planta de *Solanum sessiliflorum*
- **Foto 4:** hoja de *Terminalia catappa*
- **Foto 5:** Planta de *Alternanthera halimifolia*
- **Foto 6:** planta y hoja de *Pseudelephantopus spiralis*
- **Foto 7:** Material biológico *Rattus norvegicus* “ rata albima”
- **Foto 8:** Materiales para el estudio de la Actividad Hipoglicemiante
- **Foto 9:** Reactivos
- **Foto 10:** Equipos
- **Foto 11:** Herbarium Amazonense (AMAZ) de la UNAP.
- **Foto 12:** Obtención del extracto acuoso liofilizado de *Solanum sessiliflorum*
- **Foto 13:** Selección de individuos
- **Foto 14:** Marcaje de animales
- **Foto 15:** Pesaje de animales
- **Foto 16:** corte de la vena caudal para la obtención de sangre
- **Foto 17:** Sangre recolectada en capilares heparinizados
- **Foto 18:** Inducción de hiperglicemia por alloxano (vía: intraperitoneal)
- **Foto 19:** Administración de insulina (vía: subcutánea)
- **Foto 20:** Administración intragástrica (extracto)

I. INTRODUCCIÓN

La *Diabetes mellitus* (DM) o *diabetes sacarina* es un síndrome orgánico multisistémico crónico que se caracteriza por un aumento de los niveles de glucosa en la sangre (conocido médicamente como hiperglicemia) resultado de concentraciones bajas de la hormona insulina o por su inadecuado uso por parte del cuerpo, que conducirá posteriormente a alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas. Se estima que 135 millones de personas padecen esta enfermedad y se prevé que aumentará a casi 300 millones en el año 2025; el aumento de casos en países desarrollados será algo superior al 40% y en los países en desarrollo en un 170%. (JIMENEZ, 2000). En América Latina se calcula que existen aproximadamente 35 millones de afectados por esta enfermedad; en Perú, según estudios realizados por la Universidad Cayetano Heredia, la prevalencia es mayor en la ciudad de Lima que en cualquier otro departamento (7.6%) debido al desordenado estilo de vida en las poblaciones urbanas (SECLLEN, 2000). La Organización Mundial de la Salud reconoce tres formas de *diabetes mellitus*: tipo 1, tipo 2 y diabetes gestacional (ocurre durante el embarazo), cada una con diferentes causas y con distinta incidencia. Varios procesos patológicos están involucrados en el desarrollo de la diabetes, como en el caso de la DM tipo 1, que mediante la destrucción autoinmune de las células β del páncreas provoca la deficiencia de insulina.

El alloxano es un producto químico empleado en la inducción de diabetes experimental en animales desde 1941 y hasta la fecha quizás sea el más utilizado. Esta sustancia o sus metabolitos interactúan con el zinc pancreático provocando una destrucción de las células beta de los islotes de Langerhans pancreáticos evitando así la producción de la hormona insulina, como consecuencia característica de la DM tipo 1.

La medicina tradicional como parte importante de la cultura de los pueblos, ha sido durante siglos, el único sistema utilizado en la restauración de la salud de las generaciones pasadas, donde las plantas medicinales han cumplido un rol fundamental como medio para curar enfermedades en las personas. Es por ello

que el uso y la comercialización de fitofármacos y productos naturales con fines medicinales muestran un crecimiento acelerado en los últimos años, lo que se expresa en el aumento de la demanda y la comercialización mundial de estas. En todos los países y en todos los sistemas de salud, es frecuente el uso de las plantas o de sus principios activos en la terapéutica. (VILLAR & VILLAVICENCIO 2001; SILVA, 2001). Por tanto, Las investigaciones realizadas han sido dirigidas hacia las plantas usadas popularmente con fines medicinales, con el propósito de hacer evaluaciones farmacológicas, toxicológicas, aislamiento de sus principios activos y otros estudios necesarios (GUERRA, *et al.* 2001).

A la luz de los modernos avances en botánica, fitoquímica, farmacología, farmacocinética, farmacodinamia y toxicología, el conocimiento tradicional y popular sobre las propiedades medicinales de las plantas deberá ser constatado y validado para garantizar una terapia adecuada, eficaz y con la menor incidencia de ocasionar riesgos para el paciente. Por lo que actualmente, EsSalud a través del Instituto de Medicina Tradicional (IMET – EsSalud), se encuentra abocado a la investigación de las plantas medicinales, habiendo desarrollado importantes líneas de estudio, dentro de ellas la farmacología, donde se llevan a cabo pruebas para determinar el grado curativo de las diferentes plantas en estudio; por ello, se hace necesaria la búsqueda de nuevas alternativas de tratamiento para la diabetes mellitus; la bibliografía especializada en plantas medicinales describe hasta 67 especies con propiedades antidiabéticas, las mismas que se basan en encuestas en diversas poblaciones, pero muy pocas describen dichas propiedades teniendo como sustento la experimentación científica. Dentro de estas se encuentran: *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith “abuta”, *Solanum sessiliflorum* Dunal “cocona”, *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier “ojo de pollo”, *Pseudelephantopus spiralis* (less.) Cronquist “mata pasto” y *Terminalia catappa* L. “castanilla”. (CALZADA, 1980 & BRACK, 1999).

Toda esta información nos impulsó a realizar una investigación de carácter experimental sobre la propiedad hipoglicemiante de estas especies vegetales en forma de extracto, para determinar su efectividad terapéutica, recomendar su uso y contribuir a reducir el costo del tratamiento de esta patología; además, tener

mayor conocimiento sobre la dosis, vía de administración, preparación, entre otras; las mismas que permitirían utilizarlas como alternativa de tratamiento y como una fuente útil de nuevos compuestos orales hipoglicemiantes, ya sea como entidades farmacéuticas o coadyuvantes de las terapias existentes.

II. OBJETIVOS

General:

- ✓ Validar la actividad hipoglicemiante de *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith "abuta", *Solanum sessiliflorum* Dunal "cocona", *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier "ojo de pollo", *Pseudelephantopus spiralis* (Less.) Cronquist "mata pasto" y *Terminalia catappa* L. "castanilla" en diabetes experimental, Loreto – Perú

Específicos:

- ✓ Preparar los extractos acuosos liofilizados de las especies vegetales en estudio.
- ✓ Evaluar la actividad hipoglicemiante de los extractos vegetales por medio del método de diabetes alloxánica.
- ✓ Comparar la efectividad de las dosis y concentración de los extractos vegetales con actividad hipoglicemiante.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. ANTECEDENTES

3.1.1. Etnobotánico:

AGUILAR (1994), menciona a *Terminalia catappa* como una planta medicinal antiinflamatoria, antirreumática, antihipertensiva, analgésica y antidiabética, cuando se utiliza el cocimiento de 15g de hojas en 2L. de agua.

DUCKE & VASQUEZ (1994), indican que el cocimiento de 15g de hojas en 2L de agua de *Alternanthera halimifolia* es utilizada para el tratamiento de la diabetes y para la distensión muscular.

GARCIA (1994), en estudios fitoquímicos realizados a *Solanum sessiliflorum* encontró carotenos, quininas, riboflavinas, niacinas grasas y ácido ascórbico reducido; como también proteínas, carbohidratos, cenizas, calcio, fósforo y hierro.

MEJIA & RENGIFO (1995), indican que la corteza de *Abuta grandifolia* es utilizada por pacientes diabéticos para controlar esta enfermedad, la cual 20g de corteza es raspada y macerada en 1L de agua y se toma medio vaso después de las comidas durante 30 días. Así mismo menciona que dentro de sus compuestos químicos presenta alcaloides (benzil – isiquinolínico), flavones y taninos.

CERRUTI (1997), reporta que el 89% de pacientes diabéticos, utilizan plantas como *Abuta sp.*, *Solanum sessiliflorum*, *Tabebuia sp.*, *Uncaria sp.*, *Alternanthera halimifolia* y *Momordica charontia*. para controlar la diabetes.

SILVA & GARCIA (1997), mencionan como antidiabéticos algunas plantas descritas por los curanderos; entre las que se encuentran: *Alternanthera halimifolia*, *Abuta grandifolia*, *Solanum sessiliflorum* y *Terminalia catappa*.

LASTRA (2000), menciona que el género *Alternanthera* de la familia AMARANTHACEAE se utiliza como antiinflamatorio y contra la diabetes.

HERNANDEZ, *et al.* (2003), mencionan que *Terminalia catappa* es una especie que se convierte en una fuente importante para el desarrollo de nuevas formulaciones naturales, que atribuyen a la prevención de enfermedades con elevadas tasas de morbilidad y mortalidad (Reumatismo, Hipertensión arterial, Diabetes mellitus, Enfermedades inflamatorias crónicas y Síndromes dolorosos); así también mencionan que la corteza posee cumarinas, los frutos lípidos y las hojas son ricas en taninos, las cuales poseen efectos biológicos comprobados que resultan de gran interés farmacológico; además se le atribuye una potente acción antioxidante.

3.1.2. Estudios de Diabetes experimental:

DEAS; *et al.* (1997) mencionan que en su estudio sobre el efecto hipoglicemiante del *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada) utilizaron el método de glucosa oxidasa para medir glicemia.

MIYAMOTO, *et al.* (1998) reportan que debido a las propiedades antioxidantes que poseen los taninos, éstos han sido usados para diversas enfermedades incluyendo cáncer, enfermedades cardiovasculares y artritis.

GUERRA; *et al.* (2001), reportan que en su evaluación del Efecto hipoglicemiante del extracto de *Aloe vera* L. en ratas, trabajaron con insulina y tolbutamida como control positivo. Además utilizaron alloxano a dosis de 200mg/Kg por vía intraperitoneal para inducir hiperglicemia en ratas Wistar.

ROJO; *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 240min. mediante el método de glucosa oxidasa en un analizador automático de la Boheringer Manheim modelo Hitachi System 704.26

NARANJO; *et al.* (2003), mencionan que los alcaloides y flavonoides presentes en el extracto de *Tecoma stans* Linn, son los posibles responsables de la acción hipoglicemiante y el efecto mostrado por la dosis máxima (500 mg/kg) evaluada en roedores en comparación con la glibenclamida.

SIFUENTES (2004), evaluó la actividad hipoglicemiante de los frutos de *Solanum sessiliflorum* a dosis de 250 y 500mg/Kg, demostrando la efectividad del alloxano para inducir diabetes experimental y la actividad de *Solanum sessiliflorum* para disminuir la glucosa en sangre de ratas hiperglicémicas a dosis 250mg/Kg.

CAMPOS (2005), sostiene que en su tesis acerca del Estudio fármacognóstico y determinación de la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso del fruto de *Solanum sessiliflorum* "cocona" en ratas albinas con diabetes alloxánica, la dosis de 1000mg/Kg de este extracto, disminuyó las concentraciones de glucosa sanguínea.

GRANDEZ; *et al.* (2005), mencionan que el extracto etanólico de *Solanum sessiliflorum* Dunal "cocona" a la dosis de 250 y 500mg/kg presentan actividad hipoglicemiante en ratas albinas con diabetes alloxánica.

UTIA (2005), refiere que para la evaluación del efecto hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de *Pseudelephantopus spiralis* (Less) Cronquist "mata pasto" a la dosis de 100mg/kg a 0.5% mediante el método de diabetes alloxánica en "ratas albinas", presenta posible actividad hipoglicemiante.

MURILLO; *et al.* (2006), reportan que los extractos etanólicos y acuosos de hoja y corteza de *Bauhinia kalbreyeri* Harms. mostraron capacidad atrapadora de radicales libre comparable al ácido ascórbico utilizado como patrón y que la actividad antioxidante de los extractos podría estar relacionada con el uso de la planta como antidiabético.

3.2. MARCO TEÓRICO

3.2.1. DIABETES

Definición:

La Diabetes es una enfermedad de disfunción metabólica que se caracteriza por un aumento en las concentraciones de glucosa en sangre, por un déficit absoluto o relativo de insulina, y por alteraciones en los metabolismos de los carbohidratos, proteínas y grasas (GONZALES, 1993).

Sintomatología:

Los síntomas clínicos de la diabetes son consecuencia de las repercusiones que origina la falta de insulina a nivel de las células de los distintos tejidos diana: hígado, músculo y tejido adiposo. El déficit de insulina y/o la pérdida de su eficacia de acción a nivel de estos tejidos, originará una serie de alteraciones metabólicas en cadena, cuyas principales consecuencias serán: un incremento en la producción hepática de glucosa y una disminución en el consumo periférico de la misma en los tejidos muscular y adiposo. De esta manera, ni la glucosa procedente de los alimentos, ni la producida por el hígado puede ser metabolizada por las células y, en consecuencia, se establece una situación de hiperglicemia que originará las complicaciones y los síntomas cardinales de la enfermedad: poliuria, polidipsia, polifagia, astenia y pérdida de peso. (CALDERON & PEÑALOZA, 1996)

Clases de Diabetes (GAVIN, et al. 2003)

• *Diabetes tipo 1 insulino dependiente*

En la diabetes tipo 1 el sistema inmune ataca a las células que produce la insulina en el páncreas y la destruye. El páncreas produce poco o nada de insulina. Los pacientes con este tipo de diabetes deben aplicarse insulina diariamente, de no hacerlo, pueden ser propensos a presentar un coma diabético.

- ***Diabetes tipo 2 no insulino dependiente***

Es la forma más frecuente de diabetes y se presenta como resultado de una resistencia a la acción de la insulina con una secreción insuficiente de la misma por el páncreas. Los pacientes con diabetes tipo 2 permanecen sin diagnóstico entre 5 – 10 años, como consecuencia de que los síntomas que presentan son leves, en otras palabras, presentan ligera elevación de la glucosa en sangre y por ello no manifiestan los síntomas de la enfermedad.

- ***Diabetes gestacional.***

Se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa que se presenta durante el embarazo. Seis semanas después del parto, la paciente debe ser nuevamente evaluada, ya que en la mayoría de los casos, las pacientes con diabetes gestacional retornan a valores normales de glucosa en sangre, pero en otras ocasiones pueden persistir con diabetes o intolerancia a glucosa.

Las mujeres que han tenido diabetes gestacional corren mayor riesgo de contraer diabetes tipo 2.

- ***Otros tipos de Diabetes:***

- Defectos genéticos en la función de células del páncreas.
- Defectos genéticos de la acción de la insulina.
- Enfermedades del páncreas y endocrinas.
- Inducida por fármacos o productos químicos.
- Infecciones.
- Formas infrecuentes de diabetes autoinmune.
- Otros síndromes genéticos que se asocian a veces con diabetes.

Causas de la Diabetes

- **Riesgo hereditario:** en la mayoría de los casos la predisposición diabética es heredada. El factor hereditario es más pronunciado en el diabético tipo 2 que en el tipo 1.

- **Posibles causas desencadenantes:** a partir de la predisposición genética existen causas que van a ser disparadoras y que hacen aparecer a la diabetes:
 - ✓ Sobrepeso u obesidad
 - ✓ Embarazo
 - ✓ Infecciones Virales (se asocian especialmente con la diabetes tipo 1)
 - ✓ Medicamentos
 - ✓ Accidentes, enfermedad grave, operaciones
 - ✓ Stress emocional (duelo familiar, etc.)

3.2.2. DIABETES EXPERIMENTAL (GNECCO, 1996)

La característica más saliente de la diabetes experimental es que exigen para su producción la extirpación total del páncreas o la destrucción completa de las células beta.

Diabetes por alloxano

El alloxano es una sustancia producto de la oxidación del ácido úrico; su fórmula química es $CNHO-COCOCNHO$, desdoblándose a su vez por hidrólisis en urea y ácido mesoxálico.

Al realizar el estudio histológico del páncreas de los animales inyectados con alloxano y muertos por hiperglicemia, los investigadores comprobaron la necrosis de los islotes con desaparición de las células beta.

El alloxano afecta directa y electivamente dichas células y sólo cuando se emplean dosis excesivas o repetidas, produce lesiones en otros órganos, especialmente en el hígado y en el riñón. La característica más notable de este tóxico es que destruye únicamente las células beta, respetando las células alfa y delta. La necrosis de esas células se inicia inmediatamente después de la inyección y se completa en las primeras cuarenta y ocho horas.

En los animales refractarios al alloxano la diabetes es transitoria y las lesiones degenerativas mejoran lentamente. Una vez destruidas las células beta la inyección de nuevas dosis de alloxano no provoca hiperglicemia, lo que indica que esta sustancia no tiene acción sobre el nivel glicémico directamente.

Otras técnicas de inducción de diabetes experimental son:

- Pancreatectomía total.
- Pancreatectomía sub total.
- Diabetes hipofisaria y metahipofisaria.
- Diabetes esteroidea.
- Diabetes por suero antiinsulinico.
- Diabetes espontánea experimental.

3.2.3. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS PLANTAS EN ESTUDIO

❖ *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith

- **Distribución** (CARBAJAL & BALCAZAR, 2002)

Ampliamente distribuida en la cuenca Amazónica. En el Perú se encuentra en los departamentos de Loreto (Momón, río Nanay, Carretera Iquitos Nauta Km15.5); Corazón de Jesús, río Mazan; LLachapa, río Napo, Panguana – 1ª y 2ª zona – río Amazonas, Tahuayo, Rio Tahuayo, Contamana, San Martín, Ucayali, Madre de Dios, Cerro de Pasco, Huanuco y Amazonas.

• **Clasificación Taxonómica (CRONQUIST 1981)**

| | |
|--------------|---|
| Reino | : Vegetal |
| División | : Magnoliophyta |
| Clase | : Magnoliopsida |
| Subclase | : Magnoliidae |
| Orden | : Ranunculales |
| Familia | : MENISPERMACEAE |
| Género | : <i>Abuta</i> |
| Especie | : <i>Abuta grandifolia</i> (Mart.) Sandwith |
| Nombre común | : "abuta", "trompetero sachá", "caimitillo" |

• **Descripción botánica (VASQUEZ, 1997)**

Bejucos leñosos o pequeños arbustos hasta 3m, sarmentosos o escandentes (árboles hasta 6m); tallos jóvenes glabros, hojas cartáceas, obovoides a ablancoadas, glabras 10.5 – 30 x 3.8 – 12 cm, ápice acuminado, base cuneada; 3-palmatinervias de la base hasta el ápice (con 2 venas externas laterales y basales menos cuspidas), venas terciarias escalariformes; peciolo 2 – 10 cm. de largo, conspicuamente pulvinulados en ambos extremos. Drupas oblongoides, cáliz 25x12 mm, base ligeramente atenuada y brevi-pedunculada, amarilla, glabras sobre pedicelos 20 – 25 mm de largo.

• **Composición Química (MEJIA & RENGIFO, 1995)**

La "abuta" presenta alcaloides, caroteno, aceites esenciales, azúcares reductores, fenoles, taninos, glucósidos y flavonoides.

• **Usos en Medicina Tradicional (PINEDO *et al.*, 1997)**

En la medicina tradicional, las hojas se usan como antipirético, en conjuntivitis y mordedura de serpiente. El tallo es utilizado contra la infertilidad femenina, como analgésico dental, hipocolesterolémico, en dismenorrea, cólicos menstruales, antidiabético, paludismo, tifoidea y úlceras estomacales. La raíz es usada contra

la infertilidad femenina, en las hemorragias post. menstruales, cardiotónico, antianémico, tónico cerebral, tratamiento del reumatismo y antiinflamatorio,

❖ *Terminalia catappa* L.

• **Distribución** (AYALA 2003)

El árbol es nativo del sureste de Asia y hoy día se encuentra cultivado en todos los trópicos y subtropicos.

• **Clasificación Taxonómica** (CRONQUIST 1981)

| | |
|---------------|--------------------------------|
| Reino | : Vegetal |
| División | : Magnoliophyta |
| Clase | : Magnoliopsida |
| Subclase | : Rosidae |
| Orden | : Myrtales |
| Familia | : COMBRETACEAE |
| Género | : Terminalia |
| Especie | : <i>Terminalia catappa</i> L. |
| Nombre común: | "castanilla". |

• **Descripción botánica** (VASQUEZ, 1997)

Árboles hasta 35m. Hojas abobadas a espatuladas, 17 – 30 x 10 – 16 cm, ápice abruptamente brevi-acuminado, base atenuado-truncada, a veces auricular, haz diminutamente disperso-pubescente, envés densamente pubescente con tricomas erguidos; venas secundarias 12 – 14 pares, planas a emergentes en la haz, emergentes en el envés, venación terciaria oblicua. Espigas axilares 15 – 20cm. de largo; cáliz poculiforme en la antesis, ápices de los lóbulos reflexos; ovario terete, densamente tomentoso. Drupas subglobosas 45 – 60 x 30 – 40mm, con alas vistigiales.

- **Composición Química** (HERNANDEZ, *et al.* 2003)

La “castanilla” presenta alcaloides, cumarinas, carotenos, aceites esenciales, azúcares reductores, saponinas, fenoles y taninos, glucósidos y flavonoides.

- **Usos en Medicina Tradicional** (HERNANDEZ, *et al.* 2003)

Planta medicinal antiinflamatoria, antirreumática, antihipertensiva, analgésica y antidiabética

- ❖ ***Solanum sessiliflorum* Dunal**

- **Distribución** (CARBAJAL & BALCAZAR, 2002)

Es una especie nativa de Ceja de Selva y Selva alta de América tropical, se distribuye naturalmente entre los 200 y 1000m de altura en Brasil, Colombia, Perú y Venezuela.

En la selva peruana se cultivan en pequeñas escalas en los departamentos de Loreto, San Martín, Ucayali, Huanuco, Junín, Pasco, Ayacucho, Madre de Dios y Amazonas.

- **Clasificación Taxonómica** (CRONQUIST, 1981)

| | | |
|---------------|---|--|
| Reino | : | Vegetal |
| División | : | Magnoliophyta |
| Clase | : | Magnoliopsida |
| Subclase | : | Asteridae |
| Orden | : | Solanales |
| Familia | : | SOLANACEAE |
| Género | : | <i>Solanum</i> |
| Especie | : | <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal |
| Nombre común: | | “cocona”, “topiro” (Español), “cubui” “peach tomato” (Inglés) |

- **Descripción botánica** (VASQUEZ, 1997)

Arbustos hasta de 3m, pubérulos a tomentosos, con o sin espinas rectas. Hojas mayores simples, ovado-elípticas, 20 – 60 x 15 – 50cm. ápice agudo, base redondeada a subcordada y frecuentemente inequilátera, dentado-incisas; venas secundarias 5 – 8 pares; pecíolos 2 – 5cm de largo; hojas menores ausentes o similares a las mayores. Cincinos laterales en el tallo, indivisos, 1 – 3cm de largo; cáliz 10 – 15mm de largo, lobulado; corola blanca verdosa, 14 – 20mm de diámetro. Bayas depresso u ovado-globosa, 3 – 8cm de diámetro, amarillas o rojizas.

- **Composición Química** (CARBAJAL & BALCAZAR, 2002)

La “cocona” presenta alcaloides, cumarina, caroteno, aceites esenciales, azúcares reductores, saponinas, fenoles y taninos, aminoácido y amina, glucósidos y principios amargos.

- **Usos en Medicina Tradicional** (HERNANDEZ, *et al.* 2003)

Puede ser utilizado en tratamientos de anemia, pelagra y en control de niveles elevados de colesterol, ácido úrico y glucosa en sangre.

Los indios peruanos Waonrani utilizan las hojas, tallos y raíces de plantas jóvenes hervidas y maceradas para el tratamiento de mordeduras de arañas y cicatrizantes de heridas externas.

En la medicina tradicional el fruto es utilizado en el tratamiento de la diabetes, mordedura de serpientes, hipertensión y en tratamientos de quemaduras.

- ❖ *Pseudelephantopus spiralis* (Less.) Cronquist

- **Distribución** (VASQUEZ, 1997)

Habitat : Tierra firme, bosque transicional.

- **Clasificación Taxonómica (CRONQUIST, 1981)**

Reino : Vegetal
División : Magnoliophyta
Clase : Magnoliopsida
Subclase : Asteridae
Orden : Asterales
Familia : ASTERACEAE
Género : *Pseudelephantopus*
Especie : *Pseudelephantopus spiralis*
Nombre común: "mata pasto"

- **Descripción botánica (VASQUEZ, 1997)**

Hierbas estoloníferas 1 – 8dm, hispidas con tricomas 1.3 – 2.5 mm de largo. Hojas obovadas u oblongas – lanceoladas, 2 – 7 (14) x 1.2 – 2 (4.5) cm, ápice agudo o redondeado, base cuneada, margen sinuoso o aserrado. Inflorescencias 8 – 15cm de largo, cabezuelas 5 – 8mm de largo; flores azules – purpúreas. Aquenios 2.5 – 3.3 x 0.8mm, cerdas del papus curvadas o espiraladas en el ápice.

- **Composición Química (MEJIA & RENGIFO, 1995)**

El "mata pasto" presenta alcaloides, carotenos, aceites esenciales, azúcares reductores, fenoles y taninos, glucósidos y flavonoides.

- **Usos en Medicina Tradicional (CERRUTI, 2000)**

Según información etnobotánica a través de comunicación personal esta especie, "mata pasto" presenta actividad antidiabética.

❖ *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier

• **Clasificación Taxonómica** (CRONQUIST, 1981)

| | |
|---------------|---|
| Reino | : Vegetal |
| División | : Magnoliophyta |
| Clase | : Magnoliopsida |
| Subclase | : Caryophyllidae |
| Orden | : Caryophyllales |
| Familia | : AMARANTHACEAE |
| Género | : <i>Alternanthera</i> |
| Especie | : <i>Alternanthera halimifolia</i> (Lam) Standl. ex Pittier |
| Nombre común: | “ojo de pollo” |

• **Descripción botánica** (CERRUTI, 1995)

Planta herbácea, rastrera que alcanza unos 50cm de altura, pubescente, ramitas distanciadas, equidistantes 12cm a más, con brotes en las axilas de las hojas; tallo moderadamente acanalado longitudinalmente. Hojas opuestas, lamina aovada o aovada-elíptica, pubescente, borde entero, ápice y base aguda, peciolo sub-sésil axilar en espiga simple. Flores hermafroditas con brácteas escariosas pubescentes, sin corola; androceo con seis apéndices estaminales petaloides y 5 estambres con filamentos soldados en la base formando un tubo estaminal; gineceo con ovario súpero. Fruto utrículo monospermo. Raíces fibrosa.

• **Composición Química** (SILVA & GARCIA, 1997)

“ojo de pollo” presenta alcaloides, triterpenos, carotenos, azúcares reductores, saponinas, fenoles y taninos, principios amargos y flavonoides.

• **Usos en Medicina Tradicional** (DUKE & VASQUEZ, 1994)

Es usado por su propiedad hipotensora y para el tratamiento de la diabetes. En la Sierra esta planta se usa para distensiones musculares.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. MATERIAL

4.1.1. Material vegetal:

El material vegetal fue colectado del Jardín Botánico del Instituto de Medicina Tradicional (IMET- EsSalud) (Anexo 1: Foto 1), ubicado en la ciudad de Iquitos, Departamento de Loreto; la ciudad de Iquitos se encuentra a orillas del río Amazonas en Selva Baja o Llano Amazónico, a una altura de 117msnm, en una zona de vida considerada Bosque Húmedo Tropical, cubierto por espesos bosques y caudalosos ríos, con amplios meandros, presenta una temperatura media anual de 26° C y una precipitación pluvial de 2,727mm al año (SILVA & CERRUTTI, 1995)

El material vegetal colectado fue el siguiente:

- Corteza de *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith “abuta” (Anexo 1: Foto 2)
- Frutos de *Solanum sessiliflorum* Dunal “cocona” (Anexo 1: Foto 3)
- Hojas de *Terminalia catappa* L. “castanilla” (Anexo 1: Foto 4)
- Toda la planta de *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier “ojo de pollo” (Anexo 1: Foto5)
- Hojas de *Pseudelephantopus spiralis* (Less.) Cronquist “mata pasto” (Anexo 1: Foto 6)

4.1.2. Material animal:

El material animal estuvo constituido por 91 ratas albinas *Rattus norvegicus* cepa Holtzmann, de sexo macho, de aproximadamente 8 semanas de edad y procedentes del Centro Nacional de Producción de Biológicos del Instituto Nacional de Salud – MINSA, con sede en la ciudad de Lima. (Anexo 1: Foto 7)

4.1.3. Materiales de laboratorio: (Anexo 1: Foto 8)

- Alcohol medicinal
- Algodón
- Bandejas plásticas con tapa de malla metálica
- Biberones
- Bisturí N° 21
- Capilares heparinizados
- Cronómetro
- Espátula mediana
- Gradillas
- Guantes descartables N° 6 ½.
- Jeringas descartables de 1 y 10ml.
- Licuadora y cernidor
- Marcador de vidrio
- Mascarillas descartables
- Micropipeta 1 – 1000uL.
- Mortero y pilón
- Papel toalla y plastilina
- Sonda nasogástrica N° 17
- Tips descartables
- Tubos de ensayo 5 x 8 mm.
- Vaso de precipitado
- Viruta

4.1.4. Reactivos: (Anexo 1: Foto 9)

- Alloxano tetrahidratado, Peso Molecular: 214.1 (Marca: Sigma)
- Insulina humana 5% (origen ADN RECOMBINANTE) MC VAN. 1993
- Solución salina 9%
- H₂O destilada
- Set de glicemia enzimática (Marca : Wiener Lab)

4.1.5. Equipos: (Anexo 1: Foto 10)

- Balanza analítica. Mettler Toledo AG 204
- Baño maría. Selecta Precistern.
- Centrifuga Clinaseal LW Scientific.
- Liofilizador Labconco°
- Espectrofotómetro Zeltec 5000
- Congelador y/o refrigerador

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Recolección del material vegetal:

El material vegetal fue colectado del Jardín Botánico del Instituto de Medicina Tradicional – EsSalud (Anexo 1: foto 1), ubicado en la ciudad de Iquitos, Departamento de Loreto.

4.2.2. Identificación del material vegetal:

Luego de la recolección, fue realizada la identificación taxonómica (Anexo 2) por el Herbarium Amazonense (AMAZ) de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. (Anexo 1: Foto 11)

4.2.3. Obtención del extracto acuoso liofilizado de toda la planta de *Alternanthera halimifolia* (Lam.), la corteza de *Abuta grandifolia* (Mart.), las hojas de *Terminalia catappa* L, y de *Pseudelephantopus spiralis* (Less.) Cronquist:

Para la obtención de los extractos liofilizados, se llevó a cocción el material vegetal a una proporción de 1:10 p/v, a temperatura entre 60° a 70 °C durante 02 horas, luego se filtró con algodón y se dejó 72 horas bajo refrigeración; transcurrido este periodo se procedió a filtrar con papel filtro y se concentró el extracto de 60° a 70 °C. Los extractos acuosos obtenidos fueron congelados por espacio de 24 horas a una temperatura de -20°C, seguidamente fue liofilizada por un periodo de 3 días (-40 °C con una presión de 1.33×10^{-3} mBAR/72 horas). (Anexo 3)

Las muestras liofilizadas se conservaron en ambiente seco y en un envase hermético para evitar el ingreso de partículas extrañas y de la humedad.

4.2.4. Obtención del extracto acuoso liofilizado de los frutos de *Solanum sessiliflorum* Dunal: (Anexo 1: Foto 12)

Para la obtención del extracto acuoso liofilizado de los frutos de *Solanum sessiliflorum* Dunal, los frutos fueron licuados y cernidos, luego sometidos a congelamiento por espacio de 24hrs a temperatura de -20°C , la muestra congelada fue liofilizada en un periodo de 3 días (-40°C con una presión de 1.33×10^{-3} mBAR/72 horas). (Anexo N° 03)

4.2.5. Evaluación de la Actividad Hipoglicémica

❖ Animales del ensayo

• Selección de los animales (Anexo 1: Foto 13)

Los animales en estudio fueron sometidos a cuarentena por un periodo de 7 días para su aclimatación (REPETTO, 1989); y luego fueron seleccionadas en grupos, debiendo cumplir los siguientes requisitos:

- ✓ Ratas albinas machos cepa Holtzmann.
- ✓ Ratas adultas jóvenes (8 semanas) con peso corporal de 150 – 250g.
- ✓ Animales certificados emitido por el Instituto Nacional de Salud (Lima).

• Alimentación

Los animales de experimentación fueron alimentados con comida balanceada constituida por proteínas, grasa, carbohidratos entre otros.

Durante la evaluación los animales de experimentación fueron alimentados después de la última toma de muestra del día, retirándose el alimento sobrante 12 horas antes de la siguiente toma de muestra.

• Distribución de los animales

Los animales seleccionados fueron distribuidos al azar en 8 grupos experimentales, de la siguiente manera:

Grupo I: Control positivo (Determina si la actividad encontrada en la planta en estudio es igual a la de un fármaco)
Insulina 5%. Vía subcutánea. (7 machos)

Grupo II: Control negativo (Determina si la respuesta del animal es debido a la actividad de la planta o propia del individuo)
Solución salina al 9%. Vía subcutánea. (7 machos)

Grupo III: Testigo (Determinar si el trabajo de investigación es de calidad garantizada). No se administró ninguna sustancia. (7 machos)

Grupo IV: *Abuta grandifolia* (Mart.)

Subgrupo 1: Dosis 250mg/kg concentración 10%. (7 machos)

Subgrupo 2: Dosis 500mg/kg concentración 20%. (7 machos)

Grupo V: *Solanum sessiliflorum* Dunal

Subgrupo 1: Dosis 250mg/kg concentración 10%. (7 machos)

Subgrupo 2: Dosis 500mg/kg concentración 20%. (7 machos)

Grupo VI: *Terminalia catappa*

Subgrupo 1: Dosis 250mg/kg concentración 10%. (7 machos)

Subgrupo 2: Dosis 500mg/kg concentración 20%. (7 machos)

Grupo VII: *Pseudelephantopus spiralis* (Less.)

Subgrupo 1: Dosis 250mg/kg concentración 10%. (7 machos)

Subgrupo 2: Dosis 500mg/kg concentración 20%. (7 machos)

Grupo VIII: *Alternanthera halimifolia* (Lam.)

Subgrupo 1: Dosis 250mg/kg concentración 10%. (7 machos)

Subgrupo 2: Dosis 500mg/kg concentración 20%. (7 machos)



- **Pesaje y Marcaje / Identificación para registro**

Para la identificación de los animales de experimentación se utilizó picrato de sodio como marcador, dejando una marca amarilla duradera en la frente, lomo, cola, etc. (Anexo 1: Foto 14); posteriormente se pesó a los animales en la balanza triple brazo para el cálculo de dosis correspondiente (Anexo 1: Foto 15).

- ❖ **Administración de las Sustancias** (RIOS, *et al.* 1999)

- **Administración de Alloxano**

Para inducir hiperglicemia se administró por vía intraperitoneal una solución de alloxano al 5% a dosis de 125mg/Kg de peso corporal, previo ayuno y toma de muestra de sangre basal de los animales de experimentación. (Anexo 1: Foto 16)

- **Administración de Insulina**

Al grupo control positivo se le administró 0,5 ml de insulina por vía subcutánea, previa asepsia de la región ventral, la cual fue desprovista de pelos. (Anexo 1: Foto 17)

- **Administración de los Extractos Liofilizados**

Los extractos acuosos liofilizados de las cinco plantas medicinales en estudio, se administraron después de la segunda toma de muestra de sangre (hiperglicemia basal). La administración de estos extractos acuosos fue por vía oral, por ser la propuesta para el uso en humanos y se administró mediante intubación intragástrica mediante una cánula curva metálica (Anexo 1: Foto 18)

Las dosis a administrar, fueron de 250 y 500 mg/Kg de peso corporal a una concentración de 10% y 20% respectivamente; el volumen máximo para administrar estos extractos fue de 3ml/100g de peso corporal. (ECOBICHON, 1992).

❖ Evaluación

El periodo de evaluación fue: a la hora, 3 horas, 6 horas, 12 horas, 24 horas, y 48 horas post administración de los extractos estudiados.

• Obtención de la muestra de sangre

Para obtener la muestra de sangre de los animales de experimentación, se colocó la palma de la mano sobre el dorso del animal, de tal forma que el dedo índice y el cordial bordeen su cuello suavemente, luego se ubicó la vena caudal de la cola y con la ayuda de una hoja de bisturí se realizó un corte transversal, la muestra de sangre se recolectó en capilares heparinizados de 75uL (Anexo 1: Foto 19 y 20), la hemorragia se detuvo por compresión en la zona del corte con una torunda de algodón. La muestra obtenida se conservó para su procesamiento respectivo.

• Procedimiento Experimental (Anexo 4)

- ✓ Toma de muestra de sangre de la vena caudal (capilares heparinizados) de las ratas albinas, previo ayuno de 12 horas, para luego ser procesada por el método de Glucosa Oxidasa (Método enzimático – Wiener Lab, 2000) para determinar los valores de glucosa en el tiempo de evaluación.
- ✓ La primera muestra de sangre de todos los grupos se utilizó para determinar el valor de la glicemia (Valores normales o de referencia de glucosa en sangre: 70 – 110mg/kg) de los animales de laboratorio.
- ✓ Inoculación de la solución de alloxano al 5% a dosis de 125mg/kg por vía intraperitoneal a todos lo grupos a excepción del Grupo III (testigo), con el fin de inducir diabetes experimental.
- ✓ Después de 48 horas de haber administrado la solución de alloxano, se realizó la segunda toma de muestra de sangre de la vena caudal a todos los grupos, previo ayuno de 12 horas, para evaluar el índice de hiperglicemia.

- ✓ A los animales del grupo I (control positivo) se les administró insulina 5% por vía subcutánea y al grupo II (control negativo) suero fisiológico 9% por vía subcutánea; al grupo III (testigo) ninguna sustancia. A los grupos IV, V, VI, VII y VIII se inculó por vía oral los extractos vegetales acuosos en las dosis establecidas.
- ✓ La tercera toma de muestra sanguínea se colectó después de una hora de la administración de las sustancias en estudio (Grupo I, II, III... VIII) y fue repetido a las 3, 6, 12, 24, y 48 horas pos – administración de las mismas.
- ✓ Al finalizar el ensayo los animales fueron sacrificados por el método de dislocación cervical (BETANCOURT, 1999).

• **Método de Glucosa – Oxidasa (Método enzimático – Wiener Lab, 2000)**

La medición de la glucosa se realizó de la siguiente manera:

- ✓ Para las muestras en estudio (Grupo I, II..., VII y VIII): A cada tubo de ensayo que contenía 1ml de reactivo de Glucosa Oxidasa se adicionó 10ul de plasma sanguíneo del individuo (7ind/grupo).
- ✓ Para el Standard (reactivo patrón de las muestras): En un tubo de ensayo que también contenía 1ml de reactivo de Glucosa Oxidasa, se agregó 10ul de Standard de glicemia
- ✓ Para el Blanco: sólo se colocó 1ml de Reactivo de Glucosa Oxidasa en un tubo de ensayo.
- ✓ Después todas las muestras fueron llevadas a baño maría por 10 minutos, las cuales posteriormente fueron leídas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 505nm llevado el aparato a cero con el Blanco del reactivo.

Diseño:

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

Donde:

B = Blanco (1 tubo de ensayo)

S = Standard (1 tubo de ensayo)

M = Muestras (91 tubos de ensayo)

- **Cálculos de dosificaciones**

Para los cálculos de dosificación del alloxano al 5% y de los extractos acuosos liofilizados de las especies vegetales en estudio, se utilizaron las formulas correspondientes a ellas (Anexo 5)

- **Cálculo para la obtención de la concentración de glucosa**

Para la obtención de la concentración de glucosa se utilizó los datos obtenidos por el espectrofotómetro (valores de absorbancia) aplicando la fórmula en las unidades: mg/dl (Anexo 6)

- **Método de procesamiento de datos y estadístico**

- ✓ El cálculo del porcentaje de la actividad hipoglicemiante (PAH) de los extractos acuosos liofilizados se obtuvo con la siguiente fórmula (RIOS, *et al.* 1999):

$$\text{PAH} = \frac{\text{Hiperglic. basal} - \text{glic. final (48horas)}}{\text{Hipergl. basal}} \times 100$$

- ✓ El análisis estadístico utilizado fue de tipo descriptivo e inferencial (WAYNE, 2006)

Descriptivo: a través de cuadros y gráficos que facilitó el análisis de la investigación y tablas de estadísticas descriptiva (promedio, histograma, desviación estándar, porcentaje, entre otros).

Inferencial: a través del análisis de varianza con 2 factores (uno fijo y otro aleatorio) con repetición, conocido también como Diseño completamente aleatorizado con dos factores. Estas derivan en pruebas de comparación de medias mediante la Prueba de Tukey.

V. RESULTADOS

La actividad hipoglicemiante de los extractos vegetales de *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith "abuta", *Solanum sessiliflorum* Dunal "cocona", *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier "ojo de pollo", *Pseudelephantopus spiralis* (Less.) Cronquist "mata pasto" y *Terminalia catappa* L. "castanilla" a dosis de 250 y 500mg/Kg y los grupos control positivo, control negativo y testigo realizadas en 91 ratas albinas machos, mostraron los siguientes resultados:

5.1 Obtención del extracto acuoso liofilizado de las especies vegetales en estudio

Por medio de la desecación, cocción, congelación y posterior liofilización de los materiales vegetales en estudio se obtuvieron los extractos acuosos liofilizados listos para sus respectivas evaluaciones. Ver Tabla 1

Tabla 1: Obtención del extracto acuoso liofilizado de las especies vegetales en estudio

| Material vegetal | Peso fresco | Peso del extracto vegetal liofilizado |
|------------------|-------------|---------------------------------------|
| "abuta" | 2kg | 32g |
| "cocona" | 5Kg | 50g |
| "ojo de pollo" | 2Kg | 33g |
| "mata pasto" | 2Kg | 20.7g |
| "castanilla" | 1.5Kg | 24.96g |

Fuente: Apuntes del presente estudio experimental

5.2 Evaluación de la actividad hipoglicemiante de los extractos vegetales por medio del método de diabetes alloxanica:

5.2.1. Inducción de diabetes experimental por alloxano a los animales de experimentación

Para evaluar la actividad hipoglicemiante de los extractos vegetales en estudio, se indujo hiperglicemia a las "ratas albinas" mediante la administración de alloxano 5% a dosis de 125mg/kg por vía intraperitoneal; de esta manera, se obtuvo valores de glicemia con un rango que van desde un valor mínimo de 135.88mg/dl y un máximo de 873.3mg/dl. (Anexo 7)

5.2.2. Evaluación de la actividad hipoglicemiante de la insulina 0.5ml

El Gráfico 1, muestra la actividad hipoglicemiante que ejerce la Insulina 5% (control positivo) comparado con el suero fisiológico 9% (control negativo) y el testigo, donde se observa una reducción gradual de los valores de glucosa en la sangre de los animales de experimentación, logrando obtener los niveles normales a las 3 horas de evaluación; existiendo diferencia estadística significativa ($p = 0.0000$) entre la hiperglicemia basal con las 48 horas.

El suero fisiológico (control negativo) no redujo mencionados valores, al contrario, estas concentraciones aumentaron demostrando la efectividad del alloxano, existiendo diferencia estadística significativa ($p = 0.0000$) entre la hiperglicemia basal y las 12horas (evaluación interrumpida debido a la muerte de los individuos causado por la hiperglicemia).

El grupo testigo, al no ser administrada ningún tipo de sustancia, no presentó variación en los valores normales de glicemia en todo el periodo de evaluación, no existiendo diferencia estadística significativa ($p = 0.6016$).

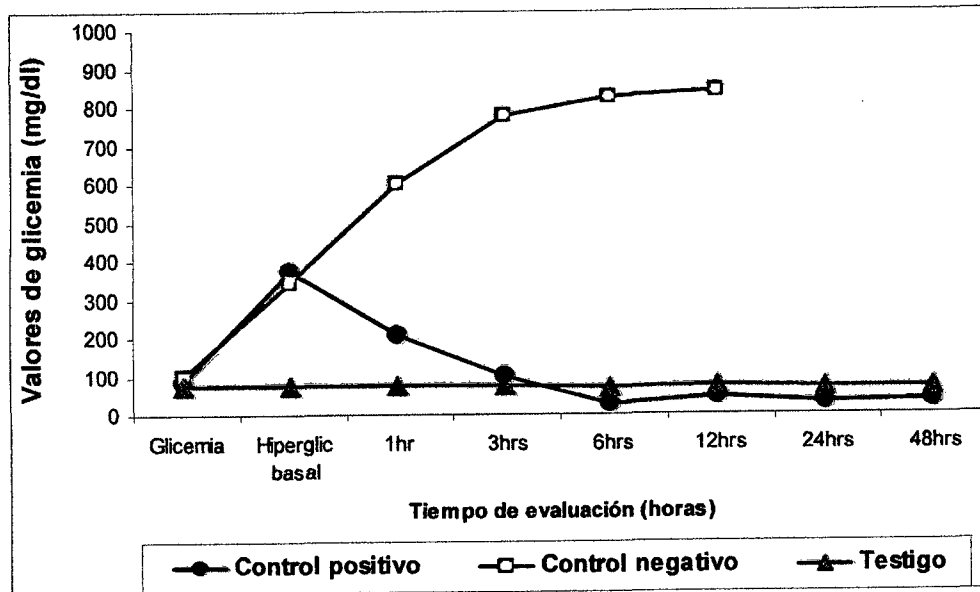


Gráfico 1: Evaluación de la glicemia del control positivo (Insulina 5%), control negativo (Suero fisiológico 9%) y testigo.

5.2.3. Evaluación de la actividad hipoglicemiante de los extractos acuosos liofilizados en estudio

Los extractos acuosos liofilizados de *Solanum sessiliflorum* Dunal "cocona", *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier "ojo de pollo" y *Terminalia catappa* L. "castanilla" a dosis de 250mg/kg a 10% y 500mg/kg a 20%, administrados a las ratas albinas con diabetes alloxánica, redujeron los niveles de glucosa sanguínea por un tiempo de evaluación de 48 horas.

Los extractos acuosos de *Abuta grandifolia* "abuta" y *Pseudelephantopus spiralis* "mata pasto" a dosis de 250mg/kg a 10% y 500mg/kg a 20%, no bajaron los niveles de glicemia de las ratas albinas, por lo que no permitió la evaluación completa (48 horas) de la actividad hipoglicemiante debido a la muerte de los individuos por hiperglicemia; siendo evaluadas hasta la 1ª hora el extracto de "abuta" a dosis de 250 y 500mg/kg y en el caso de "mata pasto" a dosis de 250mg/kg se evaluó hasta las 12ª hora y a dosis de 500mg/kg hasta la 6ª hora. Ver Gráficos 2 y 3

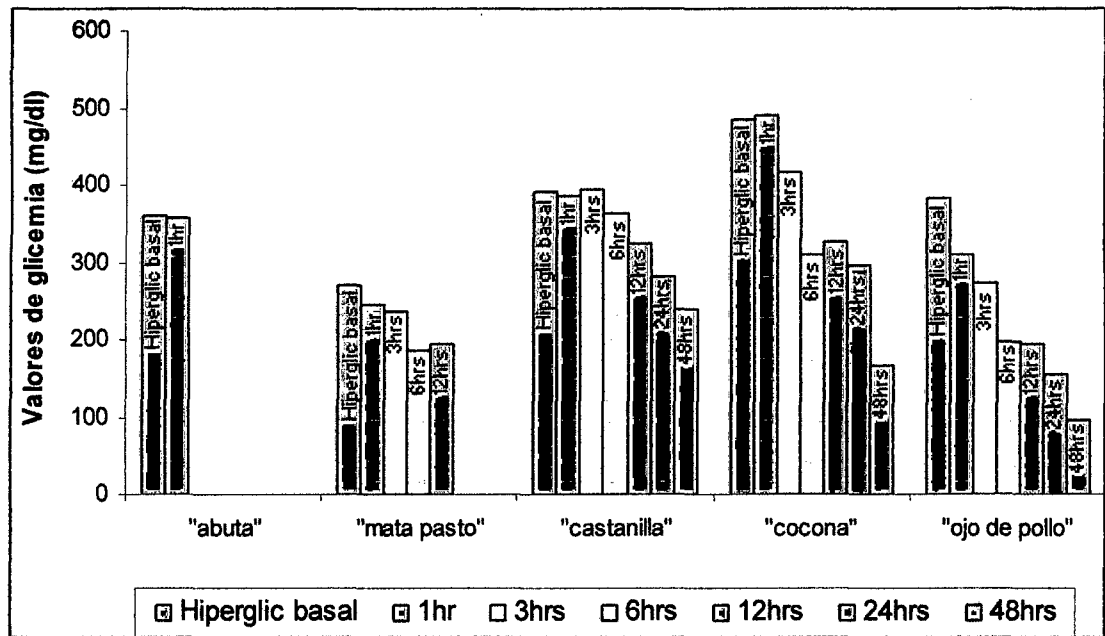


Gráfico 2: Valores de glicemia de los extractos acuosos liofilizados en estudio a dosis de 250mg/kg a 10%

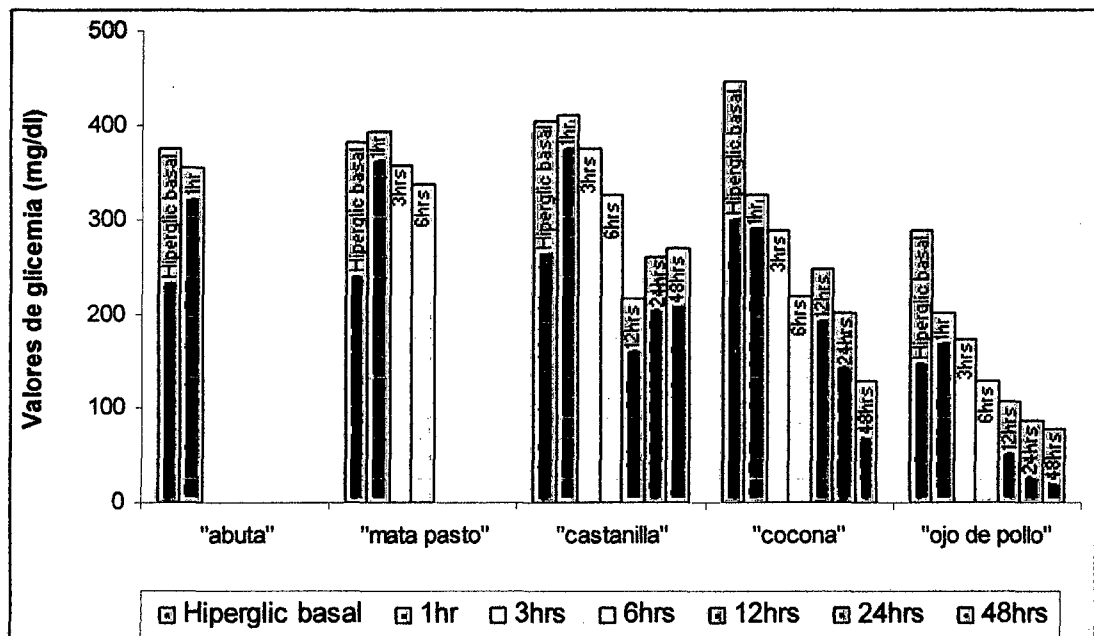


Gráfico 3: Valores de glicemia de los extractos acuosos liofilizados en estudio a dosis de 500mg/kg a 20%

5.2.4. Comparación de la actividad hipoglicemiante entre *Terminalia catappa* L. "castanilla", *Solanum sessiliflorum* Dunal "cocona" y *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier "ojo de pollo"

En la comparación de los niveles de glicemia final (48hrs) de los extractos vegetales de "castanilla", "cocona" y "ojo de pollo" a dosis de 250mg/kg, presentaron diferencia estadística no significativa ($p = 0.17$). y a dosis de 500mg/dl, las diferencias fueron estadísticamente significativas ($p = 0.01$), por lo tanto al aplicar la prueba de Tukey se determinó que existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre la actividad del extracto de "ojo de pollo" y "castanilla". Además, mediante el porcentaje de la actividad hipoglicemiante (hiperglicemia basal y la glicemia final – 48 horas) de los extractos vegetales en estudio, "ojo de pollo" tuvo una notoria reducción en los niveles de glucosa de 75.21% a dosis de 250 mg/kg y de 73.41% a dosis de 500mg/kg. Ver Tabla 2 y Gráficos 4 y 5.

Tabla 2: Comparación de la actividad hipoglicemiante entre los extractos acuosos liofilizados de "castanilla", "cocona" y "ojo de pollo" a dosis de 250 al 10% y 500mg/kg al 20%

| TTO | Dosis | Hipergl. basal (mg/dl) | 48hrs (mg/dl) | % de la actividad hipoglicemiante (Hipergl. basal vs. 48hrs) | Probabilidad (TTO vs. TTO) |
|----------------|----------|------------------------|---------------|--|----------------------------|
| "castanilla" | | 392,12 | 238,46 | 39,19 | |
| "cocona" | 250mg/kg | 484,16 | 165,77 | 65,76 | $p = 0,17$ |
| "ojo de pollo" | | 382 | 94,68 | 75,21 | |
| "castanilla" | | 405,35 | 268,97 | 33,64 | |
| "cocona" | 500mg/kg | 447,02 | 128,45 | 71,27 | $p = 0,01$ |
| "ojo de pollo" | | 289,14 | 76,89 | 73,41 | |

Hipergl. basal = Hiperglicemia basal 48hrs = Tiempo final de evaluación TTO = Tratamientos

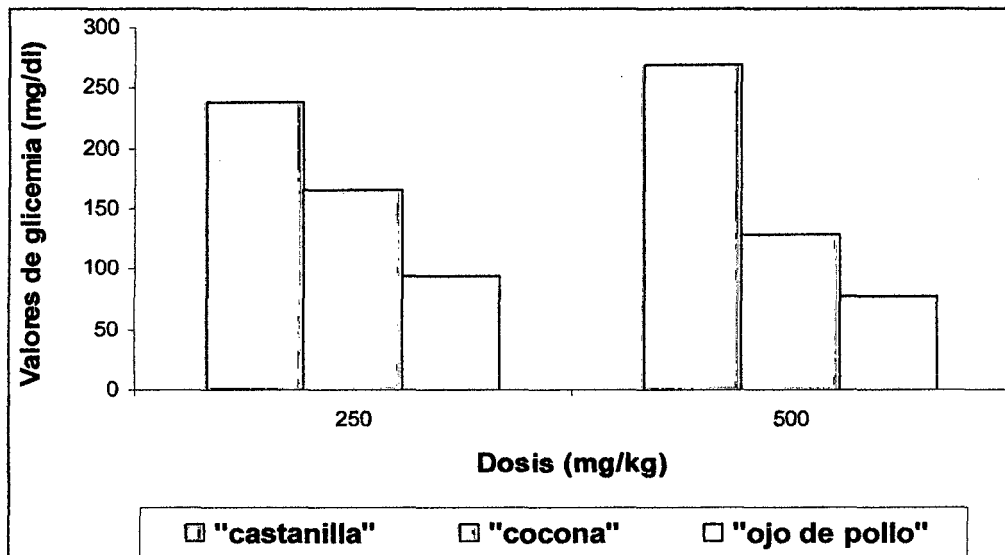


Gráfico 4: Comparación de la actividad hipoglicemiante entre los extractos acuosos liofilizados de "castanilla", "cocona" y "ojo de pollo" a dosis de 250 a 10% y 500mg/kg a 20%

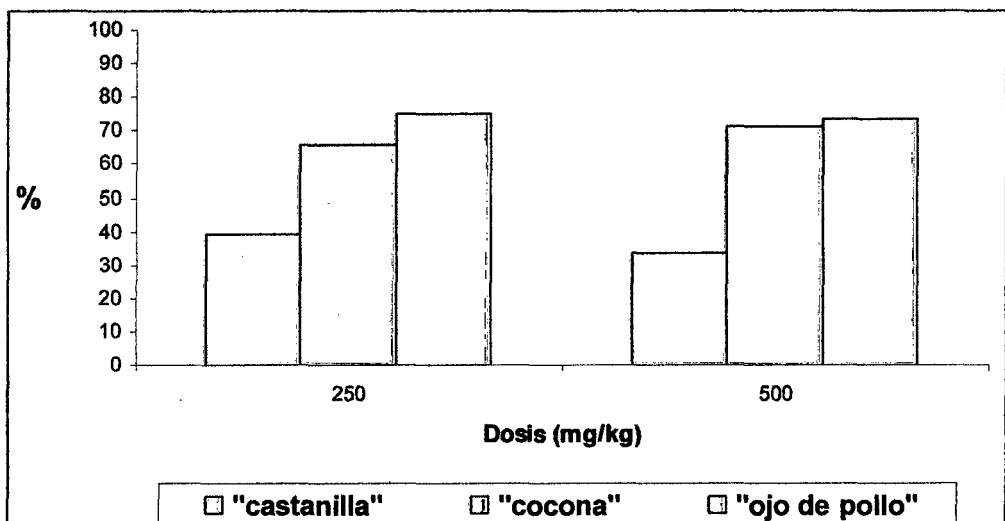


Gráfico 5: Porcentaje de la actividad hipoglicemiante de los extractos acuosos liofilizados de "castanilla", "cocona" y "ojo de pollo" a dosis de 250 a 10% y 500mg/kg a 20%.

5.3 Evaluación de la efectividad del extracto vegetal con actividad hipoglicemiante

Para esta evaluación se escogió al extracto acuoso liofilizado que redujo la glucosa en sangre de los animales de experimentación a los valores normales (70 – 110mg/dl).

5.3.1. Comparación de la efectividad hipoglicemiante entre el extracto vegetal de *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier "ojo de pollo" y el control positivo (Insulina 5%)

El extracto acuoso liofilizado de "ojo de pollo" a dosis de 250 y 500mg/kg mostró un comportamiento hipoglicémico parecido al control positivo utilizado en el estudio experimental, por lo que a un tiempo de evaluación de 48 horas, la dosis de 500mg/kg presentó mayor efectividad hipoglicemiante semejante a este control. Ver Gráfico 6.

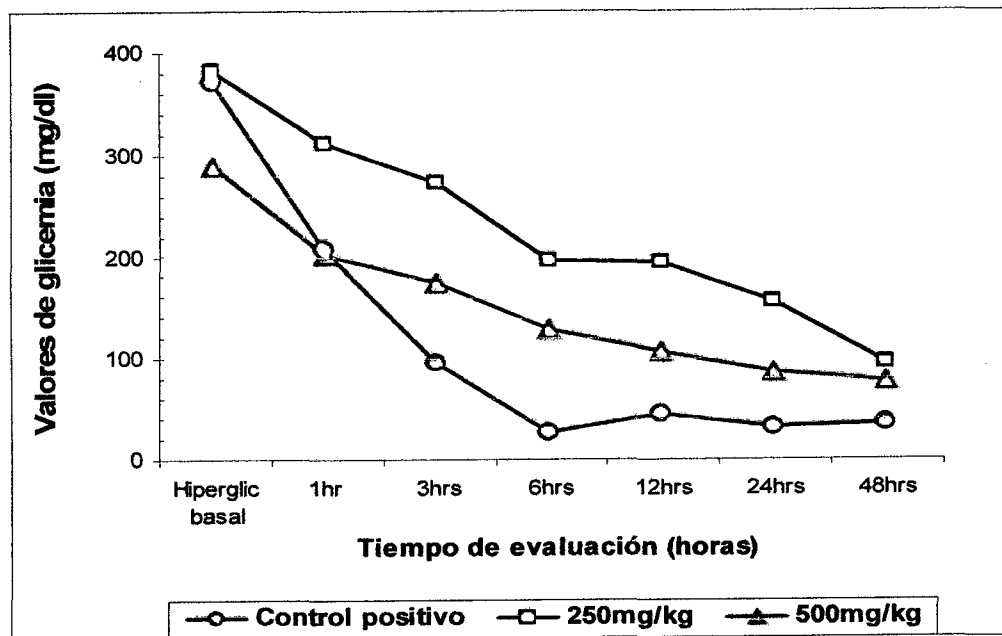


Gráfico 6: Comparación de la efectividad hipoglicemiante entre el extracto acuoso liofilizado de *A. halimifolia* (Lam.) Standl. "ojo de pollo" a dosis de 250 y 500mg/kg, frente al control positivo (Insulina 5%)

5.3.2. Comparación de la efectividad hipoglicemiante entre las dosis del extracto vegetal de *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier "ojo de pollo" y el Testigo

El extracto acuoso liofilizado de "ojo de pollo" a dosis 250 y 500mg/kg redujo los valores de glicemia de 382 a 94.68 y de 289.14 a 76.89mg/dl, respectivamente; y al comparar la glicemia final de ambas dosis, se obtuvo diferencia estadística no significativa ($p = 0.09$). La glicemia final (68.83mg/dl) del grupo testigo obtuvo diferencia estadística significativa ($p = 0.01$) al ser comparada con la dosis 250mg/kg, y al compararla con la dosis 500mg/kg se logró diferencia estadística no significativa ($p = 0.28$). Ver Gráfico 7.

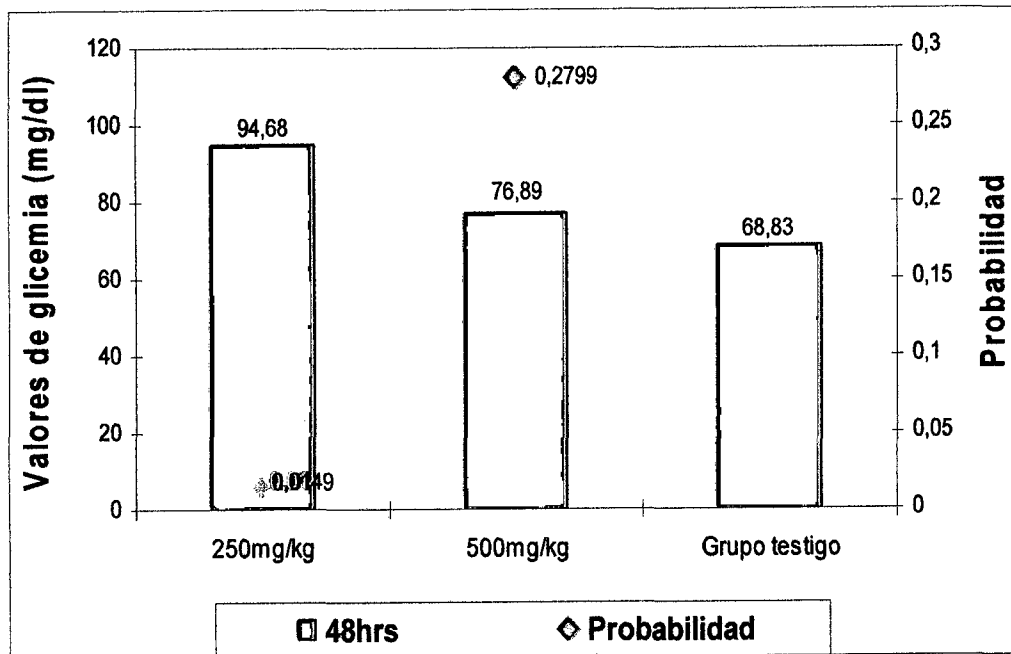


Gráfico 7: Comparación de la efectividad hipoglicemiante entre las dosis (250 y 500 mg/kg) del extracto vegetal de *A. halimifolia* (Lam.) Standl. "ojo de pollo" y el testigo.

VI. DISCUSIÓN

El presente estudio muestra la evaluación de la actividad hipoglicemiante de *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith "abuta", *Solanum sessiliflorum* Dunal "cocona", *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier "ojo de pollo", *Pseudelephantopus spiralis* (Less.) Cronquist "mata pasto" y *Terminalia catappa* L. "castanilla", especies vegetales conocidas en la comunidad por su capacidad de disminuir los valores de glicemia.

La inducción de diabetes experimental a los animales de experimentación empleando el método de diabetes alloxánica, posee gran importancia en este trabajo de investigación debido a que es necesario aumentar los niveles de glicemia en los individuos para poder evaluar la actividad hipoglicemiante de las especies vegetales en estudio.

Esta inducción de diabetes experimental realizada en el presente estudio demuestra la efectividad del alloxano para inducir hiperglicemia; coincidiendo con GUERRA *et al.* (2001) ya que sostiene que esta sustancia provoca la destrucción de las células beta de los islotes de Langerhans en los animales de experimentación; las cuales son las encargadas de la producción y secreción de la hormona insulina (única hormona hipoglicemiante producida por el organismo).

Es de gran importancia resaltar el mecanismo de acción del alloxano ya que actúa de manera directa en los islotes destruyendo las células beta, mas no a nivel de los receptores de insulina (bloqueándolos); de esta manera, la

destrucción de las células, permite la irreversibilidad de su acción, es decir, anula la liberación de la insulina en la sangre y por lo tanto, aumenta la concentración de glucosa, creando un cuadro de hiperglicemia irreversible. Además, el alloxano nos permite utilizar dosis menores de los extractos de plantas, a las que se necesitaría si se trabajara con un antagonista de receptor de la insulina, permitiéndonos así manejar dosis no tóxicas ya que teóricamente las fuerzas que se necesitan para desplazar un antagonista en su sitio de unión en el receptor, consisten en aumentar las dosis, el cual no es muy prudente porque toda droga es un tóxico al exceder las dosis terapéuticas.

El cuadro obtenido de diabetes alloxánica de este trabajo podría extrapolarse al cuadro clínico en los humanos ya que simula la diabetes tipo 1 en donde no hay producción y secreción de insulina, por lo tanto, no hay concentración de insulina en la sangre (insulinemia).

En la evaluación de la actividad hipoglicemiante de las especies vegetales en estudio, se observó que *Solanum sessiliflorum* D. "cocona", *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl "ojo de pollo" y *Terminalia catappa* L. "castanilla", a dosis de 250mg/kg a 10% y 500mg/kg a 20%, redujeron los valores de glucosa sanguínea de las ratas albinas. Por otra parte, los extractos vegetales de *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith "abuta" y *Pseudelephantopus spiralis* (Less) Cronquist "mata pasto" no redujeron los valores de glicemia de los animales, por el contrario, los individuos murieron debido a la hiperglicemia; estos resultados difieren con lo obtenido por UTIA (2005), donde menciona que "mata pasto" a la

dosis de 100mg/kg a 0.5% mediante el método de diabetes alloxánica en “ratas albinas”, presenta posible actividad hipoglicemiante.

La causa de muerte de los individuos de estos grupos (*Abuta grandifolia* “abuta” y *Pseudelephantopus spiralis* “mata pasto”) podría deberse a una elevada dosis y concentración de estos extractos pudiendo ser tóxicas o simplemente por los mecanismos de stress, causado por los propios animales, mediados por la liberación de hormonas de stress (adrenalina, corticoides, glucagón), secretadas de manera reactiva por estímulos nocivos externos como los ocasionados en este tipo de estudio (manipulación constante de los animales u otras razones no conocidas).

En la comparación de la actividad hipoglicemiante entre los extractos vegetales a la dosis de 250mg/kg a 10% no se obtuvo diferencia estadística, indicando que *Solanum sessiliflorum* Dunal “cocona”, *Terminalia catappa* L. “castanilla” y *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl “ojo de pollo” presentan la misma tendencia a bajar la glicemia hasta la hora establecida de evaluación (glicemia final = 48hrs post inducción de la hiperglicemia); sin embargo, a dosis de 500mg/kg a 20% se obtuvo diferencia estadística entre estos extractos, demostrando que “ojo de pollo” provoca una mayor tendencia a reducir la glucosa sanguínea de los animales de experimentación; por lo tanto, “ojo de pollo” a dosis de 500mg/kg fue la especie vegetal con mayor actividad hipoglicemiante seguida de “cocona” y “castanilla”.

La efectividad hipoglicemiante de las dosis de 250 y 500mg/kg del extracto vegetal de *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier "ojo de pollo", se determinó mediante la comparación con el grupo Testigo (grupo en la cual mantuvo los valores normales de glucosa por no haber sido inducida la hiperglicemia), por lo que a la dosis de 500mg/kg a 20% no hubo diferencia estadística con este grupo; es decir que esta dosis redujo los niveles de glicemia a los valores normales (76.89mg/dl) en los animales de experimentación. Mientras que a la dosis de 250mg/kg a 10% sí hubo diferencia estadística con el grupo Testigo; sin embargo, logró disminuir la glicemia a los niveles normales (94.68mg/dl). Por otro lado, aunque las dosis del extracto acuoso liofilizado de *Solanum sessiliflorum* D. "cocona" no hayan reducido los valores de glicemia a los niveles normales para evaluar su efectividad con el grupo Testigo, es importante mencionar que esta especie vegetal a las dosis de 250 y 500mg/kg, tienen actividad hipoglicemiante, por lo que, los niveles de glucosa decrecieron de 484,16 a 165,77 y de 447,02 a 128,45mg/dl, respectivamente. Por consiguiente, esto concuerda con lo encontrado por GRÁNDEZ *et al.* (2005) donde mencionan que las dosis de 250 y 500mg/kg del extracto etanólico de *Solanum sessiliflorum* D. "cocona" obtuvo actividad hipoglicemiante, disminuyendo los valores de glucosa sanguínea de 596.5 a 307.08 y 463.35 a 365.25mg/dl respectivamente, en los animales de experimentación.

La actividad hipoglicemiante de los extractos vegetales puede deberse a los compuestos químicos que presentan las plantas evaluadas en este estudio y uno de estos compuestos es el tanino, el cual es considerado como antioxidante por su capacidad para eliminar los radicales libres, previniendo así la aparición de

numerosas enfermedades degenerativas. Esta información concuerda con MURILLO *et al.* (2006) ya que reportan que la actividad antioxidante de los extractos de la especie *Bauhinia kalbreyeri* Harms 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 *Tecoma stans* Linn como posibles responsables del efecto hipoglicemiante sin ahondar mucho en el tema.

Encontramos escasa información que nos permita especular sobre estos compuestos químicos que puedan estar involucrados en los probables efectos hipoglicemiante. Además, es necesario mencionar que no existe suficiente información científica sobre la actividad hipoglicemiante de las especies vegetales en estudio para comparar los resultados obtenidos; sólo existen trabajos etnobotánicos con temas relacionados, éstos se basan en encuestas de las comunidades indígenas o de la población, las cuales son de mucha importancia como antecedentes para posibles trabajos de investigación de los efectos curativos de las plantas de la amazonía.

VII. CONCLUSIONES

- La inducción de diabetes experimental por alloxano 5% a dosis de 125mg/kg a los animales de experimentación demostró ser efectiva, la cual validó la evaluación de la actividad hipoglicemiante de las especies vegetales en estudio.
- Los extractos vegetales que presentaron actividad hipoglicemiante en ratas albinas con diabetes experimental por alloxano fueron *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier “ojo de pollo” y *Solanum sessiliflorum* Dunal “cocona” a dosis de 250mg/kg al 10% y 500mg/kg al 20%.
- El extracto vegetal de *Terminalia catappa* L. “castanilla” a dosis de 250mg/kg al 10% y 500mg/kg al 20% tuvo tendencia a reducir los niveles de glicemia de los animales con diabetes experimental por alloxano.
- Las dosis y concentraciones de 250 mg/Kg al 10% y 500 mg/Kg al 20% del extracto acuoso liofilizado de *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier “ojo de pollo” mostraron efectividad hipoglicemiante a un tiempo de evaluación de 48hrs.
- Las especies vegetales de *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith “abuta”, y *Pseudelephantopus spiralis* (less.) Cronquist “mata pasto” a dosis de 250mg/kg al 10% y 500mg/kg al 20%, no presentaron actividad hipoglicemiante en ratas albinas con diabetes experimental por alloxano, al contrario, provocaron la mortalidad en estos individuos.

VIII. RECOMENDACIONES

- Efectuar ensayos de la actividad hipoglicemiante de *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier "ojo de pollo", *Solanum sessiliflorum* Dunal "cocona" y *Terminalia catappa* L. "castanilla" a menores dosis y concentración.
- Realizar estudios farmacológicos utilizando otras partes de las plantas (raíz, tallo, hoja, etc) de las especies vegetales que mostraron actividad hipoglicemiante y así determinar la parte con mayor concentración de metabolitos activos.
- Elaborar ensayos de la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith "abuta" y *Pseudelephantopus spiralis* (less.) Cronquist "mata pasto" a menor dosis y concentración para comprobar si a esas dosis presentan actividad hipoglicemiante.
- Realizar una división de extractos y separación de metabolitos mediante el método de Kupchan al extracto vegetal con mayor actividad hipoglicemiante (*Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier "ojo de pollo") para determinar la fracción responsable de su actividad y establecer así el posible grupo de compuestos al que pertenece el principio activo.
- Efectuar pruebas de toxicidad a la fracción responsable de la actividad hipoglicemiante obtenida en el método de Kupchan.
- Realizar ensayos acerca del nivel de insulina en los animales de experimentación para confirmar la acción del alloxano.
- Realizar estudios de diabetes experimental utilizando Streptozotocine que es una sustancia que induce la hiperglicemia simulando la diabetes tipo 2.

- Efectuar ensayos de la actividad hipoglicemiante con el método de dosis repetida, utilizando dosis y concentraciones menores a la utilizada en el presente estudio.

IX. RESUMEN

El estudio se realizó en el Instituto de Medicina Tradicional. IMET – EsSalud Iquitos, donde se evaluó la actividad hipoglicemiante de los extractos acuosos liofilizados de *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith “abuta”, *Solanum sessiliflorum* Dunal “cocona”, *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier “ojo de pollo”, *Pseudelephantopus spiralis* (Less.) Cronquist “mata pasto” y *Terminalia catappa* L. “castanilla”. El ensayo se realizó en 91 ratas albinas machos (*Rattus norvegicus* cepa Holtzman) seleccionadas por muestreo simple aleatorio en 8 grupos; el grupo I (control positivo: 7 ind.) fue tratado con insulina 5%; el grupo II (control negativo: 7 ind.) tratado con solución salina al 9%; el grupo III (testigo: 7 ind.) el cual no se le administró ninguna sustancia y los grupos IV, V, VI, VII y VIII (14 ind/grupo) tratados con extractos vegetales a dosis de 250mg/kg a 10% y 500mg/kg a 20%, previa inducción, de las ratas, al estado de hiperglicemia (873.3mg/dl) mediante el método de diabetes alloxánica. Los resultados muestran que el extracto acuoso liofilizado de “castanilla” a dosis de 250mg/kg a 10% y 500mg/kg a 20% presenta tendencia de reducir los niveles de glicemia de las ratas albinas y los extractos acuosos de “cocona” y “ojo de pollo”, poseen actividad hipoglicemiante a mencionadas dosis y concentraciones pero consiguiendo mayor efectividad hipoglicemiante el extracto acuoso liofilizado de “ojo de pollo” a dosis de 250mg/kg a 10% y 500mg/kg a 20%.

X. BIBLIOGRAFÍA

- AGUILAR, R. 1994. Herbarium Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social; información etnobotánica. México. 253pp.
- AYALA, F. 2003. Taxonomía Vegetal. Gymnospermae y Angiospermae de la Amazonía Peruana. 1ª Edición. Iquitos – Perú. Vol 1. 422 pp.
- BETANCOURT, J. 1999. Cuestiones éticas en la experimentación animal. En RIOS, F; M, MESTANZA & L, NONATO. 1999. Protocolo de estudio: Área farmacología y toxicología. Convenio EsSalud – Cuba. DOC – IMET – EsSalud. 173pp.
- BRACK, A. 1999. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Cusco: Centro Bartolomé de las Casas. CBC. 650pp.
- CALDERÓN, R. & PEÑALOZA, JB. 1996. Diabetes Mellitus en el Perú, 1ª Edición, Editorial e Imprenta Desa, Lima-Perú.
- CALZADA, B. J. 1980. Frutales Nativos. Librería El Estudiante, Lima, 146 – 147pp.
- CAMPOS, M. 2005. Tesis para obtener el título de biólogo: Estudio hipoglicemiante del extracto liofilizado de *Solanum sessiliflorum* Dunal "cocona" a la dosis de 1000mg/kg. Universidad Mayor de San Marcos. 82pp.
- CARVAJAL, C. & BALCAZAR, L. 2002. Cultivo de cocona. Programa de Biodiversidad (IIAP). Tingo María – Perú. 54pp

- CERRUTTI, T. 1995. Descripción Botánica del “ojo de pollo”. Informe técnico del Instituto de Medicina Tradicional. DOC. IMET – EsSalud. Iquitos – Perú. 10pp.
- CERRUTTI, T. 1997. Etnobotánica de plantas medicinales usadas en diabetes mellitus tipo 2. Resumen X Congreso Nacional de Botánica. Iquitos – Perú. 80pp.
- CERRUTI, T. 2000. Contribución a la botánica del “mata pasto” (Lessing) Cronquist. Informe técnico del Instituto de Medicina Tradicional. DOC. IMET – EsSalud. Iquitos – Perú. 18pp.
- CRONQUIST, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. The New York Botanical Garden. Columbia University Press. 1262pp.
- 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 – 18pp.
- DUCKE, J. & VASQUEZ, R. 1994. Amazonian Ethobotanical Dictionary USA. 215pp.
- ECOBICHON, D. J. 1992. The Basic of Toxicology Testing. Boca Raton FL. CRC Press. 220pp.
- GARCÍA, A. 1994. Plantas Medicinales de la Amazonía Peruana. 106 – 108pp.
- GAVIN, J; ALBERTI, K. & DAVIDSON, M. 2003. Reporte del comité de expertos en diagnóstico y clasificación de diabetes mellitus. 26(1): 5 – 20pp.

- GNECCO, F. 1996. La Diabetes en la Práctica. Editorial Cromos, Bogotá. Capítulo VIII (Diabetes experimentales). 69 – 75pp.
- GONZALEZ, L. 1993. Diabetes mellitus. Manejo nutricional del diabético. Barcelona: Prensa - Médica, 37 – 42pp.
- GRANDEZ, M; GARCÍA, L; RIVADENEYRA, N; CABRERA, A. & SUAREZ, J. 2005. Identificación del extracto responsable de la actividad hipoglicemiante del fruto liofilizado de *Solanun sessiliflorum* (cocona) y evaluación fotoquímica en Iquitos. Informe técnico Facultad de Ingeniería Química – UNAP. 48pp
- 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.
- HERNANDEZ, M; GARCÍA, L; ROJO, D. & OLIVARES, D. 2003. Almendro de la India: potencial biológico valioso. Centro de Investigaciones Biomédicas. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". Revista Cubana. 22(1): 41 – 47pp.
- JIMENEZ, M. F. 2000. Diabetes mellitus: actualización. Acta méd. costarric. 42(2): 53 – 65pp.
- LASTRA, J. 2000. Plantas medicinales. www.farmacia.unal.edu.co
- MC VAN, B. 1993. Índice de medicamentos. Editorial el Manual Moderno S.A. de C.V. 844 – 848pp.
- MEJÍA, K. & RENGIFO, E. 1995. Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana. 1ª Edición. Lima – Perú. 286pp.

- MIYAMOTO, K; KISHI, N; MURAYAMA, T; FURUKAWA, T. & KOSHIURA, R. 1998. Induction of cytotoxicity of peritoneal exudate cells by agrimoniin, a novel immunomodulatory tannin of *Agrimonia pilosa* Ledeb. *Cancer Immunol Immunother*; 27 (1): 59 – 62pp.
- MURILLO, J. 1999. *Vivir con diabetes*. Medicina y salud. 3ª Edición. Edit. Neo Person. 248pp.
- MURILLO, E; TIQUE, M; OSPINA, L. & LOMBO, O. 2006. Evaluación preliminar de la actividad hipoglicemiante en ratones diabéticos por aloxano y capacidad antioxidante in Vitro de extractos de *Bauhinia kalbreyeri* Harms. *Revista Colombiana Cienc. Quím. Farm.* 35 (1), 64 – 80pp
- NARANJO, J; CORRAL, A; RIVERO, G; FERNADEZ, M. & PEREZ, P. 2003. Efecto hipoglicemiante del extracto fluido de *Tecoma stans* Linn en roedores. *Revista cubana Med. Milit.* 32 (1): 13 – 17pp.
- PINEDO, M; RENGIFO, E. & CERRUTTI, T. 1997. *Plantas Medicinales de la Amazonía peruana*. Estudio de su uso y cultivo. IIAP. TCA. Iquitos – Perú. 304pp.
- REPETTO, M. 1989. *Ética de la Experimentación Animal*. *Rev. de Toxicol*; 6(2): 185 – 193pp.
- RIOS, F; MESTANZA, M. & NONATO, L. 1999. *Protocolo de estudio: Área farmacología y toxicología*. Convenio EsSalud – Cuba. DOC – IMET – EsSalud. 173pp.
- ROBBINS, M. 1997. *Patología estructural y funcional*. Editorial Mc Graw – Hill. Interamericana. Madrid – España. 1006 – 1007pp.

- 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 – 166pp.
- RUIZ, M. 2000. Clasificación y diagnóstico de la diabetes mellitus. I Congreso virtual de cardiología. Argentina.
<http://pcvc.sminter.com.ar/cvirtual/cvirtesp/cientesp/epesp/epm0009c/cruizm/cruizm.htm>
- SECLÉN, S. 2000. La Diabetes Mellitus como problema de salud pública en el Perú. Universidad Peruana Cayetano Heredia, Instituto de Gerontología. 2ª Edición. Editorial New Graft, S.A. 140pp.
- 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.
- SILVA, D. H. & CERRUTTI, T. 1995. PLANTAS Medicinales del Jardín Botánico IMET – IPSS. 1ª Edición. Iquitos – Perú. 100pp
- SILVA, D. H. & GARCIA, J. 1997. La Medicina Tradicional en Loreto. Instituto Peruano de Seguridad Social. Iquitos – Perú. 108pp.
- SILVA, D. H. 2001. Uña de Gato, ensayos clínicos. Ministerio de Salud - Hospital Apoyo Iquitos. Oficina de Epidemiología. Iquitos – Perú. 15-27pp.
- 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.

VASQUEZ, R. 1997. Flórmula de la Reservas Biológicas de Iquitos, Perú. Missouri Botanical Garden, Saint Louis, Missouri – USA. 1046 pp.

VILLAR, M. & VILLAVICENCIO, O. 2001. Manual de fitoterapia. Lima – Perú: OPS/OMS: 7 – 9, 347pp.

WAYNE, D. 2006. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. 4ª Edición. Limusa Wiley: México. 924pp.

WIENER LAB. 2000. Vademécum. Reactivos para laboratorios clínicos. Glicemia enzimática. Rosario – Argentina. 220pp.

ANEXO

Anexo 1: FOTOS

Foto 1: Frontis del Instituto de Medicina Tradicional. IMET – EsSalud

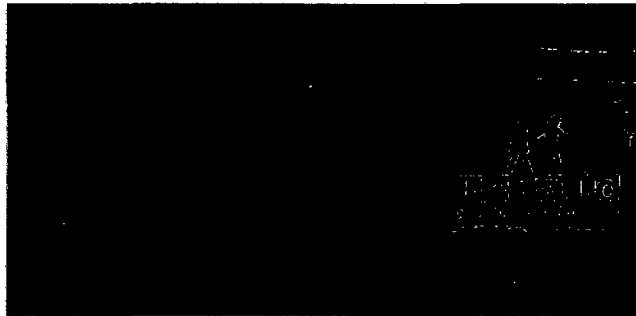


Foto 2: *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith "abuta"



Corteza



Hoja

Continúa Anexo 1...

Foto 3: *Solanum sessiliflorum* Dunal "cocona"



Fruto



Hoja

Foto 4: *Terminalia catappa* L.
"castanilla"



Foto 5: *Alternanthera halimifolia* (Lam.)
Standl. ex Pittier "ojo de pollo"



Continúa Anexo 1...

Foto 6: *Pseudelephantopus spiralis*
(less.) Cronquist "mata pasto"



Foto 7: *Rattus norvegicus*
"rata albina"

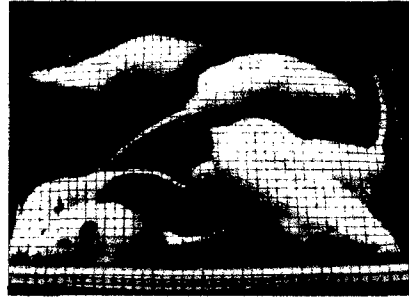


Foto 8: Materiales para el estudio de
la Actividad Hipoglicemiante



Foto 9: Reactivos

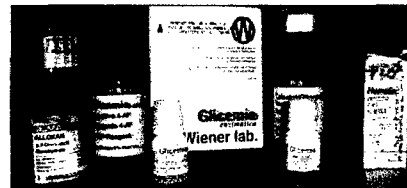


Foto 10: Equipos

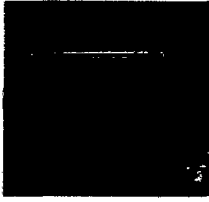


Balanza analítica

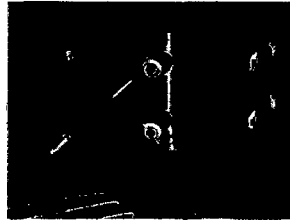


Baño maría

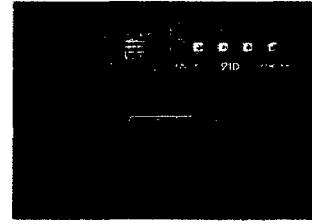
Continúa Anexo 1...



Centrifuga



Liofilizador



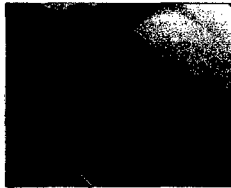
Espectrofotómetro

Foto 11: Herbarium Amazonense (AMAZ) de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.



Continúa Anexo 1...

Foto 12: Obtención del extracto acuoso liofilizado de *Solanum sessiliflorum* Dunal
"cocona"



Cortado



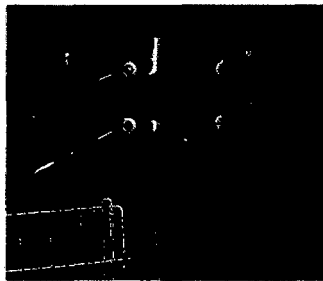
Liculado



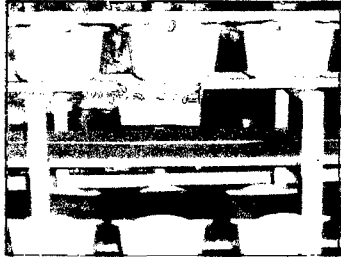
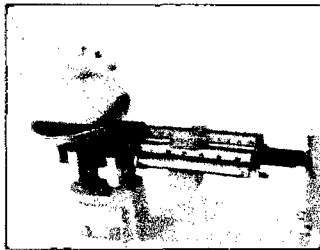
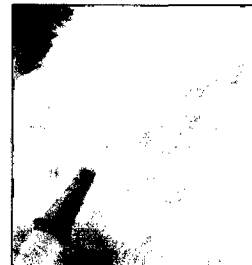
Cernido



Congelado x 24 hrs a -20 °C



Liofilizado x 3 días a -40 °C

Continúa Anexo 1...**Foto 13: Selección de individuos**
(Cuarentena de animales)**Foto 14: Marcaje de animales****Foto 15: Pesaje de animales****Foto 16: Inducción de hiperglicemia**
por alloxano (vía: intraperitoneal)**Foto 17: Administración de**
insulina 5% (vía: subcutánea)**Foto 18: Administración intragástrica**
(extractos vegetales en estudio)

Continúa Anexo 1...

Foto 19: corte de la vena caudal
para la obtención de sangre



Foto 20: Sangre recolectada
en capilares heparinizados.



Anexo 2:



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA
 FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
 HERBARIUM AMAZONENSE (AMAZ)
 Esquina Pevas/Nanay - Telefono 23 6121 - Apartado Postal 326
 E-mail: herbarium@amaz.com.pe.
 Iquitos-Perú

Centro de Estudio, Investigación y Enseñanza

CERTIFICADO


LA DIRECTORA DEL HERBARIUM AMAZONENSE DE LA
 UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA,
 CERTIFICA:

Que, las muestras colectadas por las Bachs. **Elsa Cecilia Sifuentes Mesía y Cecilia Patricia Contreras Cerdeña**, pertenecen a la Tesis Titulado "Validación de la Actividad Hipoglicemiante de *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith "abuta", *Solanum sessiliflorum* Dunal "cocona", *Altemanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier "ojo de pollo", *Pseudelephantopus spiralis* (Less.) Cronquist "mata pasto", y *Terminalia catappa* L. "castanilla" en diabetes experimental, Loreto-Peru; fue verificado e identificado en este Centro de Estudio, Investigación y Enseñanza como a continuación se indica:

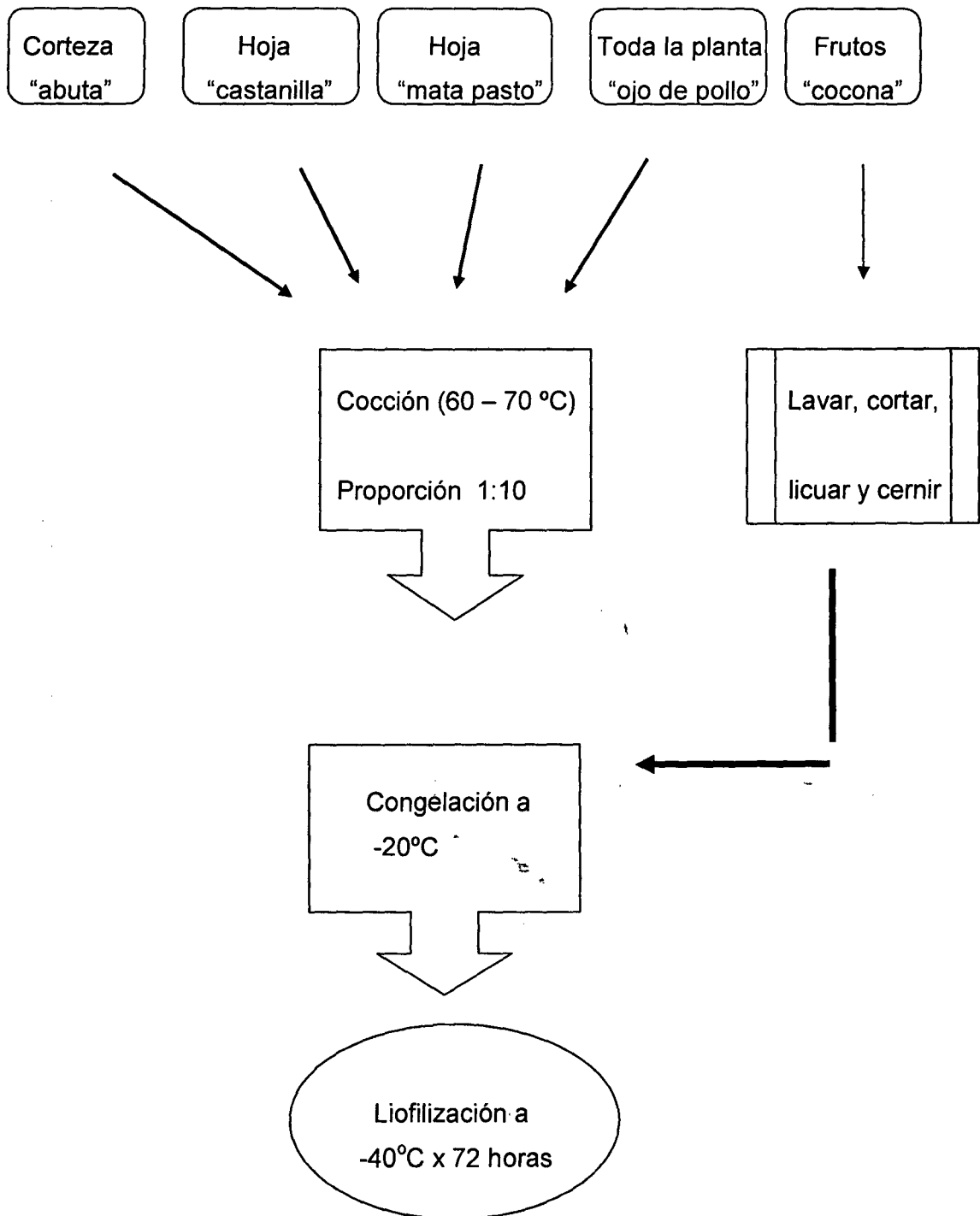
| <u>Familia</u> | <u>Nombre Científico</u> | <u>Nombre Vulgar</u> |
|----------------|---|----------------------|
| MENISPERMACEAE | <i>Abuta grandifolia</i> (Mart.) Sandwith. | "abuta" |
| SOLANACEAE | <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal | "cocona" |
| AMARANTHACEAE | <i>Altemanthera halimifolia</i> (Lam.) Standl. ex Pittier | "ojo de pollo" |
| ASTERACEAE | <i>Pseudelephantopus spiralis</i> (Less.) Cronquist | "mata pasto" |
| COMBRETACEAE | <i>Terminalia catappa</i> L. | "castanilla" |

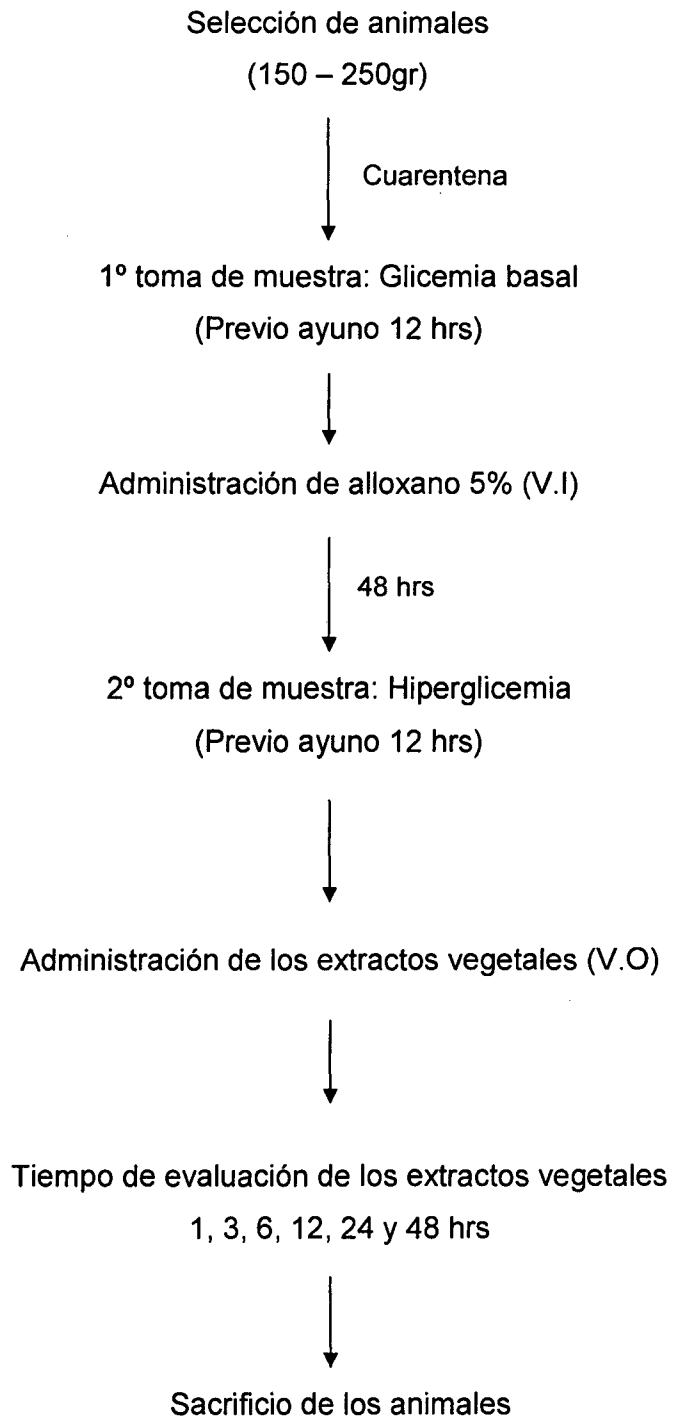
Se expide el presente certificado, a solicitud de las interesadas para los fines que estime conveniente.

Iquitos, 13 de Agosto del 2008


 Blga. FELICIA DÍAZ JARAMA
 Directora (e) AMAZ

Anexo 3: Flujograma de obtención de extractos acuosos liofilizados de las 5 especies en estudio



Anexo 4: Flujograma del Procedimiento experimental

Anexo 5: Cálculos de dosificación del Alloxano y del extracto acuoso liofilizado de las especies vegetales en estudio.

✓ Preparación del Alloxano

Se trabajó con una dosis de 125mg/kg y 5% de concentración de Alloxano, luego se pesó a los individuos teniendo así el promedio de los pesos (\bar{P}) en gramos y con estos datos se realizaron los siguientes cálculos:

Ej. 1^{er} ind de "ojo de pollo" dosis 500mg/kg 20%

➤ Para el soluto (Alloxano)

$$1\text{kg} = 1000\text{g}$$

$$\text{Sto} = \frac{125\text{mg} \times \bar{P}_{\text{animal}} \text{ g}}{1000\text{g}} \times \text{No ind.}$$

$$\text{Sto} = \frac{125\text{mg} \times 191.43 \text{ g}}{1000\text{g}}$$

$$\text{Sto} = 23.928 \text{ mg} \times 10 \text{ ind.}$$

Continúa Anexo 5...

- Para el solvente (H₂O destilada)

5% Alloxan: 5g ó 5000mg – 100ml

$$Svte = \frac{Sto (mg) \times 100ml}{5000mg} \times \text{No ind.}$$

$$Svte = \frac{23.928 (mg) \times 100ml}{5000mg}$$

$$Svte = 0.478 \text{ ml} \times 10 \text{ ind.}$$

- Para determinar el factor de volumen

$$F.V = \frac{Svte / \text{No ind}}{P_{\text{animal}} \text{ g}}$$

$$F.V = \frac{0.478 \text{ ml}}{191.43 \text{ g}}$$

$$F.V = 0.0025 \text{ ml/g}$$

Continúa Anexo 5...

- Dosis de Alloxan para administrar a cada individuo

$$\text{Dosis} = \text{F.V} \times P_{\text{ind}}$$

$$\text{Dosis} = 0.0025 \text{ ml/g} \times 200\text{g}$$

$$\text{Dosis} = 0.5 \text{ ml.}$$

- ✓ Preparación del extracto acuoso liofilizado de las plantas medicinales en estudio:

Se determinó el factor de volumen a la dosis y concentración establecida utilizando la tabla de dosificación, luego se determinó el peso promedio (\bar{P}) del total de pesos de los individuos y se procedió al cálculo para cada dosis con las siguientes fórmulas:

- Para el solvente (H₂O destilada)

$$\text{V.I} = \bar{P}_{\text{animal}} \text{ g} \times \text{F.V.} \times \text{No ind}$$

$$\text{V.I} = 191.43 \text{ g} \times 0.025 \text{ ml/g} \times 10 \text{ ind}$$

$$\text{V.I} = 47.85 \text{ ml}$$

- Para el soluto: Extracto acuoso liofilizado de "cocona"

$$\text{Sto} = \frac{[\text{g}] \times \text{V.I}(\text{ml})}{1000\text{ml}}$$

$$\text{Sto} = \frac{20 \text{ g} \times 47.85 \text{ ml}}{1000\text{ml}} \times 10 \text{ ind}$$

$$\text{Sto} = 9.57 \text{ g}$$

Continúa Anexo 5...

- Dosis de los extractos acuosos liofilizados de las plantas medicinales en estudio para administrar a cada individuo

$$\text{Dosis} = F.V \times P_{\text{ind}}$$

$$\text{Dosis} = 0.025 \text{ ml/g} \times 200 \text{ g}$$

$$\text{Dosis} = 5 \text{ ml}$$

Anexo 6: Cálculo de los datos obtenidos por el espectrofotómetro (valores de absorbancia)

Se aplicó la siguiente fórmula para la obtención de la concentración de glucosa, en las unidades: mg/dl

$$f = \frac{1.00 \text{ g/l}}{S} \times 100$$

$$f = \frac{1.00 \text{ g/l}}{0.430} \times 100$$

$$f = 232.558$$

- Por último la siguiente fórmula:

$$\text{GLUCOSA mg/dl} = D \times f$$

Donde:

D = Desconocido (valores de absorbancia de cada muestra)

f = Factor Standard

S = Standard (valor de absorbancia de la muestra standard)

$$\text{GLUCOSA mg/dl} = 0.374 \times 232.558$$

$$\text{Glicemia basal} = 86.98 \text{ mg/dl.}$$

Anexo 7: Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante de los extractos acuosos liofilizados de las especies vegetal en estudio.

Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto vegetal acuoso liofilizado de *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith "abuta" 250mg/kg 10%

| Peso (gr) | Glicemia basal (mg/dl) | Hipergl (mg/dl) | Tiempo de evaluación "abuta" 250 mg/kg | | | | | |
|-----------|------------------------|-----------------|--|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | 1hr | 3hr | 6hr | 12hr | 24hr | 48hr |
| 165 | 53,52 | 381,66 | 396,38 | - | - | - | - | - |
| 180 | 54,58 | 311,09 | 379,96 | 378,04 | - | - | - | - |
| 160 | 57,78 | 392,32 | 344,67 | 386,35 | - | - | - | - |
| 155 | 56,08 | 391,69 | 391,69 | - | - | - | - | - |
| 155 | 54,78 | 268,66 | 221,11 | 114,71 | 116,84 | 238,59 | 299,36 | 227,29 |
| 185 | 53,94 | 379,53 | 383,87 | - | - | - | - | - |
| 215 | 64,99 | 401,92 | 389,77 | - | - | - | - | - |

Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto vegetal acuoso liofilizado de *Abuta grandifolia* (Mart.) Sandwith "abuta" 500mg/kg 20%

| Peso (gr) | Glicemia basal (mg/dl) | Hipergl (mg/dl) | Tiempo de evaluación "abuta" 500 mg/kg | | | | | |
|-----------|------------------------|-----------------|--|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | 1hr | 3hr | 6hr | 12hr | 24hr | 48hr |
| 170 | 61,48 | 362,96 | 259,95 | 319,44 | 267,82 | - | - | - |
| 150 | 64,49 | 350,46 | 383,8 | 216,44 | 210,19 | 264,58 | 256,71 | 311,81 |
| 160 | 62,41 | 444,91 | 437,27 | - | - | - | - | - |
| 160 | 68,29 | 447,45 | 432,18 | 309,95 | 303,24 | 327,55 | 344,21 | 262,93 |
| 200 | 66,06 | 135,88 | 112,96 | 110,19 | 89,58 | 92,82 | 103,24 | 94,91 |
| 155 | 67,27 | 443,75 | 424,77 | - | - | - | - | - |
| 170 | 69,12 | 444,44 | 437,96 | - | - | - | - | - |

* Casilleros sin datos (-) : mortalidad de los animales por hiperglicemia

Continúa Anexo 7...

Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto vegetal acuoso liofilizado de *Pseudelephantopus spiralis* (less.) Cronquist "mata pasto" 250mg/kg 10%

| Peso (gr) | Glicemia basal (mg/dl) | Hipergl (mg/dl) | Tiempo de evaluación "mata pasto" 250 mg/kg | | | | | |
|-----------|------------------------|-----------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | 1hr | 3hr | 6hr | 12hr | 24hr | 48hr |
| 205 | 82,28 | 242,30 | 263,9 | 259,12 | 243,66 | 175,02 | 276,62 | - |
| 170 | 72,05 | 251,39 | 253,21 | 250,03 | 213,85 | 157,06 | - | - |
| 175 | 71,37 | 239,80 | 252,08 | 248,44 | 267,86 | 198,66 | 260,71 | 275,94 |
| 195 | 77,51 | 306,17 | 92,74 | 92,74 | 67,28 | 266,4 | 268,67 | 275,49 |
| 215 | 76,60 | 252,76 | 252,08 | 242,53 | 142,53 | 177,98 | - | - |
| 185 | 77,30 | 301,03 | 296,85 | 293,14 | 193,42 | 213,14 | 242,93 | 212,3 |
| 180 | 69,14 | 296,30 | 310,45 | 267,45 | 176,12 | 182,1 | 314,1 | 393,11 |

Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto vegetal acuoso liofilizado de *Pseudelephantopus spiralis* (less.) Cronquist "mata pasto" 500mg/kg 20%

| Peso (gr) | Glicemia basal (mg/dl) | Hipergl (mg/dl) | Tiempo de evaluación "mata pasto" 500 mg/kg | | | | | |
|-----------|------------------------|-----------------|---|--------|--------|--------|--------|------|
| | | | 1hr | 3hr | 6hr | 12hr | 24hr | 48hr |
| 160 | 48,59 | 353,69 | 391,95 | 396,64 | 368,24 | - | - | - |
| 150 | 64,07 | 429,74 | 430,21 | 417,53 | 405,56 | 394,53 | 391,48 | - |
| 160 | 55,86 | 436,54 | 436,78 | 424,57 | 415,65 | - | - | - |
| 150 | 57,74 | 349,23 | 344,77 | 287,98 | 323,89 | 377,87 | 351,35 | - |
| 155 | 68,06 | 354,40 | 369,65 | 299,71 | 204,19 | 417,77 | 419,41 | - |
| 150 | 45,53 | 346,65 | 352,05 | 269,91 | 241,04 | 422,23 | 387,49 | - |
| 150 | 56,56 | 415,15 | 424,34 | 418,47 | 418,47 | - | - | - |

* Casilleros sin datos (-) : mortalidad de los animales por hiperglicemia

Continúa Anexo 7...

Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto vegetal acuoso liofilizado de

Terminalia catappa L. "castanilla" 250mg/kg 10%

| Peso (gr) | Glicemia basal (mg/dl) | Hipergl (mg/dl) | Tiempo de evaluación "castanilla" 250 mg/kg | | | | | |
|-----------|------------------------|-----------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | 1hr | 3hr | 6hr | 12hr | 24hr | 48hr |
| 200 | 72,79 | 430,69 | 442,79 | 406,51 | 393,86 | 362,12 | 323,76 | 294,99 |
| 195 | 69,77 | 232,56 | 155,12 | 350,47 | 363,72 | 401,86 | 413,26 | 416,28 |
| 165 | 76,05 | 427,67 | 374,19 | 295,12 | 291,14 | 207,76 | 190,40 | 180,72 |
| 180 | 71,56 | 405,58 | 415,35 | 407,67 | 369,30 | 277,91 | 250,93 | 174,42 |
| 200 | 102,56 | 423,95 | 432,09 | 413,72 | 327,67 | 213,10 | 197,76 | 102,86 |
| 190 | 73,26 | 392,33 | 433,02 | 445,35 | 396,12 | 412,86 | 312,79 | 300,12 |
| 190 | 82,56 | 432,09 | 439,77 | 438,60 | 407,67 | 396,70 | 278,85 | 199,86 |

Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto vegetal acuoso liofilizado de

Terminalia catappa L. "castanilla" 500mg/kg 20%

| Peso (gr) | Glicemia basal (mg/dl) | Hipergl (mg/dl) | Tiempo de evaluación "castanilla" 500 mg/kg | | | | | |
|-----------|------------------------|-----------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | 1hr | 3hr | 6hr | 12hr | 24hr | 48hr |
| 220 | 60,00 | 376,74 | 378,84 | 208,99 | 193,78 | 67,99 | 85,36 | 88,28 |
| 250 | 76,74 | 429,99 | 428,37 | 419,53 | 396,12 | 275,52 | 256,07 | 269,25 |
| 220 | 65,81 | 381,16 | 404,88 | 394,47 | 387,79 | 50,21 | - | - |
| 230 | 77,91 | 440,93 | 442,79 | 449,53 | 336,81 | 299,43 | 317,63 | 264,04 |
| 250 | 76,05 | 417,44 | 414,88 | 407,44 | 391,79 | 265,69 | 274,90 | 363,81 |
| 200 | 88,37 | 369,30 | 435,35 | 439,30 | 299,99 | 286,40 | 290,79 | 262,10 |
| 200 | 71,16 | 421,86 | 376,28 | 315,12 | 284,76 | 269,46 | 346,44 | 366,32 |

* Casilleros sin datos (-) : mortalidad de los animales por hiperglicemia

Continúa Anexo 7...

**Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto vegetal acuoso liofilizado de
Solanum sessiliflorum Dunal "cocona" 250mg/kg 10%**

| Peso (gr) | Glicemia basal (mg/dl) | Hipergl (mg/dl) | Tiempo de evaluación "cocona" 250 mg/kg | | | | | |
|-----------|------------------------|-----------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | 1hr | 3hr | 6hr | 12hr | 24hr | 48hr |
| 240 | 83,50 | 607,74 | 701,62 | 637,39 | 579,09 | 553,39 | 563,93 | 626,85 |
| 235 | 87,46 | 425,91 | 433,82 | 336,65 | 199,95 | 458,52 | 521,11 | 144,28 |
| 210 | 97,56 | 440,74 | 652,02 | 535,41 | 175,24 | 399,56 | 367,94 | 186,77 |
| 210 | 62,26 | 277,19 | 297,10 | 302,93 | 296,90 | 130,99 | 110,02 | 49,90 |
| 225 | 93,88 | 321,66 | 219,66 | 190,30 | 170,12 | 103,17 | 97,46 | 48,75 |
| 230 | 84,66 | 442,60 | 331,54 | 276,94 | 332,69 | 305,68 | 233,68 | 35,74 |
| 230 | 86,32 | 873,30 | 790,13 | 630,10 | 410,30 | 336,10 | 183,02 | 68,12 |

**Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto vegetal acuoso liofilizado de
Solanum sessiliflorum Dunal "cocona" 500mg/kg 20%**

| Peso (gr) | Glicemia basal (mg/dl) | Hipergl (mg/dl) | Tiempo de evaluación "cocona" 500 mg/kg | | | | | |
|-----------|------------------------|-----------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | 1hr | 3hr | 6hr | 12hr | 24hr | 48hr |
| 210 | 60,68 | 380,24 | 369,15 | 291,49 | 320,19 | 302,24 | 316,70 | 172,81 |
| 210 | 68,58 | 190,96 | 223,91 | 203,74 | 58,67 | 190,12 | 130,61 | 144,23 |
| 225 | 62,03 | 523,38 | 363,43 | 325,95 | 228,95 | 348,30 | 282,07 | 226,77 |
| 235 | 65,73 | 695,43 | 397,39 | 346,96 | 170,79 | 321,74 | - | - |
| 230 | 60,68 | 309,98 | 291,49 | 186,93 | 194,85 | 176,34 | 174,32 | 79,34 |
| 225 | 70,13 | 452,36 | 230,21 | 270,15 | 102,30 | 72,01 | 103,86 | 63,41 |
| 210 | 65,70 | 576,82 | 410,14 | 396,30 | 457,40 | 325,30 | 196,81 | 84,14 |

* Casilleros sin datos (-) : mortalidad de los animales por hiperglicemia

Continúa Anexo 7...

Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto vegetal acuoso liofilizado de *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier "ojo de pollo" 250mg/kg 10%

| Peso (gr) | Glicemia basal (mg/dl) | Hipergl (mg/dl) | Tiempo de evaluación "ojo de pollo" 250 mg/kg | | | | | |
|-----------|------------------------|-----------------|---|--------|--------|--------|--------|--------|
| | | | 1hr | 3hr | 6hr | 12hr | 24hr | 48hr |
| 165 | 80,94 | 435,76 | 431,79 | 418,31 | 311,18 | 299,16 | 173,13 | 100,30 |
| 165 | 96,48 | 432,75 | 327,18 | 221,15 | 213,80 | 198,03 | 202,47 | 130,76 |
| 180 | 91,37 | 421,62 | 357,84 | 350,88 | 204,50 | 217,07 | 210,03 | 90,66 |
| 180 | 83,95 | 436,92 | 434,83 | 331,91 | 114,76 | 203,69 | 112,36 | 102,30 |
| 195 | 79,08 | 214,76 | 88,82 | 77,69 | 43,83 | 39,65 | 75,83 | 89,75 |
| 185 | 104,13 | 292,49 | 87,43 | 72,58 | 73,28 | 43,59 | 64,93 | 60,29 |
| 190 | 91,37 | 439,71 | 445,04 | 433,91 | 411,41 | 360,39 | 253,10 | 88,70 |

Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto vegetal acuoso liofilizado de *Alternanthera halimifolia* (Lam.) Standl. ex Pittier "ojo de pollo" 500mg/kg 20%

| Peso (gr) | Glicemia basal (mg/dl) | Hipergl (mg/dl) | Tiempo de evaluación "ojo de pollo" 500 mg/kg | | | | | |
|-----------|------------------------|-----------------|---|--------|--------|--------|--------|-------|
| | | | 1hr | 3hr | 6hr | 12hr | 24hr | 48hr |
| 200 | 86,98 | 346,28 | 399,30 | 336,51 | 244,19 | 112,33 | 113,26 | 88,14 |
| 210 | 84,42 | 283,49 | 89,99 | 66,28 | 61,63 | 97,67 | 63,02 | 76,28 |
| 205 | 88,84 | 420,93 | 345,58 | 303,95 | 219,53 | 205,35 | 109,30 | 96,14 |
| 200 | 66,98 | 292,09 | 263,02 | 179,07 | 80,88 | 97,67 | 92,09 | 90,26 |
| 195 | 73,72 | 232,56 | 132,56 | 116,28 | 108,60 | 80,47 | 79,07 | 61,63 |
| 160 | 68,60 | 244,42 | 89,07 | 146,28 | 105,58 | 80,93 | 53,49 | 64,88 |
| 170 | 70,23 | 204,18 | 85,35 | 65,35 | 76,05 | 72,33 | 89,53 | 60,93 |

Continúa Anexo 7...

Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante del Control Positivo (insulina 5%)

| Peso (gr) | Glicemia basal (mg/dl) | Hipergl (mg/dl) | Tiempo de evaluación Insulina 5% | | | | | |
|-----------|------------------------|-----------------|----------------------------------|--------|-------|-------|-------|-------|
| | | | 1hr | 3hr | 6hr | 12hr | 24hr | 48hr |
| 220 | 86,72 | 486,02 | 357,68 | 104,88 | 20,46 | - | - | - |
| 220 | 96,69 | 370,91 | 114,6 | 99,67 | 29,93 | 67,28 | 32,99 | 35,04 |
| 200 | 78,79 | 321,80 | 275,86 | 112,57 | 35,04 | 21,74 | - | - |
| 205 | 89,02 | 425,39 | 158,08 | 83,46 | 32,74 | 64,88 | 15,35 | - |
| 215 | 88,51 | 362,98 | 140,69 | 39,9 | 32,99 | 23,55 | 42,97 | - |
| 220 | 98,74 | 318,98 | 219,04 | 178,6 | 19,7 | - | - | - |
| 195 | 58,58 | 311,56 | 181,62 | 52,18 | 13,57 | - | - | - |

Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante del Control Negativo (Suero fisiológico 9%)

| Peso (gr) | Glicemia basal (mg/dl) | Hipergl (mg/dl) | Tiempo de evaluación Suero fisiológico 9% | | | | | |
|-----------|------------------------|-----------------|---|---------|---------|---------|--------|------|
| | | | 1hr | 3hr | 6hr | 12hr | 24hr | 48hr |
| 270 | 109,99 | 411,07 | 720,33 | 753,31 | 765,56 | 731,59 | 551,5 | - |
| 225 | 102,85 | 339,45 | 722,38 | 878,42 | 427,53 | 950,04 | - | - |
| 255 | 96,69 | 443,30 | 941,86 | 1045,97 | 996,08 | 983,11 | - | - |
| 245 | 98,99 | 375,77 | 706,52 | 978,69 | 1078,79 | 1063,14 | - | - |
| 240 | 95,16 | 232,27 | 424,12 | 413,37 | 513,47 | 548,44 | - | - |
| 240 | 84,16 | 273,45 | 577,08 | 797,58 | 918,1 | - | - | - |
| 235 | 103,85 | 331,77 | 555,6 | 236,36 | 563,23 | 761,26 | 804,75 | - |

* Casilleros sin datos (-) : mortalidad de los animales por hiperglicemia

Continúa Anexo 7...

Tiempo de evaluación de la actividad hipoglicemiante del grupo testigo

| Peso (gr) | Glicemia basal (mg/dl) | Hipergl (mg/dl) | Tiempo de evaluación Grupo Testigo | | | | | |
|--------------|---------------------------|-----------------|------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | | 1hr | 3hr | 6hr | 12hr | 24hr | 48hr |
| | 96,74 | 95,86 | 94,15 | 96,3 | 92,13 | 93,72 | 90,36 | 90,31 |
| | 82,40 | 84,12 | 86,3 | 87,4 | 83,56 | 86,36 | 82,7 | 80,25 |
| | 68,70 | 66,70 | 68,79 | 68,86 | 63,31 | 67,45 | 62,43 | 61,76 |
| | 63,55 | 61,55 | 66,7 | 67,3 | 65,26 | 68,7 | 66,3 | 62,4 |
| | 61,30 | 63,44 | 62,3 | 61,25 | 60,3 | 63,76 | 61,31 | 60,29 |
| | 67,45 | 62,80 | 65,4 | 68,31 | 62,51 | 61,4 | 61,1 | 60,96 |
| | 72,80 | 72,15 | 71,4 | 70,3 | 68,3 | 69,06 | 67,28 | 65,82 |