**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**
**"DR. WILMAN RUÍZ VIGO"**

**CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

# Efecto hipoglicemiante de *Cheilanthes pruinata* kaulf "cuti cuti" en *Rattus rattus* var. albinus


**Bach. Llamo Jiménez, Floricelda**

**Bach. Torres Sevillano, Carmen del Rosario**

**Asesora:**

**Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda**


**Cajamarca - Perú**

**Marzo - 2019**

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**
**"DR. WILMAN RUÍZ VIGO"**

**CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

# Efecto hipoglicemiante de *Cheilanthes pruinata* kaulf "cuti cuti" en *Rattus rattus* var. albinus

Tesis presentada en cumplimiento parcial de los requerimientos para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

**Bach. Llamo Jiménez, Floricelda**

**Bach. Torres Sevillano, Carmen del Rosario**

**Asesora: Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda**

**Cajamarca - Perú**

**Marzo - 2019**

COPYRIGHT © 2019 by

Llamo Jiménez, Floricelda

Torres Sevillano, Carmen del Rosario

Todos los derechos reservados

# PRESENTACIÓN

SEÑORES MIEMBROS DEL JURADO DICTAMINADOR:

De conformidad con el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Antonio Guillermo Urrelo, sometemos a su evaluación y elevado criterio profesional la tesis intitulada:

**Efecto hipoglicemiante de *Cheilanthes pruinata* kaulf "cuti cuti" en *Rattus rattus* var. albinus**

Con lo cual aspiramos obtener el título profesional de Químico Farmacéutico.

Es propicia esta oportunidad para manifestar nuestro sincero reconocimiento a nuestra Alma Mater y a toda su plana docente, que con su capacidad y buena voluntad contribuyeron a nuestra formación profesional.

Señores miembros del jurado, dejamos a su disposición la presente tesis para su evaluación y sugerencia.

Cajamarca, marzo del 2019

| | |
|---|---|
| Llamo Jiménez Floricelda<br>Bach. En farmacia y bioquímica | Torres Sevillano Carmen del Rosario<br>Bach. En farmacia y bioquímica |

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTONIO GUILLERMO URRELO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**"DR. WILMAN RUÍZ VIGO"**

**CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

APROBACIÓN DE TESIS PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

**Efecto hipoglicemiante de *Cheilanthes pruinata* kaulf "cuti cuti" en *Rattus rattus* var. albinus**

## JURADO EVALUADOR

_____
Mg. Q.F. Fredy Martos Rodríguez
(PRESIDENTE)

_____
Mg. Q.F. Yudith Gallardo Coronado
(MIEMBRO)

_____
Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda
(MIEMBRO)

# DEDICATORIA

A DIOS.

Por haberme permitido cumplir esta meta en mi formación académica y guiarme en cada momento de mi vida, brindándome la fortaleza necesaria para resolver cada obstáculo a lo largo de mi existencia

A mis padres.

Etelvina Jiménez Mondragón y Marcial Llamo Martínez, por su apoyo incondicional y su motivación constantes para cumplir cada meta trazada.

A mis familiares.

A mi hermana Dina por ser una excelente persona; a mi esposo Juan Francisco, por su apoyo absoluto e incondicional y al más grande amor de mi vida Evans A. mi hijo, quien es mi motor y motivo.

**Floricelda**

# DEDICATORIA

A Dios, por permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mis padres, Edgardo y Maribel quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre.

A mis hermanos Yojanny y Luis por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento gracias. A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y de una u otra forma me acompañan en todos mis sueños y metas.

Finalmente quiero dedicar esta tesis a mis amigos Henry y Vivian, por apoyarme cuando más las necesito, por extender su mano en momentos difíciles y por el amor brindado cada día, de verdad mil gracias, siempre los llevo en mi corazón.

**Carmen del Rosario**

# AGRADECIMIENTOS

En el presente trabajo de investigación, agradecemos en primer lugar a Dios por la vida y la salud que nos ha brindado, permitiéndonos llegar hasta este punto tan importante en nuestras vidas.

A la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, nuestra Alma Mater, en cuyas aulas quedan los recuerdos de un largo periodo de formación académica, guiados por la excelente plana docente quienes nos brindaron sus conocimientos desinteresadamente. Dra. Q.F. Martha Adriana Sánchez Uceda, Mg. Q.F. Tejada Rossi Rafael Ricardo, Mg. Q.F. Fredy Martos Rodríguez, Mg. Bgo. Héctor Garay Montañez, Q.F. Walter Nelson Gutiérrez Zerpa, Mg. Q.F. Patricia Minchán Herrera, Dra. Q.F. Jessica Bardales Valdivia, Dra. Q.F. Carla Cecilia Rodríguez Zegarra, Mg. Q.F. Yudith Gallardo Coronado, Mg. Ing. Francisco Montoya Quino.

**Floricelda y Carmen del Rosario**

# RESUMEN

Se realizó el estudio del efecto hipoglicemiante de *Cheilanthes pruina* kaulf, "cuti cuti" en *Rattus rattus* var. albinus con hiperglicemia inducida con aloxano al 5%, tanto del extracto hidroalcohólico y la infusión. Asimismo se identificó la presencia de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico y la infusión de la planta objeto de estudio. La acción hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico y la infusión fue evaluada en ratas albinas cuyos pesos oscilaron entre 140 y 160 g. Los grupos de estudio fueron divididos: Control negativo (suero fisiológico al 0,9%), control positivo (glibenclamida 10 mg/kg pc), problema 1 (extracto hidroalcohólico 50 mg/kg pc), problema 2 (infusión 10% p/v); el tiempo de evaluación fue a los 30, 60, 90, 120 minutos, por cinco días consecutivos, de esta manera se comparó la variación de los valores de glicemia sérica entre los grupos problema 1 y 2 frente al grupo control positivo. Se empleó el método enzimático de Glucosa Oxidasa, para medir la glicemia, la extracción de sangre se realizó mediante un corte perpendicular a 2 cm del extremo distal de la cola. Los resultados del efecto hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico a dosis de 50 mg/kg pc, disminuyó los niveles de glicemia en 6% en los dos primeros días; la infusión a concentración de 10% p/v disminuyó los niveles de glicemia en 38,24%, resultados cercanos a los obtenidos por el grupo control positivo (58,34%). Al concluir esta investigación podemos inferir que la infusión a concentración de 10% p/v posee mayor efecto hipoglicemiante que el extracto hidroalcohólico (50 mg/kg pc), pero menor que la glibenclamida; el efecto hipoglicemiante de la infusión a concentración de 10% p/v de *Cheilanthes pruinata* kaulf, mostró resultados estadísticos altamente significativos ($p<0.05$) a partir del cuarto día de experimentación, frente a los obtenidos por el extracto hidroalcohólico

de la planta en estudio. La determinación de los metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico y la infusión de *Cheilanthes pruinata* kaulf, evidenció la presencia de flavonoides, taninos y saponinas.

**Palabras claves: *Cheilanthes pruinata* kaulf, efecto hipoglicemiante, infusión y extracto hidroalcohólico**

# ABSTRACT

The study of the hypoglycemic effect of *Cheilanthes pruinat* kaulf, "cuti cuti" was made in *Rattus rattus* var. albinus, with hyperglycemia induced with aloxane at 5%, in both the hydroalcoholic extract and the infusion. Likewise, the presence of secondary metabolites was identified in the hydroalcoholic extract and the infusion of the plant under study. The hypoglycemic action of the hydroalcoholic extract and the infusion were evaluated in albino rats whose weights oscillated between 140 and 160 g. Were divided the groups study: Negative control (0, 9% saline solution), Positive control (glibenclamide 10 mg / kg bw), problem 1 (hydroalcoholic extract 50 mg / kg bw), problem 2 (infusion 10% bw). The evaluation time was at 30, 60. 90, 120 minutes for five consecutive days, in this way the variation of serum glycaemia values was compared between problem groups 1 and 2 and the positive control group. The enzymatic method of Glucose Oxidase was used to measure the glycemia, blood extraction was performed by a cut perpendicular to 2 cm from the distal end of the tail. The results of the hypoglycemic effect of the hydroalcoholic extract at a dose of 50 mg / kg bw diminished the blood sugar levels by 6% in the first two days; the infusion at a concentration of 10% w / v decreased the glycemia levels by 38,24%, these results are close to those obtained by the positive control group (58,34%). At the conclusion of this research, we can infer that the infusion to concentration at 10% w / v has a greater hypoglycemic effect than the hydroalcoholic extract (50 mg / kg bw), but it has less hypoglycemic action than glibenclamida. The hypoglycemic effect of the infusion at concentration 10% w/v of *Cheilanthes pruinata* kaulf showed highly significant statistical ($p < 0.05$) from the fourth day of experimentation, compared the obtained results with the hydroalcoholic extract of

the plant study. The determination of secondary metabolites in hydroalcoholic extract and the infusion, showed the presence of flavonoids, tannins and saponins.

**Key words: *Cheilanthes pruinata* kaulf, hypoglycemic effect, infusion and hydroalcoholic extract**

# ÍNDICE

**PRESENTACIÓN……** **IV**

**JURADO EVALUADOR……...** **V**

**DEDICATORIA……..** **VI**

**AGRADECIMIENTOS……..** **VIII**

**RESUMEN……..……** **IX**

**ABSTRACT…….** **XI**

**LISTA DE TABLAS……** **XV**

**LISTA DE GRÁFICOS……..** **XVI**

**LISTA DE FIGURAS…..…...…….** **XVII**

**I. INTRODUCCIÓN…….** **1**

**II. MARCO TEÓRICO……..** **3**

2.1. Teorías que sustentan la investigación…....……. 3

2.2. Bases teóricas…….. 5

2.2.1. *Cheilanthes pruinata* kaulf "cuti-cuti"..... 5

2.2.2. Pruebas fitoquímicas.……. 9

2.2.3. Diabetes mellitus..…….. 10

2.2.4. Inducción de diabetes...……. 17

**III. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN ……** **19**

3.1. Unidad de análisis, universo y muestra…… 19

3.2. Métodos de investigación…… 20

3.3. Técnicas de investigación…..…… 21

3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos…..…… 29

3.5. Técnicas de análisis de datos estadísticos…… 30

3.6. Aspectos éticos de la investigación……..……..... 31

**IV. RESULTADOS…….. 33**

**V. DISCUSIÓN…… 51**

**VI. CONCLUSIONES…….. 57**

**VII. SUGERENCIAS…… 58**

**VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS……..... 59**

**ANEXOS…….. 72**

# LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Determinación colorimétrica de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico y la infusión de *Cheilanthes pruinata* kaulf ..... 33

Tabla 2: Promedios y valores de hiperglicemia sérica basal post administración de aloxano al 5% en *Rattus rattus* var. albinus ..... 34

Tabla 3: Primer día de evaluación, niveles séricos de glicemia..... 36

Tabla 4: Segundo día de evaluación, niveles séricos de glicemia..... 39

Tabla 5: Tercer día de evaluación, niveles séricos de glicemia ..... 43

Tabla 6: Cuarto día de evaluación, niveles séricos de glicemia..... 45

Tabla 7: Quinto día de evaluación, niveles séricos de glicemia ..... 47

# LISTA DE GRÁFICOS

Gráfica 1: valores de glicemia alcanzada en los diferentes grupos de experimentación después de la administración de aloxano al 5% en *Rattus rattus* var. albinus. ..... 34

Gráfica 2: Niveles séricos de glicemia en todos los grupos experimentales en el primer día de evaluación ..... 37

Gráfica 3: Niveles séricos de glicemia en todos los grupos experimentales en el segundo día de evaluación ..... 40

Gráfica 4: Disminución en porcentaje de los niveles de glicemia sérica en los dos primeros días de evaluación ..... 42

Gráfica 5: Disminución de los niveles séricos de glicemia en los dos grupos experimentales sobrevivientes, según tratamiento asignado, tercer día de evaluación ..... 44

Gráfica 6: Niveles séricos de glicemia en el grupo 2 y grupo 4, según tratamiento asignado, cuarto día de evaluación ..... 46

Gráfica 7: Niveles séricos de glicemia en los dos grupos experimentales segun tratamiento asignado, quinto día de evaluación ..... 48

Gráfica 8: Descenso de los valores de glicemia sérica durante los 5 días que duró el periodo de evaluación ..... 49

Gráfica 9: Disminución de los niveles séricos en porcentaje durante los 5 días de evaluación ..... 50

# LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fisiopatología de la diabetes tipo 2. ..... 13

Figura 2: Mecanismo de acción de las sulfonilureas ..... 16

# I. INTRODUCCIÓN

La DM es una enfermedad crónica degenerativa que afecta a 8,5% de la población adulta; la prevalencia va incrementándose en países de ingresos bajos y en población joven, convirtiéndose en un problema de salud pública.[41] Según la OMS, la diabetes afecta 10 a 15 % de la población de América Latina y está relacionada con la adopción de nuevos estilos de vida, escasa actividad física, malos hábitos alimenticios, sobrepeso y obesidad. [30]

El tratamiento convencional de la diabetes mellitus presenta inconvenientes como: falta de adherencia al tratamiento, costos elevados,[33] cobertura del sistema de salud deficiente, población vulnerable de bajos recursos económicos que no tiene acceso al SIS.[57] Frente a ello surge el tratamiento alternativo; a base de plantas medicinales, estas tienen cada vez mayor interés por la comunidad científica, por presentar dentro de sus estructuras, activos con acción farmacológica frente a distintas patologías.

El Perú es un país megadiverso[27], dentro de la basta flora que lo caracteriza se encuentran las plantas medicinales que son materia de estudios botánicos, farmacognósticos, farmacológicos, estudios en tecnología farmacéutica,[27] que sientan las bases y enriquecen los conocimientos científicos en la utilización de diversas plantas medicinales.

Por lo antes mencionado se plantea la siguiente interrogante:

**¿Presentará efecto hipoglicemiante, el *Cheilanthes pruinata Kaulf* "cuti-cuti" en *Rattus rattus* var. albinus, con hiperglicemia inducida?**

Formulando como objetivo general:

- Evaluar el efecto hipoglicemiante de *Cheilanthes pruinata* Kaulf "cuti cuti" en *Rattus rattus* var. albinus.

Y como objetivos específicos:

- Identificar metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de *Cheilanthes pruinata* Kaulf "cuti cuti".
- Identificar metabolitos secundarios en la infusión de *Cheilanthes pruinata* Kaul "cuti cuti"
- Comparar el efecto hipoglucemiante entre el extracto hidroalcohólico y la infusión de *Cheilanthes pruinata* Kaulf "cuti cuti".
- Comparar el efecto hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico y la infusión de *Cheilanthes pruinata* Kaulf "cuti cuti" frente a glibenclamida.

Ante lo cual se postuló la siguiente hipótesis:

- El *Cheilanthes pruinata* Kaulf "cuti cuti" posee efecto hipoglicemiante para el control de hiperglicemia inducida en *Rattus rattus* var. albinus.

# II. MARCO TEÓRICO

## 2.1. Teorías que sustentan la investigación

Benites H., Romero A. (2011), determinaron el efecto del decocto de *Notholaena nívea* "cut-cuti" sobre la glicemia en *Rattus rattus* variedad albinus con diabetes inducida. Concluyeron que el efecto hipoglicemiante a dosis de 250 mg/kg, fue estadísticamente significativo a partir de la segunda hora, pero con mejor respuesta a la cuarta hora del periodo de evaluación.[10]

Cabrera J. (2014), realizó la determinación de metabolitos secundarios en tres pteridofitos, plantas con interés medicinal. En la cual se encontraba *Argyrochosma nivea* "cuti-cuti hembra", *Cheilanthes pruinata* Kaulf. "cuti-cuti macho" y *Cheilanthes scariosa* "cuti- cuti." encontraron similitudes en los tres helechos respecto a la presencia de proteínas, glucósidos, alcaloides, flavonoides, y grupos fenólicos, *Cheilanthes pruinata* presentó mayor concentración de saponinas respecto a los otros dos helechos.[13]

Castañeda B., Castro R., Manrique R., Ibáñez L. (2001), en su estudio, evaluación de la acción citotóxica del extracto metanólico de *Notholaena nivea* "Cuti-Cuti", reportaron que a dosis de 2, 10, 15, 20 µg /mL de extracto metanólico en *Allium cepa*, observaron un alto porcentaje de inhibición del desarrollo celular en las diferentes fases, respecto al grupo control, lo que demuestra un claro efecto citotóxico y antimitótico de *Notholaena nivea*. El estudio fitoquímico demostró la existencia predomínate de catequinas seguidas

de flavonoides, quinonas, fenoles, taninos, saponinas, triterpenos, lactonas, coumarinas, antocianidinas, alcaloides.[15]

Castañeda B., Castro R., Manrique R., Ibáñez L., Fujita R., Barnett E. (2008), realizaron el estudio fitoquímico y farmacológico de 4 plantas con efecto hipoglicemiante; *Ocimum sanctus* (albahaca morada), *Notholaena nivea* (cuti-cuti), *Geranuim lechleri* (pasuchaca) y *Smallantus sonchifolius* (yacón). Se concluyó que solo el yacón, cuti-cuti y pasuchaca tuvieron efecto hipoglicemiante, que además se consideran plantas atóxicas.[14]

Cabrejos C., Ipanaqué K., Tejada E., Fupuy J., Vásquez A. (2016), evaluaron el efecto glicemiante de *Pellaea ternifolia* "cuti – cuti" sobre *Mus musculus* (ratón) cepa Balb/c con hiperglicemia inducida con estreptozotocina. Concluyeron que la infusión preparada a concentración de 200 mg/150 mL, controló la hiperglicemia a los 180 minutos y al cuarto día de tratamiento.[12]

Anccasi S., Cairo Y., Castillo C. (2013), determinaron el efecto hipoglicemiante del extracto acuoso de las hojas de *Argyrochosma nivea* en *Rattus rattus* variedad albinus, los resultados evidenciaron un mejor efecto hipoglicemiante a dosis de 50 mg/kg, concluyendo que es más efectivo que la insulina, pero ligeramente menor que la glibenclamida.[4]

Gonzales R., Iparraguirre D., Carrillo E., Seminario J.(2015), realizaron una evaluación tóxica y genotóxica del extracto hidroalcohólico de *Cheilanthes pruinata* "cuti cuti macho", utilizaron el allium test como modelo de actividad de genotoxicidad, no observaron anomalías macroscópicas de las raíces ni

aberraciones cromosómicas, demostrando inocuidad a las concentraciones y tiempo de exposición utilizadas. Concluyeron que en el modelo de allium test, el extracto hidroalcohólico de *Cheilanthes pruinata* no presenta genotoxicidad.[25]

## 2.2. Bases teóricas

### 2.2.1. *Cheilanthes pruinata* kaulf "cuti-cuti"

Llamada comúnmente culantrillo o doradilla, chujchu, cusupe café (Aymara), hierba perteneciente a la familia pteridaceae; se encuentra distribuida en los países de Perú, Bolivia, Argentina y Chile encontrándose a una altitud de 2500 a 4000 m.s.n.m. [23]

#### 2.2.1.1 Clasificación taxonómica [55]

| | | |
|---|---|---|
| Reino | : | Plantae |
| División | : | Pteridophyta |
| Clase | : | Pteridopsida |
| Orden | : | Pteridales |
| Familia | : | Pteridaceae |
| Género | : | *Cheilanthes* |
| Especie | : | *Cheilanthes pruinata* Kaulf |

#### 2.2.1.2. Habitad

Especie silvestre que se encuentra entre las grietas de las rocas y zonas moderadamente expuestas, con mayor afinidad a zonas rocosas. [23]

#### 2.2.1.3. Descripción botánica

Hierba silvestre. Raíz rizomatosa de varios ápices, escamas de color marrón oscuro; frondas de 25 a 30 cm de largo aproximadamente, raquis cilíndricos pubescentes. Hojas pecioladas, monomorfas, coriáceas, presenta en el haz láminas de 1-5 cm, pinnadas.[51]

#### 2.2.1.4. Estudios fitoquímicos

Diferentes estudios realizados a la familia pteridaceae y a *Cheilanthes pruinata* Kaulf, reportan la presencia de compuestos fenólicos, azúcares reductores, flavonoides, alcaloides y saponinas.[13, 25,29]

Los metabolitos secundarios presentes en distintas plantas medicinales, están sujetas a factores climáticos o ambientales (altitud, temperatura, húmedas, suelo entre otro) razón por lo cual, no se encuentran los mismos fitoconstituyentes en una determinada especie, colectada en diferentes lugares y época. [50]

Los fitoconstituyentes también llamados metabolitos secundarios engloba a gran parte de los principios activos presentes en las plantas, que son compuestos químicos de estructura relativamente compleja, y son parte de la actividad celular de las plantas, pero que no son indispensables en las funciones metabólicas.[56]

Las plantas como droga vegetal están constituidas por material activo, que albergan una serie de compuestos y estructuras parecidas y con propiedades farmacológicas similares, también pueden estar presentes compuestos sinérgicos, antagónicos, y otras sustancias con actividad farmacológica. [56]

Los compuestos fenólicos son un conjunto de sustancias que se caracterizan por contener dentro de su estructura, al menos un núcleo bencénico que contiene como mínimo un grupo hidroxilo[11], su importancia radica en la inactivación de radicales libres y regeneración celular, esto podría estar relacionada con la prevención de enfermedades.[6] La quercetina es un flavonol con acción atenuante en la proliferación de FNT-α, en diabetes mellitus tipo 1 y 2, consecuentemente disminuye la expansión de este gen, acción que le confiere efecto antinflamatorio.[37]

Los alcaloides son sustancias que se encuentran en más del 20% de plantas vasculares, caracterizadas por contener nitrógeno en su estructura, que forma parte de un anillo heterocíclico, estos metabolitos son de gran interés por su efecto farmacológico.[35] Un estudio reciente determinó que los alcaloides norditerpenoides actúan mejorando el metabolismo de la glucosa, promoviendo la síntesis de glucógeno a través de la fosforilación, siendo este el mecanismo que contribuye al efecto

antidiabético. [54] A los alcaloides esteroideos, también se les atribuye efecto hipoglicemiante, estos actuarían potenciando la captación de glucosa en células del músculo esquelético. [32]

Las saponinas son compuestos que al agitarse en agua producen abundante espuma, estructuralmente las saponinas o glúcidos se clasifican como esteroidales y triterpénicos.[46] La enzima α amilasa es la encargada de hidrolizar polisacáridos complejos en el proceso de digestión, estas enzimas serian inhibidas por las saponinas, ejerciendo un enlentecimiento en la digestión de los hidratos de carbono y en consecuencia la absorción de glucosa.[8] Las saponinas triterpénicas tendrían efecto similar a la insulina acción que dificulta la formación de glucosa en sangre, también estarían relacionadas en la modulación de algunas adipocinas lo que podría promover el uso de esta clase de fitoquímicos como posibles agentes antidiabéticos.[22]

#### 2.2.1.5. Usos medicinales

Diversos estudios etnobotánicos reportan la gran importancia que tiene la flora pteridofítica; conociéndose un aproximado de 1200 especies, de las cuales sólo 50 tiene interés medicinal y ornamental, dentro de este grupo se encuentra la población de los cuti cuti o *Cheilanthes* que son utilizadas por las etnias de Perú, Bolivia y Ecuador para tratar distinta patologías; su uso es

más en las zona andinas en forma de infusión, utilizando 3 tallos para una tasa de agua. [24, 29]

### 2.2.2. Pruebas fitoquímicas

Las plantas han coexistido con el hombre desde siempre, quien fue descubriendo los múltiples beneficios que aportaban para su existencia. Los conocimientos empíricos en la utilización de plantas medicinales, fueron trasmitiéndose entre generaciones; hoy en día, surge la necesidad de contrastar ese conocimiento con la investigación científica para validar su acción sobre una determinada enfermedad; para conocer su morfología, principios activos que contienen; determinar su estructura química; procurar su síntesis; proponer modificaciones estructurales para mejorar su actividad y dar a conocer a la población los resultados obtenidos. [36]

#### 2.2.2.1. Pruebas colorimétricas

Llamada también pruebas rápidas que son utilizadas para obtener una indicación presuntiva rápida de la presencia de un determinado metabolito en una sustancia, para realizar estas pruebas se coloca una pequeña cantidad de la muestra problema, en un tubo de ensayo, se añade cierta cantidad de reactivo y se observa si hay algún cambio de color. Estas prubas se trabajan con sustancias conocidas como referencia y también se ejecuta un ensayo en blanco para evitar lo falso positivo. [38, 1]

### 2.2.3. Diabetes mellitus

Trastorno metabólico con distintas etiologías; caracterizado por un aumento de las concentraciones de azúcar en sangre, y desorden en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas; debido a que el páncreas no produce la insulina suficiente o el cuerpo no utiliza adecuadamente. La insulina, hormona producida en las células beta pancreática, tiene la función de interiorizar la glucosa presente en sangre hacia las células para generar ATP.[39,42]

#### 2.2.3.1. Clasificación

Anteriormente la diabetes mellitus (DM) se clasificaba según la edad de inicio y la dependencia o no dependencia de insulina; en dos grupos: DMID o diabetes juvenil y DMNID o diabetes del adulto. En la actualidad la clasificación se basa fundamentalmente en criterios etiológicos; según la Asociación Americana de Diabetes (NDDG); o National Diabetes Data Group lo asigna en cuatro sub grupos; DM tipo1; DM tipo2; DM gestacional; otros tipos específicos de diabetes.[3]

- Diabetes tipo 1 (DM tipo 1)

  Caracterizada por destrucción de células β, que generalmente conduce a una deficiencia absoluta de insulina. Afecta a menos del 10% de personas diagnosticadas con diabetes. Este tipo de diabetes puede presentarse a cualquier edad, con mayor porcentaje en la niñez y adolescencia.[3]

- Diabetes tipo 2 (DM tipo 2)

  Representa alrededor de un 90 % de todos los diagnosticados con diabetes, se caracteriza por defecto o resistencia variable a la insulina; está relacionada con factores genéticos, ambientales y conductuales (sedentarismo, obesidad, dislipidemia); no presenta destrucción de las células β, la mayor parte de personas con este tipo de diabetes son obesos y aquellos que no lo son, presentan acumulación de grasa abdominal; lo que genera insulino resistencia variable.[3,26]

- Diabetes gestacional (DG)

  Representa casi el 90% de todos los embarazos complicados con diabetes. Se caracteriza por hiperglucemia que aparece durante el embarazo, estas mujeres son candidatas a padecer DM tipo 2 en el futuro.[3,26, 49]

- Otros tipos específicos de diabetes: Incluyen a tipos de diabetes muy poco frecuentes**.**

  - Diabetes causada por defectos genéticos de la célula β.
  - Enfermedades del páncreas exocrino.
  - Inducida por drogas o químicos.
  - Infecciones por virus; que destruyen las células β.[3, 49]

### 2.2.3.2. Fisiopatología

Diabetes mellitus tipo 2; está relacionada con dos ejes fundamentales, resistencia a la insulina (RI) y el deterioro de las células β pancreáticas. La RI está presente en todos los pacientes con DM2, que a su vez presentan sobrepeso y acumulación de tejido adiposo a nivel abdominal. El almacenamiento y acumulación de tejido graso (TG); incita al páncreas a la hiperproducción de insulina, para compensar las altas concentraciones de glucosa en sangre y mantener la normoglucemia; en condiciones normales la insulina se une a los posreceptores para fosforilar a los aminoácidos tirosina, activando la vía fosfoinositol 3 cinasa (PI3-K), que a su vez activan a los traslocadores que trasportan glucosa GLUT4, lo cual permite interiorizar la glucosa a la células. La presencia de acidos grasos libres (AGL) en la sangre activa a través de la acetil-CoA a la proteína kinasa C, que fosforila a los receptores de insulina sustrato ocasionando su disminución y en consecuencia originando RI. [16,17,43]

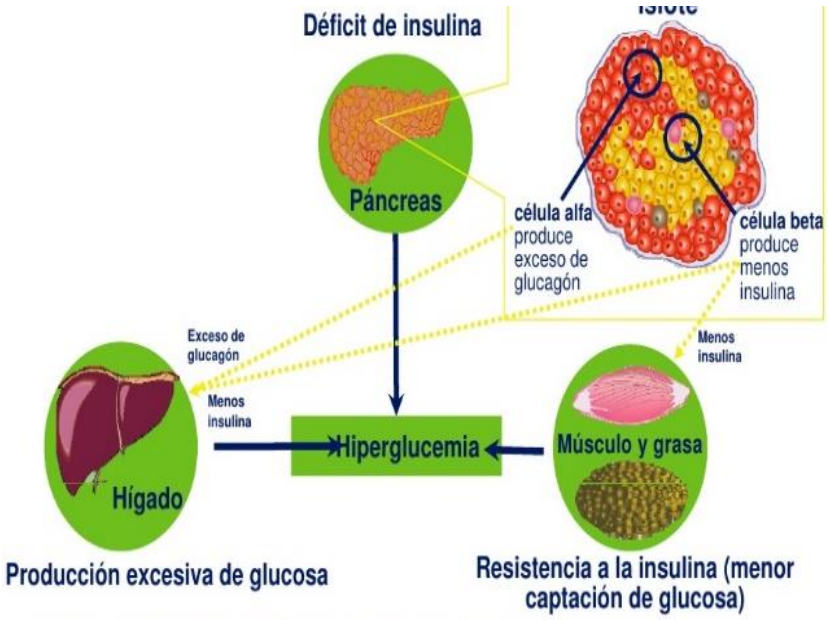



**Figura 1: Fisiopatología de la diabetes tipo 2.**

**Fuente:** Melmed S. et al. Williams Texbook of Endocrinology. 12ª ed. Saunder EE. UU. 2012

El deterioro de las células β pancreáticas; está relacionada con la predisposición genética y el estrés oxidativo. La lipólisis da origen a los ácidos grasos en sangre, la insulina y las catecolaminas tienen efectos antilipolítico (control); en la diabetes hay un incremento de lipólisis lo que incrementa los TG, que van a producir toxicidad de las células β. La adiposidad contribuye a procesos inflamatorios liberando TNF, la IL-6, leptina que afectan a la célula β; la leptina tiene la función de saciedad en el hipotálamo, en esta patología los receptores de leptina se encuentran desensibilizados lo cual incrementa el apetito y la obesidad, esta hormona a nivel de páncreas induce la

apoptosis de las células β impidiendo la biosíntesis de la insulina. La glucotoxicidad generada por la hiperglicemia afecta a las estructura celulares y sus funciones induciendo a RI. [16,17,43]

### 2.2.3.3. Factores de riesgo

- Factores de riesgo no modificables
  - Edad; mayor prevalencia a partir de la mediana edad.
  - Raza/etnia; mayor riesgo en hispanos, asiáticos, negros y grupos nativos americanos.
  - Antecedente de DM tipo2 en un familiar de primer grado.
  - Antecedente de DM gestacional.
  - Síndrome del ovario poliquístico. [28]

- Factores de riesgo modificables
  - Obesidad, sobrepeso y obesidad abdominal.
  - Sedentarismo, tabaquismo.
  - Malos hábitos alimenticios, bebidas edulcoradas, alimentos pre cocidos. [28]

### 2.2.3.4. Signos y síntomas

- Frecuencia inusual de orinar (poliuria).
- Sed intensa (polidipsia).
- Hambre extrema (polifagia).
- Pérdida repentina de peso y fatiga constante.
- Hormigueo o entumecimiento en manos y pies. [28]

### 2.2.3.5. Diagnóstico

Cuatro pruebas diferentes con la misma importancia cada una.

- Hemoglobina glucosada (HbA1c) (≥ 6,5%).
- Glucemia basal en ayunas (GB) (≥ 126 mg/dL).
- Glucemia a las 2 horas de una prueba de tolerancia oral a 75 g de glucosa (SOG) (≥ 200 mg/dL). Estas tres pruebas deber ser positivas en 2 ocasiones.
- Glucemia al azar ≥ 200 mg/dL acompañada de signos inequívocos de diabetes. Con esta última no es necesario repetir la prueba.[9,26]

### 2.2.3.6. Tratamiento

Basado fundamentalmente en la prevención de las complicaciones a futuro y estabilizar la glucosa a niveles aceptables.[9]

A. Tratamiento farmacológico

Considerado cuando los cambios de estilo de vida (ejercicio físico y dieta) no dan resultado en el control de la glicemia en un periodo de 3 a 6 meses. Fármacos más utilizados.

- Biguanidas.
- Sulfonilureas.
- Glinidas.
- Insulina.

❖ Glibenclamida

Potente antidiabético, perteneciente al grupo de las sulfonilureas, clásicamente, ha sido considerada de elección para el tratamiento en monoterapia de los pacientes con DM tipo2 sin sobrepeso, cuando la dieta y el ejercicio físico por sí solos no son eficaces.[40]

❖ Mecanismo de acción

Estimula la secreción de insulina a nivel de células beta-pancreáticas, siempre que el paciente mantenga un páncreas mínimamente funcionante, consigue reducir la HbA1c de 1,5 al 2%. [40]

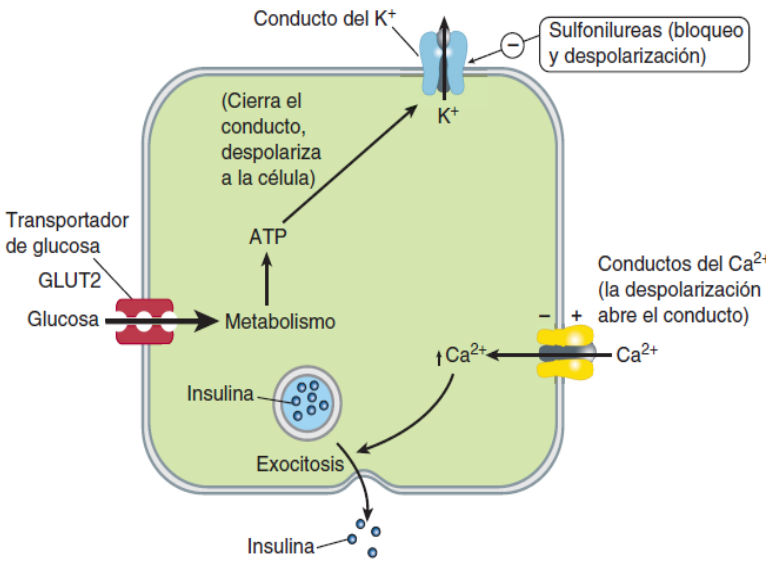



**Figura 2: Mecanismo de acción de las sulfonilureas**

**Fuente:** Katzung B, Trevor A. Farmacología Básica y Clínica, 13ª McGraw-Hill Interamericana. San Francisco 2016.

❖ Efectos adversos

El principal efecto secundario es la hipoglucemia, al principio del tratamiento se suele observar un ligero aumento de peso aunque menor que el observado con la insulinización. Otros efectos secundarios son: aplasia medular, agranulocitosis, anemia hemolítica, trombocitopenia, rash, náuseas, vómitos y otros.[40]

B. Tratamiento no farmacológico

Está orientado a educar al paciente según sus necesidades para mantener el control de su condición; instrucciones sobre alimentación dirigido por un nutricionista, cantidad de kcal/día a ingerir, carbohidratos, lípidos y proteínas; evitar el alcohol y el cigarro; realizar ejercicio al menos 2 horas por semana.[39]

### 2.2.4. Inducción de diabetes.

Los animales modelos de experimentación ayudan a comprender la fisiopatología de la enfermedad, desarrollo del medicamento y su tratamiento; la inducción de la diabetes se ha realizado por diferentes métodos: inducción química, cirugía pancreatectomía, y manipulación genética. [20]

La inducción de diabetes con agentes químicos, permite conocer y estudiar detalladamente cada episodio bioquímico y morfológico

suscitado durante y después del proceso de inducción. Los fármacos diabetogénicos comúnmente utilizados, son el aloxano monohidrato y estreptozotocina.[20]

### 2.4.1. Aloxano

Aloxano y estreptozotocina son las sustancias químicas diabetogénica más prominentes en la investigación de la diabetes. Ambos son análogos de la glucosa citotóxica, aunque su citotoxicidad se logra a través de diferentes vías, tiene idéntico mecanismo de acción. [34]

La respuesta clínica a una dosis de aloxano en función del tiempo son 3. La primera se presenta 2-3 horas después de la exposición y se caracteriza por presentar hiperglicemia asociada por glucogenólisis inducida por adrenalina; la segunda respuesta se presenta entre 6-12 horas caracterizada por hipoglicemia causada por la liberación de insulina preformada en las células β; la tercera respuesta se presenta de 18 a 24 horas, la pérdida total de la células β conlleva a una hiperglicemia permanente.[48]

# III. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

## 3.1. Unidad de análisis, universo y muestra

### 3.1.1. Muestra vegetal

- Unidad de análisis

  Tallos y hojas de *Cheilanthes pruinata* Kaulf "cuti cuti".

- Universo

  Especie vegetal *Cheilanthes pruinata* Kaulf "cuti cuti"

- Muestra

  Extracto hidroalcohólico de *Cheilanthes pruinata* Kaulf "cuti cuti"

  Infusión de *Cheilanthes pruinata* Kaulf "cuti cuti".

- Criterios de inclusión y exclusión

  Inclusión: Se seleccionaron tallos y hojas frescos y enteros, descartándose los que presentaron picaduras de insectos o plagas.

  Exclusión: Tallos y hojas, maltratados o aplastados.

### 3.1.2 Muestra animal

*Rattus rattus* var. albinus procedentes del Bioterio de la Universidad Nacional de Trujillo.

- Unidad de análisis

  20 *Rattus rattus* var. albinus con hiperglicemia inducida con aloxano.

- Universo

  *Rattus rattus* var. albinus.

- Muestra

  20 *Rattus rattus* var. albinus.

- Criterios de inclusión y exclusión

  Inclusión: Especímenes hembras de 3 a 4 meses de edad y peso corporal promedio de 140 a 160 g.

  Exclusión: Especímenes que no cumplan con los criterios mencionados

## 3.2. Métodos de investigación

### 3.2.1. De acuerdo al fin que se persigue

Básica, orientada a obtener y recopilar información que amplía los conocimientos que sirven de base a otras investigaciones. Además es anexable a la información ya existente.

### 3.2.2. De acuerdo a la técnica de contrastación

Experimental, realizándose manipulación de variables, con el fin de observar la variable efecto hipoglicemiante en el tiempo que dura la investigación, y realizar comparaciones entre el grupo control y experimental. Los estudios se realizaron en el Laboratorio Multifuncional de la Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo.

## 3.3. Técnicas de investigación

### 3.3.1. Obtención de la muestra vegetal

La muestra se recolectó en el cerro Callacpuma, que se encuentra en la parte alta del valle del Huayrapongo, distrito de Llacanora, a 9 km al Noroeste de la ciudad de Cajamarca, en una cantidad de 4 kg. La muestra fue transportada al Laboratorio Multifuncional de la Universidad Antonio Guillermo Urrelo, donde se realizó la selección del material vegetal. Se realizó un primer lavado con agua potable seguido de una desinfección con hipoclorito de sodio al 0,05%. Posteriormente se realizó un segundo lavado con agua destilada para retirar los residuos de hipoclorito y se secó el material vegetal al aire libre y bajo sombra por un tiempo de 7 días. Posteriormente se estabilizó la muestra en estufa a 40°C por 12 h. para completar su secado, finalmente se procedió a triturar en un mortero y se almacenó en un frasco de vidrio de boca ancha.

### 3.3.2. Preparación del extracto hidroalcohólico

A partir del material seco de *Cheilanthes pruinata* Kaulf, se procedió a obtener el extracto hidroalcohólico; para ello se pesó 200 g de material seco de *Cheilanthes pruinata* Kaulf, y se depositó en un matraz erlenmeyer de 2000 mL de capacidad, luego se adicionó 1500 mL de alcohol a 70° y se llevó al agitador magnético por un tiempo de 24 horas, posteriormente se filtró y se llevó a baño maría (temperatura 60°C) para concentrar el extracto hidroalcohólico a 50 mL.

### 3.3.3. Preparación del infuso al 10% p/v

Se pesó 10 g. de material seco de *Cheilanthes pruinata* Kaulf, y se depositó en un beaker de 150 mL, luego se adicionó 100 mL de agua caliente (sin llegar a hervir), y se dejó reposar por 15 minutos; posteriormente se filtró utilizando un embudo, algodón y papel de filtro.

### 3.3.4. Cuantificación y dosificación

Se realizaron los cálculos en base a los 50 mL de extracto hidroalcohólico para conocer su concentración y administrar 50 mg/kg de peso a cada *Rattus rattus* del grupo experimental (se administró 0,375 mL a cada espécimen de experimentación)

### 3.3.5. Determinación colorimétrica de metabolitos presentes

Son pruebas presuntivas, cualitativas que miden la intensidad del color de una reacción, que indica la presencia o ausencia de un determinado metabolito; son rápidas y de bajo costo. La interpretación se basa según la intensidad del color de la reacción. (-) incoloro, (+) color escaso, (++) color leve, (+++) color moderado, (++++) color intenso.

#### 3.3.5.1. Extracción de alcaloides

Se pesó 2,5 g de droga en polvo, se colocó en un matraz erlenmeyer de 50 mL de capacidad y se agregó 20 mL de agua destilada; se procedió a alcalinizar con NaOH a pH 9, se verificó la alcalinidad con tiras reactivas de pH, se dejó en

maceración por 2 horas agitando cada 30 minutos; luego se filtró y colocó la solución obtenida en un embudo de decantación, se agregó 3 mL de cloroformo, se agitó hasta agotar el alcaloide; (decantar la fase orgánica en un beaker) se repitió este procedimiento 3 veces; finalmente se añadió 2 mL de HCl al 10% para formar sales de alcaloide, luego se separó las sales de alcaloides y se realizaron la pruebas de identificación.

A. Identificación de alcaloides

- Reactivo de Dragendorff.

  Se colocó en un tubo de ensayo 0,25 mL de la muestra a analizar y se agregó gota a gota el reactivo, la presencia de alcaloides se comprueba con la aparición de un color anaranjado o pardo naranja.

- Reactivo de Mayer.

  Se colocó en un tubo de ensayo 0,25 mL de la muestra a analizar y se agregó gota a gota el reactivo, la presencia de alcaloides, se comprueba con la aparición de un precipitado blanco opalescente y/o amarillento.

- Reactivo de Wagner.

  Se colocó en un tubo de ensayo 0,25 mL de muestra a analizar y se agregó gota a gota el reactivo, la presencia

de alcaloides se comprueba con la aparición de un color castaño.

### 3.3.5.2. Reconocimiento de flavonoides

- Ensayo de Shinoda.

Con una pipeta se midió 1mL de extracto acuoso, se colocó en un tubo de ensayo, se agregó 3 virutas de magnesio metálico y 3 gotas de HCl qp por las paredes del tubo, se considera positivo cuando presenta coloraciones: naranja, rojo y/o violeta.

### 3.3.5.3. Reconocimiento de azúcares reductores

- Ensayo de Molisch**.**

Con una pipeta se midió 2 mL de la muestra a analizar (extracto acuoso) y se colocó en un tubo de ensayo, se adicionó 2 gotas de reactivo de molisch, se mezcló, finalmente se agregó 1 mL de ácido sulfúrico ($H_2SO_4$) por las paredes del tubo de ensayo, la reacción es positiva si aparece un anillo de color purpura violeta en la interface.

### 3.3.5.4. Reconocimiento de saponinas

- Prueba de Salkowski.

Se midió 1 mL de muestra a analizar (extracto hidroalcohólico); se colocó en una luna de reloj, se mezcló con un 1 mL de cloroformo, finalmente se añadió 1 mL de

ácidos sulfúrico, la prueba es positiva si la coloración es anaranjada.

- Índice afrosimétrico o prueba de espuma.

  Se pesó 10 gramos de muestra en polvo, se colocó en un beaker (capacidad 150 mL), se agregó 100 mL de agua hirviendo se dejó reposar por 15 minutos y se filtró.

  Se tomó 10 tubos de ensayo de 16 mm de diámetro, se ubicó en una gradilla previamente enumerados del 1 al 10; se colocó al tubo N° 01: 1 mL de solución; al tubo N° 02: 2 mL de solución; al tubo N° 03: 3 mL de solución, así sucesivamente hasta el tubo número 10.

  Luego se completó a 10 mL con agua destilada a todos los tubos; se agitó por 1 minuto y dejó reposar por 30 minutos.

### 3.3.5.5. Identificación de taninos

- Ensayo de tricloruro férrico.

  Se midió 2 mL de muestra a analizar y se colocó en un tubo de ensayo, se añadió gota a gota el reactivo de cloruro férrico al 9%. La reacción es positiva cuando presenta color azul para taninos gálicos, color verde para taninos catéquicos y si el color es negro hay presencia de ambos taninos.

### 3.3.6. Inducción de hiperglicemia

Los animales de experimentación fueron llevados al laboratorio con 3 días de anticipación al procedimiento, mantenidos a temperatura controlada y con libre acceso a agua y alimento. Se procedió a administrar la solución de aloxano al 5%; vía intraperitoneal a dosis de 180 mg/kg de peso, para inducir diabetes experimental. Antes de administrar el aloxano los animales de experimentación fueron sometidos a 12 horas de ayuno sin falta de agua; 48 horas después de administrar el aloxano se procedió a tomar las muestras de sangre para determinar los valores de glicemia basal.

### 3.3.7. Diseño experimental

Se realizó un estudio experimental in vivo de diabetes mellitus inducida por aloxano siguiendo el método químico; todos los especímenes se distribuyeron al azar en cuatro grupos; el estudio se realizó en un periodo de 5 días, evaluando la glicemia a los 30, 60, 90, 120 minutos pos administración del tratamiento a cada grupo asignado, teniendo como base la investigación realizada por Anccasi S. [4]

Grupo 1: Control negativo (N=5)

Constituido por 5 especímenes de *Rattus rattus* var. albinus, a quienes se administró por vía oral suero fisiológico al 0,9%, en ayunas, a dosis de 3 mL por espécimen, una vez al día, por un periodo de 5 días

consecutivos, utilizando una jeringa de tuberculina, y una paleta de madera para abrir la boca.

Grupo 2: Control positivo (N=5)

Constituido por 5 especímenes de *Rattus rattus* var. albinus, a quienes se administró por vía oral glibenclamida a dosis de 10 mg/ kg de peso corporal por espécimen, en ayunas una vez al día, por un periodo de 5 días consecutivos utilizando una jeringa de tuberculina y una paleta de madera para abrir la boca.

Grupo 3: Problema 1 (N=5)

Constituido por 5 especímenes de *Rattus rattus* var. albinus, a quienes se administró por vía oral extracto hidroalcohólico de *Cheilanthes pruinata* kaulf a dosis de 50 mg/kg de peso corporal por espécimen en ayunas, una vez al día, por un periodo de 5 días consecutivos utilizando una jeringa de tuberculina y una paleta de madera para abrir la boca.

Grupo 4: problema 2 (N=5)

Constituido por 5 especímenes de *Rattus rattus* var. albinus, a quienes se administró vía oral 3 mL de infusión de *Cheilanthes pruinata* Kaulf preparada a concentración de 10% p/v, en ayunas, por espécimen, una vez al día por un periodo de 5 días consecutivos, utilizando una jeringa de tuberculina y una paleta de madera para abrir la boca.

### 3.3.8. Extracción de la muestras de sangre

- Se procedió a inmovilizar a cada animal.
- Se lavó y desinfectó la cola para eliminar restos de heces y orina.
- Se observó lateralmente la vena cerca a la base de la cola.
- Se procedió a calentar la cola con la ayuda de un mechero por 30 segundos, para dilatar los vasos sanguíneos.
- Se situó la cola en una superficie plana.
- Se realizó un corte perpendicular con una hoja de bisturí a una distancia de 2 centímetros del extremo distal de la cola.
- Se extrajo la sangre en capilares heparinizados.
- Este procedimiento se realizó en ayunas, luego a los 30, 60, 90, 120 minutos de administrar el tratamiento a los diferentes grupos experimentales durante los 5 días de experimentación.
- Se procesó la muestra para su análisis correspondiente.

### 3.3.9. Determinación de la glicemia: Método de la glucosa oxidasa

**Fundamento**

Este método consiste en dos reacciones enzimáticas acopladas, la primera reacción es la específica y la segunda inespecífica. Se fundamenta en la conversión de glucosa a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno, por acción de la glucosa oxidasa. Donde el peróxido de hidrógeno producido en esa reacción, en presencia de peroxidasa, 4-aminofenazona (4- AF) y fenol, forma una quinonimina. La intensidad

del color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra ensayada. [21, 52]

$$\text{Glucosa} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{GOD}} \text{Ácido glucónico} + H_2O_2$$

$$2\,H_2O_2 + 4\text{–AF+ Fenol} \xrightarrow{\text{POD}} 4\,\text{(p-benzoquinona) fenazona} + 4\,H_2O$$

## 3.4. Instrumentos, equipos, materiales y reactivos

### 3.4.1. Instrumentos

- ✓ Análisis de varianza (ANOVA)
- ✓ Prueba *t* de Student o Test-T

### 3.4.2. Equipos

- ✓ Estufa: Memmert
- ✓ Balanza analítica: Ohaus modelo Explorer
- ✓ Baño maría
- ✓ Agitador magnético

### 3.4.3. Materiales de laboratorio

- ✓ Materiales de vidrio y otros de uso común en el laboratorio.

### 3.4.4. Reactivos

- ✓ Agua destilada
- ✓ Aloxano

- ✓ Glibenclamida de 10mg
- ✓ Rx shinoda
- ✓ Rx dragendorff
- ✓ Rx mayer
- ✓ Rx wagner
- ✓ Rx molisch
- ✓ Salkowski
- ✓ Magnesio metálico
- ✓ Etanol 96°
- ✓ HCl Q P
- ✓ $H_2SO_4$
- ✓ Cloroformo
- ✓ Tiras reactivas de pH
- ✓ NaOH
- ✓ Tricloruro férrico 9%

### 3.5. Técnicas de análisis de datos estadísticos

Los datos obtenidos fueron procesados estadísticamente con la prueba de análisis de varianza (ANOVA), Técnica que compara, semejanzas y diferencias entre varios grupos experimentales, esta técnica se utilizó al inicio del periodo de evaluación. La prueba de T-student; técnica que compara semejanzas y diferencias entre dos grupos, cuando el tamaño de la muestra es pequeña[2,] esta técnica se utilizó a partir del tercer día hasta concluir el periodo de evaluación.

### 3.6. Aspectos éticos de la investigación

La investigación científica en seres vivos está sujeta al cumplimiento de aspectos éticos que ha ido incrementándose; múltiples declaraciones, códigos, normas y resoluciones se han creado durante los siglos XX y XXI que permite orientar la investigación en seres humanos, en el dominio biomédico las declaración de Helsinki es ampliamente citada y en algunos países es ley. Donde aborda temas de deberes y derechos que deben cumplir todos los involucrados en una investigación científica. El objetivo de la investigación en seres vivos es para mejorar los procedimientos preventivos, de diagnóstico y terapia, comprendiendo la etiología y patogenia de las enfermedades, de esta manera proporciona a la sociedad terapias eficaces, efectivas, accesibles y de calidad.[58]

Las investigaciones en flora también están sujetas a consideraciones éticas para la conservación de las especies vegetales, su recolección está reglamentada cuando los fines son de investigación científica no comercial y fitoterapéuticas, acción que contribuye a la conservación del ecosistema y medio ambiente. Estas investigaciones parten del conocimiento ancestral en las diferentes comunidades, donde se registra su uso y formas de preparación, su nombre común, nombre científico (consultado al especialista), valoración de la población existente de la especie en estudio y su ubicación geográfica.[59]

Las investigaciones en animales, enriquece y contribuye a los conocimientos científicos en beneficio de la humanidad y los propios animales, proporcionando tratamientos en diversas enfermedades que aquejan al hombre,

hoy en día las plantas son de gran interés científico por contener metabolitos secundarios que son utilizados como drogas para trata distintas patologías, pero tendrán que ser probadas primero en animales para garantizar su seguridad y eficacia en humanos, toda investigación en animales modelo tiene en cuenta aspectos importantes como respeto por la vida, dolor y sufrimiento de los animales que están bajo su responsabilidad y cuidado; el personal de laboratorio debe estar capacitado para el manejo correcto, los resultados experimentales válidos son aquellos que cumplen con las normas éticas, evitando cualquier dolor o angustia que éstos puedan sufrir y evitar la pérdida de vidas innecesarias [18,45].

# IV. RESULTADOS

**Tabla 1: Determinación colorimétrica de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico y la infusión de *Cheilanthes pruinata* kaulf**

| Metabolitos secundarios | Reacción | Resultados / extracto hidroalcohólico | Resultados / infusión | Observaciones |
|---|---|---|---|---|
| Alcaloides | Dragendorff | ND | ND | No se observó cambio de coloración |
| | Mayer | ND | ND | No se observó cambio de coloración |
| | Wagner | ND | ND | No se observó cambio de coloración |
| Flavonoides | Shinoda | +++ | ++++ | Coloración rojo naranja |
| Azúcares reductores | Molisch | ND | ND | No se observó cambio de coloración |
| Taninos catéquicos | Tricloruro férrico | ++++ | +++ | Coloración negra |
| Saponinas | Salkowski | +++ | +++ | Coloración naranja |
| | Espuma | +++ | +++ | Formación de espuma |

**Fuente**: Elaboración propia en base a los resultados obtenidos

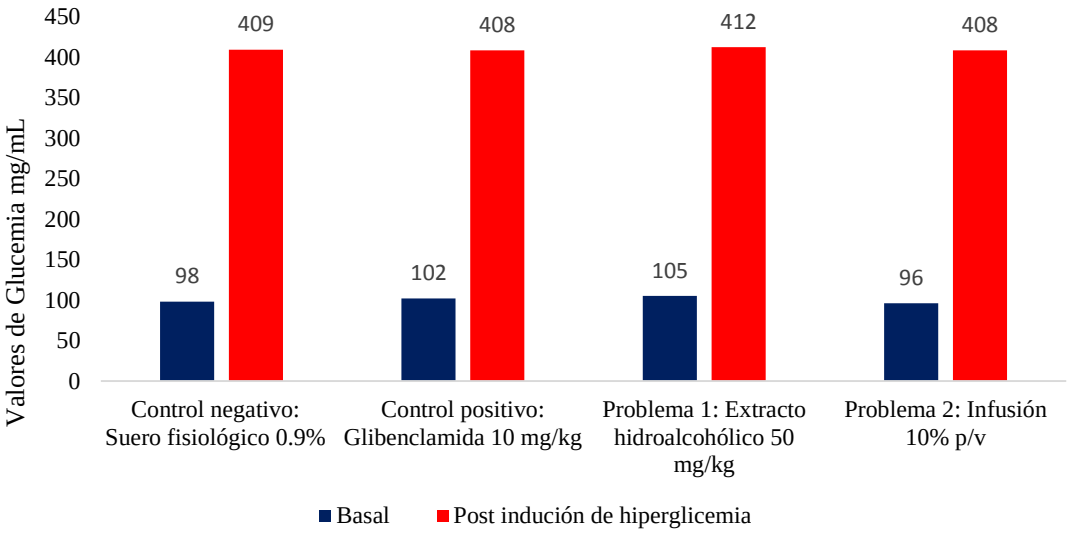
**Leyenda:** Interpretación: color intenso ++++; color moderado +++; color leve ++; color escaso +; No se detectaron ND.

**Interpretación**: En la tabla se muestran los resultados colorimétricos de la identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico y la infusión de *Cheilanthes pruinata* Kaulf. Estas pruebas mostraron resultados negativos a la presencia de alcaloides y azúcares reductores, los resultados fueron positivos a la presencia de flavonoides, taninos catéquicos y saponinas.

**Tabla 2: Promedios y valores de hiperglicemia sérica basal post administración de aloxano al 5% en *Rattus rattus* var. albinus**

| Grupos experimentales | Basal mg/dL | Post inducción de hiperglicemia mg/dL |
|---|---|---|
| **Grupo 1:** Control negativo | 98,6 ± 4,0 | 409 ± 5,0 |
| **Grupo 2:** Control positivo | 102 ± 5,4 | 408 ± 4,5 |
| **Grupo 3:** Problema 1 | 105 ± 6,0 | 412 ± 6,0 |
| **Grupo 4:** Problema 2 | 96 ± 8,6 | 408 ± 6,4 |

**Fuente:** Elaboración propia en base a los resultados obtenidos




**Fuente:** Elaboración propia en base a los resultados obtenidos

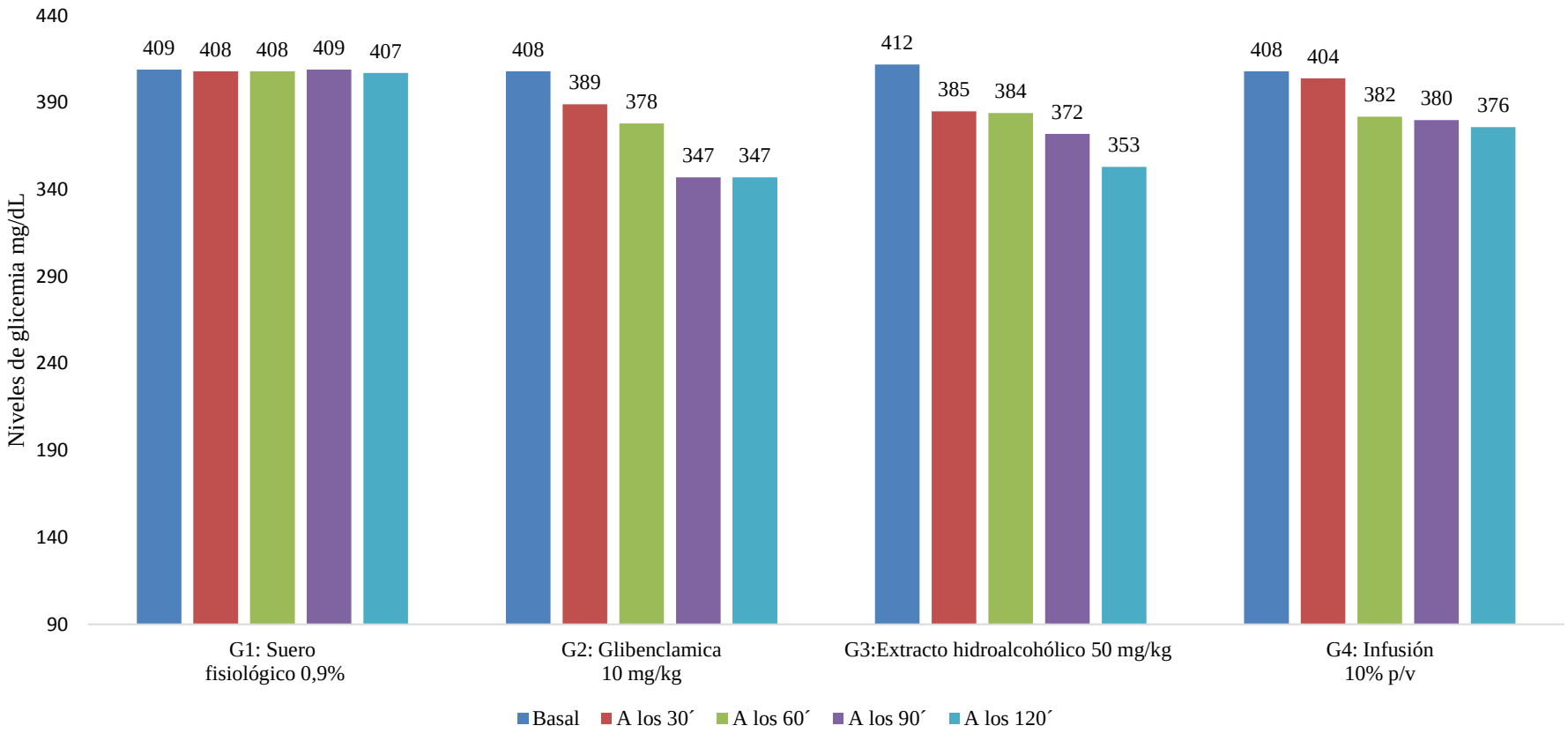
**Gráfica 1: Valores de glicemia alcanzada en los diferentes grupos de experimentación después de la administración de aloxano al 5% en *Rattus rattus* var. albinus**

**Interpretación:** Se puede observar claramente los diferentes valores de glicemia basal en los cuatro grupos de experimentación: 98,6 ± 4,0 mg/dL, de 102 ± 5,4 mg/dL, 105 ± 6,0 mg/dL, 96 ± 8,6 mg/ dL; post administración de aloxano al 5% a dosis de 180 mg/kg, los valores de glicemia en los cuatro grupos experimentales alcanzaron promedios de 409 ± 5,0 mg/dL, 408 ± 4,5 mg/dL, 412 ± 6,0 mg/dL, 408 ± 6,4 mg/dL. Los resultados de las muestras sanguíneas basales indican valores normales de glucosa, mientras que los resultados de las muestras sanguíneas realizadas post administración del aloxano, se muestran niveles muy altos de glucosa en todos los grupos de experimentación.

**Tabla 3: Primer día de evaluación, niveles séricos de glicemia**

| Grupos | | Promedio | ANOVA | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | mg/dL | *F* | p | Significancia | Decisión |
| Basal | Grupo 1 | 409 | 0.01 | 0.99864 | p>0.05 | No hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 408 | | | | |
| | Grupo 3 | 412 | | | | |
| | Grupo 4 | 408 | | | | |
| 30´ | Grupo 1 | 408 | 0.82 | 0.50348 | p>0.05 | No hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 389 | | | | |
| | Grupo 3 | 385 | | | | |
| | Grupo 4 | 404 | | | | |
| 60´ | Grupo 1 | 408 | 1.74 | 0.1997 | p>0.05 | No hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 378 | | | | |
| | Grupo 3 | 384 | | | | |
| | Grupo 4 | 382 | | | | |
| 90´ | Grupo 1 | 409 | 8.18 | 0.00158 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 347 | | | | |
| | Grupo 3 | 372 | | | | |
| | Grupo 4 | 380 | | | | |
| 120´ | Grupo 1 | 407 | 4.91 | 0.0132 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 347 | | | | |
| | Grupo 3 | 353 | | | | |
| | Grupo 4 | 376 | | | | |

**Fuente**: Elación propia en base a los resultados obtenidos




**Fuente:** Elaboración propia en base a los resultados obtenidos

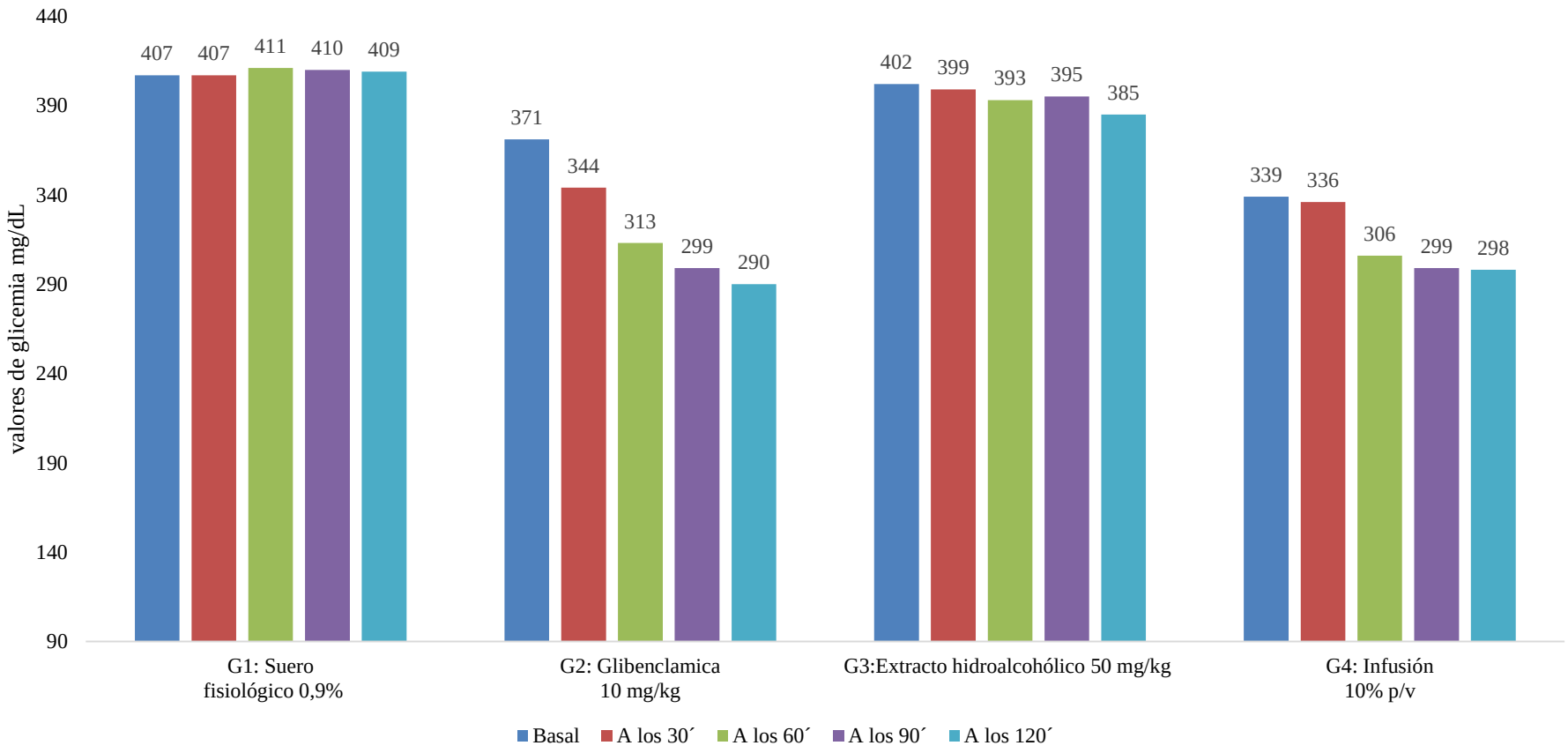
**Gráfica 2: Niveles séricos de glicemia en todos los grupos experimentales en el primer día de evaluación**

**Interpretación:** En la tabla 3, se observan los resultados en promedio de los niveles séricos de glicemia en cada grupo de experimentación, post la administración del tratamiento a cada grupo asignado, en función al tiempo de evaluación (30, 60, 90, 120 minutos) que tuvo como referencia al control basal, observándose una ligera disminución de los niveles de glicemia a partir de los 90 minutos en los grupos 2, 3 y 4 lo cual tiene una significancia estadística de $*p<0.05$ a partir de los 90 minutos. En el gráfico 2 se observa claramente el descenso de los niveles de glicemia, predominando el grupo 2 (Glibenclamida 10 mg/kg) respecto a los grupos 3 (extracto hidroalcohólico 50 mg/kg) y 4 (infusion10% p/v), el grupo 1 (suero fisiológico) no presenta variación en los niveles de glicemia.

**Tabla 4: Segundo día de evaluación, niveles séricos de glicemia**

| Grupos | | *Promedio* | ANOVA | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ***F*** | **p** | **Significancia** | **Decisión** |
| Basal | Grupo 1 | 407 | 6.25 | 0.00518 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 371 | | | | |
| | Grupo 3 | 402 | | | | |
| | Grupo 4 | 339 | | | | |
| 30´ | Grupo 1 | 407 | 32.01 | 0 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 344 | | | | |
| | Grupo 3 | 399 | | | | |
| | Grupo 4 | 336 | | | | |
| 60´ | Grupo 1 | 411 | 60.08 | 0 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 313 | | | | |
| | Grupo 3 | 393 | | | | |
| | Grupo 4 | 306 | | | | |
| 90´ | Grupo 1 | 410 | 89.07 | 0 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 299 | | | | |
| | Grupo 3 | 395 | | | | |
| | Grupo 4 | 299 | | | | |
| 120´ | Grupo 1 | 409 | 119.14 | 0 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 290 | | | | |
| | Grupo 3 | 385 | | | | |
| | Grupo 4 | 298 | | | | |

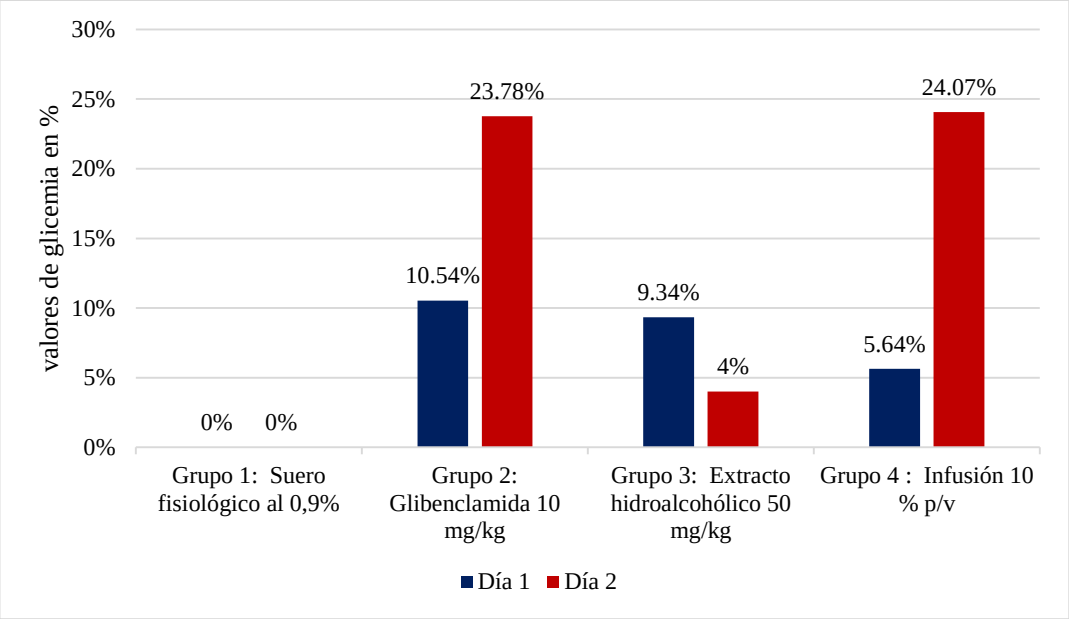
**Fuente:** Elaboración propia en base a los resultados obtenidos




**Fuente:** Elaboración propia en base a los resultados obtenidos

**Gráfica 3: Niveles séricos de glicemia en todos los grupos experimentales en el segundo día de evaluación**

**Interpretación:** En la tabla 4 se muestra promedios y desviación estándar de la disminución de los valores de glicemia sérica y una significancia estadística de *p<0.05 a partir de los 30, 60, 90, 120 minutos, que tuvo como referencia al control basal. El gráfico 3 muestra claramente que los grupos predominantes son; el grupo 2 (Glibenclamida 10 mg/kg) el cual inicia con un promedio basales de glicemia sérica de 371 mg/dL, disminuyendo paulatinamente estos valores hasta 299 mg/dL a los 120 minutos. El grupo 4 (infusión 10% p/v) inicia con un promedio basal de glicemia sérica de 339 mg/dL, disminuyendo paulatinamente los valores de glicemia sérica hasta 298 mg/dL a los 120 minutos. Comparando los resultados del grupo 2 y 4 muestran notable similitud respecto al efecto hipoglicemiante.




**Fuente:** Elaboración propia en base a los resultados obtenidos

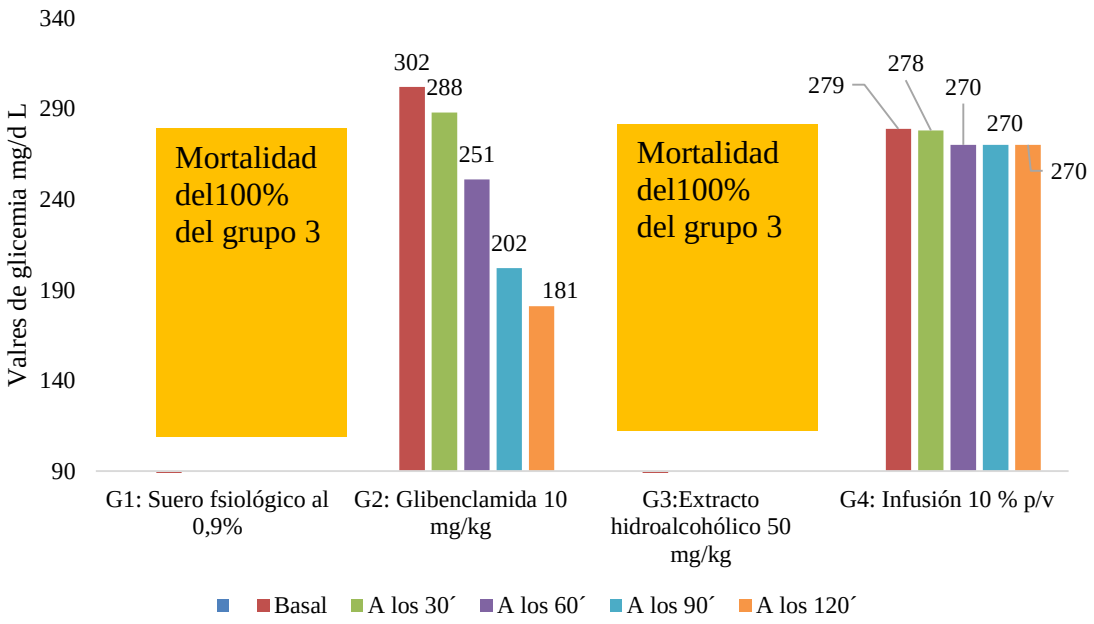
**Gráfica 4: Disminución en porcentaje de los niveles de glicemia sérica en los dos primeros días de evaluación**

**Interpretación:** Grupo 1 (Suero fisiológico 0,9%) se observó que no hubo variación en los niveles de glicemia sérica respecto al control basal. Grupo 2 (Glibenclamida 10 mg/kg) muestra disminución progresiva de los niveles de glicemia sérica de 10,54% en el primer día y 23,78% en el segundo día de evaluación. El grupo 3 (Extracto hidroalcohólico 50 mg/kg) muestra mayor disminución de glicemia sérica solo en el primer día de evaluación que corresponde a 9,34% y de 4% en el segundo día de evaluación. Grupo 4 (Infusión 10% p/v) se muestras una disminución progresiva de los niveles de glicemia sérica que inicia con 5,54% en el primer día y 24,07% en el segundo día de evaluación.

**Tabla 5: Tercer día de evaluación, niveles séricos de glicemia**

| Grupos | | *Promedio* | t- Student | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ***T*** | **p** | **Significancia** | **Decisión** |
| Basal | Grupo 1 | - | 4.97 | 0.00055 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 302 | | | | |
| | Grupo 3 | - | | | | |
| | Grupo 4 | 279 | | | | |
| 30´ | Grupo 1 | - | 1.6 | 0.07381 | p>0.05 | No hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 288 | | | | |
| | Grupo 3 | - | | | | |
| | Grupo 4 | 278 | | | | |
| 60´ | Grupo 1 | - | -3.64 | 0.00328 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 251 | | | | |
| | Grupo 3 | - | | | | |
| | Grupo 4 | 270 | | | | |
| 90´ | Grupo 1 | - | -2.77 | 0.01209 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 202 | | | | |
| | Grupo 3 | - | | | | |
| | Grupo 4 | 270 | | | | |
| 120´ | Grupo 1 | - | -11.65 | 0 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 181 | | | | |
| | Grupo 3 | - | | | | |
| | Grupo 4 | 270 | | | | |

**Fuente:** Elaboración propia en base a los resultados obtenidos




**Fuente:** Elaboración propia en base a los resultados obtenidos

**Gráfica 5: Disminución de los niveles séricos de glicemia en los dos grupos experimentales sobrevivientes, según tratamiento asignado, tercer día de evaluación**

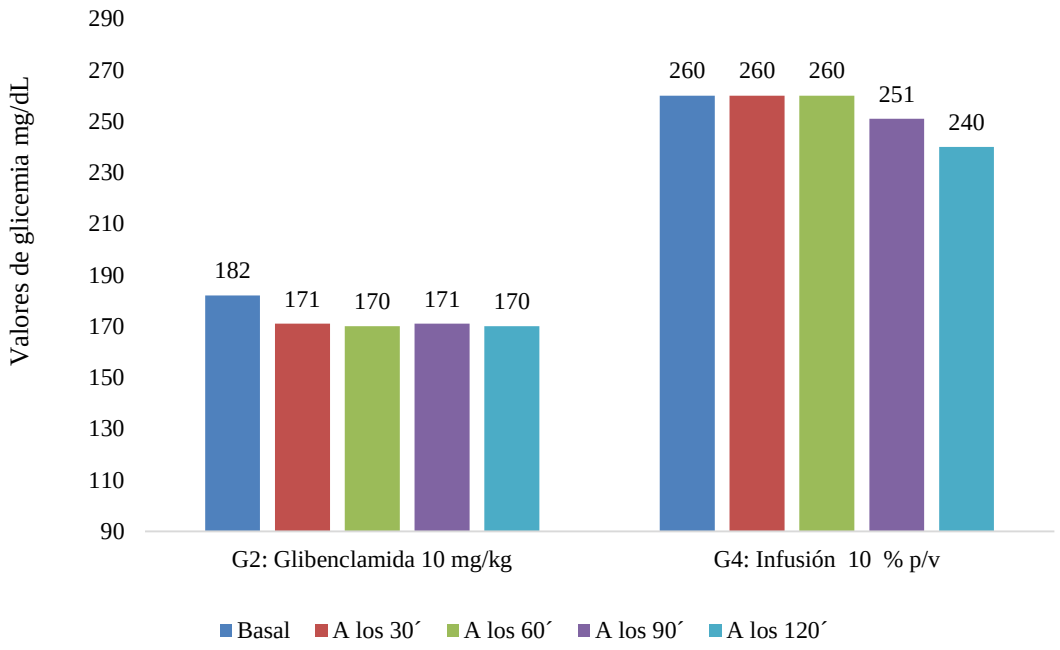
**Interpretación:** la tabla 5 muestra promedios y desviación estándar de valores de glicemia sérica y una significancia estadística a partir de los 60, 90, 120 minutos, que tuvo como referencia al control basal, *p<0.05, post administración del tratamiento. En la gráfica 5 se evidencia la mortalidad del 100% de individuos pertenecientes al grupo experimenta 1 y grupo experimental 2, además se muestra los niveles séricos de glicemia en los dos grupos experimentales sobrevivientes; Grupo 2 (Glibenclamida 10 mg/kg) se evidenció una disminución significativa en niveles de glicemia (basal 302 mg/dL, a los 120 minutos 181 mg/dL), Grupo 4: (Infusión 10% p/v) presentó una disminución significativa en los niveles de

glicemia (basal 279 mg/dL; a los 120 minutos 270 mg/dL); observándose similar respuesta al tratamiento hipoglicemiante

**Tabla 6: Cuarto día de evaluación, niveles séricos de glicemia**

| **Grupos** | | ***Promedio*** | **t- Student** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ***t*** | **P** | **Significancia** | **Decisión** |
| Basal | Grupo 1<br>Grupo 2<br>Grupo 3<br>Grupo 4 | -<br>182<br>-<br>260 | -5.54 | 0.00027 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| 30´ | Grupo 1<br>Grupo 2<br>Grupo 3<br>Grupo 4 | -<br>171<br>-<br>260 | -29.04 | 0 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| 60´ | Grupo 1<br>Grupo 2<br>Grupo 3<br>Grupo 4 | -<br>170<br>-<br>260 | -19.66 | 0 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| 90´ | Grupo 1<br>Grupo 2<br>Grupo 3<br>Grupo 4 | -<br>171<br>-<br>251 | -6.99 | 0.00006 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| 120´ | Grupo 1<br>Grupo 2<br>Grupo 3<br>Grupo 4 | -<br>170<br>-<br>240 | -9.27 | 0.00001 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |

**Fuente:** Elaboración propia en base a los resultados obtenidos




**Fuente:** Elaboración propia en base a los resultados obtenidos

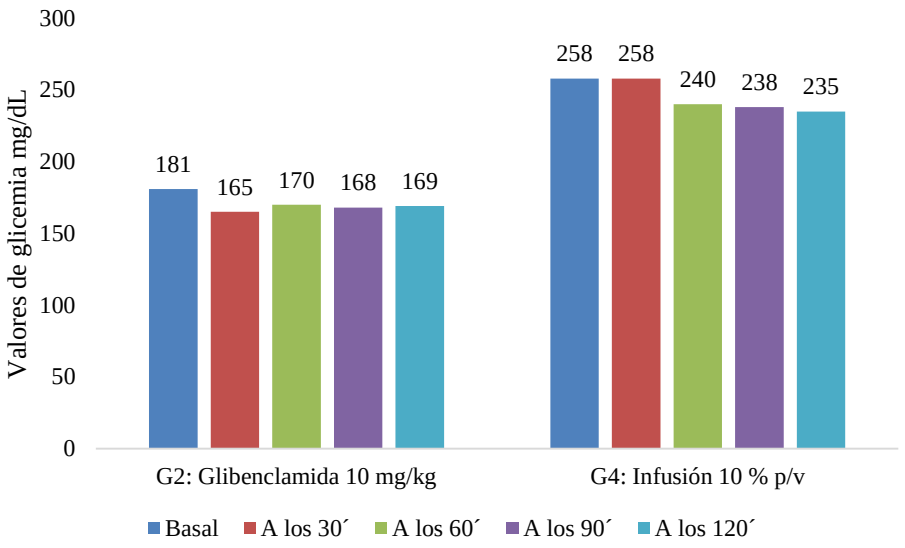
**Gráfica 6: Niveles séricos de glicemia en el grupo 2 y grupo 4, según tratamiento asignado, cuarto día de evaluación**

**Interpretación**: En la tabla 6 se muestran promedios y desviación estándar de los valores de glicemia sérica y una significancia estadística de *p<0.05, en el grupo 2 y grupo 4, evaluados en función al tiempo. En la gráfica 6, el grupo 2 (Glibenclamida 10 mg/kg) mantiene los valores de glicemia sérica a partir de los 30 minutos, los cuales son valores normoglicémicos aceptable en función al tiempo de evaluación; a diferencia del grupo 4 (Infusión 10% p/v) donde la disminución de los valores de glicemia sérica es progresiva.

**Tabla 7: Quinto día de evaluación, niveles séricos de glicemia**

| Grupos | | *Promedio* | t- Student | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | ***t*** | **P** | **Significancia** | **Decisión** |
| Basal | Grupo 1 | - | -5.07 | 0.00048 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 181 | | | | |
| | Grupo 3 | - | | | | |
| | Grupo 4 | 258 | | | | |
| 30´ | Grupo 1 | - | - 25.22 | 0 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 165 | | | | |
| | Grupo 3 | - | | | | |
| | Grupo 4 | 258 | | | | |
| 60´ | Grupo 1 | - | - 17.52 | 0 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 170 | | | | |
| | Grupo 3 | - | | | | |
| | Grupo 4 | 258 | | | | |
| 90´ | Grupo 1 | - | - 14.09 | 0 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 168 | | | | |
| | Grupo 3 | - | | | | |
| | Grupo 4 | 253 | | | | |
| 120´ | Grupo 1 | - | - 12.27 | 0 | p<0.05 | Si hay diferencias significativa |
| | Grupo 2 | 169 | | | | |
| | Grupo 3 | - | | | | |
| | Grupo 4 | 253 | | | | |

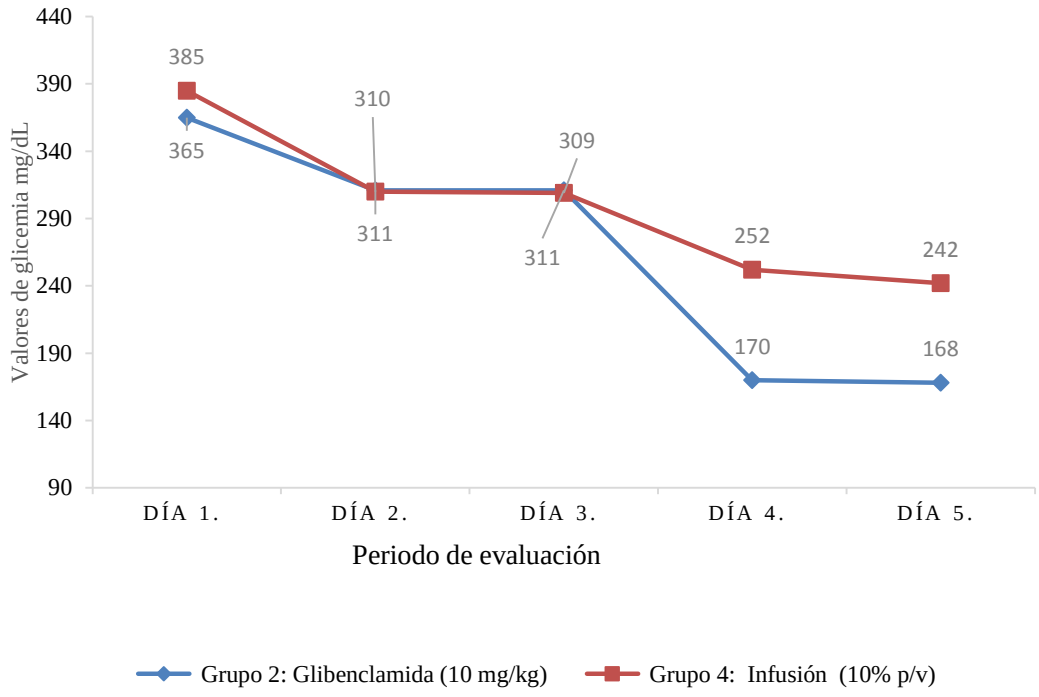
**Fuente:** Elaboración propia en base a los resultados obtenidos




**Fuente:** Elaboración propia en base a los resultados obtenidos

**Gráfica 7: Niveles séricos de glicemia en los dos grupos experimentales según tratamiento asignado, quinto día de evaluación**

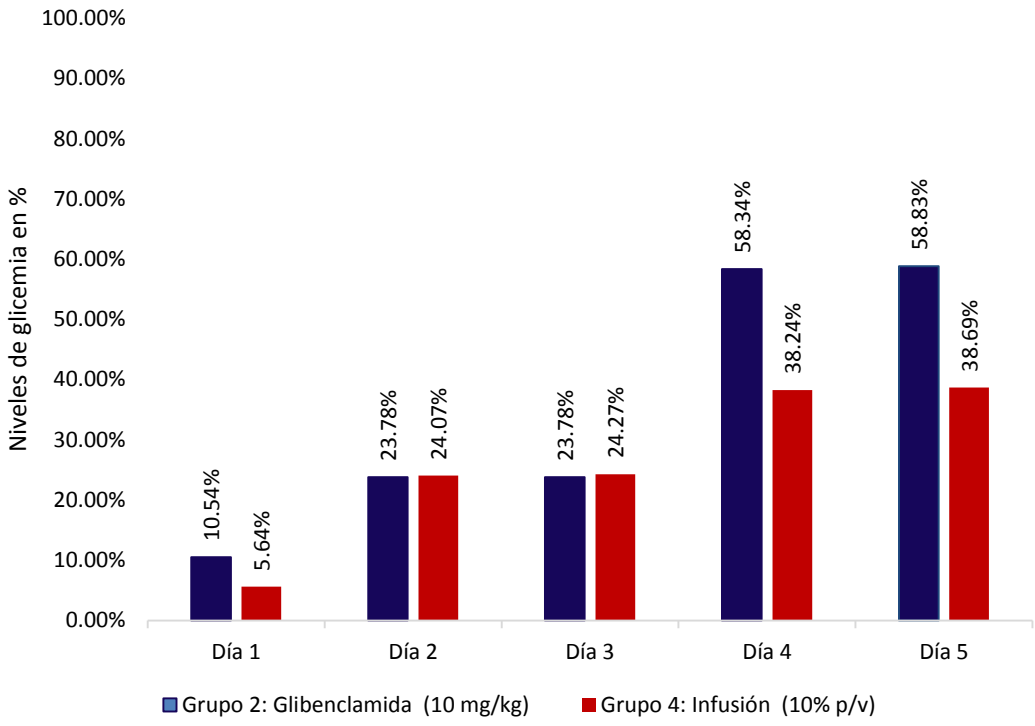
**Interpretación:** En la tabla 7 se muestra promedios y desviación estándar de valores de glicemia sérica y una significancia estadística a partir de los 30 minutos *p<0.05, que tuvo como referencia al control basal. En la gráfica 7 el grupo 2 (Glibenclamida 10 mg/kg) muestra valores normoglicémicos aceptables; mientras que en el grupo 4 (Glibenclamida 10 mg/kg) los valores de glicemia sérica continúan disminuyendo lentamente.




**Fuente:** Elaboración propia en base a los resultados obtenidos

**Gráfica 8: Descenso de los valores de glicemia sérica durante los 5 días que duró el periodo de evaluación**

**Interpretación**: En la gráfica se muestra la variación del efecto hipoglicemiante del grupo control positivo (Glibenclamida 10 mg/kg) en relación al grupo problema (infusión 10% p/v) durante los 5 días de experimentación. Donde el grupo 2 (glibenclamida 10 mg/kg) muestra el efecto hipoglicemiante a partir del primer día de experimentación, llegando a valores normoglicémicos (170 mg/dL) en el cuarto día. EL grupo 4 (Infusión 10% p/v) muestra el efecto hipoglicemiante a partir del segundo día de experimentación, y una disminución progresiva altamente significativa de los niveles de glicemia sérica (242 mg/dL) en el quinto día de experimentación.




**Fuente:** Elaboración propia en base a los resultados obtenidos

**Gráfica 9: Disminución de los niveles séricos en porcentaje durante los 5 días de evaluación**

**Interpretación**: Se muestra el efecto hipoglicemiante en porcentaje en los dos grupos de experimentación por día, en el grupo 2 (Glibenclamida 10 mg/kg) el incremento del efecto hipoglicemiante es gradual progresivo hasta e1 día 3, en el día 4 el efecto hipoglicemiante presenta un veloz incremento de 58,34% el cual se mantiene hasta el quito día; en el grupo 4 (Infusión 10% p/v) se observa el incremento del efecto hipoglicemiante progresivo, manteniendo los mismos valores porcentuales de 24,2% hasta el día 3; en el día 4 el efecto hipoglicemiante se incrementa a 38,4% manteniendo este valor porcentual hasta el quinto día.

# V. DISCUSIÓN

En la presente investigación se evaluó el efecto hipoglicemiante in vivo del extracto hidroalcohólico a dosis de 50 mg/kg y la infusión a concentración de 10% p/v de *Cheilanthes pruinata* kaulf. "cuti - cuti" en *Rattus rattus* var. albinus, con hiperglicemia inducida por aloxano.

El estudio realizado confirma la acción hipoglicemiante del helecho *Cheilanthes pruinata* Kaulf, conocido comúnmente por las comunidades alto andinas como "cuti cuti", esta planta objeto de estudio muestra tener mayor acción hipoglicemiante preparada en infusión que en extracto hidroalcohólico. Cabe recalcar que la hiperglicemia aloxánica en las ratas de experimentación persistió durante los 5 días de evaluación, realizando el control de la glicemia a diario por 2 horas cada 30 minutos; la infusión de Cheilanthes *pruinata* kaulf redujo la hiperglicemia en forma gradual desde el primer día de evaluación, acción que tuvo mayor notoriedad a partir del cuarto y quinto día de evaluación. Los escasos resultados obtenidos con el extracto hidroalcohólico de *Cheilanthes pruinata* kaulf a dosis de 50 mg/kg, puede observarse en las gráficas presentadas, donde solo se percibió una ligera disminución en los niveles séricos no llegando a valores normoglicémicos aceptables en los dos primeros días de experimentación; ya que al tercer día se reportó la muerte de todos los animales pertenecientes al grupo 3; este desenlace posiblemente se debe a que la hiperglicemia no se controló a tiempo originando coma diabético y en consecuencia la muerte. En las gráficas presentes se puede observar claramente que el grupo control positivo (glibenclamida 10 mg/kg) ejerce una disminución

notable de los niveles séricos de glicemia a partir del primer día de evaluación, llegando a valores normoglicémicos aceptables de 168 mg/dL en el quito día de evaluación, resultados contrastados con el grupo 3 problema 1 (Extracto hidroalcohólico 50 mg/kg pc) y grupo 4 problema 2 (Infusión 10% p/v) donde el grupo 4 evidenció acción hipoglicemiante desde el primer día de evaluación y con mayor intensidad a partir del día cuatro, manteniéndose hasta el quinto día con valores glicémicos de 242 mg/dL; el grupo 3 solo fue evaluado los dos primeros días, reportándose la muerte al tercer día de evaluación de todos los animales de experimentación

Debemos indicar que los estudios realizados a *Pellaea* ***ternifolia*** **"cuti – cuti",** planta perteneciente a la familia Pteridaceae, confirma la acción hipoglicemiante en *Mus musculus* (ratón) a partir del cuarto día, estos resultados son consecuentes con los obtenidos en nuestra investigación, confirmando que la utilización de cuti-cuti en infusión tiene acción hipoglicemiante. En el presente estudio se utilizó aloxano para obtener diabetes química, sustancia que destruye a las células beta pancreáticas, quienes son las encargadas de producir insulina, de acuerdo a los resultados obtenidos se puede inferir que el helecho *Cheilanthes pruinata* kaulf, protege a las células beta de la acción tóxica del aloxano.

El uso de plantas medicinales por gran parte de la población ha generado interés en muchos investigadores, realizando diversas marchas fitoquímicas para identificar los diferentes metabolitos secundarios o fitoconstituyentes presentes en una especie vegetal, *Cheilanthes pruinata* kaulf, es un helecho con interés hipoglicemiante; investigaciones realizadas por Iparraguirre D. et al. (2015)[29] y

Cabrera J (2014)[13] reportaron que el extracto hidroalcohólico y el macerado de *Cheilanthes pruinata* Kaulf dio positivo a las presencia de metabolitos secundarios como: alcaloides, taninos, flavonoides, y saponinas; todo lo mencionado a diferencia de la presencia de alcaloides concuerdan con los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, estos resultados podría deberse a factores climáticos (lluvias, humedad, temperatura, época y hora), lo cual influye en el almacenamiento de metabolitos secundarios, una especie colectada en las primeras horas del día tiende a presenta mayor concentración de fitoconstituyentes o metabolitos secundarios que una planta colectada en horas posteriores, lo mismo ocurre con las especies colectadas antes de la floración[50]

El efecto hipoglicemiante obtenido posiblemente se debe a la presencia de fitoconstituyentes que posee la infusión de *Cheilanthes pruinata* kaulf, según Coskun O et al (2004)[19], la quercetina es un flavonoide que ha mostrado acción antidiabética en ratas de experimentación, este metabolito actúa a nivel de células beta pancreáticas, protegiéndolas del estrés oxidativo generado por estreptozotocina sustancia diabetogénica. Kamalakkannan N. et al (2006)[31], menciona que, la rutina glucósido de flavonoide, tiene acción hipoglicemiante en ratas diabéticas, la administración sub aguda de este flavonoide disminuye la hemoglobina glicosilada y aumenta las concentraciones séricas de insulina, aunque no se conoce específicamente el mecanismo de acción pero ejerce control en el metabolismo de los carbohidratos. La presencia de flavonoides en el extracto hidroalcohólico y la infusión de *Cheilanthes pruinata* kaulf podría ser responsable del efecto hipoglicemiante. Estudios anteriores demuestran que

derivados de flavonoides estarían ligados a receptores proliferadores de peroxisomas (PPAR) inhibidor dipeptidil peptidasa IV y activador de los receptores de insulina.[5, 44]

Una de las acciones biológicas de mayor importancia de los flavonoides es su actividad antioxidante, que es una combinación de sus propiedades quelantes y secuestradores de radicales libres (RL); otros autores mencionan la inhibición de oxidasas como la lipooxigenasa, cicloxigenasa, mielopreroxidasa, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP), eludiendo la generación de especies reactivas de oxígeno, de esta forma los flavonoides obstaculizan la propagación y formación de RL. El mecanismo se basa fundamentalmente en su estructura química, los flavonoides con sustituyentes en posición 3 y 4 en el anillo B se muestran más activos como antioxidantes y este efecto es potenciado por la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo OH libre en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4; como sucede con la quercetina y la rutina, otro de los mecanismos está involucrado en la reducción temporal del Cu (II) a Cu(I) actuando de esta manera como prooxidantes.[44]

Cabe mencionar que en el presente estudio se evidenció mayor concentración de flavonoides en la infusión que en el extracto hidroalcohólico; consecuentemente el efecto hipoglicemiante con mayor relevancia mostró la infusión de *Cheilanthes*, estos resultados podría deberse a la dosis 50 mg/pc (0.37 mL por espécimen) administrada de extracto hidroalcohólico, frente a la infusión preparada y administrada a concentración de 10% p/v. (3 mL por espécimen).

El estudio realizado por Barky E. et al (2017)[8], demostró la acción hipoglicemiante de saponinas triterpénicas, este metabolito actúa inhibiendo a la enzima alfa amilasa responsable de hidrolizar polisacáridos complejos para producir monosacáridos que luego se absorben al torrente sanguíneo a través de la vena porta aumentando los niveles de glucosa. Elekofehinti O. et al (2017)[22], demostró la acción hipoglicemiante de la saponinas a través de la modulación de adipocinas. El posible mecanismo de acción estaría basado en que la leptina regula la saciedad alimenticia, la actividad y el gasto energético, a través de sus receptores (Rs Lep), cuando hay patologías diabéticas la leptina funciona lentamente incrementando la ingesta alimenticia llevando a la obesidad, las saponinas parecen ser un activador de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK), que es un regulador clave del balance energético y el metabolismo de las grasa y la señalización de PI3K, lo que lleva a mejorar la sensibilidad a la insulina. Por lo tanto, la saponina puede ser un potencial agente antiobesidad al reducir la resistencia y mejorar la sensibilidad a la insulina. Todo lo mencionado indica que la presencia de saponinas en la infusión del *Cheilanthes pruinata* kaulf tiene efecto hipoglicemiante.

Para inducir diabetes experimental se usa aloxano, administrado comúnmente por vía intraperitoneal y sub cutánea, la dosis requerida de aloxano para inducir diabetes depende de la especie animal y la dosis. Szkudelski T (2001)[53], menciona que para la vía intraperitoneal se requiere el doble de dosis utilizada en la vía intravenosa (75 mg/kg) en ratas. Los niveles de glicemia obtenidos en el presente trabajo de investigación fueron mayores a 300 mg/dL, resultados

obtenidos con dosis de 180 mg/kg, estos valores de glicemia son semejantes a los obtenidos por Bardales J. (2007)[7].

El análisis de varianza (ANOVA) permitió realizar medidas simultáneamente entre los 4 grupos experimentales y observar las diferencias significativas entre sí, de los dos primeros días, en el primer día de experimentación se evidenció significancia estadística del efecto hipoglicemiante de *Cheilanthes pruinata* kaulf, a partir de los 90 minutos, siendo $*p<0.05$ entre el grupo 2 (glibenclamida 10 mg/kg) y grupo 3 (Extracto hidroalcohólico 50 mg/kg pc); en el segundo día de experimentación la significancia estadística se observa a partir de los 30, 60,90,120 minutos, siendo $*p<0.05$. entre el grupo 2 (glibenclamida 10 mg/kg pc) y el grupo 4 (infusión 10% p/v), ambos resultados teniente como referencia al control basal. El paquete estadístico T student permitió realizar comparaciones entre el grupo 2 (glibenclamida 10 mg/kg pc) y el grupo 4 (infusión 10% p/v), dando como resultado una significancia estadística de $*p<0.05$. a partir de los 30, 60, 90, 120 minutos de evaluación.

# VI. CONCLUSIONES

- *Cheilanthes pruinata* Kaulf "cuti cuti" presenta efecto hipoglicemiante en *Rattus rattus* var. albinus con hiperglicemia inducida.

- El extracto hidroalcohólico de *Cheilanthes pruinata* Kaulf "cuti cuti" presenta flavonoides, taninos y saponinas.

- La infusión de *Cheilanthes pruinata* Kaulf "cuti cuti" presenta flavonoides, taninos y saponinas.

- La infusión de *Cheilanthes pruinata* Kaulf "cuti cuti" a concentración de 10% p/v posee mayor efecto hipoglicemiante que el extracto hidroalcohólico en *Rattus rattus* var albinus con hiperglicemia inducida.

- El efecto hipoglucemiante de la infusión de *Cheilanthes pruinata* Kaulf "cuti cuti" es mayor que el extracto hidroalcohólico, pero menor que la glibenclamida.

# VII. SUGERENCIAS

- Realizar nuevos estudios a distintas dosis de extracto hidroalcohólico de *Cheilanthes pruinata* Kaulf, y determinar la dosis con mejor efecto hipoglicemiante.

- Cuantificar los metabolitos secundarios presentes tanto en el extracto hidroalcohólico y la infusión de *Cheilanthes pruinata* Kaulf.

- Realizar nuevos estudios principalmente para determinar la dosis efectiva y la dosis toxica.

# VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. Farmacopea Argentina 7° ed. Vol. IV: Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip_pages/Farmacopea_Vol_IV/files/assets/basic-html/toc.html

2. Álvarez R. Estadística aplicada a las ciencias de la salud. España: Días de Santos. 2007.

3. American Diabetes association. Diabetes Care. Classification and diagnosis of diabetes [Internet]. 2015 [Citado 2018 May 28]; 38(1): 8-16. Disponible en: http://care.diabetesjournals.org/content/38/Supplement_1/S8

4. Anccasi S, Cairo Y, Castillo C. Efecto hipoglucemiante del extracto acuosos de la hojas de Argyrochosma nivea en Rattus Rattus variedad albinus. RetNut [Internet] 2013 [Citado 2018 May 28]; 7(2): 1267-1272. Disponible en: http://pesquisa.bvsalud.org/bvsvs/resource/es/lil-722347?lang=es

5. Arroyo J, Martínez J, Ronceros G, et al. Efecto hipoglicemiante coadyuvante del extracto etanólico de hojas de Annona muricata L

(guanábana), en pacientes con diabetes tipo 2 bajo tratamiento con glibenclamida. An Fac med. 2009; 70(3):163-7.

6. Barberan T. Los polifenoles de los alimentos y la salud. alim. nutri. salud [Internet]. 2003 [Citado 2018 junio 20]; 10(2): 41-53. Disponible en : http://digital.csic.es/bitstream/10261/18042/3/lecturaPDF.pdf

7. Bardales J. Efecto hipoglicemiante del extracto acuoso de las hojas de *Artocorpus altilis* (parkinson) fosberg "árbol del pan", en *Rattus rattus* var. albinus normoglicémicas y con hiperglicemia inducida. [Tesis]. [Cajamarca]: Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo; 2007 [Citado 201 feb 20].

8. Barky E, Emm A, Tm M. Marine sea cucumber saponins and diabetes. Austin Pancreat Disord. [Internet]. 2017 [Citado 2018 jul 29]; 1(1). Disponible en: http://austinpublishinggroup.com/pancreatic-disorders/fulltext/pancreas-v1-id1002.php

9. Barquilla A. Actualización breve en diabetes para médicos de atención primaria. Rev Esp Sanid Penit [Internet].2017 [Citado 2018 jun 02]; 19: 57-65. Disponible en: http://scielo.isciii.es/pdf/sanipe/v19n2/es_04_revision.pdf

10. Benites H, Romero A. Efecto del decocto de ***Notholaena nivea*** "cuti-cuti" sobre la glicemia en *Rattus rattus* variedad albinus con diabetes inducida. [Tesis en internet]. [Trujillo]: Universidad César Vallejo; 2011 [Citado 2018 mayo 11]. Disponible en: https://es.slideshare.net/Cienciasmedicasucv/efecto-del-decocto-de-notholaena-nivea-cuti-cuti-sobre-la-glucemia-en-rattus-rattus-variedad-albinus-con-diabetes-inducida.

11. Bruneton J. Farmacognosia: Fitoquímica plantas medicinales. 2ª ed. España. Acribia, S.A.; 2001

12. Cabrejos C, Ipanaqué K, Tejada E, Fupuy J, Vásquez A. Efecto glicemiante de *Pellaea ternifolia* "cuti – cuti" sobre *Mus musculus* (ratón) cepa Balb/c con hiperglicemia inducida con estreptozotocina. [Internet]. 2016 [Citado 2018 May 15]; 7(1): 99-108. Disponible en: http://revistas.unprg.edu.pe/openjournal/index.php/revistacientifica/article/view/48/32

13. Cabrera J. Determinación de metabolitos secundarios en tres pteridofitas, plantas con interés medicinal. [Tesis en internet]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014 [Citado 2018 mayo 11]. Disponible en:

http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/4110.

14. Castañeda B, Castro de la Mata R, Manrique R, Ibáñez L, Fujita R, Barnett E. Estudio fitoquímico y farmacológico de 4 plantas con efecto hipoglicemiante. Horz Medico [Internet] 2008 8(1): 104-111. [Citado 2018 mayo 20]. Disponible en: http://www.horizontemedicina.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/193/206

15. Castañeda B, Castro de la Mata R, Manrique R, Ibáñez L. Evaluación de la acción Citotóxica del extracto Metanólico de ***Notholaena nivea*** "cuti-cuti" Rev. Cultura [Internet] 2001 [Citado 2018 mayo 13]. Disponible en: http://www.revistacultura.com.pe/revistas/RCU_20_1_evaluacion-de-la-accion-citotoxica-del-extracto-metanolico-de-notholaena-nivea-cuti-cuti.pdf

16. Castillo J. Fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). [Internet].2015 [Citado 2018 may 31]. Disponible en: https://www.endocrino.org.co/wp-content/uploads/2015/10/Fisiopatologia_de_la_Diabetes_Mellitus_Tipo_2_J_Castillo.pdf

17. Cervantes R, Presno J. Fisiopatología de la diabetes y los mecanismos de muerte de las células β pancreáticas. Rev de Endocrinología y Nutrición [Internet]. 2013 [Citado 2018 may 31]; 21(3): 98-106. Disponible en: http://www.medigraphic.com/pdfs/endoc/er-2013/er133a.pdf

18. Concepción A, De la peña R, García J. Acercamiento al accionar ético – moral del científico que trabaja con animales de experimentación. Acta Biomédica [Internet] 2007 [citado 2018 jun 10]; 13(1): 9-15. Disponible en: http://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=55413102

19. Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and ß-cell damage in rat pancreas. Pharmacol Res. 2004; 51(2):117-123.

20. Department of Pharmacology, College of Health Sciences, Usmanu Danfodiyo University, Sokoto, Nigera. Animals models for studying diabetes mellitus Etuk, E.U. Agric. Biol. J. N. Am. [Internet]. 2010 [Citado 2018 jul 3]; 1(2): 130-134. Disponible en: http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.212.9006&rep=rep1&type=pdf

21. Días J, Fernández M, Paredes F. Aspectos básicos de bioquímica clínica. Ediciones Días de Santos; 1997

22. Elekofehinti O, Ejelonu O, Kmdem J, Akinlosotu O, Adanlawo I. Saponins as adipokines modulator: a possible therapeutic intervention for type 2 diabetes. World J Diabetes. [Internet] 2017. [Citado 2018 jun 28]; 8(7): 337–345. Disponible en: http://europepmc.org/articles/PMC5507830/

23. Ficha de antecedentes de especie. *Cheilanthes pruinata* Kaulf. [Internet]. [Citado 2018 May 16]. Disponible en: http://www.mma.gob.cl/clasificacionespecies/fichas9proceso/FICHAS_INICIO_9o_PROCESO_PDF/Cheilanthes_pruinata.pdf

24. Flores E, Califano L, Gurni A, Vignale N. Caracterización exomorfológica y micrográfica de *Cheilanthes pruinata*, especie tóxica para el ganado y medicinal en humanos en la región Andina. Bol. Soc. Argent. Bot. [Internet]. 2016 Mar [Citado 2018 Mayo 23]; 51(1): 29-35. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-23722016000100003&lng=es.

25. Gonzales R, Iparraguirre D, Carrillo E, Serrano G, Seminario J. Evaluación toxica y genotóxica de *Cheilanthes pruinata* "cuti cuti macho" Rev. Cienc amaz 2015; 5(2): 175-236.

26. Guía de práctica clínica para el diagnóstico, tratamiento y control de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención. [Internet]. 2016 [Citado 2018 May 28]: Disponible en: http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/3466.PDF

27. GRC. La Diversidad Biológica en Cajamarca. 1ª ed. Perú. Visual 47 SRL. 2012

28. Organización mundial de la salud. Guía de actualización en diabetes mellitus tipo 2. Actualizada [Internet]. 2016 [Citado 2018 jun 02]. Disponible en: http://redgdps.org/gestor/upload/GUIA2016/Guia_Actualizacion_2016.pdf

29. Iparraguirre D, Bonilla P, Gonzales R, Carrillo E, Pérez E, Serrano G. Tamizaje fitoquímico de extractos hidroalcohólicos del helecho medicinal *Cheilanthes pruinata* "cuti cuti macho" Cienc amaz (Iquitos) 2015; 5(2)

30. Irigoyen A, Ayala A, Ramírez de la rocha O, Calzada E. La Diabetes Mellitus y sus implicaciones sociales y clínicas en México y Latinoamérica. Arch en Med familiar. [Internet] 2017 [citado 2018 jul 6]; Vol.19 (4) 91-94. Disponible en: http://www.medigraphic.com/pdfs/medfam/amf-2017/amf174c.pdf

31. Kamalakkannan N, Prince PS. Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2006; 98(1): 97-103

32. Kang Ch, Han J, Oh J, Kulkarni R, Zhou W, Ferreira D. et al. Roidal alkaloids from veratrum nigrum enhance glucose uptake in skeletal muscle cells. Journal of natural products. [Internet].2015[Citado 2018 jun 27]; 78 (4). Disponible en: https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/np501049g#citing

33. Krass I, Schieback P, Dhippayom T. Adherence to diabetes medication: a systematic review. Diabet Med [Internet]. 2015 [citado 2018 jul 10]; 32(6): 725-737. Disponible en: http://www.redgdps.org/gestor/upload/file/UPDATE%202015/Update%20en%20diabetes%206-2-2-2015%20.pdf

34. Lensen S.The mechanismo of alloxan-and streptozotocin-inducetd diabetes. Diabetologia. [Internet]. 2008 [citado 2018 jul 07]; 51 (2): 216–226. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-007-0886-7

35. Lincoln T, Zeiger E. Fisiología vegetal volumen I. Col. lecció"ciencies experimental." EE.UU. Universitat Jaume-I. 2006

36. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2ª ed. Lima. Ed. Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.

37. Mahmoud M, Hassan N, Bassossy H, Fahmy A. Quercetin protects against diabetes-induced exaggerated vasoconstriction in rats: Effect on grade inflammation. Journal list PLOS ONE [Internet].2013 [Citado 2018 jun 21]; 8(5). Disponible en:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3661670/

38. Oficina de las naciones unidas contra la droga y el delito UNODC: Manual para uso de los laboratorios nacionales de análisis de drogas. Métodos recomendados para la identificación y el análisis de las piperazinas en los materiales incautados. [Internet] 2013. [Citado 2018 jun 28]. Disponible en: https://www.unodc.org/documents/scientific/Piperazines-S.pdf.pdf

39. Ministerio de Salud Pública. Guía de Práctica Clínica (GPC) de Diabetes mellitus tipo 2. Quito: Dirección Nacional de Normatización; 2017. Disponible en: https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/05/Diabetes-mellitus_GPC.pdf

40. Olmo E, Carrillo M, Aguilera S. Actualización del tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus tipo 2. IT [Internet]. 2008[Citado 2018 jun 08], 32(1):3-15. Disponible en:

https://www.msssi.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/vol32_1ActuaTratDiabetesMellitus.pdf

41. OMS. Informe mundial sobre la diabetes. Resumen de orientación. 2016. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254649/9789243565255-spa.pdf;jsessionid=F0878E0EB07733EA05D3631CC01254B2?sequence=10

42. Organización Mundial de la Salud: Diabetes [Internet]. [citado 2018 May 26]. Disponible en: http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes

43. Pérez F. Epidemiología y fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2. Rev Med Clínica Las Condes. [Internet]. 2009 [Citado 2018 may 31]; 20(5): 565 - 571. Disponible en: http://www.elsevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-articulo-epidemiologia-fisiopatologia-diabetes-mellitus-tipo-X0716864009322743

44. Pérez G. Los flavonoides: antioxidantes o prooxidante. Invest Biomed. [Internet].2003 [Citado 2018 Nov 06]; 22(1). Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol22_1_03/ibi07103.htm

45. Olfert E, Cross B, McWilliam A. Principios éticos de la investigación con animales. CCPA, Manual 2° edición. 1998; 1. [citado 2018 jun 06]. Disponible en: https://ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Spanish/ANEX15A.pdf

46. Química de la flora Mexicana. 1ª ed. UNAM. México. 2006

47. Quiñones M, Miguel M, y Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Nutr Hosp. [Internet]. 2012;27(1):76-89[Citado 2018 nov 10].disponible en: http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/09_revision_08.pdf

48. Ramos E, Domingo J. Diabetes mellitus experimental. UNAM. México. 1994 p 355,356

49. Rivas E, Zerquera G, Hernández C, Vicente B. Manejo práctico del paciente con diabetes mellitus en la Atención Primaria de Salud. Revista Finlay [Internet]. 2011 [citado 2018 may 30]; 1(3): 239-234. Disponible en: http://www.medigraphic.com/pdfs/finlay/fi-2017/fi171n.pdf

50. Santacoloma L, granados J. Evaluación del contenido de metabolitos secundarios en dos especies de plantas forrajeras encontradas en dos pisos térmicos de Colombia. RIAA. 2010; 1 (1): 31-35.

51. Skalenar P, Lutrin J, Ulloa C, Jorgensen P, Dillon M. Flora genética de los páramos: Guía ilustrada de las plantas vasculares. 1ed. New york. The new york Botanical Garden; 2015

52. Spinreact L. Glucosa trinder. GOD-POD. [Internet]. [Citado 2018 Nov 20]. Disponible en: http://www.spinreact.com.mx/public/_pdf/1001190.pdf

53. Szkudelski T. Mechanismo of alloxan and streptozotocin Action in B Cell of the Rat Pancreas: physiological resear. [Internet]. 2001; 50: 536-546. [Citado 2018 nov 08]. Disponible en: https://www.biomed.cas.cz/physiolres/pdf/50/50_537.pdf

54. Tan D, Chen QB, Xin Xl, Haisa A. Anti-diabetic effect of three new norditerpenoid alkaloids in vitro and potential mechanism via PI3K/AKT [Internet].2016 [Citado 2018 jun 27]; 87. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0753332216318807

55. The plant list a working list of all plant species. [Internet]. [Citado 2018 May 16]. Disponible en: http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/tro-26605439

56. Valencia C. Fundamentos de fitoquímica. 1ª ed. México. Trillas; 1995.

57. Valle F. La situación en el SIS es crítica [Análisis]. Perú 21:2018 jul 23; sección salud.

58. Manzini J. Declaración de helsinki: principios éticos para la investigación médica sobre sujetos humanos: Análisis de la 5ª Reforma, aprobada por la Asamblea General de la Asociación Médica Mundial en octubre del año 2000, en Edimburgo. [internet].2000 [Citado 2019 feb 11]; 6 (2):321-333. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/pdf/abioeth/v6n2/art10.pdf

59. Kvist L. Oré I. Gonzales A. Estudio de plantas medicinales en la Amazonía peruana: una evaluación de ocho métodos etnobotánicos. Rev. folia Amazónica [internet]. 2001[Citado 2019 feb 11]; 12 (2) 53-71. Disponible en: http://www.iiap.org.pe/upload/publicacion/Folia12_articulo4.pdf

# ANEXOS

## ANEXO N° 01

Preparación de una solución de hipoclorito de sodio al 0,05%.

Fórmula $(V_1)(C_1) = (V_2)(C_2)$

Donde:

V1: Volumen inicial

C1: Concentración inicial

V2: Volumen final

C2: Concentración final

V1 = V2* C2 /C1

V1 = 2000ml * 0,05% / 4%

V1 = 25 mL de hipoclorito de sodio al 4%

Entonces decimos que necesitamos 25 mL de hipoclorito de sodio al 4% y lo demás se completa con 1975 mL de agua destilada, alcanzando así 2000 mL requerido de solución desinfectante al 0,05%.

## ANEXO N° 02

Cálculo para la obtención del solvente para la extracción hidroalcohólica.

Se necesita obtener 1500 mL de alcohol de 70° a partir de un alcohol de 96°

Fórmula $(V_1)\ (C_1) = (V_2)\ (C_2)$

$$(V_1)\ (96°) = (1500\ mL) * (70°)$$

$$(V_1)\ (96°) = 105000$$

$$(V_1) = 105000/96$$

$$= 1093{,}75\ mL \text{ de alcohol de } 96°$$

Decimos entonces que necesitamos 1093,75 mL de alcohol de 96°, lo demás se completa con 406,25 mL de agua destilada, alcanzando así 1500 mL de alcohol de 70°.

## ANEXO N° 03

Cálculo para obtener la concentración.

Hojas pulverizadas: 200 g

Cantidad de solvente 1500 mL

Cantidad de extracto hidroalcohólico 50 mL

200 g hojas pulverizadas……1500 mL solvente

X……. 50 mL

X = 6,66 g / 50 mL

6,66 g……...50 mL extracto hidroalcohólico

6660 mg.....…50 mL extracto hidroalcohólico

50 mg……X

X = 0,375 mL

Dosis a administras de extracto hidroalcohólico 50 mg/kg de peso corporal de la rata

## ANEXO N° 04

Cálculo para obtener la dosis de glibenclamida (Glibenclamida 10 mg / kg de peso corporal)

10 mg GLB 1 kg de pc

10 mg GLB……..1, 000,000 mg

X…..…….200,000 mg (peso X *Rattus rattus* var albinus 200g

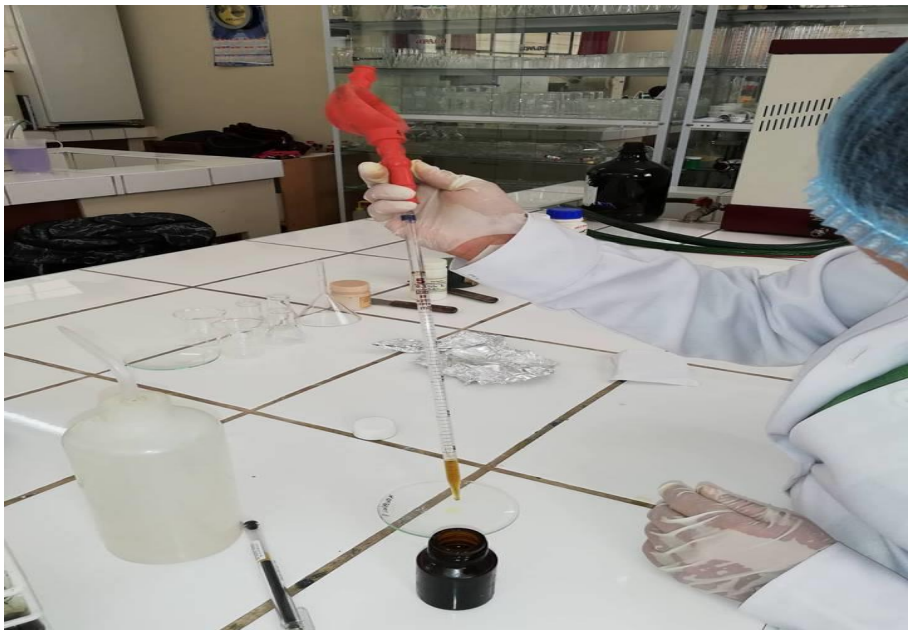
X = 2 mg de GLB, administrar a cada espécimen de experimentación

## ANEXO N° 05

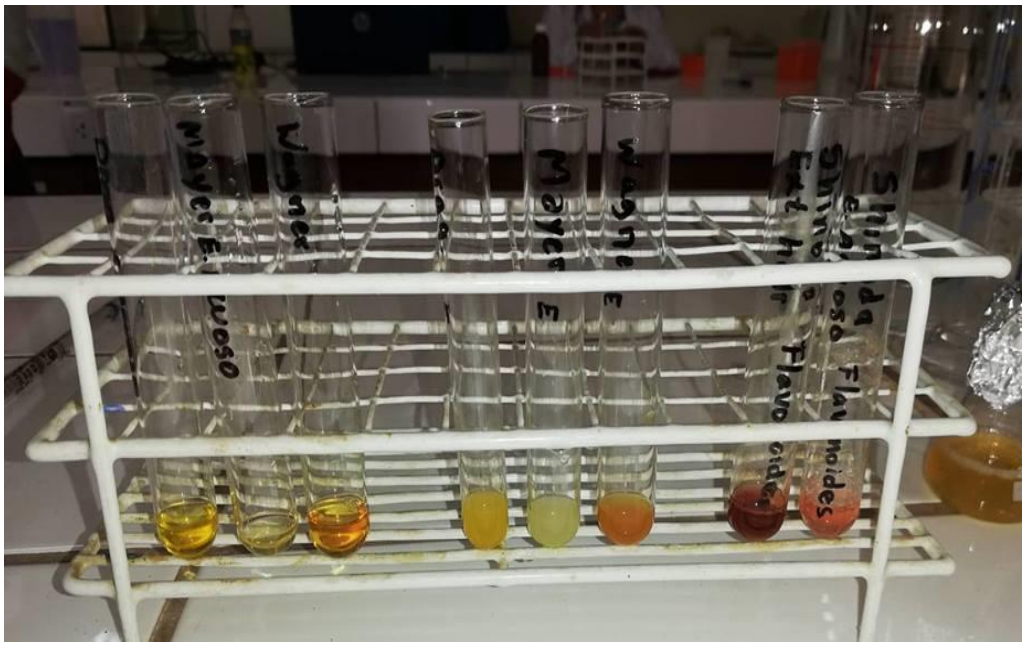
Selección de *Cheilanthes pruinata* kaulf, planta en estudio.

Preparación del extracto hidroalcohólico de *Cheilanthes pruinata* kaul.

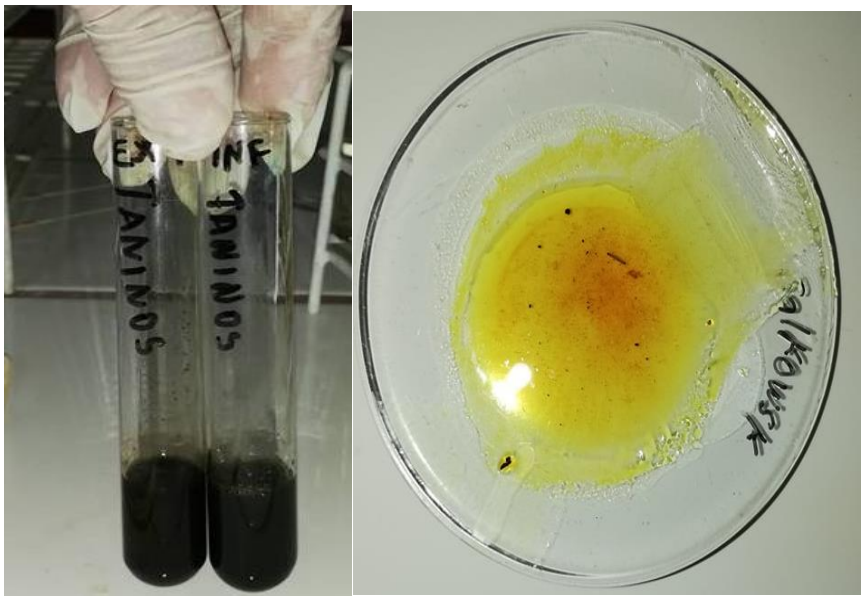
Extracto hidroalcohólico de *Cheilanthes pruinata* kaulf, en el agitador magnético.



Identificación de taninos



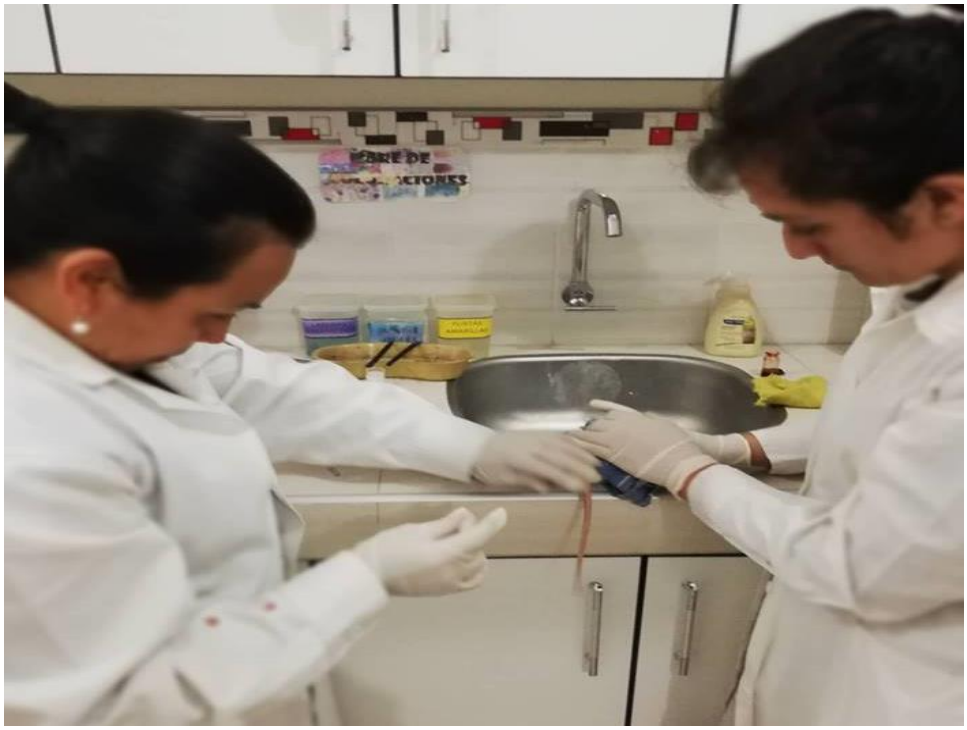
Identificación de alcaloides y flavonoides.




Identificación de taninos y saponinas.

Prueba de espuma para la identificación de saponinas.

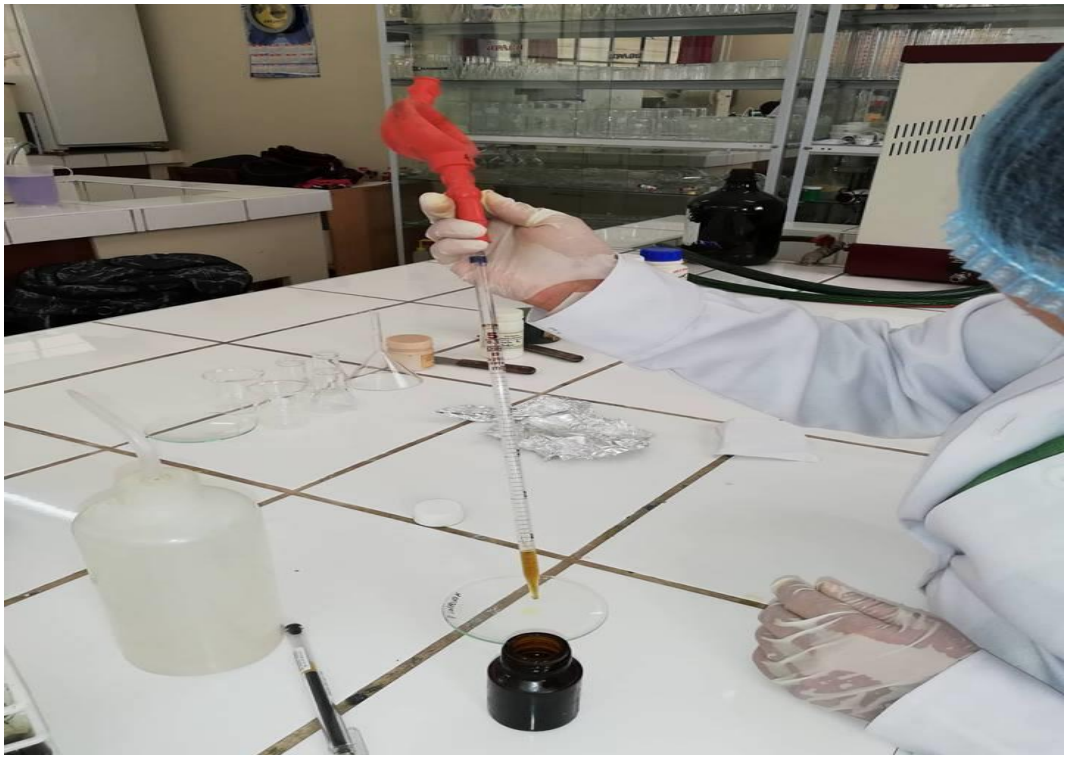
Animales de experimentación.



Extracción de muestras sanguíneas de los animales de experimentación.

Capilares heparinizados con muestras sanguíneas

Analizador bioquímico semi automatizado



Procedimiento para realizar la identificación de metabolitos secundarios