

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Actividad hipoglucemiante de los flavonoides
aislados del fruto de *Physalis peruviana*
“aguaymanto”. Ayacucho- 2015.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA

Presentado por la :

Bach. TALAVERA PALOMINO, Yudith

AYACUCHO – PERU

2017

A Dios por ser la luz que guía mi vida, a mis queridos padres Víctor y Hermelinda por su apoyo incondicional, y por darme la fortaleza para lograr mis sueños; a mi hermano por ser mi motivación; a mi hija, por ser mi alegría y fuente de inspiración. A mis profesores y amigos por su apoyo moral.

AGRADECIMIENTOS

A mi *Alma Mater* Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, por haberme brindado la oportunidad de estudiar y formarme profesionalmente, y de esta manera retribuir en la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, y a los excelentes docentes que en ella laboran, los cuales contribuyeron en mi formación, me brindaron las herramientas necesarias para mi desenvolvimiento profesional e inculcaron en mí el cariño y amor hacia esta hermosa profesión.

A mi estimado asesor Dr. Q.F. Johnny Aldo Tinco Jayo, profesor asociado a dedicación exclusiva adscrito al Departamento Académico de Medicina Humana de la Facultad de Ciencias de la Salud por su apoyo permanente y tiempo en el desarrollo del presente trabajo de investigación. Al Mg.Q.F. Enrique Aguilar Felices por su acertada orientación.

Al Mg. Q.F. ARONÉS JARA, Marco y CÁRDENAS LANDEO, Edgar por su revisión metodológica, su análisis crítico de los resultados y sugerencias.

A las personas, amigos y familiares por el apoyo brindado en la ejecución de mi trabajo y por estar siempre conmigo.

A Dios por ser mi fortaleza en todo momento, y así lograr, este sueño tan anhelado.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xvii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Physalis Peruviana</i> L. “aguaymanto”.	5
2.3. Flavonoides y diabetes mellitus	6
2.4. Diabetes mellitus	7
2.5. Tratamiento farmacológico de la diabetes	10
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1. Ubicación	13
3.2. Población y muestra	13
3.3. Unidad experimental	13
3.4. Fármaco de referencia	13
3.5. Diseño metodológico para la recolección de datos	13
3.6. Determinación cualitativa de los metabolitos secundarios	14
3.7. Extracción e identificación de los flavonoides	14
3.8. Determinación de la actividad hipoglucemiante	15
3.9. Tipo y diseño de investigación	16
3.10. Análisis de datos	18
IV. RESULTADOS	19
V. DISCUSIÓN	27
VI. CONCLUSIONES	35
VII. RECOMENDACIONES	37
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
IX. ANEXOS	43

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1: Tipos de diabetes.	10
Tabla 2: Grupos de trabajo del diseño experimental	17
Tabla 3: Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Physalis peruviana</i> “aguaymanto”. Ayacucho- 2015.	20
Tabla 4: Ensayos químicos de los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”. Ayacucho- 2015.	21
Tabla 5: Características cromatográficas de los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”. Ayacucho- 2015.	22
Tabla 6: Características espectrales de los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”. Ayacucho- 2015.	23

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1: 2 - fenilbenzopirona, núcleo básico de los flavonoides	7
Figura 2: Estructura química de la glibenclamida.	12
Figura 3: Variación de los niveles de glucosa sanguínea en función del tiempo, por efecto de la administración de los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”. Ayacucho – 2015	24
Figura 4: Área Bajo la Curva de la actividad hipoglucemiante de los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto” y Glibenclamida. Ayacucho- 2015	25
Figura 5: Eficacia hipoglucemiante de los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto” y Glibenclamida Ayacucho- 2015 en función del tiempo de tratamiento.	26

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1: Certificado de la clasificación taxonómica de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”.	44
Anexo 2: Fotografía de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”	45
Anexo 3: Mecanismo de acción de las sulfonilúreas	46
Anexo 4: Flujograma del proceso de extracción de los flavonoides del fruto de <i>Physalis peruviana</i> “aguaymanto”.	47
Anexo 5: Recolección de la muestra del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto” en el distrito de Quitarara, provincia de Huanta. Ayacucho- 2015.	48
Anexo 6: Elaboración del extracto hidroalcohólico de los frutos de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”. Laboratorio de Farmacognosia . Ayacucho- 2015.	49
Anexo 7: Fotografía de la identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”. Ayacucho- 2015.	50
Anexo 8: Etapas del proceso de obtención de los flavonoides de los frutos de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”. Ayacucho- 2015.	51
Anexo 9: Pruebas químicas de los flavonoides aislados de los frutos de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”. A) reacción de FeCl ₃ , B) reacción de Shinoda. Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho- 2015.	52
Anexo10: Sembrado de la placa cromatográfica de capa fina 20 x 20 conteniendo silicagel y desarrollo de la cromatografía de la fracción de acetato de etilo aislado de los frutos de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”. Ayacucho- 2015.	53

Anexo 11:	Cromatografía de capa fina de los flavonoides aislados de los frutos de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto” revelados con A) Vapores de NH ₃ B) Cloruro férrico al 5%. Ayacucho- 2015.	54
Anexo 12:	Cromatografía de capa fina de los flavonoides aislados de los frutos de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto” revelados con luz ultravioleta (UV).Laboratorio de farmacognosia. Ayacucho- 2015.	55
Anexo 13:	Recuperación de las bandas de la fracción de acetato de etilo, de la placa sembrada de flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”. Laboratorio de farmacognosia. Ayacucho- 2015.	56
Anexo 14:	Espectros ultravioleta visible (UV-VIS) de la fracción flavónica aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”. Ayacucho- 2015	57
Anexo 15:	A) Pesaje de animales de experimentación (ratas Holtzman) B) Inducción a la hiperglucemia con administración de aloxano por vía intraperitoneal.	58
Anexo 16:	A) Preparación de la solución de Glibenclamida B) Preparación de la solución de flavonoides de los frutos de de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”.	59
Anexo 17:	A) Administración oral de los tratamientos B) Grupos de tratamiento en sus respectivas aulas	60
Anexo 18:	A) Obtención de la sangre con ayuda de un estilete de la vena caudal de la cola de la rata B) Lectura de la glicemia con el Glucómetro. Laboratorio de farmacología. Ayacucho- 2015.	61
Anexo19:	Promedios del nivel de glicemia de los grupos de tratamiento a diferentes tiempos al evaluar la actividad hipoglucemiante de los flavonoides aislados del fruto	

	de <i>Physalis peruviana</i> “aguaymanto”, y Glibenclamida . Ayacucho - 2015 <i>Physalis peruviana</i> “aguaymanto”, y Glibenclamida . Ayacucho - 2015.	62
Anexo 20:	Porcentaje de eficacia hipoglicemiante por efecto de los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”. Ayacucho- 2015 en función del tiempo.	63
Anexo 21	Análisis de varianza (ANOVA) de los niveles de glucosa sanguínea por efecto de los flavonoides aislados de los frutos de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto” y Glibenclamida. Ayacucho- 2015 en función del tiempo de tratamiento.	64
Anexo 22:	Comparación de los niveles de glucosa sanguínea mediante la prueba de Duncan de los niveles de glucosa sanguínea por efecto de los flavonoides aislados de los frutos de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”. Ayacucho- 2015 de la primera, segunda y tercera hora.	65
Anexo 23:	Comparación de los niveles de glucosa sanguínea mediante la prueba de Duncan de los niveles de glucosa sanguínea por efecto de los flavonoides aislados de los frutos de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto. Ayacucho- 2015 de la cuarta y quinta hora.	66
Anexo 24:	Análisis de varianza (ANOVA) del área bajo la curva de los niveles de glucosa sanguínea por efecto de los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto” y Glibenclamida. Ayacucho- 2015.	67
Anexo 25:	Comparación del área bajo la curva mediante la prueba de Duncan de los niveles de glucosa sanguínea por efecto de tres concentraciones de los flavonoides aislados del fruto de de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto” y Glibenclamida. Ayacucho- 2015	68

Anexo 26:	Valores descriptivos del área bajo la curva de niveles de glucosa sanguínea por efecto de los flavonoides aislados de los frutos de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto. Ayacucho- 2015. Matriz de consistencia	69
Anexo 27:	Matriz de consistencia	71

RESUMEN

La diabetes representa un problema creciente para la salud pública dado su gran impacto socioeconómico. Algunos tratamientos tradicionales de la diabetes a base de plantas han recibido reconocimiento científico y la Organización Mundial de la Salud ha recomendado que esta área merezca atención. Por ello se planteó el objetivo de determinar la actividad hipoglucemiante de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto” sobre la hiperglucemia inducida con aloxano en ratas. La muestra fue recolectada del distrito de Huamanguilla, provincia de Huanta, región Ayacucho; la investigación se desarrolló en los laboratorios de Farmacología y Farmacognosia de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Los flavonoides se aislaron utilizando a técnica de Aguilar de extracciones sucesivas, los flavonoides aislados fueron identificados mediante pruebas químicas, cromatográficas y espectrales, las cuales indican la presencia de isoflavonas. La actividad hipoglucemiante se determinó por el Método descrito por Kameswara Rao y Col., se utilizaron 30 ratas Holtzman machos distribuidos en seis grupos de cinco cada uno, considerando un primer grupo blanco de ratas normoglicémicas, al segundo grupo control se le administró solución salina fisiológica, al tercero, cuarto, quinto y sexto grupo se administró 1; 2,5 y 5 mg/kg de flavonoides aislados y Glibenclamida 5 mg/kg respectivamente, se midieron los niveles de glucosa utilizando un glucómetro desde las 0, 1, 2, 3, 4 y 5 horas después de la administración de los tratamientos; el análisis de varianza del área bajo la curva muestra que existen diferencias estadísticamente significativas ($p = 3,3214E^{-32}$) entre los tratamientos, en la prueba de comparaciones duncan se confirma que la dosis de 2,5 mg/kg con 62,82% de eficacia hipoglucemiante es la que se acerca más a la glibenclamida con 70,91% de eficacia hipoglucemiante. Se concluye que los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto tienen actividad hipoglucemiante.

Palabras clave: *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”, Actividad hipoglucemiante, Diabetes.

I. INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de nuevas moléculas de origen vegetal con actividad biológica es de gran importancia ya que, a su vez, garantiza el progreso de nuevos fármacos útiles en la prevención, tratamiento o manejo de múltiples enfermedades. La importancia del presente trabajo de investigación radica en la necesidad de aportar evidencia científica sobre la existencia y actividad biológica de moléculas de origen vegetal, en este caso compuestos fenólicos y flavonoides, que potencialmente puedan resolver problemas del metabolismo de carbohidratos y las complicaciones que este implica. El estudio farmacológico de la diabetes requiere de diferentes enfoques, por lo que, conocida las propiedades antioxidantes de los flavonoides, estos representarían una base para la terapéutica de la diabetes desde una nueva perspectiva, diferente de la convencional actual.

El creciente interés en los flavonoides se debe a su amplia actividad farmacológica. Se han descrito efectos protectores en diversas condiciones patológicas como la isquemia cardiovascular, diabetes mellitus, hipercolesteremia, la aterosclerosis y el cáncer. Recientemente, sus efectos benéficos se han asociado como una alternativa en el tratamiento de las enfermedades neurodegenerativas, como en la enfermedad de Alzheimer (EA) y la enfermedad de Parkinson (EP).¹

La diabetes es una enfermedad metabólica caracterizada por un desorden en la regulación del metabolismo de hidratos de carbono. Conduce a la alta concentración de glucosa en sangre o hiperglucemia. Las predicciones realizadas por la OMS indican que el crecimiento global en el mundo de la prevalencia de pacientes diabéticos, en su mayoría de tipo 2, llegará a 439 millones de personas para el año 2030.²

El aumento de las evidencias de estudios tanto experimentales como clínicos sugiere que el estrés oxidativo juega un papel importante en la patogénesis de la diabetes mellitus. Los radicales libres se forman de manera desproporcionada en la diabetes por oxidación de la glucosa, la glicación no enzimática de proteínas, y la posterior degradación oxidativa de proteínas glicosilada. Los niveles anormalmente altos de radicales libres y la disminución simultánea de los mecanismos de defensa antioxidantes pueden llevar al daño de orgánulos celulares y enzimas, el aumento de la peroxidación lipídica, y el desarrollo de resistencia a la insulina. Estas consecuencias del estrés oxidativo pueden promover el desarrollo de las complicaciones de la diabetes mellitus. Estudios experimentales y clínicos recientes han descubierto nuevos conocimientos sobre el papel del estrés oxidativo en las complicaciones diabéticas, lo que sugiere un enfoque diferente e innovador para una posible terapia antioxidante causal, por ejemplo, los flavonoides.³ Estos metabolitos están presentes de manera importante en varias especies del género *Physalis*, y la especie *P. peruviana* no es la excepción, lo que explica su actividad antioxidante científicamente demostrada, además se reportan sus propiedades antidiabéticas.^{4,5} En este contexto, se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general

Determinar la actividad hipoglucemiante de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”.

Objetivos específicos

- Aislar los flavonoides del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”.
- Caracterizar los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”.
- Evaluar la actividad hipoglucemiante de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto” a diferentes dosis.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

La actividad hipoglucemiante de muchas especies vegetales ha sido comprobada científicamente mediante estudios *in vivo* en modelos animales. Se ha llevado a cabo un estudio para investigar el efecto del fruto de *Physalis spp.*, ya sea en polvo o extracto sólo o con cromo en ratas Sprague Dawley diabéticas inducida con estreptozotocina, donde se demostró claramente que la administración de una combinación de cromo y extracto o polvo de *Physalis spp.* podría mejorar la condición saludable de la diabetes en ratas.⁷

El extracto acuoso crudo de las hojas de *Physalis peruviana*, presentó actividad hipoglucemiante en un modelo animal.²

Un estudio realizado en el laboratorio de Análisis Clínicos y Microbiológicos KRISMARC de tipo experimental prospectivo con diseño de prueba cruzada mostró que la ingesta de *Physalis peruviana* L. reduce la glicemia postprandial en adultos jóvenes a los 90 y 120 minutos.¹³

De otro lado se demostró el efecto hipoglicemiante del extracto etanólico de frutos de *Physalis peruviana* L. (Aguaymanto) administrado por vía oral en ratas con sobre carga de glucosa y aloxanizadas, obteniéndose como resultado que al administrar el extracto en las 3 concentraciones se observa un efecto hipoglicemiante llegando hasta un 41.5% de disminución de la glucemia en ratas con sobre carga oral de glucosa. En el experimento de inducción de diabetes con aloxano se observa una disminución de 4.38% a las 2 horas con el extracto 600 mg/dL; así mismo se realizó el estudio histológico del páncreas donde se observa un menor daño del páncreas en el grupo experimental de inducción de la diabetes con aloxano que estaban en tratamiento con el extracto.¹⁴

Al evaluar la actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. mostró la presencia de taninos y fenoles, flavonoides, lactonas y/o cumarinas, quinonas, catequinas, aminoácidos y azúcares reductores y reporta

que el extracto hidroalcohólico tiene actividad diurética inferior a la furosemida, no es dosis dependiente y no mostró ningún grado de toxicidad.²⁹

Se evaluó el efecto oxiótico del extracto hidroalcohólico de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto" en útero aislado de cobayo, en el cual se concluye que el extracto hidroalcohólico de *Physalis peruviana* L. con mayor efecto oxiótico sobre el útero aislado de cobayo fue la de 0,50 mg/ml, siendo que a 0,25mg/ml posee efecto similar a la oxitocina, pero diferente a la acetilcolina.

En otro estudio al evaluar el Efecto antihipertensivo del extracto etanólico de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto", se demostró que los porcentajes de eficacia antihipertensivo fueron de 30,3%; 31%; 48,5% y 18,4% a la dosis de 100, 200, 400 y 600 mg/kg respectivamente, mientras que el captopril fue de 98,2% y losartán de 99,7%, por ello se concluye que extracto etanólico de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto" tiene efecto antihipertensivo.

También se evaluó el Efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de las hojas de *Morus nigra* L. "morera" sobre la hiperglucemia inducida con aloxano en ratas, en la cual se pudo concluir que a la dosis de 400 mg/kg mostró mejor efecto con respecto al control glibenclamida y los metabolitos secundarios encontrados en el extracto fueron: flavonoides, triterpenos, taninos, catequinas, sustancias fenólicas y alcaloides.³²

En otro estudio se demostró que el extracto hidroalcohólico de las flores de *Senna birostris* "mutuy" ejerce un efecto hipoglucemiante cercano a la glibenclamida, siendo la dosis de 400 mg/kg la que mostró un porcentaje de eficacia hipoglicemiante de 44.37%, cercano a la glibenclamida, con 55.59%.³³

Al evaluar el efecto hipoglicemiante de una tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana Bertoni* se mostró que presenta compuestos químicos como alcaloides, flavonoides, fenoles, taninos, triterpenos y esteroides, también se determinó los niveles de esteviósido en la tableta empleando la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), obteniéndose un 2,33% y 4,77 mg de esteviósido por tableta, y se determinó que estadísticamente tienen el mismo comportamiento con el grupo tratado con insulina y glibenclamida por lo cual se llegó a la conclusión de que las tabletas de *Stevia rebaudiana Bertoni* tienen efecto hipoglicemiante.³⁴

2.2. *Physalis Peruviana* L. “aguaymanto”.

2.2.1. Clasificación taxonómica *Physalis Peruviana* L. “aguaymanto”.

La Clasificación taxonómica se realizó según el sistema de clasificación de Cronquist A. 1988:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	SOLANALES
FAMILIA	:	SOLANACEAE
GÉNERO	:	<i>Physalis</i>
ESPECIE	:	<i>Physalis peruviana</i>. L.
NOMBRE VULGAR	:	“Aguaymanto”

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Anexo 1)

2.2.2. Descripción botánica

Planta semiarbusciva, de porte vertical y perenne, crece en zonas subtropicales, puede alcanzar 0,6 a 0,9 m de altura y en algunos casos hasta 1,8 m. Las flores pueden ser fácilmente polinizadas por los insectos, el viento y también por auto-polinización. El fruto es una baya jugosa de forma ovoide y un diámetro de entre 1,25 a 2,50 cm, 4 a 10 g de peso, conteniendo en el interior alrededor de 100 a 200 semillas pequeñas, el fruto está protegido por el cáliz que lo cubre por completo a lo largo de su desarrollo y maduración, protegiéndolo contra insectos, aves, enfermedades y situaciones climáticas adversas.⁶

2.1.4. Propiedades farmacológicas

En un estudio se demostró que el extracto del fruto de *Physalis peruviana* "tomatillo" en *Mus musculus* var. swis presenta actividad hipolipidémica en un modelo de hiperlipidemia aguda inducida con tritón .¹⁰

También se realizaron estudios sobre el efecto citotóxico de *Physalis peruviana* (capulí) en cáncer de colon y leucemia mieloide crónica, en la cual se llegó a concluir que los extractos etanólicos de hojas y tallos de *P. peruviana* son más citotóxicos que el 5-FU, en las líneas colo-205 y K562. Además, son menos citotóxicos en relación al 5-FU en la línea 3T3.¹¹

Por otro lado se evaluó el efecto antiinflamatorio de los extractos y fracciones de los cálices de *Physalis peruviana* mediante un modelo de inflamación aguda en ratón (modelo murino de edema auricular inducido por 13 – acetato de 12 –

tetradecanooilforbol; 2.5 μg disuelto en 20 μL de acetona), además de usarse indometacina como control positivo, el estudio confirma la actividad antiinflamatoria de los cálices de *Physalis peruviana*.¹²

2.1.5. Usos tradicionales

Muchos usos popularmente difundidos se atribuyen a *P. peruviana* L. como antiespasmódica, diurética, antiséptica, sedante, analgésica, ayudando a fortificar el nervio óptico, el alivio de los problemas de garganta, eliminación de parásitos intestinales y amebas. También se han reportado propiedades anti diabéticas, recomendando el consumo de cinco frutas al día. En diferentes regiones de Colombia, algunas de sus propiedades medicinales son para purificar la sangre a nivel renal, disminuir la albúmina, limpiar catarata y controlar la amebiasis. En la medicina tradicional peruana el fruto de *P. peruviana* L., se utiliza empíricamente para tratar el cáncer y otras enfermedades como la hepatitis, el asma, la malaria y la dermatitis, sin embargo, sus propiedades no se han demostrado científicamente.⁶

2.1.3. Composición química del género Physalis

El contenido de flavonoides en el género *Physalis* es muy variado, por ejemplo, se han elucidado ocho nuevos flavonoides de los cálices de *Physalis alkekengi* var. *Franchetii*, los mismos que estarían involucrados en la producción de óxido nítrico en macrófagos activados por lipopolisacáridos.⁸ También se ha aislado un nuevo glucósido de flavonol, miricetina 3-O-neohesperidósido a partir del extracto metanólico de las hojas de *Physalis angulata*⁹, así como alcaloides distribuidos en las partes aéreas y raíces de *P. peruviana*.⁵

En artículos de revisión se mencionan compuestos como fitosteroles, fisalinas y whitanóidos, característicos de este género.⁶

2.3 Flavonoides y diabetes mellitus

La principal actividad atribuida a los flavonoides es la de ser venoactivos, es decir, ser capaces de disminuir la permeabilidad de los capilares sanguíneos y aumentar su resistencia. Tienen como núcleo básico al 2-fenil cromano. Farmacológicamente son antioxidantes (por quelación de metales), acción antiespasmódica, antiinflamatoria, anticoagulante indirecto de la sangre, acción diurética, antiedematoso, hipocolesterolemiantes.¹⁵

Además de su actividad antioxidante, muchos flavonoides han demostrado actividad sobre objetivos biológicos implicados en la diabetes mellitus tipo 2, tales como: α -glucosidasa, cotransportador de glucosa o de la aldosa

reductasa.¹⁶ De igual forma, los flavonoides han demostrado un efecto protector frente a la diabetes mellitus experimental tipo 2 que puede estar relacionado con sus propiedades antioxidante/quelatorio. El aumento de la glucosuria indica que la inhibición de la reabsorción de glucosa renal también puede desempeñar un papel en el efecto hipoglucemiante de los dos flavonoides.³

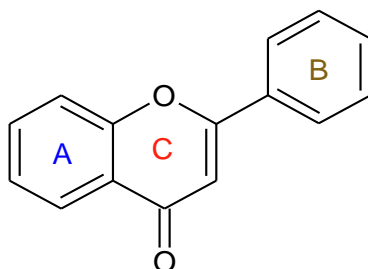


Figura 1: 2-fenilbenzopirona, núcleo básico de los flavonoides.⁸

2.4. Diabetes mellitus

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica definida por la presencia de la hiperglucemia. La hiperglucemia en todos los casos se debe a una deficiencia funcional de la acción de la insulina, lo cual puede deberse a una disminución de su secreción por las células β del páncreas.¹⁷

Fisiopatología de la diabetes:

La glucosa entra al sistema gastrointestinal a través de la comida y el metabolismo de los hidratos de carbono que se convierte en monosacáridos. En personas que no sufren de diabetes, el hígado produce la glucosa necesaria para compensar el requerimiento del cerebro y el sistema nervioso cuando el cuerpo se encuentra en estado basal. La secreción basal de insulina regula esta producción de glucosa hepática.³⁰

La hiperglucemia es producto de un déficit de insulina, tanto para la recaptación de glucosa en tejidos periféricos en estado post-prandial, como para regular la producción hepática en estado basal. Esta falla puede darse por una producción disminuida de insulina o por una falla en la sensibilidad celular hacia la insulina. Esto produce una detención de transporte de glucosa dentro de las células por lo que aumentan los valores de glucosa en sangre y subsecuentemente se manifiestan los síntomas de diabetes que incluyen poliuria, polidipsia, polifagia y fatiga. Cuando el déficit de insulina es leve, valores altos de glicemia se presentan solo en estados postprandiales.³¹

Transportadores de glucosa

La glucosa entra a las células por difusión facilitada o al intestino y los riñones por transporte activo secundario con sodio. En músculos, grasa y otros tejidos, la insulina estimula la entrada de glucosa a las células, al aumentar el número de transportadores de dicho carbohidrato en la membrana celular. Los transportadores de glucosa (GLU) que se encargan de la difusión facilitada del carbohidrato a través de las membranas celulares, son una familia de proteínas muy similares que “abarcan” doce veces la membrana celular y que dentro de la célula muestran sus terminaciones amino y carboxilo. Difieren de los transportadores de glucosa dependientes de sodio, SGL1 y SGL2, y no muestran homología con ninguno de los dos, y ambos se encargan del transporte activo secundario de la glucosa en los intestinos y en los túbulos renales; si bien los transportadores de glucosa dependientes de sodio también poseen doce dominios transmembrana. Se han identificado siete transportadores de glucosa, que han sido denominados transportador de glucosa 1 a 7 en orden de descubrimiento; contienen 492 a 524 residuos de aminoácidos y su afinidad por la glucosa varía. Al parecer, cada transportador evolucionó para encargarse de tareas específicas. El transportador de glucosa 4 es el que corresponde al músculo y tejido adiposo y es estimulado por la insulina; dentro de vesículas en el citoplasma de células insulinosensibles, hay un conjunto de moléculas de transportador de glucosa 4; cuando se activan los receptores insulínicos de tales células, las vesículas se desplazan rápidamente a la membrana celular y se fusionan con ella y así se insertan los transportadores en dicha estructura.¹⁸

Al cesar la acción insulínica, hay endocitosis de las zonas de la membrana con los transportadores. La activación del receptor insulínico desencadena el movimiento de las vesículas a la membrana mencionada, al activar la fosfatidilinositol3-cinasa pero no se ha dilucidado cómo la activación desencadena el movimiento vesicular. Muchos de los otros transportadores de glucosa que no son sensibles a la insulina al parecer se expresan por un mecanismo constitucional en la membrana celular. En los tejidos donde la insulina incrementa el número de transportadores de glucosa en las membranas celulares, otras hormonas regulan el grado de fosforilación de la glucosa dentro de las células.²⁰

Tolerancia a la glucosa

En la diabetes, la glucosa se acumula en la corriente sanguínea, en especial después de las comidas. Si se proporciona una carga de glucosa a un diabético, la hiperglucemia se intensifica y retorna al nivel basal con mayor lentitud en comparación con personas normales. La respuesta a una dosis estándar de glucosa en una prueba oral, la prueba de tolerancia a la glucosa oral, se utiliza en el diagnóstico clínico de la diabetes

La disminución de la tolerancia a la glucosa en la diabetes, depende en parte de la menor entrada de ésta en las células (menor utilización periférica). En ausencia de insulina, se reduce la entrada de glucosa en los músculos estriado y liso, miocardio y en otros tejidos.¹⁸

También disminuye la captación de glucosa en el hígado, pero tal efecto es indirecto. No se modifica la absorción de la glucosa en los intestinos, ni su resorción desde la orina por parte de las células de los túbulos proximales de los riñones. También es normal la captación de dicho carbohidrato en gran parte del cerebro y en los eritrocitos. La segunda causa de hiperglucemia en la diabetes y la más importante es la afección y la disminución de la función glucostática por parte del hígado. Este último capta glucosa de la corriente sanguínea y la almacena en la forma de glucógeno, pero contiene también glucosa 6-fosfatasa, razón por la cual “descarga” glucosa en la sangre. La insulina facilita la síntesis de glucógeno e inhibe la producción de glucosa por la glándula. Si hay hiperglucemia, aumenta normalmente la secreción de insulina y disminuye la glucogénesis hepática; dicha respuesta no aparece en las diabetes tipo 1 (no hay insulina) ni tipo 2 (los tejidos son resistentes a la hormona). El glucagón contribuye a la hiperglucemia porque estimula la gluconeogénesis. La producción de glucosa hepática tal vez sea estimulada por catecolaminas, cortisol y hormona del crecimiento (p. ej., durante una respuesta al estrés).¹⁷

Efectos de la hiperglucemia

La hiperglucemia, por sí misma, puede causar síntomas que son consecuencia de la hiperosmolalidad de la sangre. Además, surge glucosuria porque se ha rebasado la capacidad de los riñones para resorber glucosa. La excreción de las moléculas de glucosa osmóticamente activas se acompaña de pérdida de grandes cantidades de agua (diuresis osmótica). La deshidratación resultante activa los mecanismos que regulan el ingreso de agua y esto origina polidipsia. Por la orina se pierden cantidades importantes de sodio y potasio. Aumentar la

ingestión calórica para satisfacer dicha pérdida hace que aumente todavía más la glucemia y agrava la glucosuria, de tal modo que son inevitables la movilización de las reservas endógenas de proteínas y grasas, así como la reducción de peso.¹⁸

2.4.1 Clasificación de la diabetes¹⁸

La clasificación de la diabetes ha ido modificándose con el paso del tiempo, en mérito al avance de la ciencia y el mejor entendimiento de esta enfermedad.

Tabla 1: Tipos de Diabetes

Tipo	Definición
Diabetes mellitus tipo 1	Deficiencia de insulina y tendencia a la cetosis, por destrucción de las células β pancreáticas. Es autoinmune e idiopática.
Diabetes mellitus tipo 2	Grupo heterogéneo de trastornos caracterizado por grado variable de resistencia a la insulina, alteraciones en su secreción y producción excesiva de glucosa hepática.
Otros tipos específicos	Por defectos genéticos (diabetes del adulto de inicio juvenil), enfermedades del páncreas exocrino (pancreatitis crónica, fibrosis quística y hemocromatosis), endocrinopatías (acromegalia, síndrome de Cushing, glucagonoma, feocromocitoma e hipertiroidismo), fármacos (ácido nicotínico, glucocorticoides, tiazidas e inhibidores de la proteasa), y embarazo (diabetes mellitus gestacional).

Fuente. Harrison J. Manual de Medicina Interna.2010

2.5. Tratamiento farmacológico de la diabetes

2.5.1. Hipoglucemiantes orales

Son un conjunto heterogéneo de fármacos que, administrados por vía oral, producen una disminución de los niveles de glucemia a través de mecanismos pancreáticos y/o extrapancreáticos, lo cual las hace útil en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 como, secretagogos o insulino-trópicos (estimulan la secreción de insulina) como las sulfonilureas, meglitinidas, los insulinosensibilizadores (disminuyen la resistencia insulínica), las biguanidas, tiazolidinedionas (glitazonas) y reductores o enlentecedores de la absorción intestinal de glucosa como los inhibidores de la α -glucosidasas.¹⁹

2.5.2. Sulfonilúreas

Son derivados de las sulfamidas, en los cuales la estructura sulfonilúrea constituye el grupo esencial de la actividad hipoglucemiante. Diversas sustituciones en el anillo bencénico y en el grupo urea han originado compuestos

cuya potencia y propiedades farmacocinéticas difieren notablemente. Es preciso distinguir entre la acción a corto y a largo plazo. A corto plazo, las sulfonilureas provocan la liberación de insulina preformada en las células β del páncreas porque aumentan su sensibilidad a la glucosa. Para ello, las sulfonilureas actúan con gran afinidad sobre receptores asociados a los canales $R1$ adjunta a dicho canal. A estos receptores puede unirse también la meglitinida, fracción no sulfonilureica de la glibenclamida, que estimula igualmente la liberación de insulina. Como consecuencia de esta acción, el canal se cierra y la despolarización causada facilita la secreción de insulina. Para ello es preciso que las células β sean funcionantes.²⁰

Mecanismo de acción

Las sulfonilúreas provocan una acción hipoglucemiante a través de efectos pancreáticos y extra.pqncréaticos:

Efectos pancreáticos: Estimulan la segunda fase de secreción de insulina por las células beta del páncreas, es decir, la liberación de insulina preformada (acción secretagoga e insulíntrópica) en respuesta al estímulo fisiológico de la glucosa, lo cual produce un efecto hipoglucemiante agudo (efecto a corto plazo). La sulfonilúrea actúa uniéndose a receptores específicos presentes en la membrana de la célula β (receptor SUR-1); el cual se halla acoplado al canal de potasio dependiente de ATP en la célula (receptor SUR-1).

Existen dos isoformas de receptor de sulfonilúrea (SUR): SUR-1 (el de mayor afinidad), que predomina en páncreas, neuronas y cerebro, y SUR-2, que existe en músculo cardíaco, esquelético, liso y vascular.

La unión de la sulfonilúrea al receptor SUR-1 provoca la inactivación del canal de potasio, bloqueando la salida de K^+ . De este modo, las sulfonilúreas imitan la acción de los secretagos fisiológicos (como glucosa y leucina), que también disminuyen la conductancia del canal K^+ .

La menor conductancia al K^+ ocasiona la despolarización de a membrana celular. Entonces, los canales de calcio voltaje- dependientes se abren, incrementándose la concentración intracelular de Ca^{2+} , lo cual estimula la exocitosis de la insulina.

La insulina liberada por el páncreas entra a la vena porta, y la hiperinsulinemia portal resultante suprime la tasa basal elevada de producción de glucosa hepática. Además, los niveles sanguíneos elevados de insulina aumentan la captación de glucosa por parte del tejido muscular, llevando esto a una

reducción en los niveles de glucosa en plasma después de las comidas. Aunque se ha sugerido un efecto directo de la sulfonilurea en el aumento de la sensibilidad tisular a la insulina.

También presenta un efecto hipoglucemiante crónico (efecto a largo plazo) que se debe a la potenciación de la acción de la insulina a través de un aumento de receptores de la insulina o de su unión a ellos en los tejidos sensibles a la misma.

Efectos extrapancreáticos: Reducen la depuración de insulina por el hígado. Con respecto a otras posibles acciones extrapancreáticas hipoglucemiantes de las sulfonilúreas, si bien existen datos aislados de su posible actividad directa a nivel hepático (inhibición liberación hepática de glucosa) o muscular utilización de glucosa), la hipótesis más admitida es que, fundamentalmente, se trata de acciones indirectas y secundarias a la corrección de la liberación pancreática de insulina y al propio descenso inicial de la glucemia (corrección de la “glucotoxicidad”).

2.5.3. Glibenclamida

La glibenclamida es una sulfonilúrea, que disminuye la glucosa sanguínea en la diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID), por estimulación directa de la liberación de insulina a partir de las células funcionales β del tejido pancreático.¹⁹

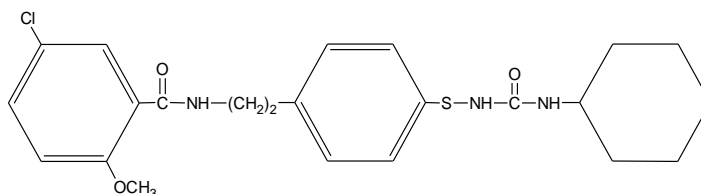


Figura 2. Estructura química de la glibenclamida²⁰

2.5.4. Otros

Biguadinas: Metformina, inhibidores de las α -glucosidasas como la acarbosa y el miglitol, meglitinidas como la repaglinida y nateglinida y las tiazolidindionas como las rosiglitazona y pioglitazona, fibras como la goma guar.²²

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de Farmacología y Farmacognosia de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, del departamento de Ayacucho ubicado a 2750 m.s.n.m., durante los meses de julio del 2015 a diciembre del 2015.

3.2. Población y muestra

Población.

La población estuvo constituida por la especie *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”, fue recolectada del distrito de Huamanguilla de la provincia de Huanta del departamento de Ayacucho.

Muestra.

Cuatro kilos (4 kg) de frutos de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”, fueron muestreados por criterio en horas de la mañana. Se seleccionaron los frutos que no estaban dañados, ni maltratados, fueron limpiados y guardados en bolsas de tela color oscuro y una parte se usó para la identificación botánica.

3.3. Unidad experimental

30 ratas Holtzman machos en buen estado de salud con pesos entre 200 - 250 g, que fueron adquiridas del Bioterio del Instituto Nacional de Salud (Chorrillos – Lima).

3.4. Fármaco de referencia

Glibenclamida 5mg tab del laboratorio de Farmaindustria.

3.5. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.5.1. Recolección de muestra.

Se recolectaron los frutos de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto” en buen estado, la cantidad de 4 kg aproximadamente, en el departamento de Ayacucho,

distrito de Huamanguilla, anexo de Quituraga, durante el mes de agosto del 2015 en horas de la mañana.

3.5.2. Preparación del extracto hidroalcohólico

4 kg de frutos frescos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto" fueron trozados previa limpieza y colocados luego en una fuente de vidrio, se procedió a colocar en una estufa a 40°C hasta desecación. Luego fueron macerados en un frasco de color ámbar por una semana en 2 L de alcohol 80°, durante el proceso se agitó el frasco periódicamente para la distribución homogénea de la muestra del extracto hidroalcohólico de *Physalis peruviana* L."aguaymanto". Luego se filtró con papel Whatman N° 40 y la solución hidroalcohólica se concentró en baño maría a una temperatura de 50 C° y finalmente se dejó hasta sequedad en una estufa a una temperatura a 45°C.

3.6. Determinación cualitativa de los metabolitos secundarios

Se realizó reacciones de coloración y precipitación para identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto" siguiendo los protocolos de referencia establecidos por Miranda y Cuéllar.²⁴

3.7 Extracción e identificación de los flavonoides²⁵

El extracto hidroalcohólico seco se reconstituyó con agua destilada y se trató con éter de petróleo para eliminar grasas, ceras, pigmentos y otros metabolitos que posiblemente interfirieron en la extracción de flavonoides.

La extracción líquido-líquido con acetato de etilo se hizo utilizando un embudo de separación, y se recuperó finalmente la fracción de acetato de etilo y evaporó a sequedad (fracción flavónica).

3.7.1. Identificación de la fracción flavónica

a) Prueba cualitativa:

- Reactivo de cloruro férrico: se añadió unas gotas de cloruro férrico 1%, sobre la fracción de acetato de etilo.
- Shinoda.

b) Cromatografía en Capa Fina (CCF)

Sistema Cromatográfico:

- Fase estacionaria: Placa cromatográfica 20x 20 conteniendo silicagel G 254(Merk)
- Fase móvil: Butanol: Ácido acético: agua (4:1: 5)
- Volumen de inyección:20 µl

- Revelador: Luz ultravioleta, cloruro férrico.

La fracción de acetato de etilo se disolvió en 0.5ml de metanol y mediante un capilar de vidrio, se aplicó en la parte inferior de la placa cromatográfica previamente activada (fase estacionaria), se colocó la placa de CCF en la cámara y se tuvo cuidado que el solvente butanol: ácido acético: agua (4:1:5) no sobrepasara a la muestra aplicada y se dejó que el líquido ascienda por capilaridad. Posteriormente se procedió a sacar la placa cromatográfica habiendo verificado que el solvente aia llegado hasta los 2 cm de la parte superior de la placa , se dejó secar la placa de CCF al aire libre y se observó en la lámpara UV, finalmente se reveló con cloruro férrico al 1%.

Aislamiento de flavonoides:

Sistema cromatográfico:

- Fase estacionaria: Placa cromatográfica 20x 5 conteniendo silicagel G 254(Merk)
- Fase móvil: Butanol: Ácido acético: agua (4:1: 5)

La siembra de la fracción de acetato de etilo se realizó en bandas con el propósito de aislar los flavonoides, los cuales se evidenciaron en la luz ultravioleta. Estas bandas fueron recuperadas, disueltas en metanol y filtradas para las pruebas espectrales.

Espectro UV: Las bandas que fueron obtenidas fueron leídas en el espectrofotómetro ultravioleta en el rango de 200 a 500 nm.

3.8. Determinación de la actividad hipoglucemiante²⁸

3.8.1. Preparación del aloxano

Se preparó una solución de aloxano 3 %, en 50 ml de agua destilada, de esta solución madre se tomó, para su administración, dosis correspondientes de 150 mg/kg de peso.

3.8.2. Preparación del estándar

Se preparó una solución de glibenclamida, 5 mg disuelto en 10 ml de agua destilada, para su administración se tomaron dosis correspondientes a 5 mg/kg de peso.

3.8.3. Preparación de la muestra

Se preparó una solución acuosa madre de 50 mg/50 ml y a partir del cual se administró las dosis correspondientes 1; 2,5 y 5 mg/kg de flavonoides.

3.8.4 Método de inducción de diabetes con aloxano.^{27, 28}

Fundamento: La administración parenteral de aloxano en los animales genera diabetes mellitus por destrucción selectiva de las células β del páncreas endocrino debido a la producción de radicales libres.

Procedimiento:

- Los animales fueron aclimatados en jaulas especiales con acceso a agua, alimento estándar, a temperatura ambiente ($21 \pm 1^\circ\text{C}$) y 50–60 % de humedad y con un ciclo de 12 horas luz/oscuridad.
- Luego de pesar a los animales se les administró por vía intraperitoneal una solución de aloxano a 150 mg/kg.
- Debido a que el aloxano es capaz de producir hipoglucemia letal, como resultado de la liberación de insulina pancreática masiva, las ratas fueron tratadas con solución de glucosa al 20 %, 10 ml en sus respectivos bebederos después de seis horas de la administración del aloxano monohidratado.
- Luego de 24 horas se realizó la confirmación de la hiperglucemia. Los animales que presentaron glucemia superior a 200 mg/dl fueron incluidos en el estudio.
- 12 horas antes de la administración de los tratamientos, los animales fueron sometidos a ayuno con agua *ad libitum*
- Las ratas fueron distribuidas aleatoriamente en seis grupos de cinco cada uno.
- Se realizaron las mediciones de glucemia a las 0, 1, 2, 3, 4 y 5 horas posteriores a la administración de los tratamientos.
- Las muestras de sangre de los animales fueron colectadas de la vena caudal de la cola, la glucosa se determinó por el método de la glucosa oxidasa con tiras reactivas del glucómetro ACCU - CHECK® Perfoma, la glucemia se midió en mg/dl.

3.9. Tipo y diseño de investigación

3.9.1. Tipo de investigación

a.- Tipo: Experimental, prospectivo, transversal y analítico

b.- Nivel: Explicativo

3.9.2. Diseño de investigación

El diseño experimental que se utilizó fue completamente randomizado. Las concentraciones de prueba fueron sometidas a experimentación, los animales fueron divididos de manera aleatoria en seis grupos, cada uno cinco repeticiones:

Los tratamientos se administraron inmediatamente después de confirmar la hiperglucemia.

- GRUPO A (blanco).- ratas normoglicémicas, no se les administró aloxano para inducir a hiperglucemia, para observar la glicemia normal, recibieron SSF 2 ml/kg , con 5 animales (n=5).
- GRUPO B (Control) ratas hiperglucémicas inducidas con aloxano, luego sólo recibieron SSF 2 ml/kg, para observar la hiperglucemia, con 5 animales (n=5).
- GRUPO C (Tratamiento 1) Flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto” 1 mg/kg de peso a ratas con hiperglucemia, 5 animales (n=5).
- GRUPO D (Tratamiento 2) Flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto” 2.5 mg/kg de peso a ratas con hiperglucemia, 5 animales (n=5).
- GRUPO E (Tratamiento 3) Flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto” 5 mg/kg a ratas con hiperglucemia, 5 animales (n=5).
- GRUPO F (Estándar), Glibenclamida 5mg/kg de peso a ratas con hiperglucemia para observar el efecto del fármaco, con 5 animales (n=5).

Se realizaron las mediciones de glucemia a las 0, 1, 2, 3, 4 y 5 horas posteriores a la administración de los tratamientos.

Tabla 2: Grupos de trabajo del diseño experimental

Grupos	Tratamiento	N° Ratas
Grupo A (blanco)	Normal + SSF 2 ml/kg	5
Grupo B (Control)	Alox. 150 mg/kg +SSF 2 ml/kg	5
Grupo C	Alox. 150 mg/kg + flavonoides 1 mg/kg	5
Grupo D	Alox. 150 mg/kg + flavonoides 2,5 mg/kg	5
Grupo E	Alox. 150 mg/kg + flavonoides 5 mg/kg	5
Grupo F (estándar)	Aloxano 150 mg/kg + glibenclamida 5 mg/kg	5

SSF. = Solución Salina Fisiológica

Alox.= Aloxano

El porcentaje de eficacia hipoglucemiante fue calculada usando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Eficacia hipoglucemiante} = \frac{Gx(\text{mg/dL}) - Go(\text{mg/dL})}{Go(\text{mg/dL})} \times 100$$

Go= nivel inicial de glicemia

Gx= niveles de glicemia a las: 1,2,3 ,4 y 5 horas posteriores a la administración del tratamiento

3.10. ANÁLISIS DE DATOS

Los resultados se expresaron en gráficos. Se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) a las áreas bajo la curva calculadas por el programa SIMFIT para ver las diferencias estadísticamente significativas entre el estándar glibenclamida y las dosis de flavonoides, con un nivel de significación estadística de 0,05. Las comparaciones se hicieron entre las áreas bajo la curva (ABC) de cada tratamiento a través de la Prueba Duncan para encontrar los grupos diferentes estadísticamente. El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 24.

IV.RESULTADOS

Tabla 3: Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”. Ayacucho- 2015.

Metabolitos secundarios	Reacción	Resultados	Observaciones
Flavonoides Compuestos fenólicos	Shinoda FeCl ₃	+++ +++	Coloración amarilla rojisa Coloracion verde
Azúcares reductores	Fehling	++	Precipitado rojo
Compuestos aminados y/o aminoácido libre	Ninhidrina	+++	Violeta
Catequinas	Con carbonato de sodio	+++	Verde carmelita en el Papel filtro a la luz UV
Lactonas	Baljet	++	Coloración naranja

LEYENDA:

(+++) Abundante
(++) Poco
(+) Leve

Tabla 4. Ensayos químicos de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”. Ayacucho- 2015.

Ensayo	Resultados	Características
FeCl ₃ 1%	.+++	Verde oscuro
Shinoda	+++	Amarillo rojizo

LEYENDA:

(+++) Abundante
(++) Poco
(+) Leve

Tabla 5. Características cromatográficas de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”. Ayacucho- 2015.

Fracción	Revelador	
	Luz UV(366nm)	FeCl ₃
Flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. “aguaymanto”	Fluorescencia violeta purpura	marrón
	Fluorescencia celeste fosforescente	marrón

Tabla 6. Características espectrales de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto". Ayacucho- 2015.

	Fluorescencias	Longitud de onda	
Muestra 1	violeta púrpura	278 nm	0,062 A
Muestra 2	Celeste fluorescente	284 nm	0,046 A

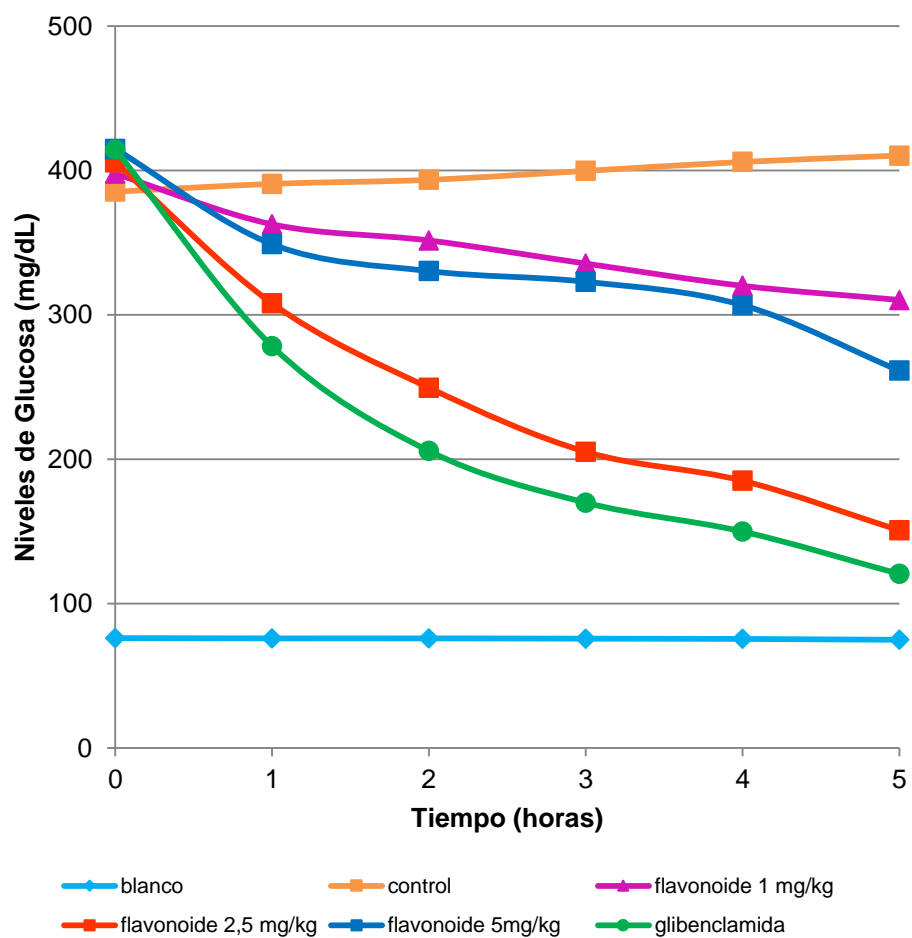


Figura 3: Variación de los niveles de glucosa sanguínea en función del tiempo, por efecto de la administración de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”. Ayacucho – 2015.

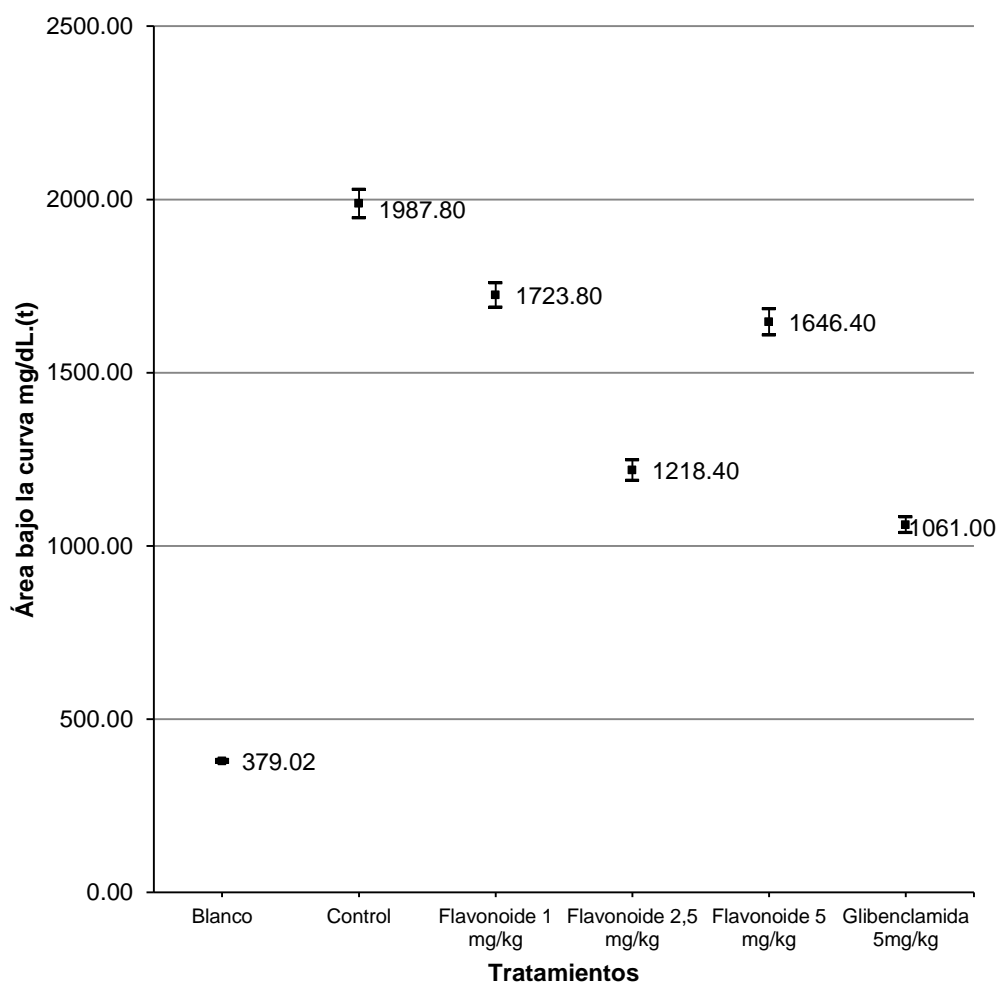


Figura 4: Área Bajo la Curva de la actividad hipoglucemiante de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto” y Glibenclamida. Ayacucho- 2015.

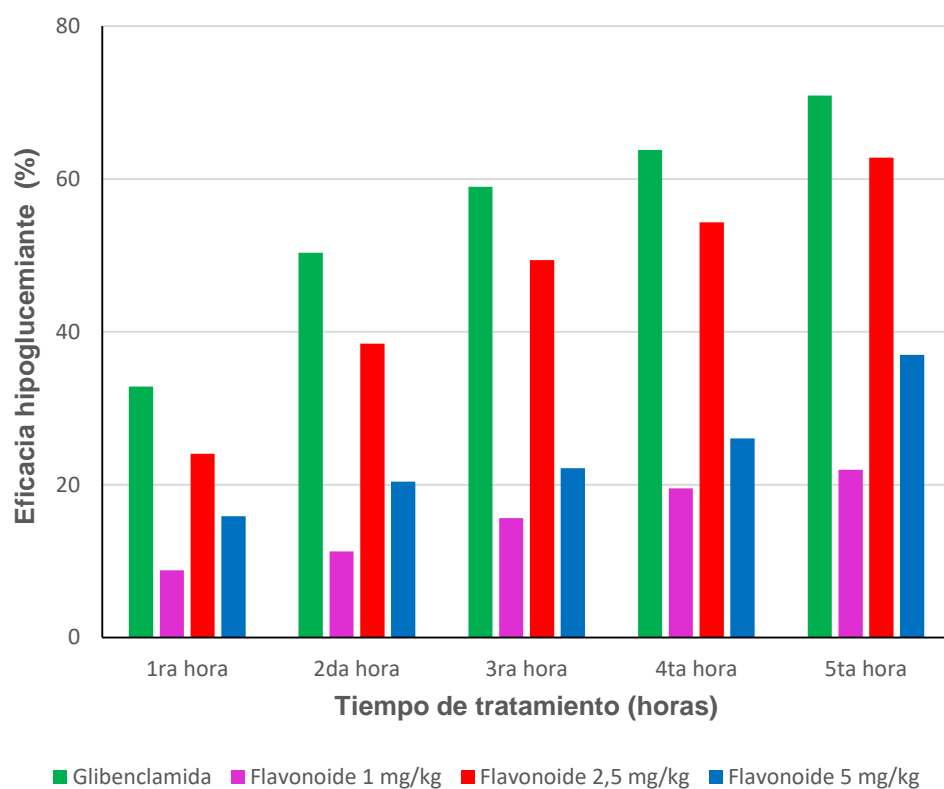


Figura 5: Eficacia hipoglucemiante de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto” y Glibenclamida. Ayacucho-2015 en función del tiempo de tratamiento.

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se determinó la actividad hipoglucemiante de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”, en la cual se utilizó una secuencia de disolventes de polaridad divergente para aislar los flavonoides, así como el etanol, el éter de petróleo y el acetato de etilo. La extracción de flavonoides está ampliamente reportado.²⁵ La separación de otros metabolitos secundarios se realizó mediante un proceso de extracción sucesiva de líquido a líquido utilizando un embudo de separación como se puede apreciar en el anexo 8; primeramente con el éter de petróleo para poder eliminar las grasas, ceras, pigmentos y otros metabolitos, la segunda extracción con acetato de etilo con la finalidad de aislar los compuestos fenólicos específicamente los flavonoides. Las reacciones de coloración pueden usarse para evidenciar la presencia de flavonoides una de las más específicas es la reacción de Shinoda, de la que resultan coloraciones características según el tipo de núcleo de flavonoides.⁴⁰ En el anexo 9 parte b se observa la reacción de Shinoda, en la cual se puede apreciar el cambio de coloración a amarillo rojizo, con ello indicando la presencia de flavonoides en la fase de acetato de etilo que por la característica del color amarillo rojizo podría tratarse posiblemente de flavonoides de tipo isoflavonas, flavonas y flavonoles, además en el estudio fotoquímico se encontró diversos metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico.

En la tabla 3, se plasma el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”, según la técnica de Miranda y Cuellar³² encontrándose la presencia de azúcares reductores, compuestos aminados, catequinas, lactonas, compuestos fenólicos y en mayor cantidad flavonoides, los metabolitos secundarios presentes se encuentran en gran cantidad esto debido a que el extracto hidroalcohólico arrastra metabolitos

mediana y fuertemente polares; en un estudio previo del extracto hidroalcohólico refiere en su composición la presencia de saponinas y alcaloides³⁹, los cuales no se evidenciaron en el tamizaje fitoquímico realizado en el presente estudio, lo que demuestra que la variabilidad de los componentes podría depender de la diferencia de las condiciones climáticas y edáficas de las zonas geográficas en la cual la planta se ha desarrollado. En el ensayo cromatográfico preliminar se confirmó la presencia de flavonoides observándose manchas con luz ultravioleta (CAMAG) 360 nm, revelándose con FeCl₃ al 1% adjuntado en la tabla 5 y anexo 11 donde se observa la presencia de flavonoides libres y metoxilados de manchas de color marrón oscuras y marrón tenue respectivamente. La detección de los flavonoides por cromatografía de capa delgada son visualizados con luz ultravioleta, se presentan como manchas fluorescentes azules, rosadas, púrpuras y otras; las cuales cambian o se intensifican de fluorescencia luego de su exposición a vapores de amoníaco⁴⁰, lo cual se pudo apreciar en el presente estudio ya que las manchas fluorescentes fueron violeta púrpura y celeste fosforescente visualizándose en el anexo 12. Los flavonoides resultantes de la fracción de acetato de etilo fueron aislados y purificados mediante cromatografía en capa fina a escala preparativa, las manchas caracterizadas fueron recuperadas del gel de sílice con metanol, lográndose aislar dos fracciones, por la concentración mínima de flavonoides no se encuentran curvas bien definidas. Los espectros de los flavonoides son determinados usualmente en solución metanólica. El espectro típicamente consiste de dos máximos de absorción en los rangos de 240-285nm (Banda II) Y 300-350 (banda I). Podría indicarse como característica que en dihidroflavonas, hidrofalconoles e isoflavonas la banda I es de baja intensidad (más baja que la banda II).⁴⁰ En la cromatografía revelada se encontró 2 manchas fluorescentes las cuales se observaron en el espectro ultravioleta, la curva espectral de la primera fluorescencia fue violeta púrpura a una longitud de onda (206 nm y 278 nm), de la segunda fluorescencia celeste fosforescente (206nm y 284 nm), los cuales podemos ver en el anexo 14 y tabla 6, en ambos casos se tratan de los flavonoides por la semejanza en algunas características como la coloración de luz UV(c/s NH₃) y según la visualización de espectros al encontrarse dentro de los rangos de referencia mencionados anteriormente y la literatura de Look de Ugaz.⁴⁰ se trata de la presencia de flavonoides de tipo isoflavonas, dihidroflavonoles y flavanonas. Estos resultados son compatibles con otros estudios, donde los flavonoides encontrados en

Physalis son variados, pudiendo estar en forma de glicósidos de flavonas y flavonoles. En las hojas de *Physalis peruviana* L., han sido encontrados flavonoles di y triglicosados, como el campferol-3-O-rutinosídeo, campferol-3-O-rutinosídeo-7-O-glicosídeo, quercetina-3-O-rutinosídeo, quercetina-3-O-rutinosídeo-7-O-glicosídeo²¹; en los cálices de *Physalis alkekengi* L., fueron obtenidos flavonoles y flavonas tanto en forma de aglicona como glicosilados⁸.

En el extracto de la parte aérea de *Physalis minima* L. fueron aisladas flavonas metoxiladas y metiladas.²⁶

En *Physalis angulata*, fue reportada la presencia de un flavonol glicosilado, conocido con el nombre de miricetina 3-O-neoesperidosídeo, que posee actividad citotóxica contra células de cáncer.⁹

Trabajos previos reportan flavonoles como rutina, miricetina y kaempferol en el cáliz y el fruto *P. peruviana* L.³⁸ y diez ácidos fenólicos identificados por medio de cromatografía de gases, dentro de los que destacan el ácido salicílico y protocatequínico a partir del extracto metanólico del fruto de esta planta.³⁹

La diabetes experimental fue inducida utilizando el método de Kameswara Rao y Col.²⁷, utilizando como inductor el aloxano, el cual produce toxicidad selectiva de las células β pancreáticas, y al dañarlas disminuye el nivel de insulina e induciendo a un estado de diabetes mellitus insulino dependiente. El mecanismo de daño pancreático por el aloxano se justifica debido a su similitud molecular con la estructura de la glucosa. El aloxano puede generar especies reactivas de oxígeno (ROS) en una reacción cíclica redox, produciendo el ácido dialurónico, por lo tanto se asume que la acción tóxica del aloxano producida en las células β es iniciada por la formación intracelular de radicales libres en esta reacción redox.³⁷ Existen muchas investigaciones donde utilizan éste método de inducción de diabetes con aloxano.^{32,33,42} En un estudio realizado sobre el efecto del extracto etanólico del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto” sobre la glucemia en animales de experimentación en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de Lima, también utilizaron como inductor al aloxano a una concentración de 130 mg/kg y demostraron el daño causado a las células β pancreáticas al realizar un estudio histopatológico del páncreas de los animales expuestos al aloxano.¹⁴

Podemos decir que todos los grupos de animales (ratas) presentaron un promedio de concentración de glucosa basal en sangre de 76,6 mg/dL, éste primer dato sirvió para demostrar que los animales utilizados en el estudio son

normoglicémicos aptos para el trabajo de investigación que se ejecutó. Los valores promedio en condiciones basales en los animales, se asemejan al de los humanos, con valores entre 60- 115 mg/dL. Los datos corresponden a ese rango. Con la inducción del aloxano se logró valores hiperglicémicos mayores a 200 mg/dL. El análisis de varianza ANOVA reveló diferencia significativa ($p = 3,3214E^{-32}$) entre los tratamientos.

En la figura 3 y anexo 19, se observa que a tiempo cero el grupo control (el grupo B) se inicia con 385,4 mg/dL de glucosa, después de una hora se eleva a 390,8 mg/dL, en la segunda hora se incrementa a 393,6 mg/dL, en la tercera hora a 399 mg/dL, la cuarta hora a 406 mg/dL y la quinta hora a 410,4 mg/dL, como en el experimento realizado por Giraldo B.¹⁴, observándose el incremento del nivel de glucosa debido a que el daño a las células β del páncreas va en aumento ya que no hay presencia de antioxidantes que puedan proteger dichas células, como sí se puede observar en los grupos tratados con los flavonoides.

Mientras que con el grupo C (1 mg/kg) y E (5 mg/kg) a partir de la primera hora comienza a disminuir la glucemia durante todas las horas de evaluación con respecto al grupo B (control), sin embargo, no fue suficiente para normalizar los niveles de glucemia.

El grupo tratado con glibenclamida (el grupo F), se inicia con 414,6 mg/dL de glucosa y a partir de la primera hora disminuye hasta valores normales.

En cuanto al grupo D (2,5mg/kg de flavonoide), inicia con 405,4 mg/dL se observa que disminuyó progresiva y sostenidamente la glicemia desde la primera hora hasta la quinta hora posadministración de los flavonoides; acercándose al grupo de glibenclamida; esta disminución es significativa (prueba de Duncan) la glicemia en todas las horas evaluadas posadministración del extracto, cuando se compara con el grupo B (control). Estos resultados son compatibles con otros estudios realizados en el Instituto de Medicina Tradicional (Iquitos-Perú)⁴² y en la Universidad de Madras, Chennai, India.⁴⁷

En el presente estudio se puso en evidencia que los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto" administrados a la dosis de 2,5 mg/kg (grupo D) tienen efecto hipoglucemiante en ratas cepa Holtzman con diabetes mellitus experimental, cuando se compara con el grupo F (Glibenclamida).

Ambos grupos empiezan su acción a partir de la primera hora, y la respuesta hipoglucemiante es sostenida hasta la quinta hora posadministración del extracto; conforme pasa el tiempo es mayor la disminución de la glucemia.

No se evidenció un efecto dosis-respuesta en los grupos D (2,5 mg/kg) y E (5 mg/kg).

La diabetes mellitus se asocia con una mayor producción de especies reactivas de oxígeno y una reducción en las defensas antioxidantes. Esto conduce al estrés oxidativo, que es en parte responsable de las complicaciones diabéticas. El control glicémico estrecho es la forma más efectiva de prevenir o disminuir estas complicaciones. Sin embargo, los micronutrientes antioxidantes se pueden proponer como terapia coadyuvante en pacientes con diabetes.⁴³

Es ampliamente aceptado que la diabetes mellitus incrementa la producción de radicales libres derivados del oxígeno, tales como: anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radical hidroxilo (OH^-), superando los mecanismos de protección del organismo contra ellos, bajo estas circunstancias pueden establecerse condiciones patológicas conocidas como estrés oxidante, las cuales pueden ser de tipo oxidante o nitrosante, dependiendo de las reacciones que predominen. En contraposición, los flavonoides desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, sus propiedades antirradicales libres se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidróxido y superóxido, especies altamente reactivas.⁴⁴

Los flavonoides mejoran la secreción de insulina y protegen las células pancreáticas del daño causado por radicales libres. Además previenen las complicaciones de la diabetes como la arterioesclerosis, debido a que regulan la permeabilidad capilar y pueden prevenir la oxidación del LDL colesterol. Tiene acción inhibitoria de la aldosa reductasa, enzima que metaboliza el exceso de glucosa intracelular, previniendo el desarrollo de cataratas y neuropatía, lo cual se puede apreciar en un estudio realizado con extracto etanólico liofilizado de frutos de *Physalis peruviana* donde se evidenció protección por parte del fruto.^{14,47}

Es posible varios mecanismos por los cuales la planta reduce la concentración de glucosa en sangre: mayor liberación de insulina a través de la estimulación de las células β pancreáticas, la resistencia a las hormonas que incrementan la tasa de liberación de la glucosa, aumento del número y la sensibilidad de los receptores de la insulina, la disminución de la degradación del glucógeno, el

aumento en la captación de glucosa por los tejidos y órganos, eliminación de radicales libres, resistencia a la peroxidación de los lípidos; corrección del desorden metabólico causada en lípidos y proteínas, la reducción de la absorción intestinal de glucosa, y estimulación de un aumento de la microcirculación sanguínea en el organismo.⁴⁶

La relación entre los flavonoides y la actividad antidiabética ha sido estudiada en modelos in vivo; donde Zhag et al estudiaron el efecto del flavonoide isoquercetina en ratones con diabetes mellitus inducida. Los autores plantearon que la isoquercetina inhibe la acción de la enzima α -glucosidasa localizada en el epitelio del intestino delgado. La inhibición de la α -glucosidasa retrasa la absorción de carbohidratos en el intestino delgado y consecuentemente disminuye la hiperglucemia.¹⁴ Actualmente existe un estudio realizado en la Universidad de Madras, Chennai, India, en la cual se atribuye la actividad hipoglucemiante del fruto de *physalis peruviana* L. a la presencia de flavonoides tales como rutina, Miricetina, quercetina y kaempferol. Además, los datos sugieren que la actividad hipoglucémica observada puede ser debida a las propiedades antioxidantes significativas de los flavonoides del fruto favorecidas por el alto grado de sustitución del grupo hidroxilo y mostraron (38,91% de inhibición a una concentración de 100 μ g / ml) en DPPH y (35,45% de inhibición a una concentración de 20 μ g/ml) en un ensayo ABTS, que refleja su capacidad de eliminación de radicales; también se observó que el grupo de ratas tratadas con metformina mostraron un patrón similar de protección de las células al de las ratas tratadas con el extracto de los frutos de *physalis peruviana* L., al evaluar los niveles de peróxidos lipídicos, hidroperóxidos y carbonilos proteicos en plasma.⁴⁷

Existen, además, estudios clínicos que implican a los flavonoides en la prevención de la diabetes aludiendo a sus propiedades antiinflamatorias, antitrombóticas, antioxidantes y anticancerígenas.⁴⁵

En un estudio sobre un tipo de glicósido de flavona (derivados de flavonoide) que demostró actividad hipoglucemiante debido a que estaría ligado a los receptores proliferadores de peroxisomas (PPAR) o antagonistas de receptores de glucagón, inhibidor dipeptidil peptidasa IV y activador de los receptores de insulina . Hay tres subtipos de PPAR: PPAR- α , PPAR- γ y PPAR- δ ; con respecto al PPAR- γ está relacionado con la regulación y maduración del adipocito, siendo el sitio de acción para los fármacos sensibilizadores a la acción de la insulina,

como la pioglitazona, troglitazona y rosiglitazona, los que conllevan a la reducción de la glicemia¹⁴. Esta molécula podría ser el punto de acción donde probablemente actuarían los flavonoides presentes en los frutos de *Physalis peruviana* L.

Además, se ha demostrado que los flavonoides, como la quercetina, ejercen buen efecto hipoglucemiante, a través de la acción sobre la alfa-glucosidasa que favorece la fosforilación de la glucosa, para formar glucosa-6 fosfato, paso limitante para la glucólisis y la regulación de la glicemia.

Algunas limitaciones deben ser reconocidas. Para evaluar el efecto hipoglucemiante se usó un modelo agudo, el cual solo permite evidenciar este efecto dentro de las 24 h siguientes a la inducción de la diabetes, pero es un modelo válido por que permite hacer un screening rápido de nuevas sustancias con potencial acción inmediata sobre el control de la glicemia; además, hay estudios que evalúan la glicemia durante 24 h²⁸, e incluso, en menos tiempo. Para controlar la modificación de la glicemia causada por el estrés, se ha incluido en el estudio un grupo blanco, es decir, un grupo de ratas a las cuales no se les indujo diabetes y se les suministró solución salina fisiológica. Consideramos que un buen grupo control debe estar expuesto a las mismas condiciones que el resto de grupos para poder comparar, es así que incluimos como control a un grupo de ratas a las cuales se les indujo diabetes y se les administró solución salina fisiológica.

En la figura 4, se muestra el área bajo la curva (ABC) de la actividad hipoglucemiante de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto" y Glibenclamida. El área bajo la curva (ABC) es un parámetro farmacocinético que representa la concentración de un fármaco, en este caso la glucosa en sangre. El primer grupo es el blanco y corresponde a ratas normoglicémicas. El tratamiento con Glibenclamida alcanzó un ABC igual a 1061,00 mucho menor a los grupos tratados con los flavonoides, deduciendo que este grupo hubo menor cantidad de glucosa sanguínea, con diferencia estadística frente a las demás. Con la dosis de los flavonoides aislados de 1; 2,5 y 5 mg/kg, se alcanzaron ABC de 1723,80; 1218,40 y 1646,40 respectivamente, con estos resultados podemos deducir que con los la dosis de 2,5 mg/kg de flavonoides se logró reducir de manera importante la concentración de glucosa en sangre con respecto a las otras dosis experimentales y similares al fármaco de referencia, glibenclamida, que mostró un efecto significativo.

En la figura 5 y anexo 20 se puede apreciar que los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto" a la dosis de 2,5 mg/kg tienen mayor actividad, ya que con esta dosis se evidenció un efecto hipoglucemiante sostenido a partir de la primera hora prolongándose hasta la quinta hora posadministración del extracto y mayor eficacia hipoglicemiante después de 5 horas de administración del tratamiento (62,82%) cercano a la glibenclamida (70,91%). En investigaciones previas realizadas en la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Mendez, en el estudio efecto hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de las flores de *senna birostris* "mutuy" en ratas Wistar mostró un porcentaje de eficacia hipoglicemiante de 44,37% a la dosis de 400 mg/kg.³³ Velarde, en el efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de las hojas de *Morus nigra* L. "morera" sobre la hiperglucemia inducida con aloxano en ratas a dosis de 400 mg/kg mostró un porcentaje de eficacia hipoglicemiante de 70,3%.³² La variación de la actividad hipoglicemiante se debió a que se trabajó con las diferentes partes de las plantas como es el caso de las hojas, flores, frutos, ya que también el metabolito secundario varía en las diferentes especies de plantas y como a factores propios de los animales (raza, peso, estrés de los animales), al tipo de extracto hidroalcohólico y etanólico; ya que éstos contienen diversos tipos de metabolitos secundarios y posiblemente el efecto hipoglucemiante que presentaron se deba a la sinergia de éstos metabolitos; a diferencia del presente estudio donde se trabajó específicamente con flavonoides aislados; pero en los diferentes estudios se realizó con material biológico y fármaco de referencia del mismo tipo. La presente investigación sirvió para demostrar que los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto" poseen actividad hipoglucemiante en las condiciones experimentales y podría ser considerada como producto natural de utilidad como coadyuvante en los tratamientos de pacientes que presentan intolerancia a la glucosa y Diabetes Mellitus.

VI. CONCLUSIONES

1. Los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto” tienen actividad hipoglucemiante en ratas que fueron inducidas a una hiperglucemia con aloxano.
2. Se aisló los flavonoides del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”, los mismos que espectralmente corresponden a flavonoides de tipo isoflavona, dihidroflavonoles y flavanonas.
3. Se caracterizó los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto” mediante pruebas químicas y espectrales.
4. Se evaluó la actividad hipoglucemiante de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto” a diferentes dosis, siendo la dosis de 2,5 mg/kg con 62,82% de eficacia hipoglucemiante la que se acerca más al estándar de referencia glibenclamida con 70,91% de eficacia hipoglucemiante.

VII. RECOMENDACIONES

1. Proseguir con el estudio de la actividad hipoglucemiante de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”, identificando y cuantificando cada uno de los componentes por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).
2. Realizar estudios de mayor duración por ser la Diabetes Mellitus una patología crónica y evaluar el perfil lipídico, la peroxidación lipídica y las enzimas relacionadas con la diabetes en un tratamiento prolongado con esta planta.
3. Realizar un estudio histopatológico del páncreas, hígado y riñón para ver el daño que produce el aloxano además del grado de protección de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”.
4. Elaborar un fitofármaco tratando de potenciar la actividad hipoglucemiante de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto”.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Limón D, Díaz A, Mendieta L, Luna F, Zenteno E, Guevara J. Los flavonoides: mecanismo de acción, neuroprotección y efectos farmacológicos. Mensaje bioquímico; [Revista en internet] 2010 [acceso 26 octubre de 2016].34. Disponible en: http://bq.unam.mx/wikidep/uploads/MensajeBioquimico/Mensaje_Bioq10v34p143-154_DanielLimon2010.pdf
2. Kasali FM, Kadima, JN, Mpiana PT, Ngbolua, KTN, Tshibangu DST. Assessment of antidiabetic activity and acute toxicity of leaf extracts from *Physalis peruviana* L. in guinea-pig. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine; [Revista en internet] 2013 [acceso 15 noviembre de 2016] 3(11):841-846. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169113601665>
3. Lukačinová A, Mojžiš J, Beňačka R, Keller J, Maguth T, Kurila P, Ništiar F. Preventive effects of flavonoids on alloxan-induced diabetes mellitus in rats. Acta Veterinaria Brno, [Revista en internet] 2008 [acceso 15 noviembre de 2016], 77(2):175-182. Disponible en: <http://actavet.vfu.cz/archives/volume77/issue2/200877020175.html>
4. Wu SJ, Ng LT, Huang YM, Lin DL, Wang SS, Huang SN, Lin CC. Antioxidant activities of *Physalis peruviana*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, [Revista en internet] 2005 [acceso 15 noviembre de 2015], 28(6): 963-966 Disponible en: <http://japanlinkcenter.org/JST.JSTAGE/bpb/28.963?from=Google>
5. Kubwabo C, Rollmann B, Tilquin B. Analysis of alkaloids from *Physalis peruviana* by capillary GC, capillary GC-MS, and GC-FTIR. *Planta medica*; [Revista en internet] 1993 [acceso 15 noviembre de 2016], 59(02):161-163. Disponible en: <https://www.thieme-connect.com/ejournals/abstract/10.1055/s-2006-959634>
6. Puente LA, Pinto-Muñoz CA, Castro ES, Cortés M. *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. *Food Research International*, [Revista en internet] 2011 [acceso 15 noviembre de 2015], 44(7):1733-1740. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996910003571>
7. El-Mehiry HF, Helmy HM, El-Ghany MA. Antidiabetic and Antioxidative Activity of *Physalis* Powder or Extract with Chromium in Rats. *World Journal of Medical Sciences*, [Revista en internet] 2012 [acceso 15 noviembre de 2015], 7(1):27-33. Disponible en: [http://idosi.org/wjms/7\(1\)12/6.pdf](http://idosi.org/wjms/7(1)12/6.pdf)
8. Qiu L, Zhao F, Jiang ZH, Chen LX, Zhao Q, Liu HX, Qiu F. Steroids and flavonoids from *Physalis alkekengi* var. *franchetii* and their inhibitory effects on nitric oxide production. *Journal of natural products* [Revista en internet] 2008 [acceso 8 de octubre de 2015], 71(4):642-646. Disponible en: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np700713r>
9. Ismail N, Alam M. A novel cytotoxic flavonoid glycoside from *Physalis angulate* Fitoterapia, [Revista en internet] 2001 [acceso 8 de noviembre de 2015], 72(6):676-679. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0367326X01002817>
10. Campos J, Bodadilla D. Efecto del extracto del fruto de *Physalis peruviana* "tomatillo" en *Mus musculus* var. *swis* con hiperlipidemia inducida. *Scientia Agropecuaria*. [revista en internet]. 2011 [acceso, 13 de Octubre de 2015]; Disponible en: [Dialnet EffectOfPhysalisPeruvianaTomatilloFruitExtractInMu-5113764.pdf](http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5113764)

11. Zavala D, Vaisberg A. Efecto citotóxico de *Physalis peruviana* (capulí) en cáncer de colon y leucemia mieloide crónica. Anales de la Facultad de Medicina Universidad Nacional Mayor de San Marcos. [revista en internet]. 2006 [acceso, 13 de Noviembre de 2016]; Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v67n4/a02v67n4>.
12. Pinzón R, Calle J. Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana* L. Revista Biomédica [revista en internet]. 2007 [acceso, 16 de Noviembre de 2015]; Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572007000100010
13. Rodríguez s, Rodríguez E. Efecto de la ingesta de *Physalis peruviana* "aguaymanto" sobre la glicemia postprandial en adultos jóvenes. Revista Médica Vallejana. [revista en internet]. 2007 [acceso, 13 de Octubre de 2015]. 1(4): 43-53; Disponible en: <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rmv/v04n1/pdf/a05v4n1.pdf>
14. Giraldo L. Estudio del efecto del extracto etanólico del fruto de *Physalis peruviana* (aguaymanto) sobre la glucemia en animales de experimentación. [Tesis de Maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.
15. Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia. 2ª ed. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.; 2001.
16. Nicolle E, Souard F, Faure P, Boumendjel A. Flavonoids as promising lead compounds in type 2 diabetes mellitus: molecules of interest and structure-activity relationship. Current medicinal chemistry; [Revista en internet] 2011 [acceso 10 de noviembre de 2015], 18(17):2661-2672. Disponibl en: <http://www.ingentaconnect.com/content/ben/cmc/2011/00000018/00000017/art00015>
17. Mcphee S, Ganong W, Lingappa V, Large J. Trastornos del páncreas endocrino: Fisiopatología médica. Una introducción a la medicina clínica 8ª ed. México: El Manual moderno S.A; 2000.
18. Harrison J. Manual de Medicina Interna. 17ª ed. México: Mc. Graw. Hill; 2010.
19. Alvarado J. Apuntes de farmacología. Lima-Perú: Apuntes médicos del Perú. Vol.4; 2009.
20. Flórez J. Farmacología humana. 3ª ed. Barcelona-España: Masson; 1997.
21. Eliger, C., Eash, J., Waiss, Jr. (1992). Kampferol and quercetin di and triglycosides from *Physalis peruviana* leaves. Biochemical Systematics and Ecology, 20:268-9.
22. Fernández I, Martín J, Alvarez F. Tratamiento de la diabetes tipo 2. Estrategias terapéuticas con antidiabéticos orales. Revista el médico interactivo [revista en internet]. 2003 [acceso, 13 de Octubre de 2015]. Disponible en: [http:// www.elmedicointeractivo.com](http://www.elmedicointeractivo.com)
23. Arroyo J, Rojas J, Chenguayen J. Manual de Modelos Experimentales de Farmacología. Primera Edición. Lima, Perú: Editorial Asdimor. 2006.
24. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Universidad La Habana: Universidad de La Habana; 2000.
25. Aguilar E. Estudio de los flavonoides aislados de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) y determinación de su actividad antioxidante y antirradicalaria. [Tesis de Maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2007.
26. Serr, N. (1998). Flavonoids from *Physalis minima*. Phytochemistry, 27:3708-9.

27. Kameswara R. Antidiabetic and hypolipidemic effects of *Momardica cimbalaria* Hook. Fruit in alloxan diabetic rats. *Journal Ethnofarmacology* [Revista en internet]. 1999 [acceso, 02 de Octubre de 2015]. 67:103-109; Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874199000045>
28. Palomino C. Efecto del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. "guanábana" sobre la hiperglucemia inducida con aloxano en ratas. [Tesis de Maestría]. Lima: servicio de publicaciones e intercambio científico; UNMSM; 2007.
29. Salazar P. Actividad diurética del extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "capuli" en *Cavia porcellus* "cobayo": [Tesis de pregrado]. Facultad de Ciencias Biológicas-UNSCH. Ayacucho-Perú. 2012.
30. Noble , J. 2001. *Textbook of primary care Medicine*. Mosby, 3era edition, 2001 chapter 96.
31. Buitrón, P. 2009. Presencia de Diabetes Mellitus tipo 2 en pacientes ingresados al servicio de angiografía con diagnóstico de enfermedades coronarias. Facultad de Medicina- Quito 2009.
32. Velarde Q. Efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de las hojas de *Morus nigra* L. "morera" sobre la hiperglucemia inducida con aloxano en ratas. [Tesis de pregrado]. Facultad de Ciencias Biológicas-UNSCH. Ayacucho-Perú. 2012.
33. Mendez B. Efecto hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de las flores de *Senna birostris*. "mutuy" sobre la hiperglucemia inducida con aloxano en ratas. [Tesis de pregrado]. Facultad de Ciencias Biológicas-UNSCH. Ayacucho-Perú. 2013.
34. Yance R. . Efecto hipoglicemiante de una tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* en ratas albinas. [Tesis de pregrado]. Facultad de Ciencias Biológicas-UNSCH. Ayacucho-Perú. 2013.
35. Romero N. Efecto oxiótico del extracto hidroalcohólico de los frutos de *Physalis peruviana* L."aguaymanto" en útero aislado de cobayo. [Tesis de pregrado]. Facultad de Ciencias Biológicas-UNSCH. Ayacucho –Perú. 2014.
36. Martínez G."Efecto antihipertensivo del extracto etanólico de los frutos de de *Physalis peruviana* L."aguaymanto" [Tesis de pregrado]. Facultad de Ciencias Biológicas-UNSCH. Ayacucho –Perú. 2014.
37. Elsner, M.; Gurgui, E. y Lenzen. 2006. Relative importance of cellular uptake and reactive oxygen species for the toxicity of alloxan and dialuric acid to insulin- producing cells. *Journal Biology and Medicine*. 2006; 40:2047-2055.
38. Licodiedoff, S., L.A.D. Koslowski, & R.H. Ribani. 2013. Flavonol rates of goseberry fruits *Physalis peruviana* determined by HPLC through the optimization and validation of the analytic method. *Int. J. Food Sci. Nutr. Eng.* 3, 1-6.
39. Rockenbach, I.I., E. Rodrigues, C. Cataneo, L.V. Gonzaga, A. Lima, J. Mancini-Filho & R. Fett. 2008. Phenolic acids and antioxidant activity of *Physalis peruviana* L. *Alimentos e Nutrição*. 19, 271-276.
40. Lock O. *Investigación fitoquímica*. 2a ed. Lima: Fondo editorial PUCP; 1994.
41. Sánchez M Maribel C, Rodríguez A Rubén A, Martín D Verónica, Sepúlveda P Liliana E, Sutil N Rosalía, Contreras Freddy et al . Estrés y vitaminas antioxidantes en pacientes diabeticos Tipo 2. *AVFT* [Internet]. 2008 Jun [citado 2017 Ene 02] ; 27(1): 58-64. Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-02642008000100010&lng=es.
42. Aranda-Ventura José, Villacrés Jorge, Mego Rosario, Delgado Henry. Efecto de los extractos de *Geranium ayavacense* W. (Pasuchaca) sobre la glicemia

- en ratas con diabetes mellitus experimental. *Rev Peru Med Exp Salud Publica* [Internet]. 2014 June [cited 2017 Jan 02] ; 31(2): 261-266. Available from: http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172646342014000200010&lng=en.
43. Calderón Salinas José Víctor, Muñoz Reyes Elvia Guadalupe, Quintanar Escorza Martha Angélica. Estrés oxidativo y diabetes mellitus. *Rev. educ. bioquím* [revista en la Internet]. 2013 [citado 2017 Ene 02] ; 32(2): 53-66. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-19952013000200002&lng=es.
44. Gordillo, Gloria c. et al. Efecto hipoglicemiante del extracto acuoso de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (Yacón) en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Ciencia e Investigación*, [S.l.], v. 15, n. 1, p. 42-47, may. 2014. ISSN 1609-9044. Disponible en: <<http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/3193>>. Fecha de acceso: 02 ene. 2017.
45. Knekt P, Kumpulainen J, Järvinen R, Rissanen H, Heliövaara M, Reunanen A, Hakulinen T, and Aromaa A. (2002) Flavonoid intake and risk of chronic diseases *Am. J. Clin. Nutr.* 76 (3):560-568.
46. Negri G. Diabetes mellitus: plantas y principios activos naturales hipoglicemiantes. *Journal of Pharmaceutical Sciences Brazilian*. [revista en la Internet]. 2005 [acceso, 25 de Noviembre de 2016]; 41(2):121-142. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/rbcf/v41n2/28034.pdf>
47. Sorimuthu Pillai, Subramanian Sorimuthu. *Physalis peruviana* L. fruits avert oxidative stress in pancreatic and hepatic tissues of streptozotocin induced diabetic rats, *Der Pharmacia Lettre*, 2015, 7 (4):59-73 Subramanian Department of Biochemistry, University of Madras, Guindy Campus, Chennai, India [revista en internet] 2015 [acceso, 01 de enero de 2017] Disponible en: <http://www.scholarsresearchlibrary.com>

IX. ANEXOS

Anexo 1

Certificado de la clasificación taxonómica de *Physalis peruviana* L.
“aguaymanto” .



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA

C E R T I F I C A

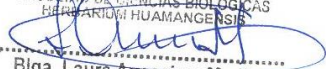
Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Srta., Yudith, TALAVERA PALOMINO**,
ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido determinada según el Sistema de Clasificación de
Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	SOLANALES
FAMILIA	:	SOLANACEAE
GENERO	:	Physalis
ESPECIE	:	<i>Physalis peruviana</i> L.
N.V.	:	“aguaymanto”

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada
para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 02 de Diciembre del 2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Biga. Laura Aucasime Medina
JEFE

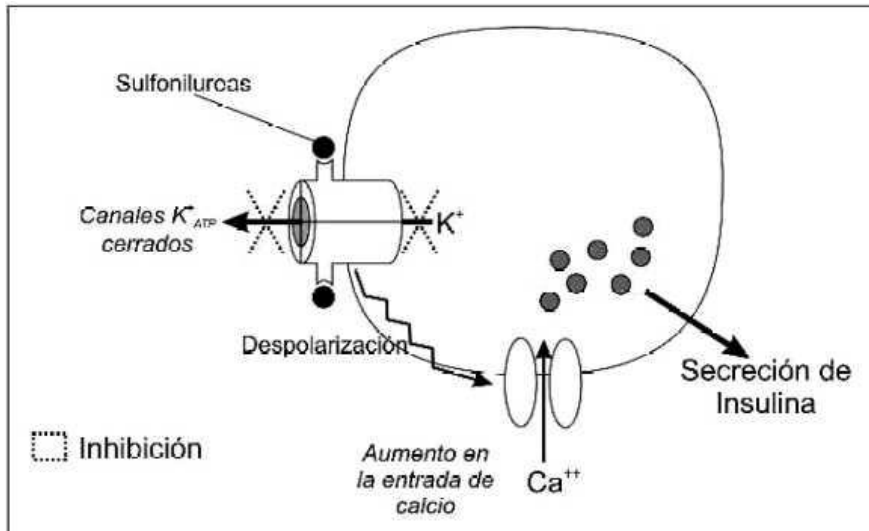
Anexo 2

Fotografía de *Physalis peruviana* L. “aguaymanto” .



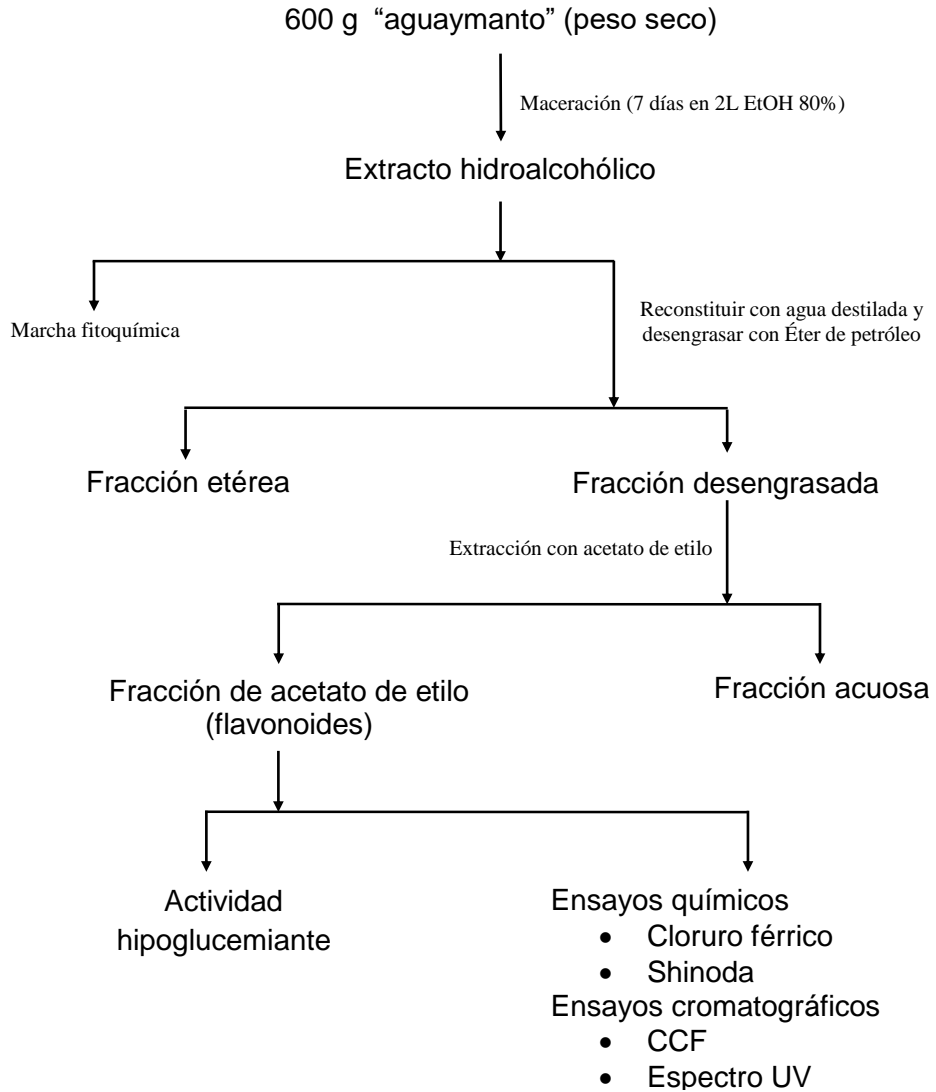
Anexo 3

Mecanismo de acción de las sulfonilureas



Anexo 4

Flujograma del proceso de extracción de los flavonoides del fruto de *Physalis peruviana* "aguaymanto".²⁰



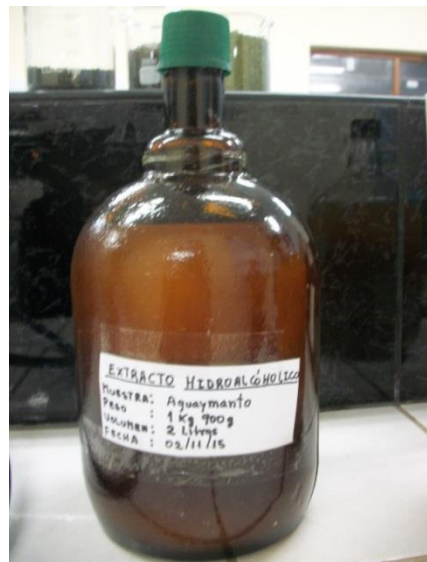
Anexo 5

Recolección de la muestra del fruto de *Physalis peruviana* “aguaymanto” en el distrito de Quitarara, provincia de Huanta. Ayacucho- 2015.



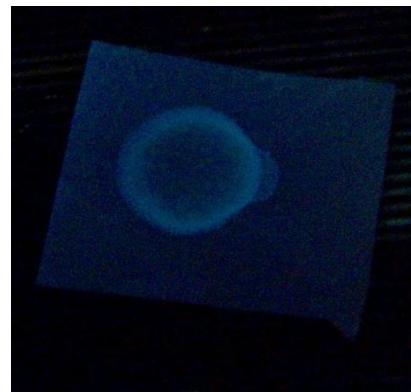
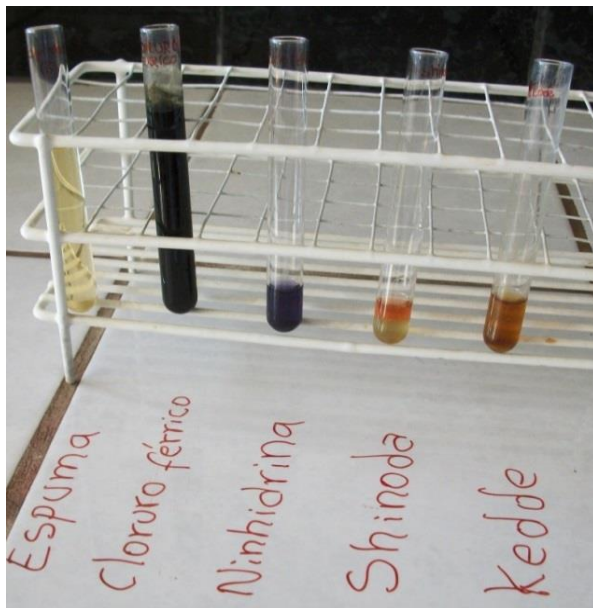
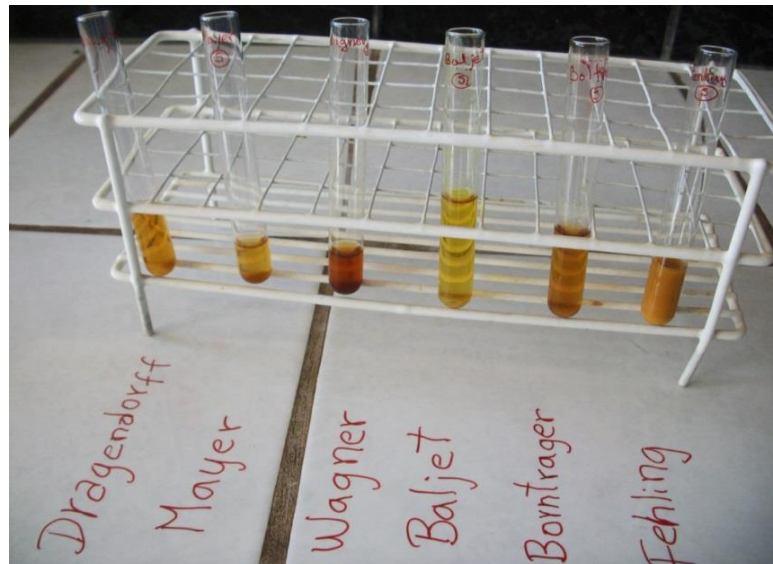
Anexo 6

Elaboración del extracto hidroalcohólico de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto". Laboratorio de Farmacognosia . Ayacucho- 2015.



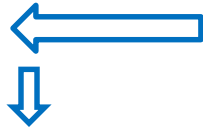
Anexo 7

Fotografía de la identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del fruto de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto". Ayacucho- 2015.



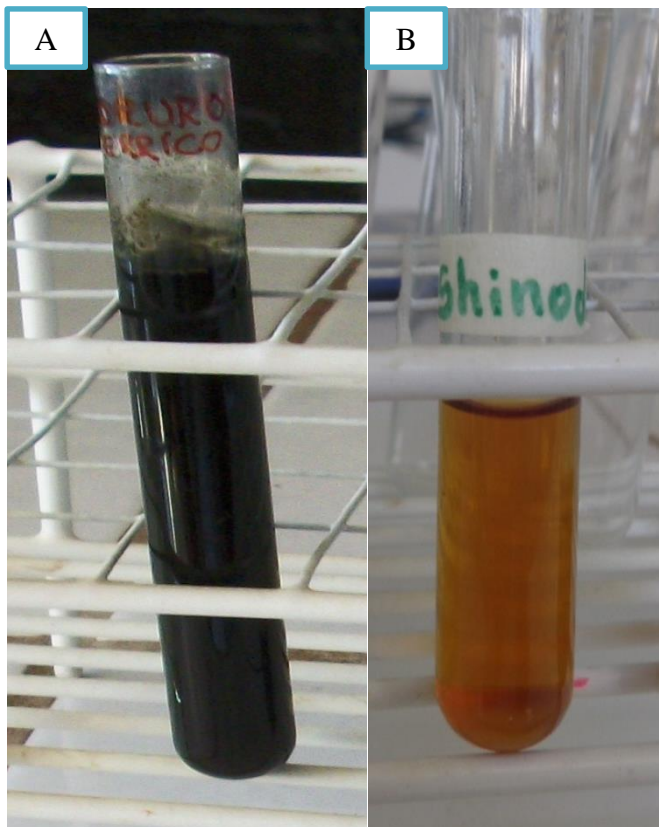
Anexo 8

Etapas del proceso de obtención de los flavonoides de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto". Ayacucho- 2015.



Anexo 9

Pruebas químicas de los flavonoides aislados de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto". A) reacción de FeCl_3 , B) reacción de Shinoda. Laboratorio de Farmacognosia. Ayacucho- 2015.



Anexo 10

Sembrado de la placa cromatográfica de capa fina 20 x 20 conteniendo silicagel y desarrollo de la cromatografía de la fracción de acetato de etilo aislado de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto". Ayacucho- 2015.



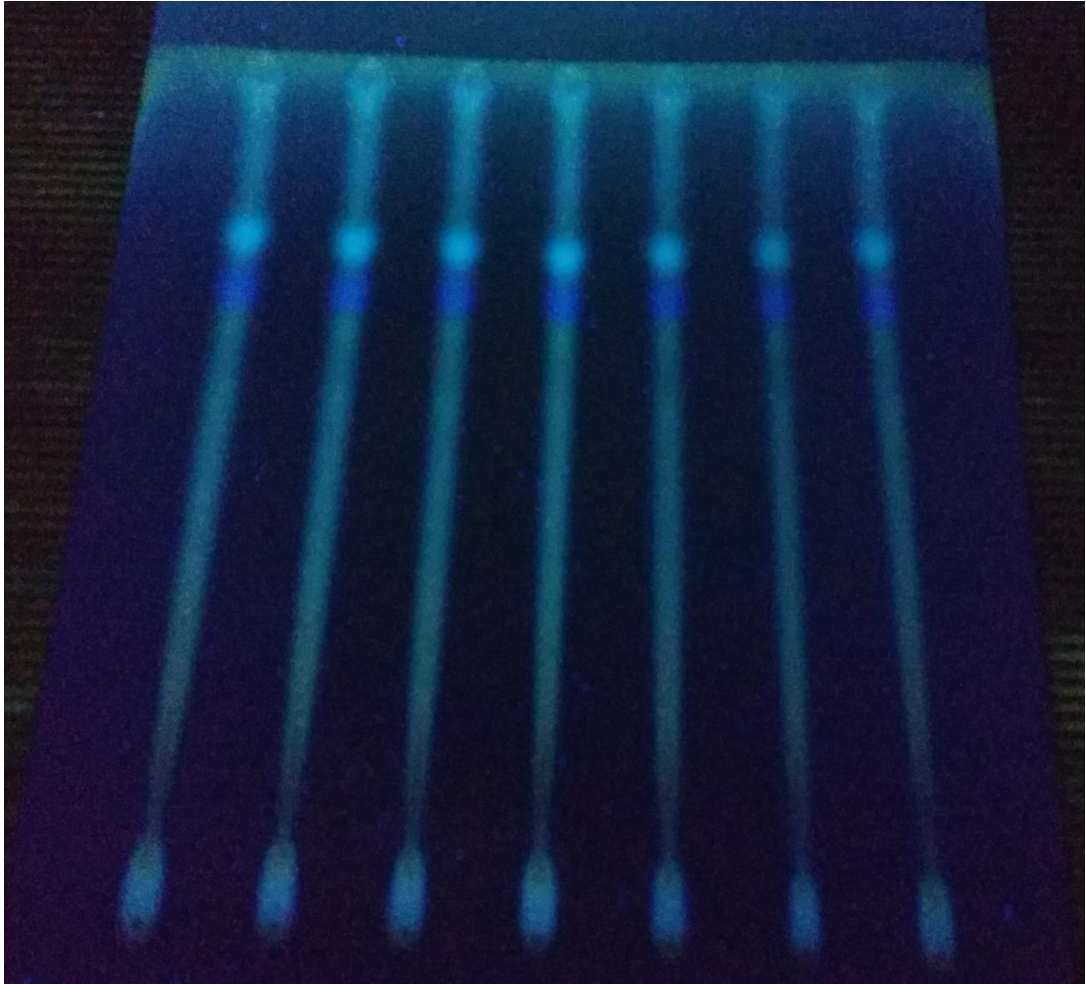
Anexo 11

Cromatografía de capa fina de los flavonoides aislados de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto" revelados con A) Vapores de NH_3 B) Cloruro férrico al 5%. Ayacucho- 2015.



Anexo 12

Cromatografía de capa fina de los flavonoides aislados de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto" revelados con luz ultravioleta (UV). Laboratorio de farmacognosia. Ayacucho- 2015.



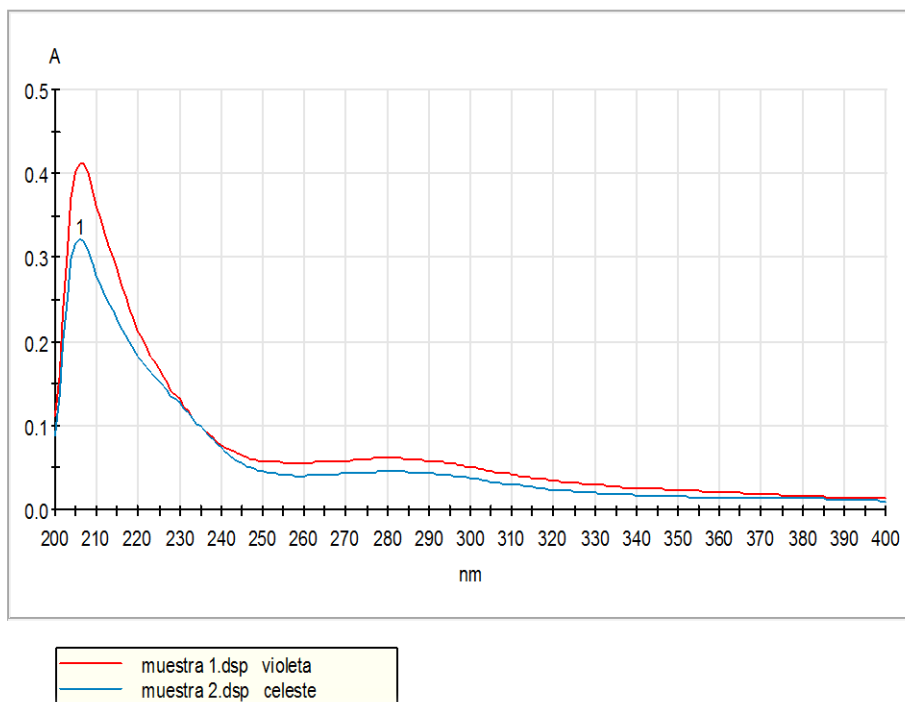
Anexo 13

Recuperación de las bandas de la fracción de acetato de etilo, de la placa sembrada de flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* "aguaymanto". Laboratorio de farmacognosia. Ayacucho- 2015.



Anexo 14

Espectros ultravioleta visible (UV-VIS) de la fracción flavónica aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto". Ayacucho- 2015



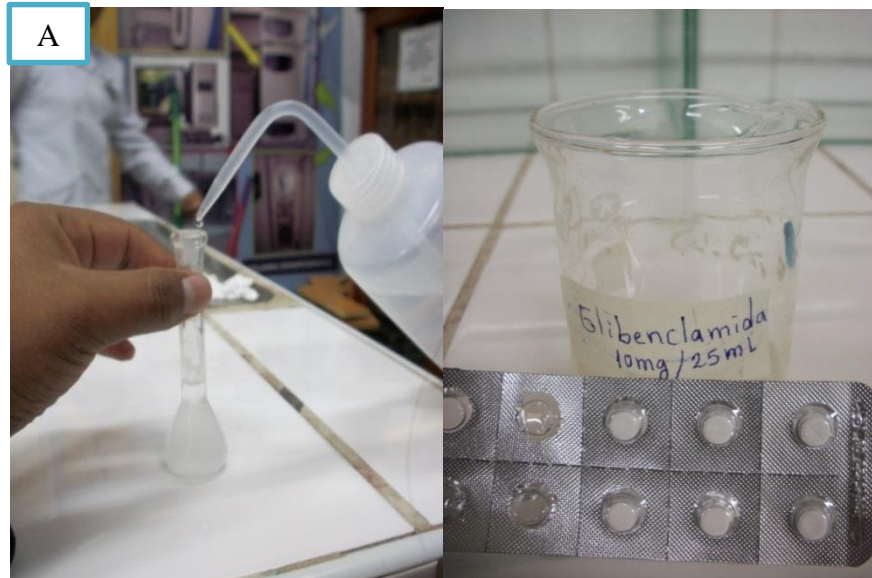
Anexo 15

- A) Pesaje de animales de experimentación (ratas Holtzman)
- B) Inducción a la hiperglucemia con administración de haloxano por vía intraperitoneal.



Anexo 16

- A) Preparación de la solución de Glibenclamida
- B) Preparación de la solución de flavonoides de los frutos de de *Physalis peruviana* "aguaymanto").



Anexo 17

- A) Administración oral de los tratamientos
- B) Grupos de tratamiento en sus respectivas aulas.



Anexo 18

- A) Obtención de la sangre con ayuda de un estilete de la vena caudal de la cola de la rata
- B) Lectura de la glicemia con el Glucómetro. Laboratorio de farmacología. Ayacucho- 2015.



Anexo 19

Promedios del nivel de glicemia de los grupos de tratamiento a diferentes tiempos al evaluar la actividad hipoglucemiante de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto", y Glibenclamida . Ayacucho - 2015.

Tratamientos	Tiempo en horas						
	Basal	0h	1h	2h	3h	4h	5h
	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
Blanco	75,4	76,2	76,0	76,0	75,8	75,6	75,0
Control	76,4	385,4	390,8	393,6	399,8	406,0	410,4
Flav. 1 mg/kg	77,4	397,8	362,8	351,6	335,6	320,2	310,4
Flav. 2,5 mg/kg	76,4	405,6	308,0	249,6	205,2	185,2	150,8
Flav. 5 mg/kg	77,8	415,0	349,0	330,4	323,0	306,8	261,4
Glibenclamida 5 mg/kg	76,2	414,6	278,4	205,8	170,0	150,0	120,6

Flav.= Flavonoide

Anexo 20

Porcentaje de eficacia hipoglicemiante por efecto de los flavonoides aislados del fruto de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto". Ayacucho- 2015 en función del tiempo.

Tratamiento	% Eficacia hipoglucemiante				
	1ra hora	2da hora	3ra hora	4ta hora	5ta hora
Glibenclamida	32,85	50,36	58,99	63,82	70,91
Flavonoide 1 mg/kg	8,79	11,26	15,63	19,51	21,97
Flavonoide 2,5 mg/kg	24,06	38,46	49,41	54,34	62,82
Flavonoide 5 mg/kg	15,90	20,39	22,17	26,07	37,01

Anexo 21

Análisis de varianza (ANOVA) de los niveles de glucosa sanguínea por efecto de los flavonoides aislados de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto" y Glibenclamida. Ayacucho- 2015 en función del tiempo de tratamiento.

		ANOVA		
		Media cuadrática	F	Sig.
1ra hora	Entre-grupos	65091,873	960,293	8,252 E ⁻²⁷
2da hora	Entre-grupos	67729,313	1433,930	6,865 E ⁻²⁹
3ra hora	Entre-grupos	73834,353	3725,871	7,450 E ⁻³⁴
4ta hora	Entre-grupos	76578,273	7800,843	1,059 E ⁻³⁵
5ta hora	Entre-grupos	81819,953	6301,922	1,369 E ⁻³⁶

Anexo 22

Comparación de los niveles de glucosa sanguínea mediante la prueba de Duncan de los niveles de glucosa sanguínea por efecto de los flavonoides aislados de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto. Ayacucho- 2015 de la primera, segunda y tercera hora.

Subconjunto para alfa = 0.05																			
Tratamientos	N	1ra hora						2da hora						3ra hora					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Blanco	5	76,0						76,0							75,8				
Glibenclamida 5mg/kg	5		278,4						205,8							170,0			
Flavonoide 2,5 mg/kg	5			308,0						249,6							205,2		
Flavonoide 5 mg/kg	5				349,0						330,4							323,0	
Flavonoide 1mg/kg	5					362,8						351,6							335,6
Control	5						390,8						393,6						399,8
Sig.		1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Anexo 23

Comparación de los niveles de glucosa sanguínea mediante la prueba de Duncan de los niveles de glucosa sanguínea por efecto de los flavonoides aislados de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto. Ayacucho- 2015 de la cuarta y quinta hora.

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05											
		4ta hora						5ta hora					
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Blanco	5	75,6						75,0					
Glibenclamida 5mg/kg	5		150,0						120,6				
Flavonoide 2,5 mg/kg	5			185,2						150,8			
Flavonoide 5 mg/kg	5				306,8						261,4		
Flavonoide 1mg/kg	5					320,2						310,4	
Control	5						406,0						410,4
Sig.		1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

Anexo 24

Análisis de varianza (ANOVA) del área bajo la curva de los niveles de glucosa sanguínea por efecto de los flavonoides aislados de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto" y Glibenclamida. Ayacucho- 2015.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	8384228.455	5	1676845.691	2713.725	3,32143E ⁻³²
Dentro de grupos	14829.908	24	617.913		
Total	8399058.363	29			

Anexo 25

Comparación del área bajo la curva mediante la prueba de Duncan de los niveles de glucosa sanguínea por efecto de tres concentraciones de los flavonoides aislados de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto. Ayacucho- 2015.

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
blanco	5	379,02					
Glibenclamida	5		1061,00				
Flavonoide 2,5mg/kg	5			1218,40			
Flavonoide 5mg/kg	5				1646,40		
Flavonoide 1mg/kg	5					1723,80	
control	5						1987,80
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Anexo 26

Valores descriptivos del área bajo la curva de niveles de glucosa sanguínea por efecto de los flavonoides aislados de los frutos de *Physalis peruviana* L. "aguaymanto. Ayacucho- 2015.

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Blanco	5	379,02	3,23	1,44	375,00	383,04	376,1	384,1
Control	5	1987,80	33,06	14,78	1946,76	2028,84	1955,0	2035,0
Flavonoide 1 mg/kg	5	1723,80	28,10	12,57	1688,91	1758,69	1688,0	1747,0
Flavonoide 2,5 mg/kg	5	1218,40	23,90	10,69	1188,72	1248,08	1188,0	1249,0
Flavonoide 5 mg/kg	5	1646,40	30,25	13,53	1608,83	1683,97	1608,0	1686,0
Glibenclamida 5 mg/kg	5	1061,00	18,11	8,09	1038,51	1083,49	1038,0	1088,0
Total	30	1336,07	538,17	98,26	1135,12	1537,02	376,1	2035,0

Anexo 27
Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
Actividad hipoglucemian te de los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. "aguaymanto". Ayacucho 2015.	¿Tendrán actividad hipogluce miente los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. "aguaymanto" comparado con la glibenclamida?	<p>General</p> <ul style="list-style-type: none"> •Determinar la actividad hipoglucemian te de los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. "aguaymanto". <p>Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aislar los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. "aguaymanto". • Caracterizar los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. "aguaymanto". • Evaluar la actividad hipoglucemian te de los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. "aguaymanto" a diferentes dosis. 	Los flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. "aguaymanto" poseen actividad hipogluce miente.	<p>Variable independiente</p> <p>Dosis de Flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. "aguaymanto".</p> <p>Indicador</p> <p>Dosis de 1; 2,5 y 5 mg/kg de flavonoides aislados del fruto de <i>Physalis peruviana</i> L. "aguaymanto".</p> <p>Variable dependiente</p> <p>Actividad hipoglucemian te</p> <p>Indicador:</p> <p>mg/dl de glucosa sanguínea</p>	<p><i>Physalis peruviana</i>.</p> <p>Antecedentes de estudio hipoglucemian te en el género <i>Physalis</i>. Se ha evaluado el efecto hipoglucemian te del extracto etanólico de frutos de <i>Physalis peruviana</i> L. administrado por vía oral en ratas con sobrecarga de glucosa y aloxanizadas, demostrándose que esta especie posee actividad hipoglucemian te¹⁴</p> <p>Fitoquímica del género <i>Physalis</i>. Flavonoides, glicósido de flavonol⁹, alcaloides⁵, fitosteroles, fisalinas, witanóidos⁶.</p> <p>Diabetes mellitus. Enfermedad metabólica definida por la presencia de la hiperglucemia.</p> <p>Clasificación de la diabetes</p>	<p>Tipo y nivel de investigación. Básica-Experimental</p> <p>Población. Frutos de <i>Physalis peruviana</i> L. "aguaymanto", que crecen en el distrito de Huamanguilla provincia de Huanta, Región Ayacucho.</p> <p>Muestra. 4 kg de frutos de <i>Physalis peruviana</i> "aguaymanto".</p> <p>Unidad experimental. 30 ratas Holtzman machos con pesos entre 200 - 250 g, que serán adquiridas del Bioterio del Instituto Nacional de Salud (Chorrillos – Lima).</p> <p>Extracción de flavonoides. Extracción líquido-líquido con acetato de etilo.</p> <p>Determinación de la actividad hipoglucemian te. Según lo propuesto por Kameswara y Palomino</p> <p>Diseño experimental. Diseño aleatorio.</p> <p>Grupo A SSF 2 ml/kg Grupo B Aloxano 150 mg/kg+ SSF2 ml/kg Grupo C Aloxano 150 mg/kg + flavonoides 1 mg/kg Grupo D Aloxano 150 mg/kg + flavonoides 2.5 mg/kg Grupo E Aloxano 150 mg/kg + flavonoides 5 mg/kg Grupo F Aloxano 150 mg/kg + glibenclamida 5 mg/kg</p> <p>Análisis estadístico. Análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05. Las comparaciones se harán entre las áreas bajo la curva través de la Prueba de Duncan, utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 24.</p>

