

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las  
semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” en ratas albinas,  
Ayacucho – 2017

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. BEJAR CIPRIAN, Milton Placido

AYACUCHO - PERÚ

2018



En especial para mi familia por  
ser el pilar fundamental en mi  
vida.



## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por haberme dado la oportunidad de forjarme un futuro profesional.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, con gratitud imperecedera a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y a los docentes por su dedicación y compromiso de transmitirme sus diversos conocimientos y valores durante toda la etapa de mi formación profesional.

A mi asesor, Mg. Q.F. Juan C. Paniagua Segovia por su colaboración y apoyo profesional en la realización de esta investigación.

A todas las personas que apoyaron en el proceso experimental de la presente investigación.



## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURA	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes de estudio	3
2.2. <i>Bixa orellana</i> L. “achiote”	4
2.2.1. Clasificación taxonómica	6
2.2.2. Descripción botánica	6
2.2.3. Composición química de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote”	7
2.2.4. Usos del colorante a base de achiote	7
2.2.5. Uso en la medicina popular y propiedades terapéuticas	8
2.2.6. Acción farmacológica	9
2.3. Diabetes	9
2.4. Páncreas	13
2.5. Insulina	14
2.6. Glucosa	15
2.7. Tratamiento de la diabetes	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Lugar de ejecución	21

3.2. Población y muestra	21
3.2.1. Población	21
3.2.2. Muestra	21
3.2.3. Unidad experimental	21
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	21
3.3.1. Procedimiento para la recolección de muestra	21
3.3.2. Secado, molienda y tamizaje	22
3.3.3. Preparación del extracto acuoso y atomización	22
3.3.4. Identificación fitoquímica	22
3.3.5. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos	23
3.3.6. Determinación del efecto hipoglucemiante	24
3.4. Diseño experimental	26
3.5. Análisis estadístico	27
IV. RESULTADOS	29
V. DISCUSIÓN	37
VI. CONCLUSIONES	43
VII. RECOMENDACIONES	45
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
IX. ANEXOS	53



## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Usos del colorante a base de achiote	8
Tabla 2. Efectos medicinales del achiote.	8
Tabla 3. Metabolitos secundarios del extracto acuoso atomizado de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote". Ayacucho, 2018	31
Tabla 4. Parámetros fisicoquímicos del extracto acuoso atomizado de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote". Ayacucho, 2018	33



## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Área bajo la curva por el método de los trapecios	26
Figura 2. Variación de los niveles de glucosa sanguínea en función del tiempo del extracto acuoso atomizado de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote". Ayacucho, 2018	33
Figura 3. Valores de los niveles de glucosa en función de los distintos tratamientos del extracto acuoso atomizado de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote". Ayacucho, 2018	34
Figura 4. Área bajo la curva de la eficacia hipoglucemiante en función de los diferentes tratamientos del extracto acuoso atomizado de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote". Ayacucho, 2018	35



## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Certificado de descripción taxonómica de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote”. Ayacucho, 20218	55
Anexo 2. Flujograma de procedimientos del extracto acuoso atomizado de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote”. Ayacucho, 2018	56
Anexo 3. Semillas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote” recolectadas en el distrito de San Francisco. Ayacucho, 2018	57
Anexo 4. Atomización de las semillas del extracto acuoso de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote”. Ayacucho, 2018	58
Anexo 5. Resultados de la identificación fitoquímica de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote”. Ayacucho, 2018	59
Anexo 6. Procedimiento del efecto hipoglucemiante del extracto acuoso atomizado de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote”. Ayacucho, 2018	60
Anexo 7. Valores descriptivos del área bajo la curva del extracto acuoso atomizado de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote”. Ayacucho, 2018	61
Anexo 8. Valores descriptivos de los distintos valores de niveles de glucosa del extracto acuoso atomizado de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote”. Ayacucho, 2018	62
Anexo 9. Análisis de varianza del área bajo la curva del extracto acuoso atomizado de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote”. Ayacucho, 2018	63
Anexo 10. Análisis de varianza de los valores de glucosa del extracto acuoso atomizado de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L.	

	“achiote”. Ayacucho, 2018	64
Anexo 11.	Comparaciones múltiples del área bajo la curva, del extracto acuoso atomizado de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote”. Prueba de Tukey. Ayacucho 2018	65
Anexo 12.	Comparaciones múltiples de los valores de glucosa en función de los tratamientos del extracto acuoso atomizado de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. “achiote”. Prueba de Tukey. Ayacucho, 2018	66
Anexo 13.	Matriz de consistencia	67

## RESUMEN

La diabetes es una enfermedad de alta incidencia a nivel mundial, caracterizada por un desorden metabólico complejo, por lo que actualmente se buscan alternativas para controlar los altos niveles de glicemia, haciendo uso de plantas que poseen capacidad hipoglucemiante. El objetivo fue demostrar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” en ratas albinas de cepa Holtzman, desarrollado en los laboratorios de Farmacia y Bioquímica durante los meses de diciembre del 2017 a abril del 2018. El tipo de investigación es básica experimental. Las semillas se recolectaron del distrito de San Francisco provincia de La Mar, departamento de Ayacucho. Para la determinación del efecto hipoglucemiante se empleó método descrito por Arroyo J., está basado en la medición de los niveles de glucosa en sangre mg/dL inducido con aloxano en ratas de cepa Holtzman. Se utilizaron 48 ratas albinas de cepa Holtzman entre 150 a 200 g de peso, las cuales fueron divididas en seis grupos al azar, administrándoles extracto acuoso atomizado 100, 200, 400 mg/kg respectivamente, el blanco 2mL/kg, el control aloxano 180mg/kg y el estándar Glibenclamida 5mg/kg. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso fueron saponinas, lactonas, triterpenos, fenoles, flavonoides y alcaloides. Sus parámetros fisicoquímicos fueron de humedad 1,21%, de cenizas totales 13%. Soluble en agua, etanol y cloroformo y un pH ácido. El extracto acuoso a 200 mg/kg (270,82 mg/mL) presenta mejor efecto hipoglucemiante, siendo esta estadísticamente diferente ( $p=1,14 \times 10^{-28}$ ) al blanco (63,8 mg/mL) y los extractos acuosos atomizados 100 mg/kg, 400 mg/kg con 283,02; 282,72 mg/mL respectivamente. Se concluye que el extracto acuoso de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” presenta efecto hipoglucemiante.

**Palabras clave:** *Bixa orellana* L. “achiote”, efecto hipoglucemiante.





## I. INTRODUCCIÓN

La *Bixa orellana* L. “achiote” especie botánica arborescente de las regiones intertropicales de América, cultivada específicamente en Costa Rica, México, Panamá, Colombia, Ecuador, Venezuela y Perú, desde la época precolombina.<sup>1</sup>

La *Bixa orellana* se encuentra en la parte montañosa de los departamentos de Amazonas, Cusco, Ayacucho y San Martín.<sup>2</sup> conteniendo un número de sustancias bioquímicamente activas; tanto en las hojas como en las semillas, además es una fuente considerable de carotenoides y flavonoides, cuya actividad farmacológica de las semillas es utilizada como tónico gastrointestinal, antidiarreico, purgante, estomáquico, antiprurítico, antiinflamatorio, antidiabético, febrífugo y en caso de tumores bucales y estados gripales.<sup>3</sup>

Actualmente a partir de las semillas se obtiene los colorantes naturales conocido como Bixina, cuyo código comercial en la Unión Europea es E-160d y se comercializa principalmente en polvo, aunque también existen presentaciones en pasta. Este colorante es usado en la industria alimentaria, industria farmacéutica y en la industria en general, cuyas exportaciones generaron ingresos de hasta \$12 millones en el 2014 según el Instituto ADEX (Asociación de Exportadores).<sup>4</sup>

La Diabetes mellitus es el desorden metabólico más común en el mundo occidental, afectando más de 120 millones de personas; no obstante, más de la mitad de ésta población no es consciente de que padece la enfermedad. Esta patología metabólica se presenta cuando el páncreas no produce suficiente insulina (diabetes Tipo I) o cuando el organismo no puede utilizar eficazmente la insulina producida por el páncreas (diabetes Tipo II), sus complicaciones son retinopatías, nefropatías, neuropatías y enfermedades cardiovasculares.<sup>5</sup>

La Federación Internacional de Diabetes estimó que para el año 2015 existían 415 millones de personas con diabetes a nivel mundial, y que el 9,4% de la

población de América Latina está afectada por esta enfermedad. En Perú, la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar (ENDES) del año 2014 informa que el 3,2% de la población mayor o igual a 15 años de edad fue diagnosticada con diabetes mellitus, de ellos, el 70,3% recibió tratamiento farmacológico. Los estándares de manejo de diabetes publicados en el año 2016 mencionan que el 23% de casos de mala adherencia estuvo asociado con no control de valores de presión arterial, lípidos en sangre y de HbA1. Por ello, se deben establecer estrategias de salud pública para que los tratamientos hipoglucemiantes estén al alcance de toda la población y respeten las diferencias étnicas, culturales, sexuales y socioeconómicas.<sup>6</sup>

Las plantas medicinales constituyen una alternativa viable para muchas poblaciones en su afán de enfrentar las enfermedades en el mundo, cuya utilización para el tratamiento de diversas patologías no se encuentran premunida de la autenticación científica correspondiente.<sup>7</sup>

Por tales motivos se realizó el estudio del efecto hipoglucemiante del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” en ratas albinas, con la finalidad de demostrar dicho efecto y así convertirse en una alternativa para la prevención de algunas enfermedades, además de convertirse en una alternativa económica para los productores y comercializadores del país.

Por tal motivo se planteó el presente trabajo de investigación teniendo en cuenta los siguientes objetivos:

Objetivo general:

- Demostrar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” en ratas Albinas de cepa Holtzman.

Objetivos específicos:

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote”.
- Determinar los parámetros fisicoquímicos del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote”.
- Comparar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” con el estándar Glibenclamida 5mg.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes de estudio

Sánchez<sup>8</sup> en el 2015, realizó una investigación que tiene por título: obtención de un extracto acuoso con propiedad hipoglucemiante a partir de las semillas del Achiote (*Bixa orellana Linn*) para el tratamiento de la Diabetes. Tomando como muestra de estudio 20 ratas de cepa Wistar machos y hembra de pesos promedio entre 200 g, dividido en 4 grupos de 5 animales por grupo, en la parte experimental se aplicó el método propuesto por CYTED, 2001, induciendo la hiperglicemia en las ratas con una solución de glucosa al 40%. Los resultados son expresados en gráficos y tablas, concluyendo que mediante el tamizaje fitoquímico se identificó los flavonoides y compuestos fenólicos como sustancias responsables de la actividad hipoglucemiante. Así como su hipótesis planteada fue comprobada al administrarles a las ratas Wistar en dosis de 500 mg/kg, demostrando el descenso de los niveles de glucosa en sangre previamente inducida la hiperglucemia con una solución de glucosa al 40%, comparándola con un medicamento de eficacia reconocida (metformina) para regular los niveles de glucosa, obteniendo resultados mucho mejores con el extracto.

Martínez y col.<sup>9</sup> en el 2010, realizaron una investigación que tiene por título: Efecto Hipoglucemiante de la planta *Bixa orellana L* en conejos de la raza Nueva Zelanda y en medios de glucosa con células resuspendidas. Tomando como muestra de estudio 36 conejos de la especie Nueva Zelanda machos dividido en 6 grupos de 6 animales por grupo para ensayos *in vivo*, en pruebas *in vitro* fueron realizados utilizando leucocitos de sangre humana donado por tres adultos sanos, en el ensayo *in vivo* la medición de glucemia mediante método de glucosa oxidasa. En el ensayo *in vitro* la obtención de células. Se realizó todo el procedimiento establecido hasta realizar el conteo de las células de cada alícuota en un analizador de hematología marca MIN-DRAY modelo BC 2300.

Concluyendo con resultados de los ensayos *in vivo* fueron analizados con el programa SAS-JMPs, comparando los niveles de glucemia pre-prueba/post-prueba del grupo experimental con el grupo control no mostro diferencia significativa entre ambos grupos ( $p=0.060$ ). En los ensayos *in vitro* con el extracto acuoso de la planta en un medio hiperglucemico (11,1 mmol) se evidenció el efecto hipoglucemiante de la planta *Bixa orellana* L. observándose disminución de los concentraciones de glucosa con respecto al control.

García<sup>10</sup> en el 2016, realizó una investigación: Efecto del extracto hidroalcohólico de la *Bixa orellana* (achiote), comparado con metformina sobre los niveles de glicemia en *Rattus rattus*. Tomando como muestra de estudio 20 ratas de tipo *Rattus rattus* machos de cepa Wistar, dividido en 2 grupos de 10 animales por grupo, cuyos pesos promedio de las ratas oscilan entre 200 g – 310 g, en la parte experimental se aplicó. Observación de los hechos y manipulación de las variables permitiendo la obtención de datos, induciendo la hiperglicemia en las ratas con aloxano a una dosis de 150 mg/kg por vía intraperitoneal. Concluyendo que el extracto hidroalcohólico de la *Bixa Orellana* “achiote”, no muestra efecto significativo sobre los niveles de glicemia en *Rattus rattus*, sin embargo existe una tendencia marcada y definida hacia la hipoglicemia. El extracto hidroalcohólico de la *Bixa Orellana* “achiote” y Metformina tienen el mismo efecto sobre los niveles de glicemia en *Rattus rattus*.

Ramírez<sup>11</sup> en el 2001, realizó una investigación que tiene por título: Evaluación de la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote”. Tomando como muestra de estudio 30 ratas de cepa Wistar machos y hembra de pesos promedio 220 g dividido en 3 grupos mínimo de 5 animales por grupo, para la inducción de hiperglicemia se usó el aloxano tetrahidratado en dosis de 100 mg/kg por vía intraperitoneal, los resultados y datos obtenidos fueron expresado en gráficos y cuadros su valoración estadística con t de student. Concluyendo que el extracto de *Bixa orellana* L. “achiote” a la dosis de 100 y 200 mg/kg administrado por vía oral produce efecto hipoglucemiante en ratas normoglicémicas, el efecto hipoglucemiante se presenta en mayor intensidad a la segunda y tercera hora de administración del extracto de *Bixa orellana* L. “achiote”, no se encontraron lesiones macroscópicas de algunos animales experimentales atribuidos al extracto de *Bixa orellana* L. “achiote”.

## **2.2. *Bixa orellana* L. “achiote”**

Especie botánica arborescente de las regiones intertropicales de América, cultivada específicamente en Costa Rica, México, Panamá, Colombia, Ecuador, Venezuela y Perú, desde la época precolombina.<sup>1</sup>

Es una planta conocida con el nombre vulgar de achiote en el Perú y se encuentra en la parte montañosa de los departamentos de Amazonas, Cusco, Ayacucho y San Martín.<sup>2</sup>

La etimología del nombre binomial corresponde a *bixa*, latinización del portugués *bija* que significa “color rojo”, y *orellana*, dedicado al explorador español, Francisco de Orellana. Los conquistadores españoles arribando en el Nuevo Mundo, descubrieron una gran cantidad de productos derivados de plantas empleados por los mayas y los aztecas. Uno de ellos, el annatto, es un tinte a base de carotenoides que se extrae de las semillas de la planta tropical *Bixa Orellana*.<sup>3</sup>

Los pueblos aborígenes de América central y América del sur emplean el achiote como pintura corporal y facial para sus ceremonias religiosas, para defenderse de las picaduras de insectos, cambios del clima e incluso en la cicatrización de las heridas. Al ser un pigmento inocuo para el organismo humano y reconocido por su nula toxicidad, actualmente se recomienda utilizarlo para reemplazar a los colorantes sintéticos. La dosis diaria que se ha permitido y recomendado por la OMS es de 0-0,065 mg/kg de peso corporal.

Debido a la presencia de carotenoides, de sobre manera apocarotenos, presentes en las semillas de la *bija*, es que el color característico del achiote es rojo. La *bixina* se ha convertido en el compuesto más cotizado cuya codificación a nivel industrial es E-160b. El achiote ha reemplazado a los colorantes sintéticos en la coloración de múltiples alimentos como los quesos, manteca, mantequilla, arroz, fideos, dulces, caramelos, etc. Inclusive sirve como condimento de cocina, por ejemplo, en platos típicos venezolanos como la “hallaca”, también sirve en la tinción de maderas, telas, marfiles, pieles, lacas, jabones, entre otros.<sup>1</sup>

Cada diferente estructura de la planta del achiote proporciona muchas propiedades medicinales, algunas de ellas evidenciadas científicamente y otras conocidas por las creencias de los pueblos originarios que la emplean, entre las

cuales puedo mencionar: antitumoral, lujurioso, antiinflamatorio, antiséptico, antibacteriano, antioxidante, emoliente, cicatrizante, diurético, hipoglicemiante,, febrífugo, fuente de vitaminas, caída del cabello, infecciones bacterianas de forma general, inflamación de la conjuntiva, dermatosis, diabetes, epilepsia, glaucoma, dolor de cabeza, hemorroides, hipertensión arterial, mordidas de serpientes, dolor de estómago, estomatitis, tonsilitis, quemaduras, etc.<sup>1</sup>

### 2.2.1. Clasificación taxonómica

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Sub Clase	:	Dilleniidae
Orden	:	Violales
Familia	:	Bixaceae
Género	:	Bixa
Especie	:	<i>Bixa orellana</i> L.
Nombre Vulgar	:	“achiote”

**Fuente:** Constancia emitida por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. (Anexo 1)

**Nombres comunes.** En castellano son: achiote, achote, aciote, achuete, acosi, acote, anato, caitucu, onote, carayuru, ero, ipiacu, onoto, onotillo, onote, paipai, pirrimapa, rocú, uñane y woukou.<sup>11</sup>

### 2.2.2. Descripción botánica

*Bixa orellana* es un arbusto perenne, de 2 a 6 m de altura, copa baja y extendida; tallo pardo y ramifico a poca altura del terreno. Las hojas son simples, grandes, verdosas claras, de márgenes lisos. Las flores se disponen en ramilletes, blanquecinas a rosadas según las variedades. El fruto es una cápsula roja de 2 a 6 cm de largo, con pelos gruesos espinosos, puede ser verdoso oscuro a morado (según las variedades), que al madurar pasa a pardo rojizo oscuro. En cada valva hay semillas en número variable (10-50, en relación con el tamaño capsular). La semilla es comprimida, de 5 mm de largo, con tegumento recubierto de una sustancia viscosa de color rojizo intenso. El pigmento está localizado en la superficie de la semilla, como una cubierta resinosa y aceitosa, está formado fundamentalmente por bixina (cis y trans), con trazas de norbixina, éster de dimetil bixina y otros apocarotenoides.<sup>12</sup>

### 2.2.3. Composición Química de *Bixa orellana* L. “achiote”

#### a. Hojas.

Encontramos a Bixaganeno, ishwarano (aceite esencial) entre otros mono y sesquiterpenos; flavonoides: 7-bisulfato de apigenina, 7-bisulfato de luteolina, 8-bisulfato de hipolaetina, glucósido de apigenina, bisulfato de apigenina, hipoaletina, cosmosiina, entre otros como: flavonas, antocianidinas y sesquiterpenlactonas; carotenoides: bixina, norbixina, orellina,  $\beta$ -caroteno, criptoxantina, metilbixina, zeaxantina, luteína; ácido tomentósico; vitaminas (A, B, y C); proteínas; azúcares; celulosa; grasas; calcio, fierro y fósforo; diterpenos: farnesilacetona, geraniol, geranil formato, alcaloides (vestigios), ácido gálico (benzenoide) y ácido alfitólico.<sup>13</sup>

#### b. Semillas.

Encontramos a carotenoides expresados como provitamina A (1 000-2 000 U.I./g de semilla seca), entre ellos destacan: bixina, betabixina, metilbixina, norbixina, orellina, zeaxantina,  $\beta$ -caroteno, luteína y criptoxantina; también contienen bixinato de sodio, achiotina, ácido tomentósico, pectinas, proteínas, taninos, y un hidrocarburo sesquiterpénico, ishwarane (esencia floral de las semillas). Las semillas también contienen sílica, potasa, un alto contenido de fósforo y bajo de calcio; un alto contenido de proteínas, el cual incluye niveles adecuados de triptófano y lisina, pero bajos niveles de metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina y treonina.<sup>13</sup>

#### c. Carotenoides.

Encontramos a bixina, norbixina, orellina, betacaroteno, criptoxantina, metilbixina, zeaxantina, mono y sesquiterpenos, entre los que destaca el ishwarane.<sup>3</sup> Los carotenoides son un grupo numeroso de pigmentos muy difundidos en el reino vegetal y animal, producen colores que van desde el amarillo hasta el rojo intenso. Se han identificado en la naturaleza más de 600 de estos compuestos, y se estima que anualmente se sintetiza 100.000 toneladas de carotenoides de fuentes naturales.<sup>1</sup>

#### d. Flavonoides.

Encontramos a glucósido de apigenina, bisulfato de apigenina, bisulfato de luteolina, bisulfato de hipoaletina, ácido tomentósico, vitaminas A, B, C, proteínas, azúcares, celulosa, calcio, fierro y fósforo.

#### 2.2.4. Usos del colorante a base de Achiote

En la actualidad comercializado a nivel mundial en los diferentes sectores.<sup>4</sup>

Tabla 01. Usos del colorante a base de achiote<sup>4</sup>

Sector	Uso
Doméstico	Colorar y sazonar alimentos caseros
Industria alimentaria	Colorante para quesos, manteca y diversos productos
	Colorante para embutidos
	Colorante para pescado procesado
	Colorante para snacks, cereales y dulces
	Provee color a fideos y demás condimentos
	Usado para colorear bebidas y sopas
Industria farmacéutica	Colorante para pomadas
	Colorante para esmaltes
	Aceites para cabello
Industria en general	Colorante en ceras para pisos
	Colorante en jabones
	En carpintería (laca, barnices, tintes para madera)

#### 2.2.5. Uso en la medicina popular y propiedades terapéuticas

Dentro de los variados usos que puede tener la planta de achiote se pueden mencionar: Insecticida repelente: Los nativos fueron los primeros en aprovechar el achiote, no solo para pintarse el cuerpo, sino también para ahuyentar a los mosquitos y otras plagas y para preservarse de los efectos negativos del clima.<sup>16</sup>



Los efectos medicinales de esta planta son:

Tabla 02. Efectos medicinales del achiote<sup>1</sup>

Analgésico	Antineoplásico	Anticarcinogénico	Cicatrizante
Anticoagulante	Antioxidante	Antiveneno	Purgante
Antibacteriano	Antiparasitario	Astringente	Antihipertensivo
Antidiarreico	Diurético	Febrífugo	Sedante
Antifúngico	Hipoglucémico	Afrodisíaco	Antiinflamatorio

### 2.2.6. Acción farmacológica

- Los estudios realizados en animales, permitieron demostrar la influencia del achiote en episodios hipoglicémicos mediados por un incremento de la concentración de la insulina en plasma, así como, un incremento en la unión de la insulina a sus receptores por un aumento de la afinidad entre ambos.<sup>12</sup>
- Galeón 2001. En estudios en animales, los extractos de la semilla del achiote han mostrado actividad diurética e hipoglucemiante, así como su capacidad de disminuir la actividad motora.<sup>8</sup>
- Los estudios realizados con el achiote por Li, Alvarado y Juárez: refieren propiedades diuréticas, antidisentérico, antivenérea, hipoglucemiante y antiinflamatorio prostático.<sup>7</sup>

### 2.3. Diabetes

La diabetes es una enfermedad crónica que aparece cuando el cuerpo no puede producir suficiente insulina o no puede usar la insulina eficazmente. La insulina es una hormona producida en el páncreas que permite que la glucosa de los alimentos entre en las células del cuerpo, donde se convierte en la energía necesaria para que funcionen los músculos y los tejidos, Una persona con diabetes no absorbe adecuadamente la glucosa, y la glucosa sigue circulando por la sangre (una afección conocida como hiperglucemia), lo cual daña con el

tiempo los tejidos del cuerpo. Este daño puede conducir a una discapacidad y a complicaciones de salud que pueden llegar a ser mortales.<sup>17</sup>

La diabetes mellitus también se puede definir como un síndrome caracterizado por un estado de hiperglucemia crónica que obedece a la falta parcial o total de actividad insulínica. La ausencia o el déficit de insulina originan anomalías en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas.<sup>18</sup>

varios síntomas y características son señales de la diabetes como son polifagia, poliuria, polidipsia, glucosuria, cetonemia, pérdida de peso, astenia, falta de energía, frecuentes infecciones de vejiga, vaginitis son causas de este mal que pueden llevar a complicaciones agudas y crónicas.<sup>19</sup>

### **2.3.1. Fisiopatología**

La diabetes, como ya se mencionó, es una condición patológica en la que prevalece un nivel aumentado de glucosa en sangre lo que conlleva a un desorden metabólico que tiene repercusiones sobre diferentes órganos, siendo las complicaciones de la enfermedad bastante difíciles de tratar.<sup>20</sup>

### **2.3.2. Diagnóstico de la Diabetes Mellitus**

Para el diagnóstico de la DM se puede utilizar cualquiera de los siguientes criterios:

1. Síntomas de diabetes más una glucemia casual medida en plasma venoso que sea igual o mayor a 200 mg/dl (11.1 mmol/l). Casual se define como cualquier hora del día sin relación con el tiempo transcurrido desde la última comida. Los síntomas clásicos de diabetes incluyen poliuria, polidipsia y pérdida inexplicable de peso.
2. Glucemia en ayunas medida en plasma venoso que sea igual o mayor a 126 mg/dl (7 mmol/l). En ayunas se define como un período sin ingesta calórica de por lo menos ocho horas.
3. Glucemia medida en plasma venoso que sea igual o mayor a 200 mg/dl (11.1 mmol/l) dos horas después de una carga de glucosa durante una prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG).

Para el diagnóstico en la persona asintomática es esencial tener al menos un resultado adicional de glucemia igual o mayor a las cifras que se describen en los numerales dos y tres. Si el nuevo resultado no logra confirmar la presencia

de DM, es aconsejable hacer controles periódicos hasta que se aclare la situación.<sup>21</sup>

### **2.3.3. Clasificación**

En 1979 el National Diabetes Data Group (NDDG) constituido por un grupo de expertos de la Asociación Americana de Diabetes, clasificó la enfermedad en dos grandes grupos: Diabetes Mellitus tipo 1 o insulino dependiente y Diabetes Mellitus tipo 2 no insulino dependiente, esta clasificación es la que fue aceptada por el comité de expertos en diabetes de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Pero los estudios y el avance en los conocimientos de la enfermedad llevaron al NDDG a volver clasificar la enfermedad pues era confusa, ya que se basaba en el tratamiento de los pacientes y no en la etiología o la clínica de la enfermedad.<sup>22</sup>

La clasificación actual es:

- Diabetes tipo 1.
- Diabetes tipo 2.
- Diabetes gestacional.
- Otros tipos.<sup>22</sup>

#### **a. Diabetes Mellitus Insulino dependiente (DMID) o Tipo 1**

La diabetes tipo 1 es causada por una reacción autoinmune, en la que el sistema de defensa del cuerpo ataca las células beta productora de insulina en el páncreas. Como resultado, el cuerpo ya no puede producir la insulina que necesita. No se sabe muy bien por qué ocurre esto. La enfermedad puede afectar a personas de cualquier edad, pero generalmente se presenta en niños o adultos jóvenes. Las personas con este tipo de diabetes necesitan insulina todos los días para controlar los niveles de glucosa en sangre.<sup>17</sup>

No se conocen exactamente las causas de la diabetes tipo 1, pero se piensa que podría deberse a alteraciones del sistema de defensa del organismo que da lugar a la destrucción de las células pancreáticas que producen insulina.<sup>18</sup>

La diabetes tipo 1 suele desarrollarse repentinamente y puede producir síntomas tales como: Sed anormal y sequedad de boca, Micción frecuente, Falta de energía, cansancio extremo, Hambre constante, Pérdida repentina de peso, Heridas de cicatrización lenta, Infecciones recurrentes, Visión borrosa.<sup>17</sup>

Las personas con diabetes tipo 1 pueden llevar una vida normal y saludable a través de una combinación de terapia de insulina diaria, vigilancia estrecha, una dieta saludable y ejercicio físico regular.<sup>17</sup>

### **b. Diabetes Mellitus no Insulino dependiente (DMNID) o Tipo 2**

En la diabetes tipo 2, el cuerpo puede producir insulina, pero o bien esto no es suficiente o bien el cuerpo no puede responder a sus efectos, dando lugar a una acumulación de glucosa en sangre. Aunque todavía no se conocen las causas del desarrollo de la diabetes tipo 2, hay varios factores de riesgo importantes, tales como: obesidad, mala alimentación, inactividad física, edad avanzada, antecedentes familiares de diabetes, grupo étnico, alta glucosa en sangre durante el embarazo que afecta al feto.<sup>17</sup>

En este tipo de diabetes puede ocurrir sobreproducción de otras hormonas como el Glucagón y la hormona de crecimiento que se opone a la acción de la insulina. Hay también una deficiencia en la secreción de somostatina en respuesta a la glucosa, lo cual puede contribuir a la hiperglucemia. La somostatina prolonga el tránsito intestinal y retarda la absorción de la glucosa.<sup>23</sup>

Para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 se emplean medidas no farmacológicas y farmacológicas. Las medidas no farmacológicas están orientadas al manejo nutricional y a la actividad física. En las medidas farmacológicas se emplean hipoglucemiantes orales, los hipoglucemiantes orales pueden emplearse sólo o combinados entre estos y en algunos casos con insulina.<sup>23</sup>

### **Factores de riesgo**

Ciertos factores genéticos y culturales aumentan el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2.

- Edad, a mayor edad mayor riesgo de diabetes tipo 2.
- Historia familiar de la enfermedad.
- Exceso de peso y/o una vida sedentaria.
- Las personas con hipertensión arterial.
- Concentraciones bajas de colesterol HDL.
- Concentraciones altas de triglicéridos.
- Mujeres que han presentado diabetes durante el embarazo.<sup>18</sup>

### **c. Diabetes Gestacional**

La condición se produce debido a que la acción de la insulina es bloqueada, probablemente por las hormonas producidas por la placenta, provocando insensibilidad a la insulina. Dado que la diabetes gestacional normalmente se desarrolla tarde en el embarazo, el feto ya está bien formado, pero sigue creciendo. Por tanto, el riesgo inmediato para el bebé no es tan grave como en el caso de que la madre tenga diabetes tipo 1 o diabetes tipo 2 antes del embarazo. Sin embargo, la diabetes gestacional no controlada puede tener graves consecuencias, tanto para la madre como para el bebé.<sup>17</sup>

La diabetes gestacional en las mujeres normalmente desaparece después del nacimiento. Sin embargo, las mujeres que han tenido diabetes gestacional tienen un mayor riesgo de desarrollar diabetes gestacional en embarazos posteriores y de desarrollar diabetes tipo 2 más adelante en la vida. Los bebés que nacen de madres con diabetes gestacional también tienen un mayor riesgo de obesidad y diabetes tipo 2 en la adolescencia o en la edad adulta temprana. Las mujeres con diabetes gestacional tienen que vigilar y controlar sus niveles de glucosa en sangre para reducir al mínimo los riesgos para el bebé.<sup>17</sup>

La diabetes gestacional, se desarrolla en un 2% a un 5% de todos los embarazos. La obesidad también está asociada con un alto riesgo de desarrollar este tipo de diabetes. Según estudios, cerca del 40% de las mujeres con diabetes gestacional desarrolló diabetes.<sup>24</sup>

### **d. Otros tipos de diabetes**

Se da como resultado de alteraciones genéticas específicas en la función de la célula beta como las formas llamadas MODY (maturity onset diabetes of the Young), cirugías, infecciones (rubeola congénita, coxsachie B, citomegalovirus parotiditis), fármacos tóxicos (corticoides, ácido nicotínico, interferón alfa, pentamidina), enfermedades pancreáticas (pancreatectomía, pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, neoplasia del páncreas) por último existen otras enfermedades como síndrome de Down, turner, Klinefelter.<sup>25</sup>

#### **2.3.4. Efectos Nocivos de la diabetes en la Salud**

Es frecuente que en los diabéticos, tanto tipo 1 como tipo 2, el estómago tarde más de lo habitual en vaciarse. Pueden aparecer, por tanto, ardor de estómago,

náuseas, regurgitación de alimentos no digeridos, una sensación temprana hinchazón en la barriga al comer y espasmos de la pared del estómago.<sup>8</sup>

Los diabéticos también tienen un aumento en el riesgo de padecer infartos del corazón, trombosis cerebral y lesiones en los pies debidos a la mala circulación y a la pérdida de la sensibilidad.<sup>8</sup>

La diabetes es una enfermedad que muchas veces también se acompaña de exceso de peso, hipertensión arterial y elevación del colesterol y los triglicéridos entre otras las complicaciones. Muchos estudios han demostrado que el perjuicio que producen la tensión arterial y valores de colesterol elevados es similar al que tiene la propia elevación de la glucosa. También hay que añadir que, en la medida en que la glucosa está elevada, esta a su vez puede elevar los valores de triglicéridos y perjudicar a la coagulación.<sup>8</sup>

#### **2.4. Páncreas**

Es una glándula mixta con liberación exocrina (jugo pancreático) y secreciones internas (glucosa e insulina) que penetran en la sangre. La parte endocrina consiste en agrupamientos de células, los islotes de Langerhans, que representan solo el 1% de peso del páncreas conteniendo 3 tipos de células.

- Células alfa (20%) sintetizan y secretan la hormona glucagón.
- Células beta (75%) sintetizan y secretan la insulina.
- Células gama (5%) sintetizan y secretan la somatostatina.<sup>19</sup>

En las células beta pancreáticas los canales de potasio dependientes de ATP ( $K_{ATP}$ ) forman la unión entre la utilidad de nutrientes (glucosa) y secreción de insulina del páncreas. En este tejido canal de potasio dependiente de ATP ( $K_{ATP}$ ) en la célula beta se encuentra predominantemente cerrado en presencia de concentraciones fisiológicas de ATP intracelular y se abre cuando baja la concentración de ATP. El canal de potasio determina el nivel basal del potencial de membrana y su modulación juega un papel importante en la regulación de la secreción de insulina.<sup>26</sup>

#### **2.5. Insulina**

Es una hormona hipoglucemiante producida por las células beta o B de los islotes de Langerhans del páncreas. Químicamente la insulina es una proteína que se destruye por la pepsina y la quimiotripsina por lo que es inactiva por vía bucal y debe administrarse por vía parenteral. La acción más importante de la

insulina tanto en diabéticos como en personas normales es provocar el descenso de la glucemia favoreciendo la entrada de la glucosa en los tejidos y la transformación de glucosa en glucógeno para almacenarlas en el hígado, inhibe la producción de glucosa en el hígado y estimula la captación de glucosa y el metabolismo de la misma por el musculo y tejido adiposo.<sup>19</sup>

Su estructura molecular está compuesta por dos cadenas polipeptídicas: alfa con 21 aminoácidos y beta con 30 aminoácidos unidos por puentes disulfuro. La liberación de insulina a la sangre para ejercer su acción endocrina se produce principalmente como respuesta al aumento de glucosa en la circulación. Su concentración en sangre es de 0.4 mg/mL. Después de comidas ricas en carbohidratos, esta cifra puede aumentar 3 a 4 veces, la vida media de la insulina en sangre es de 3 a 4 minutos. Diariamente el páncreas segrega a la sangre 1 a 2 mg de insulina.<sup>23</sup>

La insulina ejerce sus efectos al enlazarse a receptores de insulina presentes en las superficies de las células blancos. Hay receptores de insulina en hígado, músculo y grasa que son los tejidos clásicos sensibles a la insulina responsable de la homeostasis del combustible.<sup>23</sup>

## **2.6. Glucosa**

Constituye un alimento de primer orden suministra 4.1 kcal/g. por oxidación bajo la acción de enzimas y de coenzimas como la niacina o la riboflavina, se convierte en CO<sub>2</sub> Y H<sub>2</sub>O, la glucosa como todos los carbohidratos tienen la propiedad de disminuir el catabolismo proteico, por lo que produce un ahorro de proteínas, de manera que el balance nitrogenado se mantiene con menos cantidad de ellas por día.<sup>19</sup>

Es así que en la ingestión de 75 a 100 g de glucosa, pasa a la sangre y la glucemia se eleva de 80 mg/dL en ayunas hasta alcanzar uno 130 mg/dL a los 30 a 60 minutos para descender luego por biotransformación de glucosa y llegar a nivel inicial a las dos horas (curva de tolerancia de la glucosa) en esta forma la vida media es de alrededor de 0.4 hora.<sup>19</sup>

El exceso continuado de glucosa en la sangre puede afectar a diversos órganos y tejidos. Aumenta la probabilidad de padecer problemas en dientes y encías: gingivitis, periodontitis, infecciones. La glucosa elevada en la sangre, la hipertensión arterial y la elevación en sangre de colesterol y triglicéridos pueden

causar lesiones en los vasos sanguíneos grandes y pequeños y con ello alterar los ojos, reduciendo la visión y conduciendo en ocasiones a la ceguera. Del mismo modo, pueden lesionarse las células y los vasos sanguíneos de los riñones, afectando a la capacidad de filtración y pudiendo producir, en algunos casos, mal funcionamiento del riñón.<sup>8</sup>

### **2.6.1. Valores de glucosa en la sangre:**

Valores normales de glucemia en ayunas son de 70-110 mg/dL

Valores normales de glucemia con alimentos se eleva a 140-200 mg/dL.<sup>27</sup>

En los pacientes diabéticos los valores de glucosa se encuentran elevados pudiendo llegar a la concentración de 300-1200 gr/dL de glucosa en sangre, originándose muchas alteraciones y estragos en el organismo.<sup>27</sup>

### **2.6.2. Hipoglucemiante**

La hipoglicemia se define como el síndrome clínico donde las concentraciones de glucosa en sangre se sitúan por debajo de 50 mg/dL.<sup>22</sup>

Esto significa que la cantidad de azúcar en su sangre no es suficiente para darle a las células del cerebro o a los músculos la energía que necesitan para funcionar. En ocasiones pueden aparecer síntomas hipo glicémicos con niveles de glucosa normales, esto ocurre cuando la disminución de los niveles tiene lugar de forma brusca.<sup>22</sup>

#### **a. Hipoglicemia severa**

Hipoglicemia severa: la que ocasiona coma, convulsiones o alteraciones neurológicas que impiden que el paciente pueda auto tratarse, precisando ayuda de otra persona.<sup>22</sup>

#### **b. Hipoglicemia moderada**

Hipoglicemia moderada: existe alteración de la función motora, confusión o conducta inadecuada, pero está lo suficientemente alerta para el auto tratamiento.<sup>22</sup>

#### **c. Hipoglicemia leve**

Hipoglicemia leve: es el propio paciente el que siente necesidad de tomar alimento, sin presentar alteración neurológica. Los signos y síntomas de la hipoglicemia son: visión borrosa, entorpecimiento, confusión, convulsiones



(ataques) si el azúcar está demasiado baja, mareos o aturdimiento, desmayos, palpitaciones aceleradas, dolor de cabeza, hambre, mal genio, náuseas (malestar estomacal), nerviosismo, piel pálida y sudorosa, desvanecimiento (si el azúcar está muy bajo), temblores, sudor, cansancio, debilidad.<sup>22</sup>

### **2.6.3. Hiperglucemia**

Es la cantidad excesiva de glucosa en la sangre. Es el hallazgo básico en todos los tipos de diabetes mellitus, cuando no está controlada o en sus inicios. Las células retiran la glucosa de la sangre en respuesta a la insulina. Si el páncreas no fabrica suficiente insulina, la glucosa no puede llegar a las células y se mantiene presente en la sangre. Las concentraciones de glucosa sanguínea también pueden llegar a ser demasiado altas si las células no pueden responder debidamente a la insulina (resistencia a la insulina). Sin glucosa, las células no pueden fabricar energía ni tener un funcionamiento normal. La hiperglucemia es un síntoma de diabetes; sin embargo, una persona puede tener hiperglucemia sin tener diabetes.<sup>28</sup>

## **2.7. Tratamiento de la diabetes**

### **2.7.1. Tratamiento no farmacológico**

El objetivo primordial es mantener el peso corporal del paciente, muy próximo a su peso teórico ideal, con alimentos que contengan baja cantidad de grasa y azúcar, pues tales ingredientes contribuyen a que la sangre no fluya normalmente en nuestro organismo.<sup>25</sup>

#### **Ejercicio físico**

El esfuerzo físico controlado incrementa la utilización de glucosa por el músculo en enfermos insulino dependientes los ejercicios físicos mejoran la absorción de la insulina de los depósitos histicos sub cutáneos. La actividad física de 30 minutos diarios, es importante en todos los diabéticos, pero los mismos deben programarse especialmente en forma individualizada para cada enfermo.<sup>25</sup>

#### **Educación sanitaria**

El médico tratante, tiene la misión fundamental de informar y enseñar al paciente los aspectos fundamentales de la diabetes y como detener rápidamente signos y síntomas alarmantes referentes a reacciones de hipoglicemia o hiperglicemia.<sup>25</sup>

### **2.7.2. Tratamiento farmacológico**

Los hipoglucemiantes son necesarios en quienes padecen diabetes mellitus tipo II en los que fracasa el tratamiento dietético. En los pacientes diabéticos de tipo 2 hay que iniciar un tratamiento dietético acompañado de ejercicio físico adaptado a la edad y si después de 3-6 meses la respuesta no es adecuada se recomienda iniciar el tratamiento con hipoglucemiantes por vía oral.<sup>25</sup>

#### **Antidiabéticos orales**

Los hipoglucemiantes orales son un conjunto heterogéneo de drogas que se caracterizan por producir una disminución de los niveles de glucemia luego de su administración por vía oral, cumpliendo con este propósito a través de mecanismos pancreáticos y/o extrapancreáticos.<sup>29</sup>

Los hipoglicemiantes orales abarcan cuatro familias de drogas bien definidas: sulfonilureas, biguanidas, inhibidores de la alfa glucosidasas, tiazolidinedionas.<sup>22</sup>

#### **Sulfonilureas**

Son compuestos sintéticos derivados de las sulfonilureas, con sustituciones en los grupos urea y benceno, afirman que son sulfonamidas modificadas. Estos medicamentos siguen siendo los fármacos más populares, fáciles de usar, aparentemente seguros y menos costosos y disponibles en el mercado, las clasifica en sulfonilureas de primera generación (Tolazamida, Clorpropamida, Tolbutamida) y de segunda generación (Glibenclamida, Glipizida) finalmente Malgor y Valsecia las clasifica como de duración: Corta, Mediana y Prolongada.<sup>14</sup>

Dentro de las sulfonilureas tenemos a los fármacos de duración corta como: glibenclamida (droga prototipo), tolbutamida, glipizida, gliquidona, gliciclamida.<sup>22</sup>

#### **Mecanismo de acción de la sulfonilureas**

Estos agentes estimulan la secreción de insulina, aunque también se han encontrado algunos efectos extrapancreáticos parecen ser una elección racional para iniciar la intervención farmacológica, ya que muchos padecen DM tipo II son relativamente deficientes de insulina.<sup>14</sup>

Las sulfonilureas incrementan la secreción de insulina y bajan la glicemia. Este efecto se debe a una interacción específica y de alta afinidad de la droga con un receptor de la membrana de las células beta. Como consecuencia de esta interacción, se cierran los canales de K<sup>+</sup> (en la DMII, debido al déficit de ATP, los

canales de  $K^+$  que son estimulado por este nucleótido permanecen abiertos) provocando la despolarización de la célula beta y un cambio en el potencial de membrana que abre los canales de  $Ca^{2+}$  que permite la migración de este catión al interior de la célula. El incremento del calcio en el citoplasma provoca la secreción de la insulina por exocitosis. Las Sulfonilureas estimulan la secreción de la insulina ya formada, pero no incrementan su síntesis.<sup>1</sup>

### **Glibenclamida**

El principal metabolito de la glibenclamida es el derivado 4-trans-hidroxi y un segundo metabolito que también se produce es el derivado 3-cis-hidroxi. Estos metabolitos probablemente no contribuyan a la acción hipoglucemiante en los seres humanos, ya que se ha visto que son débilmente activos (1/400 y 1/40 del efecto total, respectivamente) en conejos.<sup>30</sup>

Sulfonilureas de 2da generación. Presenta mejor respuesta farmacológica cuando se toman de 15 a 30 minutos antes de los alimentos. Alcanza niveles máximos plasmáticos a las 3 horas. Es metabolizado a nivel hepático aproximadamente el 50% de la dosis es eliminado por las heces el otro 50% por vía renal. Tiene una vida media de eliminación de 10 horas y una duración efectiva de acción de 24 horas. Su dosis máxima son 20 mg por día. Viene en presentación de 5 mg.<sup>31</sup>

### **Mecanismo de acción**

La glibenclamida reduce la glucosa sanguínea al estimular la liberación de insulina dependiente de las células beta de los Islotes de Langerhans por el páncreas, además de aumentar la sensibilidad de los tejidos periféricos a la insulina. Molecularmente existe un aumento de la salida de potasio de las células beta, lo que aumenta la entrada de calcio y favorece la exocitosis de los gránulos de insulina. Además de su acción hipoglucemiante, la glibenclamida produce una diuresis leve, por la mejora de la depuración renal de agua libre.<sup>30</sup>



### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Lugar de ejecución**

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios (centro de desarrollo, análisis y control de calidad de medicamentos y en el laboratorio de farmacología) 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 durante los meses de diciembre del 2017 hasta abril del 2018.

#### **3.2. Población y muestra**

##### **3.2.1. Población**

Especie de *Bixa orellana* L. “achiote”, del distrito de San Francisco que crece a 620 msnm, provincia de La Mar, departamento de Ayacucho.

##### **3.2.2. Muestra**

Se realizó un muestreo por conveniencia. 3 kg de semillas de *Bixa orellana* L. “achiote”, recolectadas del distrito de San Francisco. Una parte de la planta recolectada se llevó al *Herbarium Huamangensis* para su respectiva identificación y su clasificación taxonómica.

##### **3.2.3. Unidad experimental**

Se utilizaron 48 ratas albinas de cepa Holtzman en buen estado de salud, con un peso entre 150 a 200 g adquiridos del Bioterio del Instituto Nacional de Salud. Criados y alimentados en las mismas condiciones.

#### **3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos**

##### **3.3.1. Procedimiento para la recolección de muestra**

Las semillas se recolectaron manualmente en el mes de noviembre del 2017, en estado natural.

### **3.3.2. Secado, molienda y tamizaje**

La muestra se lavó, posteriormente el secado se realizó utilizando la estufa a una temperatura de 40 °C por un periodo de 96 horas, luego fueron reducidas de tamaño con un molino de cuchillas, las muestras molidas fueron recuperadas del molino y se procedió a tamizarlos.

### **3.3.3. Preparación del extracto acuoso y atomización**

Las semillas secas y reducidas de tamaño de *Bixa orellana* L. “achiote” fue sometida a una extracción acuosa, el cual se preparó en el tanque “mezclador de sólidos” en una relación de 1 a 10 (sólido/liquido) a una temperatura de 90° C durante 25 minutos, seguidamente se procedió a filtrar, obteniendo 9500ml de extracto acuoso.

Para la concentración del extracto acuoso de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” se empleó el tanque “evaporador” a una temperatura de 40° C a 80° C hasta llegar a un 10% de concentrado, luego se procedió a filtrar al vacío. Posteriormente la solución concentrada se procedió atomizar. Para la cual se utilizó el Atomizador Spray Driver B290 del CEDACMEF de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, considerando los siguientes parámetros:

- Bomba (%): 6-7%.
- Limpiador de boquillas: 5.
- Temperatura de entrada: 150 °C.
- Temperatura de salida: 086°C.
- Tiempo: 4 horas.

Cantidad 600mL, obteniéndose 50 g de extracto atomizado de *Bixa orellana* L. “achiote”.

### **3.3.4. Identificación fitoquímica**

Para determinar el perfil fitoquímico se empleó el método de análisis cualitativo de ensayo a la gota, el cual consiste en someter al extracto vegetal, según la polaridad, a reactivos específicos que generan compuestos coloreados o precipitados, según el tipo de metabolito secundario presente.<sup>32</sup>

### 3.3.5. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto acuoso atomizado

#### a. Características organolépticas

**Color:** Se tomó una cantidad suficiente de muestra y luego se llevó a una luna de reloj o tubo de ensayo, esta se colocó en un fondo blanco, finalmente se observó y se determinó el tipo de color, utilizando el círculo cromático.<sup>22</sup>

**Olor:** Se tomó cantidad suficiente de muestra, luego se colocó en una luna de reloj o tubo de ensayo, se percibió y se determinó el tipo de olor. Según la estructura estereoquímica correspondiente y olores primarios, se consideraron los siguientes tipos de olores: dulce, naftalínico, almizclado, alcanforado, jazmínico, anisado, graso, floral, leñoso y característico.<sup>22</sup>

**Sabor:** Se tomó una cantidad suficiente de muestra y se llevó a una luna de reloj, posteriormente se realizó contacto con la lengua y se determinó el tipo de sabor. Se consideraron cinco sabores elementales: dulce, amargo, ácido, salado y umami.<sup>22</sup>

**Aspecto:** Se tomó una cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, se observó y se determinó el aspecto de la muestra.<sup>22</sup>

**b. Solubilidad:** Se pesó un gramo de muestra, posteriormente se llevó a un tubo de ensayo, luego se adicionó 1ml de solvente (agua, alcohol y cloroformo), agitó y se observó.<sup>33</sup>

**c. Determinación del pH:** Se preparó una solución reguladora de pH, para rango de 0-7 preparada de la siguiente forma: 2,5 g de bitartrato de potasio para 250 ml de agua (pH = 3,5). Una vez que se preparó la solución reguladora se ajustó al equipo al rango en que se utilizó la determinación. Luego se determinó el pH de la muestra.<sup>33</sup>

**d. Determinación del contenido de humedad.** Se pesó 2,0 g de muestra con desviación permisible de 0,5 mg y se transfirió en una cápsula de porcelana previamente tarada y secada, calentó y desecó a 105 °C durante 3 horas. La cápsula se llevó a la desecadora, donde se enfrió a temperatura ambiente y se pesó, llevando nuevamente a la estufa durante una hora, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.<sup>33</sup>

Cálculo:

$$HG = \frac{M_2 - M_1}{M_1 - M} \times 100$$

Dónde:

Hg: Pérdida en peso por desecación.

M<sub>2</sub>: Masa de la cápsula y la muestra de ensayo (g).

M<sub>1</sub>: masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecado (g).

100: factor matemático

**e. Determinación de las cenizas totales.** Se pesó no menos de 2,0 g de muestra de ensayo, con una desviación permisible de 0,5 mg en un crisol de porcelana o platino previamente tarado. Se calentó suavemente la muestra de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incineró en la mufla a una temperatura de 700 a 750° C, si no se señala otra temperatura en la norma específica durante dos horas. Luego se enfrió el crisol en una desecadora y se pesó, repitiendo el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran más de 0,5 mg.<sup>32</sup>

Cálculo:

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100 (\%)$$

Dónde:

C: Porcentaje de cenizas totales.

M: Masa del crisol vacío (g).

M<sub>1</sub>: Masa del crisol y porción de ensayo (g).

M<sub>2</sub>: Masa del crisol con la ceniza (g).

100: Factor matemático.

### 3.3.6. Determinación del efecto hipoglucemiante

**Fundamento:** medición de los niveles de glucosa en sangre mg/dL inducido con aloxano en ratas de cepa Holtzman.<sup>34</sup>

**Procedimiento:**

- Se utilizó ratas hembras de cepa Holtzman con un peso promedio de 150 a 200g.



- Se aclimató como mínimo dos días antes en jaulas metálicas con viruta; en condiciones estándares, iluminación y temperatura para evitar el efecto del estrés, con alimento y agua a libertad.
- Las ratas en tratamiento fueron sometidas en ayuno 24 horas antes del tratamiento.
- Pesó, codificó y randomizó las ratas en grupos, teniendo en cuenta el siguiente diseño: Grupo I: Suero fisiológico 2 mL/kg; Grupo II: Aloxano 180 mg/kg; Grupo III: Aloxano + Glibenclamida 5 mg/kg; Grupo: IV, V y VI: aloxano + extracto acuoso atomizado de 100, 200 y 400 mg/kg respectivamente.
- A las ratas se les administró por vía intraperitoneal aloxano monohidratado en dosis de 180 mg/kg disuelto en agua destilada.
- Se determinó el nivel de glucosa basal en cada uno de los animales para lo cual se tomó la muestra de sangre de la cola con una lanceta, se descartó la primera gota, luego se recibió la siguiente sobre la tira reactiva.
- Los niveles de glucosa se determinó usando el glucómetro digital.
- Posteriormente a la toma de la muestra basal se administró el producto a evaluar en diferentes dosis y estándar farmacológico (Glibenclamida y extracto acuoso *Bixa orellana* L. de 100, 200 y 400 mg/kg).
- El intervalo de tiempo para la administración de cada sustancia a ensayar y estándar fue cada treinta minutos. La medida de la glicemia se realizó pasada la hora de administración de los tratamientos
- La medición de la glicemia fue a la 1, 3, 5, 7 y 9 horas.
- Los valores obtenidos fueron expresados en mg/dL.
- Luego se calculó el área bajo la curva de los niveles de glucosa en función del tiempo por el método del trapecio.

**Método del trapecio:** Consiste en aproximar el área bajo la curva  $f(x)$  en el intervalo  $[a,b]$  que contiene los datos, mediante el área del trapecio rectángulo determinado por los puntos  $(a,0)$ ,  $(b,0)$ ,  $(a, f(a))$  y  $(b, f(b))$ , tal y como muestra la figura 01:

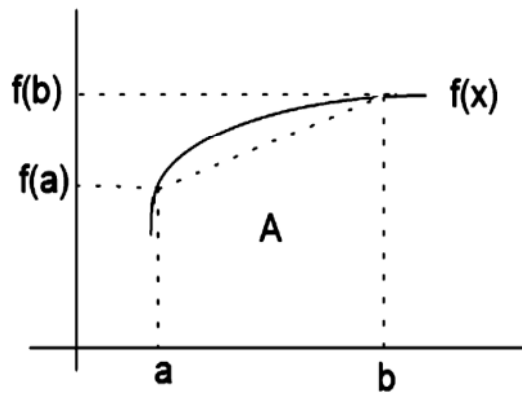


Figura 01. Área bajo la curva por el método de los trapecios.

El área del trapecio es la semisuma de las bases multiplicadas por la altura. En este caso será:

—

### 3.4. Diseño experimental

El diseño que se empleó, es el diseño de postprueba únicamente y grupo control. Simbólicamente y de forma abreviada corresponde a:

$RG_n$	$X_n$	$O_n$
$RG_c$	----	$O_c$

Donde **RG** corresponde a los grupos experimentales organizados aleatoriamente, **X**, es el estímulo, **O**, es la observación y (----) ausencia de estímulo.<sup>35</sup>

El diseño experimental para evaluar el efecto hipoglucemiante será con seis tratamientos y ocho repeticiones para cada grupo del modo siguiente:

<b>Grupo</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Dosis</b>
Grupo I	Suero fisiológico	2 mL/kg
Grupo II	Aloxano	180 mg/kg
Grupo III	Aloxano + Glibenclamida	5 mg/kg
Grupo IV	Aloxano + extracto	100 mg/kg
Grupo V	Aloxano + extracto	200 mg/kg
Grupo VI	Aloxano + extracto	400 mg/kg

**H<sub>0</sub>:** El extracto acuoso atomizado a partir de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas.

**H<sub>i</sub>:** El extracto acuoso atomizado a partir de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” no posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas.

### **3.5. Análisis estadístico**

Los resultados serán expresados en cuadros y gráficos. Se determinará el área bajo la curva de los niveles plasmáticos usando el método de los trapecios. Los datos serán sometidos al Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0.05. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos serán evaluados a través de la prueba de Tukey (programa SPSS versión 21).



## **IV. RESULTADOS**



Tabla 3. Metabolitos secundarios del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho, 2018

Metabolitos secundarios	Reactivos y/o reacciones	Resultados	Observaciones
Saponinas	Espuma	+++	Formación de espuma por más de dos minutos
Lactona	Baljet	++	Coloración rojo vinagre
Triterpenos	Lieberman y Burchard	+++	Coloración púrpura
Fenoles	Tricloruro férrico	+++	Coloración rojo-vino
Flavonoides	Shinoda	++	Coloración naranja en la fase amílica
Alcaloides	Dragendorff	++	Turbidez definida
	Mayer	+	Opalescencia
	Wagner	++	Turbidez definida

**Leyenda:**

Escasa/leve: (+)

Regular/moderada (++)

Abundante/intensa: (+++)

Tabla 4. Parámetros fisicoquímicos del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote”. Ayacucho, 2018

<b>Parámetros</b>	<b>Ensayo</b>	<b>Resultados</b>
Organolépticos	Color	Dorado
	Olor	Característico
	Sabor	Amargo
	Aspecto	Polvo fino
Solubilidad	Agua	Soluble
	Etanol	Soluble
	Cloroformo	Soluble
pH	Extracto acuoso atomizado	6,031
Humedad (%)	Pérdida por desecación	1.21
Cenizas (%)	Cenizas totales	13



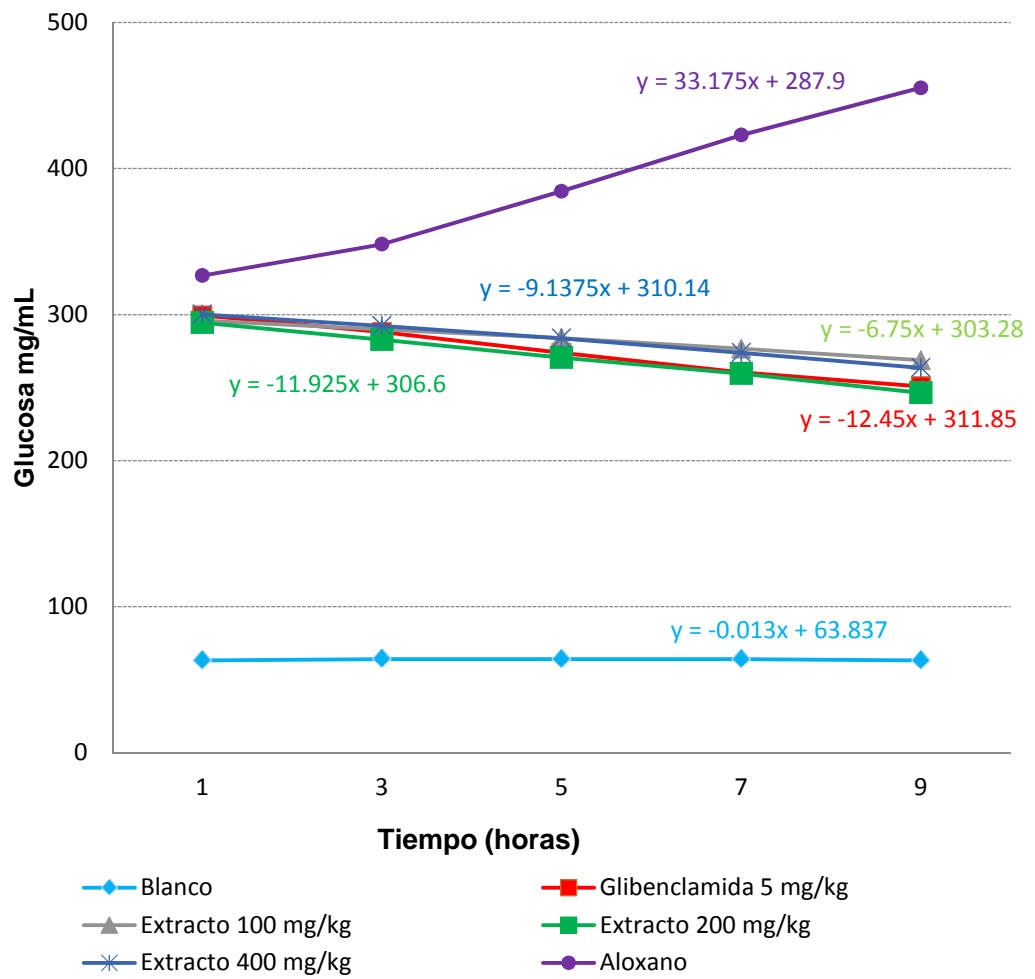
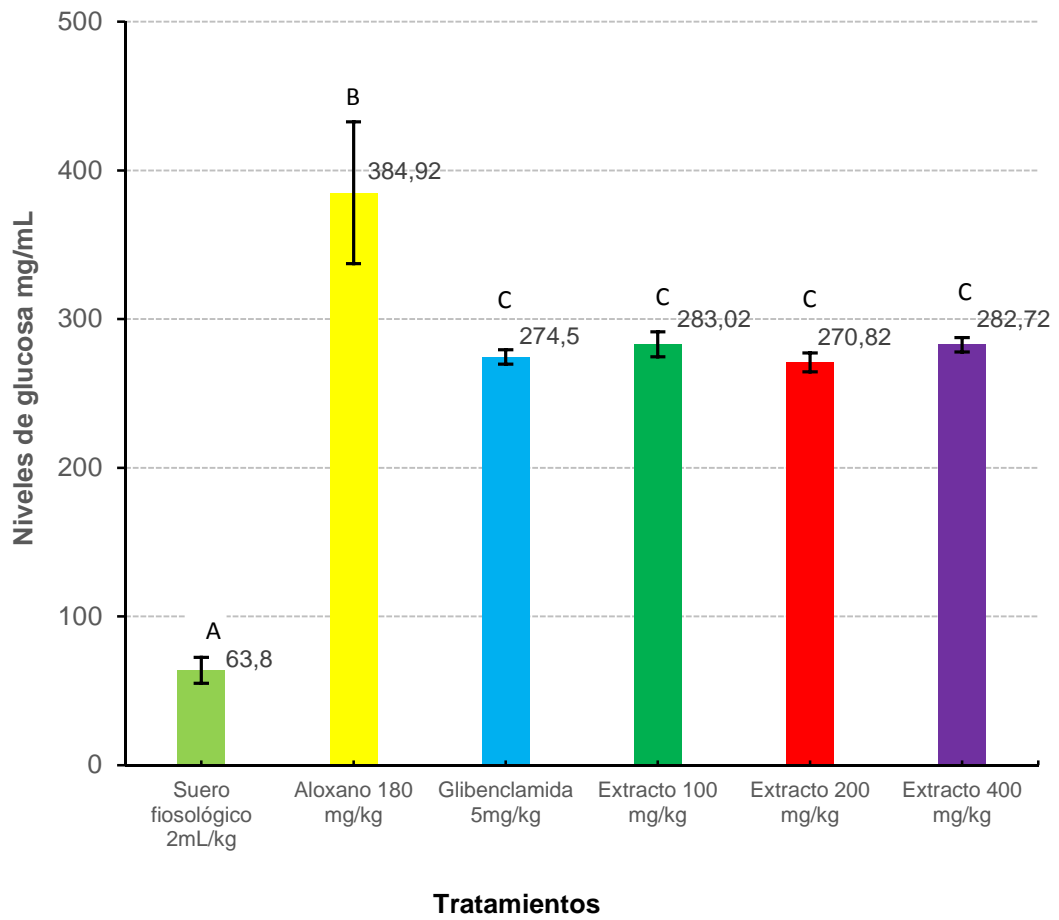
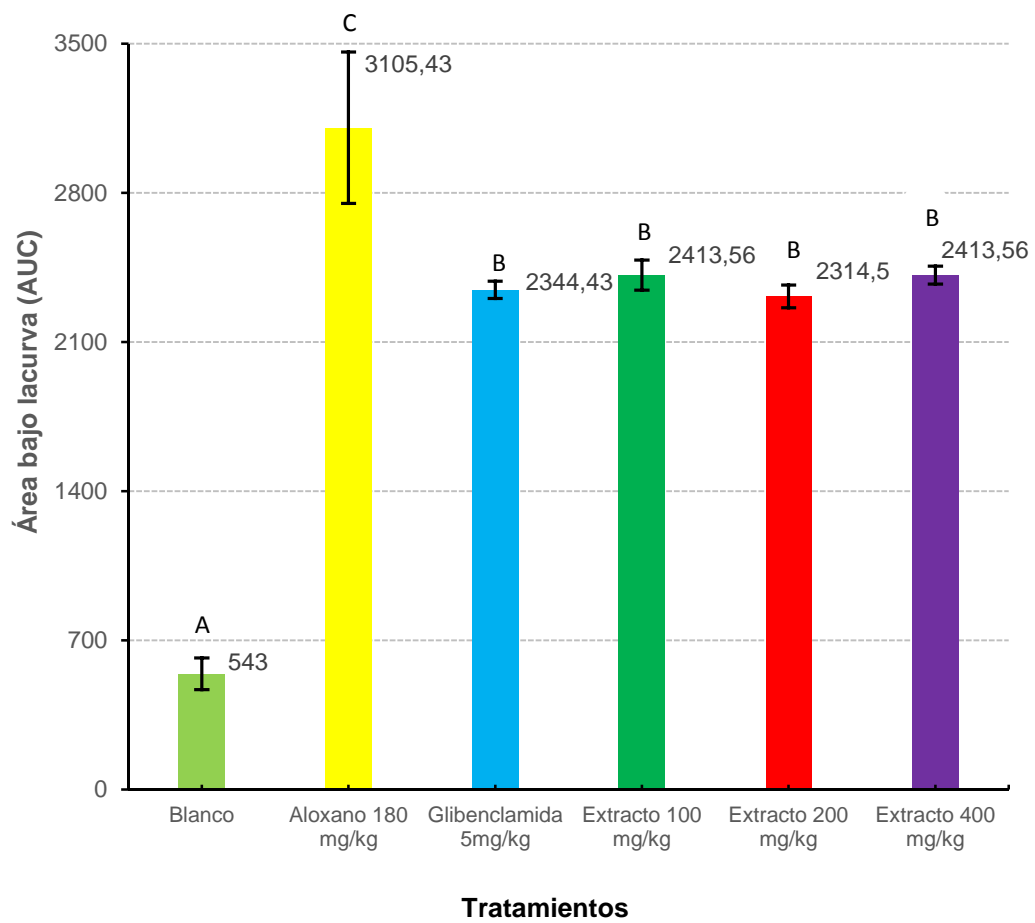


Figura 2. Variación de los niveles de glucosa sanguínea en función del tiempo del extracto acuoso atomizado de *Bixa orellana* L. “achiote”. Ayacucho, 2018



ANOVA:  $p=1,14 \times 10^{-28}$

Figura 3. Valores de los niveles de glucosa en función de los distintos tratamientos del extracto acuoso atomizado de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho, 2018



ANOVA:  $p = 4,92 \times 10^{-30}$

Figura 4. Área bajo la curva de la eficacia hipoglucemiante en función de los diferentes tratamientos del extracto acuoso atomizado de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho, 2018



## V. DISCUSIÓN

El uso de plantas con fines curativos surge desde tiempos remotos, donde el hombre no contaba con ningún otro recurso efectivo para tratar las enfermedades que le aquejaban, siendo las plantas el único arsenal terapéutico de la época. A partir de entonces y con el paso del tiempo se fue enriqueciendo el conocimiento popular en esta materia.<sup>36</sup>

El desarrollo de las ciencias, especialmente la química, devino en un freno para el uso de las plantas medicinales, ya que éstas comenzaron a ser sustituidas por diversos fármacos obtenidos por síntesis química. Sin embargo, en la actualidad, se ha retomado nuevamente el empleo de medicamentos herbarios, ya que muchos estudios realizados por diversos investigadores han demostrado que las plantas pueden ser tan efectivas como los medicamentos sintéticos, presentando grandes ventajas con respecto a éstos.<sup>36</sup>

El Achiote es originario de la América tropical. A la llegada de los europeos el achiote era cultivado desde México hasta Brasil; su área de origen es posiblemente la hoya amazónica.<sup>37</sup>

La semilla, pula y raíz del achiote tienen propiedades medicinales: la capa de la semilla contiene 3% de sustancias parecidas a cera, la cual paraliza los parásitos intestinales.<sup>37</sup>

La tabla 3, muestra los resultados de la identificación fitoquímica del extracto acuoso de *Bixa orellana* L. "achiote" como: saponinas, lactonas, triterpenos, fenoles, flavonoides y alcaloides. Por su parte Muñoz<sup>38</sup>, determinó la presencia de alcaloides, triterpenos/esteroides, antocianidinas, flavonoides, saponinas y taninos, en la investigación: estudio farmacognóstico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) proveniente del distrito de Usquil, provincia de Otuzco, Región la Libertad.

Por su parte Barros y col.<sup>39</sup>, ratificaron la presencia de antocianidinas, flavonoides, saponinas y taninos alcaloides, triterpenos/esteroides en el estudio: Identificación preliminar de los fitoconstituyentes y cuantificación de flavonoides totales en las hojas de *bixa orellana* (achiote).

La que más destaca es la presencia de flavonoides por la coloración roja, en la fase amilica. Saponinas por la formación de espumas por más de dos minutos.

Por su parte Alfaro y col.<sup>40</sup>, nos menciona que en las semillas encontramos: carotenoides expresados como provitamina A (1000-2000 U.I./g de semilla seca), entre ellos destacan: bixina, betabixina, metilbixina, norbixina, orelina, zeaxantina,  $\beta$ -caroteno, luteína y criptoxantina; también contienen bixinato de sodio, achiotina, ácido tomentósico, pectinas, proteínas, taninos, y un hidrocarburo sesquiterpénico, ishwarane (esencia floral de las semillas). Las semillas también contienen sílica, potasa, un alto contenido de fósforo y bajo de calcio; un alto contenido de proteínas, el cual incluye niveles adecuados de triptófano y lisina, pero bajos niveles de metionina, isoleucina, leucina, fenilalanina y treonina.

La tabla 4, muestra los parámetros fisicoquímicos del extracto acuoso atomizado de *Bixa orellana* "achiote". Este presenta un color dorado, olor característico, sabor amargo y aspecto polvo fino. Soluble en agua, etanol y cloroformo y un pH ácido, con un porcentaje de humedad de 1,21% y cenizas totales de 13%.

Para determinar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. "achiote", se utilizó el método propuesto por Arroyo<sup>34</sup>, que consiste en la medición de los niveles de glucosa en sangre mg/dL inducido con aloxano en ratas de cepa Holtzman.

La figura 2, muestra la variación de los niveles de glucosa sanguínea en función del tiempo del extracto acuoso atomizado de *Bixa orellana* L. "achiote", donde se observa que el extracto de 200 mg/kg presenta menor valor de glucosa a las 5 horas en comparación con el extracto 100 y 400 mg/kg respectivamente. A su vez también con el estándar glibenclamida 5 mg/kg y el aloxano 180 mg/kg. Por su parte Orellana<sup>41</sup>, nos muestra que el cuarto, quinto y sexto grupo de tratamiento del extracto hidroalcohólico de *Curcuma longa* a las concentraciones de 50 mg/kg, 100 mg/kg y 200 mg/kg respectivamente, se observa una disminución significativa en todos los tiempos evaluados, con la concentración de 50 mg/kg se observa una mejor disminución de la glicemia a comparación de

las concentraciones de 100 mg/kg y 200 mg/kg e inclusive se observa una mejor disminución que el hipoglucemiante oral (glibenclamida).

Por su parte García<sup>42</sup>, comparó los niveles de glicemia de las ratas del grupo tratadas con extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “achiote” y Metformina, (P=0.97), deduciendo que los valores de ambas pruebas eran estadísticamente iguales, a pesar de tener medias de 408,8 ± 143,1 mg/dl en el grupo de extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “achiote” y 411,4 ± 110,7 mg/dl en el de Metformina. Analizándose el diagrama de cajas, los valores de glicemia del grupo de *Bixa Orellana* “achiote” se encontraban más dispersas que los de Metformina, dando a entender que las glicemias del grupo de Metformina eran más homogéneas que del extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “achiote”, lo que estaría explicando su definida actividad hipoglicemiante. En el estudio: Efecto del extracto hidroalcohólico de la *Bixa orellana* “achiote” comparado con metformina sobre los niveles de Glicemia en *Rattus rattus*.

El anexo 9, muestra el análisis de varianza del área bajo la curva, se determinó que existe diferencia significativa ( $p=4,92 \times 10^{-30}$ ) a un nivel de confianza de 95%, en cuanto a sus medias y varianzas.

Por otra parte Chuquitarqui y Valdivia<sup>43</sup>, nos menciona que el análisis de varianza sirve para comparar si los valores de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores de otro ó más conjuntos de datos. En el: “Estudio fitoquímico preliminar y evaluación del efecto diurético del extracto de *laurus nobilis* “laurel” en animales de experimentación”.

El anexo 12, representan las comparaciones múltiples de los valores de glucosa en función de los tratamientos del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote”. Donde Tukey muestra una clasificación de los tratamientos basado en el grado parecido existente en su media.

Chuquitarqui y Valdivia<sup>43</sup>, nos menciona, que Tukey aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. En el: “Estudio fitoquímico preliminar y evaluación del efecto diurético del extracto de *laurus nobilis* “laurel” en animales de experimentación”.

La figura 3, muestra los valores de los niveles de glucosa en función de los distintos tratamientos del extracto acuoso atomizado de *Bixa orellana* L.

“achiote”. Esta gráfica nos muestra que el extracto de 200 mg/kg con (270,82 mg/dL) no existe diferencia significativa ( $p= 1,14 \times 10^{-28}$ ) respecto a los tratamientos de 100 y 400 mg/kg con (283,02; 282,72 mg/dL) respectivamente y al estándar; glibenclamida 5 mg/kg (274,5 mg/dL).

Por su parte Tunque<sup>44</sup>, nos menciona que el extracto de 300 mg/kg con (136,35 mg/dL) difiere de los extractos 100 y 200 mg/kg (179; 160,67 mg/dL) respectivamente. En el estudio: actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de rizoma de *Jatropha macrantha* M. Arg. “huanarpa macho” en ratas albinas Holtzman.

La figura 4, nos muestra el área bajo la curva de la eficacia hipoglicemiante en función de los diferentes tratamientos del extracto acuoso atomizado de *Bixa orellana* L. “achiote”. Esta nos muestra que el extracto de 200 mg/kg con (2314,5) no difiere estadísticamente ( $p=4,92 \times 10^{-30}$ ) de los extractos 100, 400 mg/kg con (2413,56; 2413,56) respectivamente y el estándar Glibenclamida 5mg/kg con (2344,43).

La metodología utilizada para hallar el área bajo la curva fue el método del trapecio. Carbajal<sup>43</sup> nos menciona que el método del trapecio consiste en aproximar el área bajo la curva  $f(x)$  en el intervalo  $[a,b]$  que contiene los datos, mediante el área del trapecio rectángulo determinado por los puntos  $(a,0)$ ,  $(b,0)$ ,  $(a, f(a))$  y  $(b, f(b))$ . También nos menciona que el área del trapecio es la semisuma de las bases multiplicadas por la altura.

Si bien es cierto no se conoce exactamente el mecanismo de como la *Bixa orellana* “achiote” disminuye los niveles de glicemia, se han realizado estudios bioquímicos para poder explicarlo, como el de Lugardo, quien determinó que la *Bixa orellana* tiene efecto inhibitorio en la glucosilación no enzimática de proteínas (Glicación o reacción de Maillard), definida como una reacción bioquímica de los grupos amino primarios (aminoácidos, péptidos y proteínas) con el grupo carbonilo (azúcares reductores), distinguiéndose tres etapas: la formación del compuesto base de Schiff (asociación inestable de azúcar con proteínas), producto de Amadori (asociación estable de azúcar y proteínas) y la formación de compuestos fluorescentes y/o coloreados.<sup>42</sup>

En medios fisiológicos la aparición de estos compuestos está definitiva por la agrupación de azúcares reductores (glucosa) y el tiempo de exposición de la proteína. En su estudio identificó que el extracto hidroalcohólico tenía mejor



efecto inhibitorio de esta reacción, recomendando el uso del achiote en la prevención o el tratamiento de patologías donde la hiperglucemia y la glucosilación de las proteínas (AGEs) juegan un papel importante.<sup>42</sup>

En el mercado farmacéutico se vienen desarrollando diversas formas farmacéuticas, para coadyuvar en la hipoglucemia, inflamación, etc. Es por tal motivo que se realizó el presente trabajo de investigación.

Se logró determinar que el extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. "achiote" presenta efecto hipoglucemiante.



## VI. CONCLUSIONES

1. El extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” realizadas en ratas albinas de cepa Holtzman presenta efecto hipoglucemiante.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” son las saponinas, lactonas, triterpenos, fenoles, flavonoides y alcaloides.
3. El extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” presentan un color dorado, olor característico, sabor amargo, y aspecto polvo fino. Soluble en agua, etanol y cloroformo y un pH ácido.
4. El extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” a 200 mg/kg (270,82 mg/mL), presenta mejor efecto hipoglucemiante, siendo esta estadísticamente diferente ( $p=1,14 \times 10^{-28}$ ) al blanco (63,8 mg/mL) y los extractos acuosos atomizados 100 mg/kg, 400 mg/kg con 283,02; 282,72 mg/mL respectivamente.



## VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios comparativos del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. "achiote" con dos o más estándares.
2. Complementar estudios para determinar otras actividades relacionadas a la actividad hipoglucemiante, que pueden ser útiles a la población.
3. Realizar estudios de toxicidad del extracto acuoso atomizado de *Bixa orellana* L. "achiote".



## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barriga K. Uso de disoluciones de *Bixa Orellana* (achiote) como revelador natural de placa dental frente a revelador convencional estandarizado. Trabajo de Titulación previo a la obtención del Título de Odontóloga. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Odontología. Carrera de Odontología. Quito-Ecuador, 2017. [Acceso 21 de Marzo de 2018]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/8332/1/T-UCE-0015-490.pdf>
2. Huamán O., Sandoval M., Arnao I. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote), en ratas. Facultad de Medicina. Vol. 70, número 2, pp. 97-102. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima – Perú, 2009. [Acceso 30 de Mayo de 2017]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/379/37912405003.pdf>
3. INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual) Biopat – Perú. Comisión Nacional contra la Biopiratería, tema: Achiote N° 5 Mayo, 2015. Indecopi, [Acceso 30 de Enero de 2018]. Disponible en: [https://www.indecopi.gob.pe/documents/20791/202940/05.Boletin5\\_ACHIOTE.pdf/476c6a8a-ab37-439d-a414-52474b307490](https://www.indecopi.gob.pe/documents/20791/202940/05.Boletin5_ACHIOTE.pdf/476c6a8a-ab37-439d-a414-52474b307490)
4. Huerta L. Estudio de Prefactibilidad de una empresa productora y comercializadora de Bixina dirigido al mercado de Japón. Trabajo de Titulación previo a la obtención del Título de Ingeniero Industrial. Pontificia Universidad Católica del Perú, Facultad de Ciencias e Ingeniería. Lima – Perú 2014. [Acceso 30 de Mayo de 2017]. Disponible en: [http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/5380/HUERTA\\_LUCERO\\_ESTUDIO\\_PRE\\_FACTIBILIDAD\\_EMPRESA\\_PRODUCTORA\\_COMERCIALIZADORA\\_BIXINA\\_JAPON.pdf?sequence=1](http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/5380/HUERTA_LUCERO_ESTUDIO_PRE_FACTIBILIDAD_EMPRESA_PRODUCTORA_COMERCIALIZADORA_BIXINA_JAPON.pdf?sequence=1)
5. Murillo E. Moreno M. Neyibe N., Gutiérrez, H. Estudio del Efecto Hipoglicemiante de *Cordia Alliodora* (Nogal Cafetero) en ratones tratados con Aloxano. Vitae, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica volumen 11. Universidad de Antioquia, Medellín – Colombia.2004. [Acceso 30 de Mayo de 2017]. Disponible en: <https://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/vitae/article/view/451/389>
6. Ventura J., Villacres J., Mego R. Efecto Hipoglicemiante de los extractos de *Tabebuia Obscura* (Tahuari Oscuro) sobre ratas con Diabetes Mellitus Experimental. Artículo Original, Revista Peruana de Medicina Integrativa 2016 EsSalud. [Acceso 30 de Mayo de 2017]. Disponible en: <http://rpmi.pe/wp-content/uploads/2016/04/v01n01-19-24.pdf>
7. Inocente M., Poma E., Zarzosa E., Loja B, Ponce J. Efecto hipoglicemiante de los extractos acuoso y etanólico de *Psidium guajava L.* (Guayaba) en ratas diabéticas inducidas por aloxano. Artículo científico. Centro de investigación de bioquímica y nutrición, instituto de investigación. Revista oficial de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad de San Martín de Porres. Horiz Med 2015. [Acceso 30 de Mayo de 2017]. Disponible en: <http://www.horizontemedicina.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/279>
8. Sánchez V. Obtención de un extracto acuoso con propiedad Hipoglucemiante a partir de las semillas del Achiote (*Bixa Orellana* IINN) para el tratamiento de

- la diabetes, Machala 2014. Trabajo de Titulación previo a la obtención del Título de Bioquímica Farmacéutica, Universidad Técnica de Machala, Machala – el Oro – Ecuador, 2015. [Acceso 29 de Mayo de 2017]. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/2835>
9. Martínez N., Jimenez R., Moreno W., Lamont L., Cayama E., Espino C., Requena D. Efecto Hipoglucemiante de la planta *Bixa Orellana L.* en conejos de la raza Nueva Zelanda y en medios de glucosa con células resuspendidas. Publicado en Anuario de investigación en Etnomedicina. Medicinas Complementarias y utilización de plantas medicinales 2010. [Acceso 24 de Mayo de 2017]. Disponible: <https://www.researchgate.net/publication/270569637> Efecto hipoglucemiante de la planta *Bixa Orellana L.* en conejos de la raza Nueva Zelanda y en medios de glucosa con células resuspendidas
  10. García M. Efecto del extracto hidroalcohólico de la *bixa orellana* "achiote" comparado con Metformina sobre los niveles de glicemia en *rattus rattus*. Tesis para optar el título de Médico Cirujano. Universidad César Vallejo. Facultad de Ciencias Médicas. Escuela profesional de Medicina. Trujillo – Perú. 2016. [Acceso 24 de Mayo de 2017]. Disponible en: [http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/612/garcia\\_rm.pdf?sequence=1](http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/612/garcia_rm.pdf?sequence=1)
  11. Ramírez T. Evaluación de la actividad Hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas de *Bixa Orellana L.* Achiote Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, Perú.2001
  12. Guimet R. Evaluación de la actividad Antioxidante y Determinación de polifenoles totales *in vitro*, de las hojas de ocho morfotipos de *Bixa Orellana L.* Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Iquitos – Perú 2012. Acceso 24 de Mayo de 2017]. disponible en: [http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3645/Raul\\_Tesis\\_Titulo\\_2012.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3645/Raul_Tesis_Titulo_2012.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  13. Ancheta J., Guzmán M. Efecto citoprotector del extracto acuoso de hojas de *Bixa orellana* "achiote" en úlceras gástricas inducidas por indometacina en un modelo de ratones. Tesis para optar el título de Doctor en Medicina. Universidad "Dr. José Matías Delgado" Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela de Medicina. San Salvador; 2011. [Acceso 9 de junio de 2017]. Disponible en: <http://webquery.ujmd.edu.sv/siab/bvirtual/BIBLIOTECA%20VIRTUAL/TESIS/07/MED/ADTESAE0001488.pdf>
  14. Orellana R. Evaluación de la actividad Hipoglucemiante del extracto Hidroalcohólico del rizoma de *Curcuma Longa* "palillo" en ratas wistar. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, Perú.2008.
  15. Limón D., Díaz A., Mediata L., Luna F., Zenteno., E., Guevara J. Los flavonoides: mecanismo de acción, neuro protección y efectos farmacológicos. Lab. De Neuro-farmacología, facultad de ciencias químicas BUAP2 Depto. De Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM. 2010. [Acceso 19 de junio de 2017]. Disponible en:



[http://bq.unam.mx/wikidep/uploads/MensajeBioquimico/Mensaje\\_Bioq10v34p143-154\\_DanielLimon2010.pdf](http://bq.unam.mx/wikidep/uploads/MensajeBioquimico/Mensaje_Bioq10v34p143-154_DanielLimon2010.pdf)

16. Véliz P. Determinación del Incremento Medio Anual (IMA) e Índice de Sitio de Diferentes Especies Forestales en el Bosque Protector Prosperina-ESPOL. Trabajo de Titulación previo a la obtención del Título de Ingeniero Agrícola y biológica, 2010. [Acceso 30 de Julio de 2017]. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/11018/3/VELIZ%20PIGUAVE%20FREDDY%20FERNANDO.pdf>
17. FID (Federación Internacional de Diabetes), Atlas de la diabetes de la FID. Español sexta ed. 2013. [Acceso 23 de Mayo de 2017]. Disponible en: <http://www.diabetesatlas.org/component/attachments/?task=download&id=78>
18. Quispe Z. Efecto Hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* "yacón" en pacientes con diabetes tipo 2. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, Perú.2004
19. Betalleluz A. Actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* "yawar soqo". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, Perú.2007
20. Mejía V. Determinación de la actividad hipoglicemiante de las hojas de *Rubusurticifolius*Poir. (Mora silvestre) y las hojas de *Rubusrosaefolius*Sm. (Frambuesa silvestre) en ratas diabéticas inducidas con estreptozotocina. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala 2015. [Acceso 23 De Mayo De 2017]. Disponible en: [http://www.repositorio.usac.edu.gt/751/1/06\\_3732.pdf](http://www.repositorio.usac.edu.gt/751/1/06_3732.pdf)
21. Roses M., Guzman J. Guías ALAD De diagnóstico, control y tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2. Pan American Health Organization, regional office of the World Health Organization. 2009 [Acceso 23 De Mayo De 2017]. Disponible en: [http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/2010/Guias\\_ALAD\\_2009.pdf](http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/2010/Guias_ALAD_2009.pdf)
22. Yance M. Efecto hipoglicemiante de una tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* en ratas albinas. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, Perú.2014
23. Tasayco J. Actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en ratas con diabetes tipo 1 y 2. Tesis para optar el título de Magister en Farmacología con mención en Farmacología Experimental. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica Unidad de Postgrado. Lima – Perú 2007. [Acceso 23 de Mayo de 2017]. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/223/Tasayco\\_yn.pdf?sequence=1](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/223/Tasayco_yn.pdf?sequence=1)
24. Cárdenas A. Química y evaluación del efecto hipoglicemiante de própolis en ratones diabéticos inducidos con aloxano. Tesis para optar el título de

- Químico Farmacéutico. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias. Escuela de Química y Farmacia. Valdivia – Chile 2008 [Acceso 23 de Mayo de 2017]. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2008/fcc266q/doc/fcc266q.pdf>
25. Rivas J. Efecto hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Brassica campestris* L. “mostaza”. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, Perú. 2013
  26. León M. Efecto de la Glibenclamida sobre la Farmacocinética y Farmacodinamia de Diclofenaco en el modelo de la Formalina en rata. Tesis para optar el Grado de Maestra en Ciencias en Farmacología. Escuela Superior de Medicina Sección de Estudios de Posgrado e Investigación. México DF 2007. [Acceso 23 de Mayo de 2017]. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/4301/EFECTOGLIBENCLA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  27. Tunque N. Actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Jatropha macrantha* M. Arg “huanarpo macho”. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Facultad de Ciencias Biológicas. Escuela profesional de Farmacia y Bioquímica. Ayacucho, Perú. 2011
  28. Gutiérrez M. Efecto del extracto acuoso del *geranium dielsianum knuth* (pasuchaca) en la hiperglucemia inducida experimentalmente con estreptozotocina, en *rattus norvegicus*, arequipa 2016. Tesis para optar el título de Licenciada En Nutrición Humana. Universidad Nacional De San Agustín. Facultad De Ciencias Biológicas. Escuela Profesional y Académico de Ciencias de la Nutrición. Arequipa – Perú 2016. [Acceso 23 de Mayo de 2017]. Disponible en: <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/1858/Nuguzemec.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  29. Torres A. Evaluación del efecto Hipoglucemiante de un extracto acuoso de *Trichocereus peruvianus*, en un modelo de ratones CD1. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico Biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Carrera Química Farmacéutico Biológica. México Df 2013. [Acceso 23 de Mayo de 2017]. Disponible en: [https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wp.content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis\\_torres\\_luna.pdf](https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wp.content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis_torres_luna.pdf)
  30. Bárcenas J. Propuesta de un método alternativo para la cuantificación de glibenclamida en estudios de perfil de disolución por CLAR. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico Biólogo. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. México 2013. [Acceso 23 de Mayo de 2017]. Disponible en: [https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wpcontent/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis\\_barceñas\\_hernandez.pdf](https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wpcontent/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis_barceñas_hernandez.pdf)
  31. Vizcaíno F. Evaluación del tratamiento combinado de Glibenclamida y Acarbosa comparada con Glibenclamida y Metformina en el control glucémico del paciente con Diabetes Mellitus Tipo 2. Tesis para optar el grado de Maestría en Ciencias Médicas. Universidad de Colima. Facultad de Medicina.

Maestría en Ciencias Médicas [Acceso 23 de Mayo de 2017]. Disponible en: [http://digeset.ucol.mx/tesis\\_posgrado/Pdf/Francisco\\_Javier\\_Vizcaino\\_Orozco.PDF](http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Francisco_Javier_Vizcaino_Orozco.PDF)

32. Pérez F., León G., Rodríguez F., Vásquez L. Estudio fitoquímico preliminar de plantas medicinales del norte del Perú. *Pueblo cont.* 22(2) 2011. [Acceso el 18 de Junio del 2018]. Disponible en: <https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=12&ved=0ahUKEwiAgKrQ6fvbAhWI2IMKHbsBC4kQFghaMAs&url=http%3A%2F%2Fjournal.upao.edu.pe%2FPuebloContinente%2Farticle%2Fdownload%2F435%2F400&usg=AOvVaw3qZMTDX6NhNtaNJ80jdaCI>
33. Miranda M., Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales. Cuba: Instituto de Farmacia y Alimentos.2000
34. Arroyo A., Jorge L. Modelos experimentales de Investigación Farmacológica 1<sup>ra</sup> edición 2012, Ed. ASDIMOR S.A.C Lima – Perú
35. Hernández S., Fernández C., Baptista L. metodología de la investigación. Cuarta edición. México DF. McGraw-Hill interamericana, 2006.
36. Felipe A., García G., Scull R., Herrera Y., Fernández Y. Efecto diurético de los extractos acuosos y secos de *Caesalpinia bahamensis Lam* (brasilete) en ratas Wistar. *Rev. Colombiana cienc. Anim.* 3(2).2011. Universidad de la Habana. Noviembre.2011. [Acceso el 12 de Abril del 2018]. Disponible en: <https://www.google.com.pe/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=6&ved=0ahUKEwid5YrT2qvbAhWjuFkKHcCbD2QQFghJMAU&url=https%3A%2F%2Fdialog.net.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F3817366.pdf&usg=AOvVaw1X53SgwAyJpCdOsRaNTNkl>
37. Huarco D. Determinación de la digestibilidad aparente de la semilla despigmentada de achiote (*Bixa orellana*) en el cuy (*cavia porcellus L.*). INIA-EEA, ANTA. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Facultad de Agronomía y Zootecnia. Cusco, Perú.2012. [Acceso el 28 de Agosto del 2018]. Disponible en: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/877/253T20120072.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
38. Muñoz L. Estudio farmacognóstico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) proveniente del distrito de Usquil, provincia de Otuzco, Región la Libertad. Universidad Nacional de Trujillo. Escuela Académica Profesional de Farmacia y Bioquímica. Biblioteca Digital - Dirección de Sistemas de Informática y Comunicación. Trujillo, Perú. 2015. [Acceso el 29 de Agosto del 2018]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3664/Mu%c3%b1oz%20Acevedo%20Luis%20Ramon.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
39. Barros D., Domínguez L. Identificación preliminar de los fitoconstituyentes y cuantificación de flavonoides totales en las hojas de *Bixa orellana* (achiote). Universidad Nacional de Trujillo. Escuela Académica Profesional de Farmacia y Bioquímica. Biblioteca Digital - Dirección de Sistemas de Informática y Comunicación. Trujillo, Perú. 2013. [Acceso el 29 de Agosto del 2018]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3814/Barros%20Huamani%20Deysi%20Gisselda.pdf?sequence=1&isAllowed=y>


40. Alfaro K., Aspiros E. Obtención de un colorante natural de la semilla *Bixa orellana* (achiote) como alternativa como uso cosmético. Universidad Nacional de Trujillo. Escuela Académica Profesional de Farmacia y Bioquímica. Biblioteca Digital - Dirección de Sistemas de Informática y Comunicación. Trujillo, Perú. 2015. [Acceso el 30 de Agosto del 2018]. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3613/Alfaro%20Avalos%20Katterine%20Yudit.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
41. Orellana R. Actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de rizoma de *Curcuma longa* “palillo” en ratas Wistar. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. 2085.
42. García M. Efecto del extracto hidroalcohólico de la *Bixa orellana* “achiote” comparado con metformina sobre los niveles de Glicemia en *Rattus rattus*. Universidad César Vallejo. Trujillo, Perú. 2016. [Acceso el 30 de Agosto del 2018]. Disponible en: [http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/612/garcia\\_rm.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/612/garcia_rm.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
43. Chuquitarqui L., Valdivia F. Estudio fitoquímico preliminar y evaluación del efecto diurético del extracto de *laurus nobilis* “laurel” en animales de experimentación. Universidad Católica de Santa María. Arequipa, Perú. [Acceso el 15 de Abril del 2018]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/54220541.pdf>
44. Tunque N. Actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de rizoma de *Jatropha macrantha* M. Arg. “huanarpa macho” en ratas albinas Holtzman. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. 2011.
45. Carbajal Chanel. Actividad diurética del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissima* (HBK) Bailey “tumbo” en *Cavia porcellus* “cobayos”, Ayacucho – 2016. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. 2016.

## **ANEXOS**



**Anexo 1. Certificado de descripción taxonómica de *Bixa orellana* L. "achiote".**

Ayacucho, 2018



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, el Bachiller en Farmacia y Bioquímica, Sr. Milton Plácido, BEJAR CIPRIAN, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	DILLENIIDAE
ORDEN	:	VIOLALES
FAMILIA	:	BIXACEAE
GENERO	:	Bixa
ESPECIE	:	<i>Bixa orellana</i> L.
N.V.	:	"achiote"

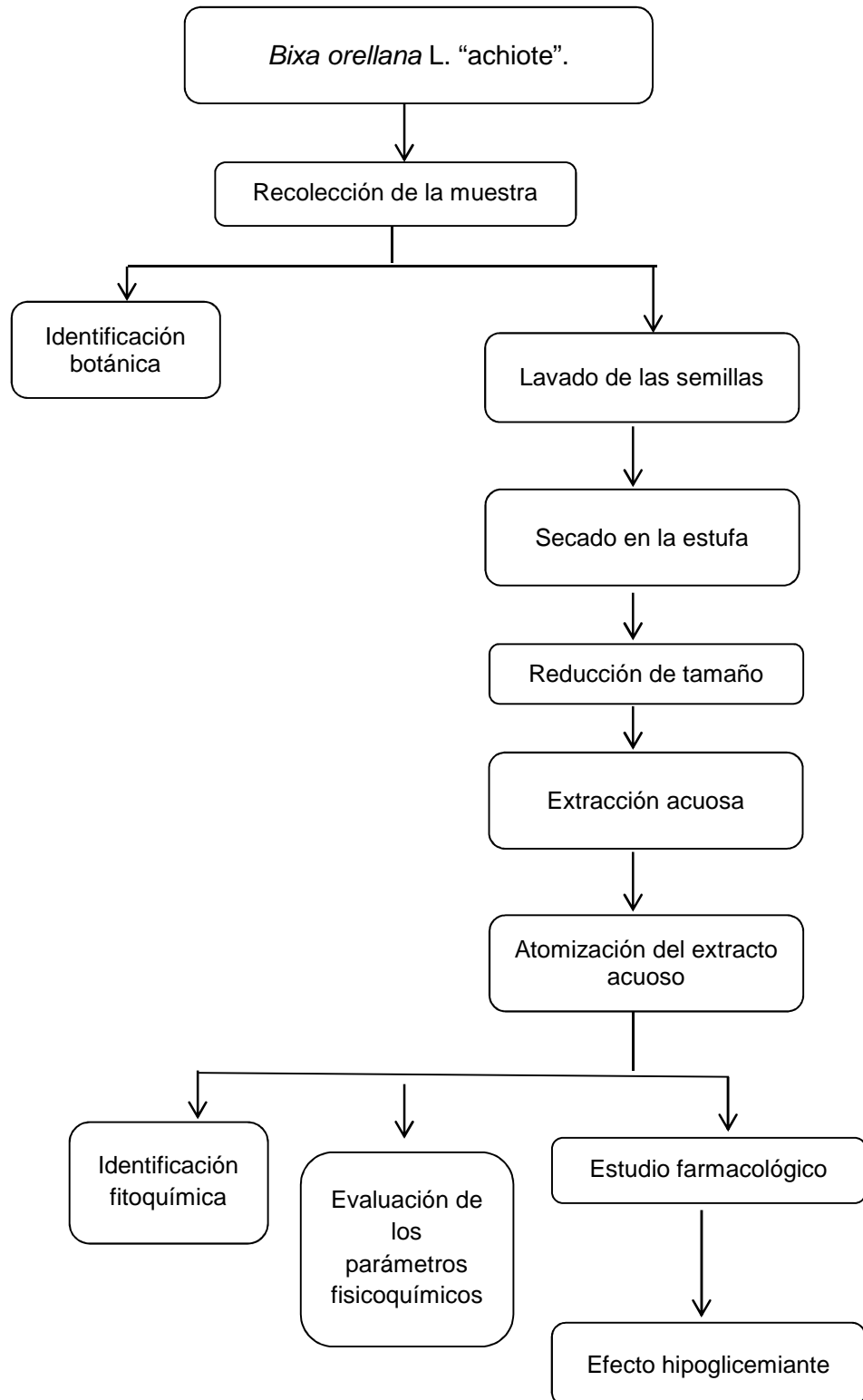
Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 11 de Setiembre del 2017

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

*Laura Aucasmé Medina*  
JEFE

**Anexo 2.** Flujograma de procedimientos del extracto acuoso atomizado de *Bixa orellana* L. “achiote”. Ayacucho, 2018





**Anexo 3.** Semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” recolectadas en el distrito de San Francisco. Ayacucho, 2018



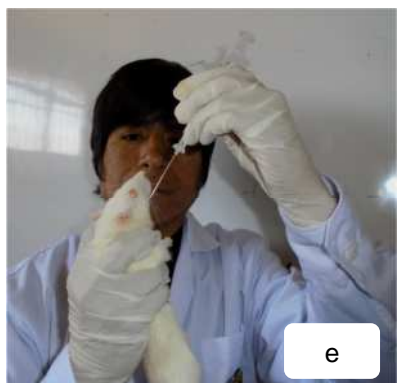
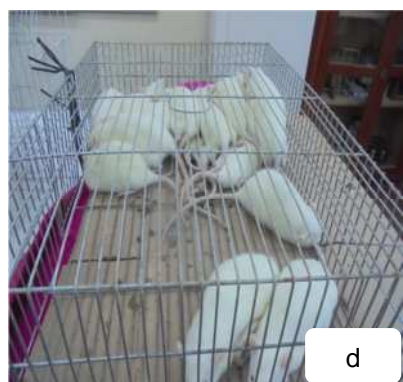
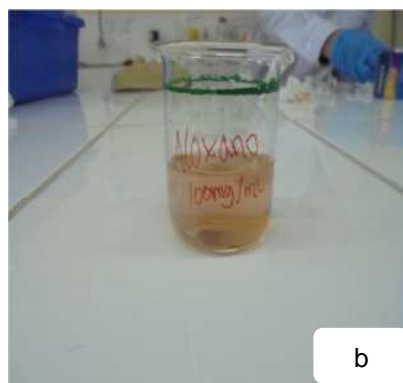
**Anexo 4.** Atomización de las semillas del extracto acuoso de *Bixa orellana* L.  
“achiote”. Ayacucho, 2018



**Anexo 5.** Resultados de la identificación fitoquímica de las semillas de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho, 2018



**Anexo 6.** Procedimiento del efecto hipoglucemiante del extracto acuoso atomizado de *Bixa orellana* L. "achiote". Ayacucho, 2018



**Anexo 7.** Valores descriptivos del área bajo la curva del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote”. Ayacucho, 2018

Trat.	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%		Min	Max	%CV.
					L. Inf.	L Sup.			
Blanco	8	543	73,94	26,14	481,18	604,81	432	621.5	13.61
Aloxano	8	3105,43	354,97	125,5	2808,67	3402,2	2741,5	3695,5	11.43
Glib. 5mg/kg	8	2344,43	40,46	14,30	2310,60	2378,27	2310	2432	1.72
Extracto 100 mg/Kg	8	2413,56	70,60	24,96	2354,53	2472,58	2333	2494	2.92
Extracto 200 mg/Kg	8	2314,5	53,58	18,94	2269,70	2359,29	2251	2420	2.31
Extracto 400 mg/Kg	8	2413,56	41,88	14,80	2378,54	2448,57	2338,5	2468,5	1.73

**Anexo 8.** Valores descriptivos de los distintos valores de niveles de glucosa del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote”. Ayacucho, 2018

Trat.	N	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	Intervalo de confianza para la media al 95%		Min	Max	%CV.
					L. Inf.	L Sup.			
Blanco	8	63,80	8,74	3,09	56,493	71,10	50,6	73,0	13,69
Aloxano	8	384,92	47,65	16,84	345,08	424,76	341,4	449,0	12,37
Glib. 5mg/kg	8	274,50	4,93	1,74	270,37	278,62	270,0	285,0	1,79
Extracto 100 mg/kg	8	283,02	8,48	3,00	275,93	290,11	273,2	292,6	2,99
Extracto 200 mg/kg	8	270,82	6,33	2,23	265,53	276,12	263,2	283,2	2,33
Extracto 400 mg/kg	8	282,72	4,90	1,73	278,62	286,82	273,8	289,4	1,73

**Anexo 9.** Análisis de varianza del área bajo la curva del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote”. Ayacucho, 2018

<b>Excreción urinaria</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl.</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Entre grupos	29519530,79	5	5903906,15	248,20	4,92 x10 <sup>-30</sup>
Dentro de grupos	999037,87	42	23786,61		
Total	30518568,66	47			

Si: Sig. < 0,05: Por lo menos uno de los tratamientos es diferente al resto

**Anexo 10.** Análisis de varianza de los valores de glucosa del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote”. Ayacucho, 2018

<b>Actividad diurética</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>gl.</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Entre grupos	443797,56	5	88759,51	212,38	1,14 x10 <sup>-28</sup>
Dentro de grupos	17552,54	42	417,91		
Total	461350,10	47			

Si: Sig. < 0,05: Por lo menos uno de los tratamientos es diferente al resto



**Anexo 11.** Comparaciones múltiples del área bajo la curva, del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote”. Prueba de Tukey. Ayacucho 2018

	Tratamientos	N	Subconjuntos homogéneos (0,05)		
			1	2	3
HSD Tukey	Blanco	8	543,00		
	Extracto 200 mg/Kg	8		2314,50	
	Glibenclamida 5 mg/kg	8		2344,43	
	Extracto 100 mg/Kg	8		2413,5	
	Extracto 400 mg/Kg	8		2413,56	
	Aloxano	8			3105,43
	Sig.			1,000	,792

**Anexo 12.** Comparaciones múltiples de los valores de glucosa en función de los tratamientos del extracto acuoso atomizado de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote”. Prueba de Tukey. Ayacucho, 2018

	Tratamientos	N	Subconjuntos homogéneos (0,05)		
			1	2	3
HSD Tukey	Blanco	8	63,800		
	Extracto 200 mg/kg	8		270,825	
	Glibenclamida 5mg/kg	8		274,500	
	Extracto 400 mg/kg	8		282,725	
	Extracto 100 mg/kg	8		283,025	
	Aloxano	8			384,925
	Sig.			1,000	,837

## Anexo 13

### Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	DISEÑO METODOLÓGICO
Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" en ratas albinas, Ayacucho 2017	¿Tendrá efecto hipoglucemiante el extracto acuoso atomizado de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" en ratas albinas?	<p><b>OBJETIVO GENERAL</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Demostrar la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso atomizado de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" en ratas albinas</li> <li>• <b>Objetivos específicos:</b> Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso atomizado de la <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" responsables del efecto hipoglucemiante.</li> <li>• Determinar los parámetros fisicoquímicos del extracto acuoso atomizado de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote".</li> <li>• Comparar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso atomizado de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" con el estándar Glibenclamida 5mg.</li> </ul>	El extracto acuoso atomizado a partir de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas.	<p><b>Variable independiente</b></p> <p>Extracto acuoso atomizado de las semillas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote".</p> <p>Indicadores:</p> <p>Concentraciones de: 100, 200 y 400 mg/kg.</p> <p><b>Variable dependiente</b></p> <p>Efecto hipoglucemiante</p> <p>Indicadores</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Niveles de glucosa en sangre mg/dL</li> </ul>	<p><b>Bixa orellana L.</b></p> <p>Es un árbol pequeño, de tres a seis metros de alto aproximadamente, hojas simples, disposición alterna. Inflorescencias en panícula, sus flores son hermafroditas, y fruto capsula. Semillas ovoides lisas con testa carnosa de color rojo o anaranjado. La cual contiene una sustancia colorante la bixina de color rojo y la orellina de color amarillo, además aceites volátiles y aceites grasos. Presentan:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Uso en la medicina natural</li> <li>-Propiedades Fitoterapéuticas</li> <li>-flavonoides.</li> </ul> <p><b>Hipoglucemia:</b> es la disminución de los niveles de glucosa por debajo de los valores normales 70-110mg/dL.</p> <p><b>Hiperglicemia:</b> Es el aumento anormal de la glucosa en la sangre en ayunas, la cual se mantiene constante o aumenta pudiendo originar incapacidad de absorber el agua, lo que origina aumento de la producción de orina. Falta de absorción de agua produciendo sed intensa, glucosuria o poliuria que origina sed y hambre adelgazamiento y debilidad.</p>	<p><b>Nivel de investigación</b></p> <p>Básico – experimental</p> <p><b>Población:</b> Semillas de <i>Bixa orellana</i> L. "achiote" que crece a 620 m.s.n.m., distrito San Francisco, provincia de La mar, región Ayacucho.</p> <p><b>Muestra:</b></p> <p>3 kg de semilla recolectado de la comunidad de San Francisco, una parte de la planta recolectada será llevado al <i>Herbarium Huamangensis</i> para su identificación y clasificación taxonómica.</p> <p><b>Unidad experimental</b></p> <p>48 ratas albinas de cepa Holtzman, con 150-200 g de peso.</p> <p><b>Metodología</b></p> <p>Método propuesto por J. Arroyo, está basado en la medición de los niveles de glucosa en sangre mg/dL inducido con aloxano en ratas de cepa Holtzman</p> <p><b>Diseño experimental</b></p> <p>Serán divididos de manera aleatoria en seis grupos cada uno con repeticiones de ocho ratas.</p> <p><b>Análisis estadístico:</b> Los resultados serán expresados en cuadros y gráficos. Se determinará el área bajo la curva de los niveles plasmáticos usando el método de los trapecios. Los datos serán sometidos al Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0.05. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos serán evaluados a través de la prueba de Tukey (programa SPSS versión 21).</p>