

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**



**Actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico
de *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca”
en ratas albinas Holtzman Ayacucho-2012.**

**TESIS PARA OBTENER TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

PRESENTADO POR

Bach. HUAMANCUSI SARMIENTO, FUJITA QORI URPI

AYACUCHO – PERÚ

2013

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Acta de Sustentación de Tesis

R.D. N. 124-13-UNSCH-FCB-D

Bach. Fujita Qori Urpi Huamancusi Sarmiento

En la ciudad de Ayacucho a los trece días del mes de setiembre del año dos mil trece, siendo las cuatro y diez minutos de la tarde, se reunieron en el auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas, los miembros del jurado calificador bajo la presidencia del MSc. César MAGALLANES MAGALLANES (encargado) e integrado por los miembros docentes: Mg. Maricela LÓPEZ SIERRALTA, Biga. Edna LEÓN PALOMINO, Dr. Johnny Aldo TINCO JAYO y actuando como secretaria docente Biga. Rosa E. CORTEZ SAAVEDRA. Se reunieron para recepcionar la sustentación de la tesis titulada: "Actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris "apallanchaca" en ratas albinas Holtzman. Ayacucho - 2012", presentado por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica Fujita Qori Urpi HUAMANCUSI SARMIENTO, quien pretende obtener el título profesional de Químico Farmacéutica. Como primer acto el Sr. presidente de jurado calificador invitó a la Sra. secretaria a dar lectura a la Resolución Decanal que declara expedita la sustentación de la tesis y dio instrucción a la Srta. sustentante para su exposición, la que no debe exceder de los cuarenta y cinco minutos. Culminada la exposición el Sr. presidente del jurado calificador solicitó la participación de los miembros del jurado calificador para realizar las observaciones, aclaraciones y/o preguntas que crean por conveniente para realizar la calificación correspondiente. Los miembros del jurado calificador participaron en el siguiente orden: Mg. Maricela LÓPEZ SIERRALTA, Biga Edna LEÓN PALOMINO, MSc. César MAGALLANES MAGALLANES y finalmente el Dr. Johnny Aldo TINCO JAYO (asesor). Culminada la fase de participación, el Sr. presidente del jurado calificador invitó a la Srta. sustentante y al público asistente abandonar el Auditorio de la Facultad de Ciencias Biológicas para que el jurado calificador pueda deliberar y realizar la calificación en privado. Obteniéndose la siguiente calificación:

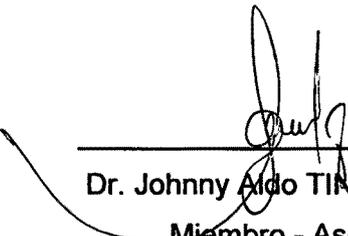
Jurado Calificador	Exposición	Respuesta a Preguntas	Promedio
Mg. Maricela LÓPEZ SIERRALTA	17.0	16.0	17.0
Blga. Edna LEÓN PALOMINO	18.0	14.0	16.0
Dr. Johnny Aldo TINCO JAYO	18.0	18.0	18.0
MSc. César MAGALLANES MAGALLANES	17.0	17.0	17.0
Promedio Total =			17.0

De la evaluación realizada a la sustentante obtuvo la nota promedio de DIESCISIETE (17); de la cual dan fé los miembros del Jurado Calificador, estampando su firma al pie en la presente acta. Culminando el acto de sustentación siendo las seis y diecisiete de la tarde.


 MSc. César MAGALLANES MAGALLANES
 Presidente (e)


 Mg. Maricela LÓPEZ SIERRALTA
 Miembro


 Blga. Edna LEÓN PALOMINO
 Miembro


 Dr. Johnny Aldo TINCO JAYO
 Miembro - Asesor


 Blga. Rosa E. CORTEZ SAAVEDRA
 Secretaria – Docente

DEDICATORIA

A Dios

A mi Papito Fortunato

A mis padres Juan y Celestina

A mi hermana Cynthia

AGRADECIMIENTO

A mi *alma mater* Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por haberme acogido en sus aulas durante mi formación profesional.

A la Facultad de Ciencias Biológicas y a la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, por brindarme una carrera profesional.

Al Dr. Q.F. Johnny Aldo Tinco Jayo, asesor del presente trabajo de investigación, por aportar sus conocimientos y apoyarme en la realización del presente trabajo.

A todas las personas que me apoyaron desinteresadamente en la culminación del presente trabajo.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE GENERAL	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
INDICE DE FIGURAS	vi
INDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. <i>Gentianella thyrsoidea</i> (Hook) Fabris	5
2.3. Metabolitos secundarios	7
2.4. Glucosa	10
2.5. Diabetes Mellitus (DM)	11
2.6. Tratamiento farmacológico	14
2.7. Tratamiento no farmacológico	17
III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. Ubicación	19
3.2. Materiales	19
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	19
3.4. Procedimiento experimental	20
3.5. Análisis estadístico	21
IV. RESULTADOS	23
V. DISCUSIÓN	29
VI. CONCLUSIONES	35
VII. RECOMENDACIONES	36
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXOS	40

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de <i>Gentianella thyrsoidea</i> (Hook) Fabris "apallanchaca".	24

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura de una xantona.	8
Figura 2. Estructura básica de un flavonoide.	10
Figura 3. Variación de los niveles de glucosa sanguínea en función del tiempo.	25
Figura 4. Área Bajo la Curva según tratamientos.	26
Figura 5. Porcentaje de eficacia hipoglucemiante según tratamientos.	27

ÍNDICE DE ANEXOS

		Página
Anexo 1.	Certificado de identificación de <i>Gentianella thyrsoides</i> (Hook) Fabris “apallanchaca”.	41
Anexo 2.	Certificado sanitario de los animales de experimentación.	42
Anexo 3.	Diagrama del diseño metodológico.	43
Anexo 4.	Flujograma del screening fitoquímico.	44
Anexo 5.	Screening fitoquímico	45
Anexo 6.	<i>Gentianella thyrsoides</i> (Hook) Fabris “apallanchaca”.	46
Anexo 7.	Muestra macerada del extracto hidroalcohólico <i>Gentianella thyrsoides</i> (Hook) Fabris “apallanchaca”.	47
Anexo 8.	Tubos de prueba con metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico.	48
Anexo 9.	Administración por vía oral del extracto hidroalcohólico.	49
Anexo 10.	Toma de muestra de la glicemia basal a las “ratas” Holtzman.	50
Anexo 11.	Área bajo la curva y porcentaje de eficacia hipoglucemiante en función de tratamientos.	51
Anexo 12.	Valores descriptivos del efecto hipoglucemiante.	52
Anexo 13.	Análisis de varianza del efecto hipoglucemiante.	53
Anexo 14.	Prueba de Tukey de los promedios del efecto hipoglucemiante.	54
Anexo 15.	Matriz de consistencia	55

RESUMEN

La diabetes mellitus es una compleja enfermedad metabólica por un estado de hiperglucemia en los niveles sanguíneos, elevados por encima de los límites fisiológicos normales acompañada de otros síntomas. La diabetes es un serio problema de salud pública y causa de mortalidad temprana debida a sus graves complicaciones. El presente trabajo de investigación, se realizó con el objetivo de determinar el efecto hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca", en muestras recolectadas de la localidad San Antonio, región de Ancash, provincia de Huaraz a 3100 m.s.n.m.

Los metabolitos secundarios se determinaron mediante reacciones de coloración y precipitación; se indujo a hiperglucemia con glucosa al 50% en "ratas" Holtzman, distribuido en ocho grupos de cinco unidades experimentales cada uno. Al grupo I se le administró agua destilada, grupo II glucosa al 50 %, grupo III metformina 150 mg/kg, grupo IV glibenclamida 7,5 mg/kg, los grupos V, VI, y VII; 100 mg/kg, 200 mg/kg y 300 mg/kg del extracto respectivamente y el grupo VIII la combinación de glibenclamida 7,5 mg/kg y metformina 150 mg/kg. Los niveles de glucosa sanguínea se determinaron utilizando el glucómetro de la marca ACCU-CHECK, los resultados obtenidos fueron interpretados calculando el porcentaje de eficacia hipoglucemiante, el análisis del área bajo la curva, análisis de varianza y prueba de Tukey.

El extracto presento flavonoides, taninos, fenoles, catequinas, saponinas, lactonas y/o cumarinas, cardenolidos. La dosis de 100 mg/kg extracto hidroalcohólico, posee efecto hipoglucemiante con un porcentaje de eficacia de 18,13 % respecto al grupo control de glucosa, seguido por la dosis de 200 mg/kg con 15,9 %; y el de menor efecto la dosis de 300 mg/kg con 12,9 % de eficacia, sin embargo se demostró que la combinación de los estándares de glibenclamida 7,5 mg/kg más metformina 150 mg/kg mostró mayor nivel de eficacia hipoglucémica con 43,78 %.

Palabras clave: Efecto hipoglucemiante, extracto hidroalcohólico *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris.

I. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus, es una enfermedad, en la cual existe mayor glucosa en la sangre, esto debido a que el cuerpo es incapaz de convertir la glucosa en energía, como lo haría normalmente. En la mayoría de los casos, esto se debe a que el páncreas no produce suficiente insulina o existe una resistencia a la función de la insulina en el organismo.¹

En el año 2000, se estimó que el número de personas que sufrían de diabetes en el continente americano era de 35 millones, de las cuales 19 millones vivían en América Latina y el Caribe. Las proyecciones indican que en el 2025 este número se incrementará a 64 millones de los cuáles 62 % vivirán en América Latina y el Caribe que representa un aproximado de 40 millones.² En el Perú, la prevalencia de diabetes es del 1 al 8 % de la población general, siendo Piura y Lima como los departamentos más afectados (2,5 %). Se menciona que en la actualidad la diabetes mellitus afecta a más de un millón de peruanos y menos de la mitad han sido diagnosticados.³

La gran diversidad de especies vegetales que existe en el planeta ha permitido que desde hace mucho tiempo varias civilizaciones hayan usado las plantas para tratar o aliviar algunas enfermedades. Este uso de las plantas con fines medicinales viene desde tiempos remotos y el uso de diversas especies es tan diverso como sitios ha habitado el hombre.⁴ Conocemos que antes de la llegada

de los españoles al Perú, el uso de plantas con virtudes terapéuticas era muy común para tratar todo tipo de dolencias que aquejaban a la población. En los lugares donde todavía se realizan sus prácticas médicas de manera rutinaria, sus habitantes se resisten a perder este sistema médico local y conservar a través de él, su identidad cultural.⁵

La presente investigación estuvo orientado a evaluar experimentalmente la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca" en "ratas" albinas Holtzman, comparado con un patrón de referencia. Para lo cual se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General

- Conocer la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca" en "ratas" albinas Holtzman.

Objetivo Especifico

- Determinar el screening fitoquímico de *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca".
- Evaluar la concentración optima efectiva del extracto hidroalcohólico de la planta *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca" en "ratas" albinas Holtzman, como hipoglucemiante.
- Comparar la acción hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de la planta *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca", con el estándar de metformina y glibenclamida.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Conocemos que antes de la llegada de los españoles al Perú, el uso de plantas con virtudes terapéuticas era muy común para tratar todo tipo de dolencias que aquejaban a la población.⁵

El uso de plantas medicinales en el Perú, estas plantas están comenzando a formar parte de la vida social de los peruanos a través de los productos naturales, de diversos eventos y del valor académico que les otorgan algunas universidades.

García y Rocha,⁶ estudiaron las propiedades antihiperглиcémiantes del liofilizado del extracto acuoso de alta temperatura de la corteza del tronco de *Mangifera indica* (EMI), en ratas hiperглиcémicas, utilizando tres concentraciones (50, 250 y 750 mg/kg/ml), midieron la evolución temporal de la glicemia tras la administración de EMI (30 minutos antes de la glucosa) por vía oral. Encontraron que el grupo 250 tuvo la menor actividad antihiperглиcémiante. Concluyeron que el EMI tiene propiedades antihiperглиcémiantes, y que su acción no tiene un comportamiento dosis dependiente en un modelo de hiperглиcemia aguda *in vivo* en "ratas" normoglicémicas.

Ramírez y Mamani,⁷ al investigar la actividad antioxidante e hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas de *Stevia rebaudiana Bertoni* "hierba dulce", utilizando una muestra acuosa de esta especie, sobre la base de dos métodos; primero para la búsqueda de agentes antioxidantes de radicales libres emplearon el bioensayo "in vitro" y segundo para la determinación de la actividad hipoglucemiante utilizaron el método enzimático de glucosa oxidasa, llegando a la siguiente conclusión; la mejor actividad hipoglucemiante del extracto acuoso de *Stevia rebaudiana Bertoni* "hierba dulce" es a 100 mg/kg de peso y mayor capacidad antioxidante presentó la concentración de 300 ug/ml.

Betalleuz,⁸ realizó un estudio para la evaluación de la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las de *Oenothera rosea* "yawar soqo" en ratas Holtzman machos, concluyendo que; el mayor porcentaje de eficacia hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* "yawar soqo" fue de 28,15 % con la dosis de 300 mg/kg, 19,52 %; con la dosis de 200 mg/kg, y la de menor porcentaje de eficacia hipoglucemiante 13,78 % con la dosis de 100 mg.

Orellana,⁹ determinó la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico del rizoma de *Cúrcuma longa* en "ratas" Wistar. Distribuidos aleatoriamente, empleando el método de la prueba de tolerancia oral a la glucosa, llegando a la siguiente conclusión; que el extracto hidroalcohólico del rizoma de *Curcuma longa* a la dosis de 50 mg/kg de peso, presentó el mejor efecto hipoglucemiante mostraron la eficacia frente al fármaco glibenclamida utilizado como patrón.

Tunque,¹⁰ al determinar la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Jatropha macrantha M. Arg.* "huanarpo macho" en "ratas" albinas Holtzman, concluyó que el mayor porcentaje de eficacia hipoglucemiante de extracto hidroalcohólico de *Jatropha macrantha M. Arg.* "huanarpo macho" fue 600 mg/kg se observó mejor disminución de la glicemia a comparación de las

concentraciones de 400 mg/kg, 500mg/kg pero no es mejor en comparación con el hipoglucemiante oral (metformina).

Carrillo, ¹¹ determinó la actividad hipoglucemiante del zumo de fruto de Noni (*Morinda citrifolia*), mediante inducción de hiperglucemia en "ratas" (*Rattus novergicus*) y posterior administración del zumo de fruto de Noni en concentraciones del 20 %, 40 % y 60 % para verificar la efectividad de la propiedad hipoglucemiante analizando el contenido de glucosa en sangre.

2.2. *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris

2.2.1. Clasificación taxonómica

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA

CLASE : MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE : ASTERIDAE

ORDEN : GENTIANALES

FAMILIA : GENTIANACEAE

GENERO : *Gentianella*

ESPECIE : *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris.

N.V. : "apallanchaca"

Fuente. Certificado expedido por el Jefe del *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (Anexo 1).

2.2.2. Descripción botánica

Planta herbácea, perenne, arrosetada de tallo grueso y corto, hojas simples lineales, numerosas y basales de 6-8 cm de largo; liso de color verde brillante en el haz y pubescente; plumoso en el envés.¹²

Inflorescencia dispuesta en un eje corto en forma de cimas densos, ocultos por las hojas, flores heteroclamídeas, pentámeras, bisexual y actinomorfas de un

color verde amarillento; cáliz formado por cinco sépalos soldados en la base con cinco dientes en el ápice, corola formando por cinco pétalos soldados, acampanados, germinado en cinco lóbulos en el ápice, androceo representado por cinco estambres libres alternando con los pétalos, gineceo de ovario supero y fruto capsula.¹²

2.2.3.Hábitat y adaptabilidad climática

La planta que crece en zonas alto andinas sobre los 3100 metros de altitud; formando la vegetación de pajonales de Puna y Oconales.

Es una especie endémica del Perú y se encuentra amenazada debido a su extracción indiscriminada con fines de comercialización.¹²

2.2.4. Composición química

Como era de esperar por la quimiotaxonomía, se han aislado principalmente xantonas y en menor extensión flavonoides. Algunos de los extractos y xantonas aisladas han sido sometidas a ensayos de actividad hipoglicemiante, antimicrobiana y antioxidante. Estas especies, especialmente la *Gentianella nitida* conocida comúnmente como hercampuri, tienen uso tradicional en el tratamiento de hepatitis y obesidad. Distribuido en las regiones templadas del mundo. Muchas plantas *Gentianella* son intensamente amargo y empleadas en la medicina tradicional para estimular el apetito, el tratamiento de los trastornos de la vesícula biliar. Algunas especies tienen otros efectos terapéuticos notables en los tratamientos de la obesidad, la diabetes y las enfermedades del corazón. La mayoría de estos compuestos se asocia con antimicrobianos, anti-inflamatorios, anti-oxidantes, actividades hipoglucémicos, y antitumoral, que proporcionan una base empírica para la utilización tradicional de las plantas en la especie *Gentianella Moench*.^{13, 14, 15}

2.3 Metabolitos Secundarios

2.3.1. Xantonas

Estos compuestos poseen dos anillos fenólicos unidos por un átomo de carbono ($C_6-C_1-C_2$). Son pigmentos fenólicos amarillos; químicamente son diferentes a los flavonoides, pero son muy similares en sus reacciones de coloración y en su movilidad cromatográfica. Se presentan especialmente en ciertas familias: Gentianaceae, Moraceae y Poligonaceae, al estado libre o como O-glicosidadas, siendo menos comunes las C-glicosidadas.¹⁶

Las geninas o los O-heterosidos poseen una distribución restringida a unas pocas familias (sobre todo las Clusiaceae y Gentianaceae) mientras que las C-glucosil xantonas son mucho más frecuentes (habiéndose identificado en una veintena de familias). Generalmente las xantonas se forman por ciclación de las benzofenonas que resultan de la adición de unidades dicarbonadas (de hecho del malonil CoA) sobre un precursor en C_6C_1 , un ácido benzoico proveniente del fraccionamiento de un ácido cinámico. La biosíntesis de las C-glucosilxantonas es análoga a la de los flavonoides.¹⁷

En lo relativo a las propiedades biológicas de estas moléculas, se hará constar que las de esta serie (geninas 1, 3, 5,8-tetrasustituidas) son inhibidoras de mono amino oxidasa (MAO A y en menor medida, MAO B), estimulantes del SNC. Algunas xantonas son fungicidas y potentes antibacterianos, varias inhiben la agresión plaquetaria y otras, como mangostina, son antiinflamatorias.¹⁷

Aunque algunas plantas utilizadas en la actualidad contienen xantonas, no se ha podido demostrar que la actividad que se reconoce tradicionalmente a estas drogas puede atribuirse a dichos principios.¹⁷

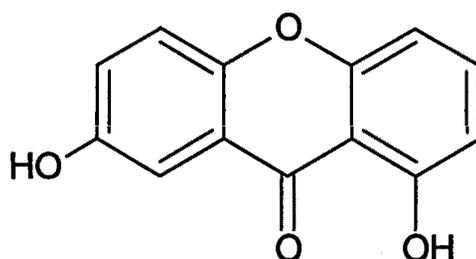


Figura 1. Estructura de una xantona.¹⁷

2.3.2. Flavonoides

Las plantas superiores sintetizan una amplia variedad de compuestos fenólicos durante su crecimiento y desarrollo, entre ellos los flavonoides.¹⁸

Los flavonoides son los pigmentos amarillos derivados de la fenil – benzo y pironao fenil cromona. Se dan mucho en el reino vegetal, normalmente en forma de heterósidos. Son una estructura molecular del tipo $C_6 - C_3 - C_6$. Son una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua. Existen 6 clases principales, las chalconas, las flavonas, los flavanoles, las antocianidinas, y los taninos condensados, y otras dos más. Para los vegetales, estos compuestos son importantes pues, además de ser responsables de las coloraciones de muchas flores, frutos y hojas y por ello intervenir en la polinización atrayendo a los insectos, participan en la vida del vegetal ejerciendo importantes funciones como por ejemplo protegerle de los efectos nocivos de la radiación UV y ejercer una eficaz actividad antioxidante. Los flavonoides tienen un enorme interés científico debido a la protección que ejercen en enfermedades crónicas como cáncer y enfermedades cardiovasculares. Además, poseen propiedades antioxidantes y antimicrobianas. Su actividad antioxidante, que parece estar relacionada con su capacidad para quelar metales y captar radicales libres, tiene interés desde un punto de vista nutricional, por lo que la obtención y preparación

de alimentos con un alto contenido en estos compuestos supone una reducción en la utilización de aditivos antioxidantes, a la vez que se obtienen alimentos más saludables, que incluso pueden llegar a englobarse dentro de los alimentos funcionales (alimentos que pueden proporcionar un beneficio para la salud además de nutrición básica). Esta actividad antioxidante se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares y en el cáncer así como en procesos de envejecimiento, por lo que está siendo intensamente estudiado.¹⁹

La principal actividad atribuida a los flavonoides es decir capaces de disminuir la permeabilidad de los capilares sanguíneos y aumentar su resistencia. Presentados como antiinflamatorios lo que es compatible con lo que se conoce como sus interacciones (*in vitro*) con los polinucleares y los trombocitos o también con el metabolismo del ácido araquidónico, los flavonoides pueden ser antialérgicos, hepatoprotectores (isobutrina, hispidulina, flavanolignanos) antiespasmódicos sobre íleon de cobaya estimulado por diversos agonistas, hipocolesterolemiantes, diuréticos, antibacterianos, antibacterianos, antivirales , etc. Un pequeño número de flavonoides son anticancerígenos e inhibidores del crecimiento de células tumorales: pueden interaccionar con los enzimas del metabolismo xenobióticos, poseer efectos anti-iniciadores y/o antipromotores o incluso ser citostáticos, es decir, citotóxicos.¹⁷

A pesar de los numerosos trabajos publicados sobre las potencialidades farmacológicas de estas moléculas, no se pueden establecer reglas claras sobre las relaciones estructura/actividad. Salvo casos especiales, no se dispone de ningún estudio pertinente que de muestre algún interés en clínica humana.¹⁷

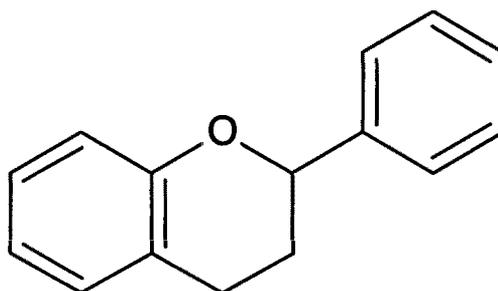


Figura 2. Estructura básica de un flavonoide.¹⁷

2.4. Glucosa

La glucosa o dextrosa es un monosacárido que se obtiene por hidrólisis del almidón. Constituye un alimento del primer orden y tiene la propiedad de disminuir el catabolismo proteico, por lo que produce un ahorro de proteínas. Es la única fuente de energía del sistema nervioso central.^{20, 21}

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 unos 130 mg/dl a los 30 a 60 minutos para luego descender por biotransformación de glucosa y llegar a nivel inicial a las dos horas (curva de tolerancia de glucosa).^{20, 21}

Cuando los niveles de glucosa en la sangre es inferior a las cifras normales (70 – 110 mg/dl), se denomina hipoglucemia, que puede originar temblores, sudor, frigidez, piloerección, hipotermia y cefalea, acompañados de confusión, alucinaciones, conducta extraña y finalmente convulsiones y coma a niveles inferiores a 30 mg/dl. La hipoglucemia produce la liberación de la hormona glucagón de las células alfa del páncreas, la corticotropina de la adenohipófisis, lo cual lleva a un aumento de la secreción de glucocorticoides y de la hormona de crecimiento de la hipófisis anterior; siendo estas las responsables de elevar la glucemia.²¹

Cuando los niveles de glucosa en la sangre es superior a las cifras normales (70 – 110 mg/dl), se denomina hiperglicemia, es el síndrome metabólico de la diabetes mellitus, se caracteriza por una carencia relativa o absoluta, de la secreción de insulina, asociada a un exceso de hormonas circulantes propias de situaciones de estrés (glucagón, catecolaminas y cortisol), responsables del aumento anormal de glucosa sanguínea y de las alteraciones acompañadas del metabolismo lipídico.²²

2.5. Diabetes Mellitus (DM)

Define un desorden metabólico caracterizado por la presencia de hiperglucemia crónica que se acompaña, en mayor o menor medida, de modificaciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, las proteínas y los lípidos. El origen y la etiología de la diabetes mellitus pueden ser muy diferentes, pero con llevan inexorablemente la existencia de alteraciones en la secreción de insulina, en la sensibilidad a la acción de la hormona o en ambas en algún momento de su historia natural. El avance en el conocimiento de la historia natural de la diabetes mellitus, su etiopatogenia y sus complicaciones crónicas ha dado lugar a sucesivas clasificaciones y criterios de diagnósticos.²³

2.5.1. Etapas de la diabetes mellitus

La diabetes mellitus, se entiende como un proceso de etiologías variadas que comparten manifestaciones clínicas comunes. La posibilidad de identificar la etapa en la que se encuentra la persona con diabetes mellitus facilita las estrategias de manejo.²⁴

Estas etapas son:

A. Normoglucemia. Cuando los niveles de glucemia son normales pero los procesos fisiopatológicos que conducen a diabetes mellitus ya han comenzado e inclusive pueden ser reconocidos en algunos casos. Incluye aquellas personas con alteración potencial o previa de la tolerancia a la glucosa.²⁴

B. Hiperglucemia. Cuando los niveles de glucemia superan el límite normal. Esta etapa se subdivide en:

a. Regulación alterada de la glucosa (incluye la glucemia de ayuno alterada y la intolerancia a la glucosa)

b. Diabetes mellitus, que a su vez se subdivide en:

- Diabetes mellitus no insulino-requiriente
- Diabetes mellitus insulino-requiriente para lograr control metabólico
- Diabetes mellitus insulino-requiriente para sobrevivir (verdadera diabetes mellitus insulino-dependiente)

Por el momento no se dispone de marcadores específicos y sensibles para detectar la diabetes mellitus 2 y la diabetes mellitus gestacional en la etapa de normoglucemia. La detección de diabetes mellitus 1 en esta etapa se basa en la combinación de análisis genéticos e inmunológicos que todavía se restringen al nivel de investigación clínica. Las etapas que le siguen se refieren al estado de hiperglucemia que se define con base en los criterios diagnósticos de diabetes mellitus.²⁴

2.5.2. Clasificación de la diabetes mellitus

A) Diabetes mellitus tipo I

Denominada insulino-dependiente o diabetes juvenil. Es poco frecuente, constituyendo únicamente 10-15 % de diabetes mellitus. Aparece como consecuencia de la destrucción de las células beta del páncreas que conduce a una deficiencia absoluta de insulina y tendencia a la cetoacidosis. No obstante, la velocidad de destrucción es variable. Incluye en su mayoría los casos atribuidos a patogenia autoinmune y algunos de etiología desconocida. En su mayoría, estos individuos presentan insulino deficiencia variable con episodios de cetoacidosis.²³

B) Diabetes mellitus tipo II

Anteriormente conocida como diabetes mellitus no insulino dependiente o diabetes del adulto, es una forma de diabetes donde los principales componentes de la diabetes tipo II es la resistencia a la insulina, a nivel de la grasa y las células musculares. Esto quiere decir que la insulina que el páncreas produce no se puede conectar con las células para permitir que la glucosa entre y produzca energía, lo cual causa hiperglicemia. Para compensar, el páncreas produce más insulina. Las células sienten este torrente de insulina y se tornan más resistentes, lo que ocasiona niveles de glucosa altos. Una persona con diabetes mellitus tipo II a menudo no requiere inyecciones de insulina y el tratamiento primario consiste en hacer dieta y ejercicio. Por lo general, la enfermedad evoluciona gradualmente. En el momento del diagnóstico, del 7 al 8 % de las personas sufre obesidad, pero la enfermedad también puede desarrollarse en personas delgadas, especialmente de edad avanzada.²³

C) Diabetes gestacional

Durante la gestación, las hormonas ováricas y placentarias (lactogeno placentario y cortisol libre) disminuye la sensibilidad a la insulina, por lo que la madre debe segregar más insulina para mantener los niveles de glucosa adecuados. En algunos casos, esta secreción no es suficiente se genera la diabetes gestacional. La padecen un 2 % de las mujeres gestantes, generalmente en el tercer trimestre de embarazo. Suele desaparecer con el parto pero estas mujeres tienen una mayor probabilidad de padecer diabetes en partos sucesivos o a más edades tardías. Los factores de riesgo de padecer diabetes gestacional son: antecedentes familiares en primer grado, embarazo tardío, obesidad y haber tenido un hijo previo con peso superior a cuatro kilogramos.²³

2.6. Tratamiento farmacológico

2.6.1. Insulina

Es una hormona proteica producida por las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas. Se destruye por la pepsina y la quimiotripsina, por lo que es inactiva por vía oral y debe administrarse por vía parenteral.²² La insulina provoca 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,²⁵ inhibe la producción de glucosa en el hígado y estimula la captación de glucosa y el metabolismo de la misma por el músculo y tejido adiposo.²⁶

Su concentración en la sangre es de 0,4 mg/ml, después de comidas ricas en carbohidratos, esta cifra puede aumentar 3 a 4 veces. La insulina ejerce sus efectos al enlazarse a los receptores de la insulina presentes en la superficie de las células blanco, lo cual tiene numerosos efectos en el metabolismo energético, como la utilización coordinada de la glucosa, el almacenamiento del glucógeno, el almacenamiento de ácidos grasos y la síntesis de proteínas.²⁷

El proceso de secreción de insulina es la existencia de unos canales específicos de potasio que son regulados por ATP. Normalmente estos canales están abiertos, pero cuando la concentración de glucosa aumenta, esta penetra en la célula beta y, al metabolizarse, incrementa los niveles de ATP y bloquea los niveles de potasio, lo que induce una despolarización de un área de la superficie de la célula, activando los canales de calcio voltaje dependientes y la penetración de calcio que determina la liberación de insulina.²⁸

El efecto más visible de la insulina es la disminución de los niveles de glucosa en sangre. No obstante, su principal papel consiste en promover el almacenamiento de las fuentes energéticas y su utilización en las correspondientes células especializadas. Este hecho justifica la razón por la que los diabéticos tipo 1 son

delgados (no tienen insulina) y los diabéticos tipo 2 suelen ser obesos, ya que es normalmente el curso con hiperinsulinemia.²⁸

Mecanismo de acción

La insulina se fija a receptores específicos de membrana pertenecientes al grupo de receptores con actividad tirosincinasa y, como resultado, produce:²⁸

1. Activación de los transportadores de glucosa en las células musculares y en los adipositos. En el cerebro, el transporte de glucosa no es dependiente de insulina. Esto permite que incluso a bajas concentraciones de esta, como las presente en el ayuno puedan asegurar la captación cerebral de glucosa.²⁸
2. Regulación del metabolismo mediante la modificación intracelular de los procesos de desfosforilación y fosforilación enzimáticas. Así, por ejemplo, la insulina favorece el depósito de glucógeno sintetasa e inhibir la fosforilasa, la enzima que controla la velocidad de desintegración del glucógeno.²⁸
3. Regulación de la transcripción de genes. A la larga, la insulina puede provocar la síntesis de ADN y ejercer funciones propias de un factor de crecimiento.²⁸

2.6.2. Biguanidas

Define como compuestos derivados de la guanidina. Este grupo de fármacos no tiene efectos sobre la secreción de insulina, por lo que el riesgo de hipoglicemia se ve muy reducido. Pero las biguanidas no pueden considerarse agentes hipoglucemiantes de forma estricta, ya que solo disminuyen la glucemia en los pacientes diabéticos. Pueden asociarse a las sulfonilureas por que presentan un perfil farmacológico diferente y complementario al de las mismas, lo que permite reducir la dosis de cada uno de ellos y aminorar la incidencia de efectos indeseables.²⁸

Mecanismo de acción

El mecanismo de acción no se conoce bien, necesitan insulina para ser efectivas, pero no estimulan la producción pancreática tal vez el mecanismo

principal reside en el incremento de la captación periférica de la glucosa al hacer aumentar el número de receptores tisulares de insulina, pero otros mecanismos propuestos son una reducción de la absorción oral de glúcidos, un aumento de la captación muscular de glucosa y reducción de la gluconeogénesis hepática. Se ha demostrado que la metformina favorece la acción de la insulina en el tejido muscular a múltiples niveles: aumenta el número de receptores y la afinidad de la insulina por su receptor, facilita el transporte de glucosa a través de un aumento de la expresión o actividad del GLUT-4 y estimula el metabolismo no oxidativo de la glucosa, lo que se traduce en un incremento de los depósitos de glucógeno. Está claro que la metformina mejora la sensibilidad a la insulina y es un fármaco de primera elección cuando la resistencia a la insulina es el mecanismo predominante en la etiopatogenia de la diabetes.²⁸

Reacciones adversas

Las más frecuentes son gastrointestinales: anorexia, náuseas, molestias abdominales y diarrea, que aparecen en el 5-20 % de los pacientes tratados con objeto de mejorar la tolerancia digestiva se recomienda administrar el medicamento junto con las comidas, si bien sus efectos gastrointestinales (diarrea) pueden impedir su uso en algunos pacientes. Este efecto suele aparecer al inicio del tratamiento y con el paso del tiempo, reduce la frecuencia de aparición. Otro efecto adverso es la acidosis láctica, que puede llegar a ser letal, aunque su frecuencia es muy baja, únicamente con dosis tóxicas.²⁸

2.6.3. Sulfonilureas

Mencionan que no existen evidencias que apoyen la existencia de diferencias en la efectividad de los diferentes fármacos. Parece que los parámetros farmacocinéticos constituyen los aspectos más importantes a tener en cuenta para su elección, la vía de eliminación, etc.²⁸

Mecanismo de acción

Estos fármacos tienen efecto hipoglucemiante agudo por una acción directa, estimulando la secreción de insulina desde la célula beta-pancreática, y un efecto hipoglucemiante crónico (tras un uso prolongado), al potenciar la acción de la insulina, bien por un aumento en el número de receptores de insulina o bien mejorando su unión en los tejidos sensibles. Disminuyendo la glicemia en personas cuyos niveles de glucosa no pueden controlarse con dieta o ejercicio.²⁸

Reacciones adversas

La hipoglucemia es el principal efecto adverso asociado al tratamiento con sulfonilureas. Esta puede oscilar entre cuadros leves que pueden tratarse simplemente con la ingestión de hidratos de carbono hasta cuadros muy graves, incluso mortales. Efecto adverso usualmente asociado a estos fármacos es la ganancia de peso, a veces de varios kilogramos, debido al efecto anabólico de la insulina liberada. Este efecto puede tener especial importancia en los pacientes obesos. Menos frecuente resulta la aparición de reacciones hematológicas, como trombocitopenia, anemia hemolítica, rash y reacciones pulmonares asociadas al tratamiento con sulfonilureas.²⁸

2.7. Tratamiento no farmacológico

El tratamiento no farmacológico de la diabetes es complejo, que incluye medidas terapéuticas.²⁹

Los objetivos generales del tratamiento son básicamente los siguientes:

- Corregir las alteraciones del metabolismo hidrocarbonado.²⁹
- Corregir el metabolismo general: proteico, lipídico e hidroeléctrico.²⁹
- Mantener un correcto estado de nutrición del paciente.²⁹
- Evitar las complicaciones de la diabetes.²⁹

- Facilitar una vida plena.²⁹

2.7.1. Control dietético

Reducir la ingestión total de grasas, aumento de la ingestión de proteínas, y un aumento de la ingestión de los alimentos ricos en fibra, que en lentecen la velocidad de absorción en el tubo digestivo. Evitar el consumo de azúcares simples.³⁰

2.7.2. Ejercicio físico

Constituye una medida no farmacológica fundamental. El esfuerzo físico controla, incrementa la utilización de glucosa por el músculo, y mejora la sensibilidad cística a la insulina.²⁹

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación de la zona de estudio

El presente trabajo de investigación se desarrolló en la ciudad de Huamanga durante los meses de setiembre a noviembre del 2012.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población: *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca”, de la localidad de San Antonio de la región de Ancash provincia de Huaraz a 3100 m.s.n.m.

3.2.2. Muestra: Conformado por 5 kg de *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca”, que fueron recolectadas aleatoriamente durante el mes de setiembre del 2012.

3.2.3. Animales de experimentación

Se utilizaron treinta “ratas” Holtzman del mismo sexo, con peso entre 150 - 200 g. que se adquirieron del Bioterio del Instituto Nacional de Salud de la ciudad de Lima - Chorrillos, con una semana de anticipación a las condiciones de laboratorio con alimento balanceado y agua.

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Recolección, identificación y selección de la muestra

La muestra fue recolectada y transportada en bolsas a los Laboratorios del Área de Farmacia, donde se seleccionó las hojas y fueron secadas a medio ambiente

durante siete días. Una parte de la planta con hojas y flor fue llevada al Laboratorio de Botánica de la UNSCH para la identificación taxonómica.

3.3.2. Preparación del extracto hidroalcohólico

300 mg de muestra seca y pulverizada fue macerado en 1200 ml de alcohol al 97 %, se dejó en un frasco color ámbar durante siete días a temperatura ambiente. Se filtró el concentrado y el filtrado se concentró a sequedad en un Rotavapor BUCHI 3000 para la eliminación del solvente.

3.3.3. Tamizaje fitoquímico

La identificación cualitativa de los principales grupos de metabolitos secundarios, se realizó con las reacciones de coloración y precipitación.³¹

3.3.4. Determinación de la hiperglucemia

Fundamento: Se utilizó el modelo para la hiperglucemia glucosa al 50 %, induciendo un incremento de la glicemia.^{32 33}

3.4. Procedimiento experimental

Los animales fueron aclimatados en jaulas metálicas con libre acceso a agua y alimento estándar. La temperatura ambiental fue constante (21 °C) y 50 – 60 % de humedad con un ciclo de 12 horas luz y oscuridad. Después de 12 horas de ayuno se preparó ocho grupos experimentales, distribuidos al azar:

Grupo I: Control; solución salina fisiológica, con 5 animales (n=5)

Grupo II: Solución de glucosa al 50 % a razón de 2 gramos de glucosa/kg de peso, con 5 animales (n=5).

Grupo III: Solución de glucosa al 50 % a razón de 2 gramos de glucosa/kg de peso e inmediatamente metformina 150 mg/kg de peso, con 5 animales (n=5).

Grupo IV: Solución de glucosa al 50 % a razón de 2 gramos de glucosa/kg de peso e inmediatamente glibenclamida 7,5 mg/kg, con 5 animales (n=5).

Grupo V: Solución de glucosa al 50 % a razón de 2 gramos de glucosa/kg de peso e inmediatamente 100 mg/kg de extracto hidroalcohólico *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca”, con 5 animales (n=5).

Grupo VI: Solución de glucosa al 50 % a razón de 2 gramos de glucosa/kg de peso e inmediatamente 200 mg/kg de extracto hidroalcohólico *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca”, con 5 animales (n=5).

Grupo VII: Solución de glucosa al 50 % a razón de 2 gramos de glucosa/kg de peso e inmediatamente 300 mg/kg de extracto hidroalcohólico *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca”, con 5 animales (n=5).

Grupo VIII: Solución de glucosa al 50 % a razón de 2 gramos de glucosa/kg de peso e inmediatamente metformina 150 mg/kg de peso y glibenclamida 7,5 mg/kg, con 5 animales (n=5).

Las muestras de sangre se obtuvieron de la vena caudal en el extremo distal de la cola del animal, mediante un corte suficientemente amplio como para obtener un volumen adecuado (1 gota) para cubrir por completo la zona de prueba de la tira reactiva, a intervalos de 30 minutos después de la carga de glucosa. La glucosa se determinó por el método de la glucosa oxidasa con tiras reactivas de un glucómetro de la marca ACCU – CHECK, se calculó el área bajo la curva de tolerancia y el valor medio de la glucosa que puede ser sometido a pruebas estadísticas.²²

3.5. Análisis estadístico

Los datos se expresaron en forma de medias, desviación estándar, y fueron representados en forma de tablas, figuras en forma de curvas histogramas.

Asimismo, con los resultados de la variación de la glucosa versus tiempo, se calculó en Area Bajo la Curva (ABC), por el método de trapecio utilizando el software SIMFIT, Simulationfitting, Statistic and Plotting versión 5,6,25.

Las diferencias entre las curvas de cada tratamiento se contrastarían mediante el Análisis de Varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey utilizando el software SPSS.

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca".

Metabolitos secundarios	Ensayo	Resultados	Observación
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	+++	Verde intenso
Flavonoides	Shinoda	+++	Rojo
Esteroides y/o terpenos	Lieberman	+	Verde claro
Saponinas	Espuma	++	Espuma
Resinas	Resinas	+++	Verde oscuro
Lactonas y/o cumarinas	Baljet	++	Rojo
Aminoácidos (aminas)	Ninhidrina	+++	Rojizo

LEYENDA:
 (+++) Abundante
 (++) Moderado
 (+) Leve

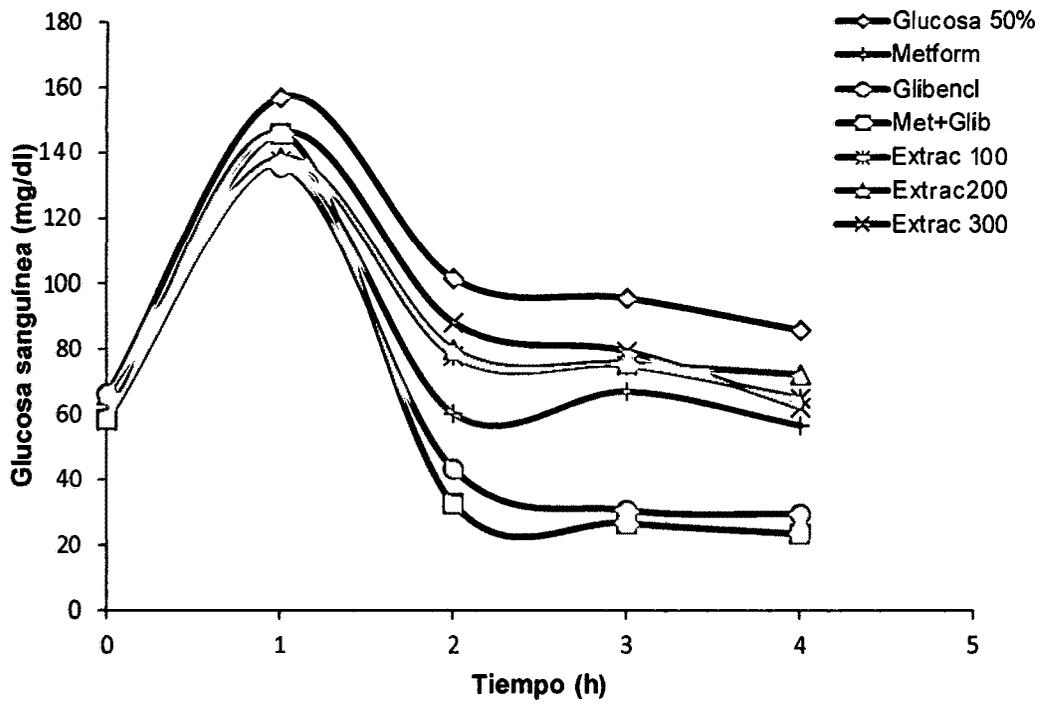


Figura 3. Variación de los niveles de glucosa sanguínea en función del tiempo.

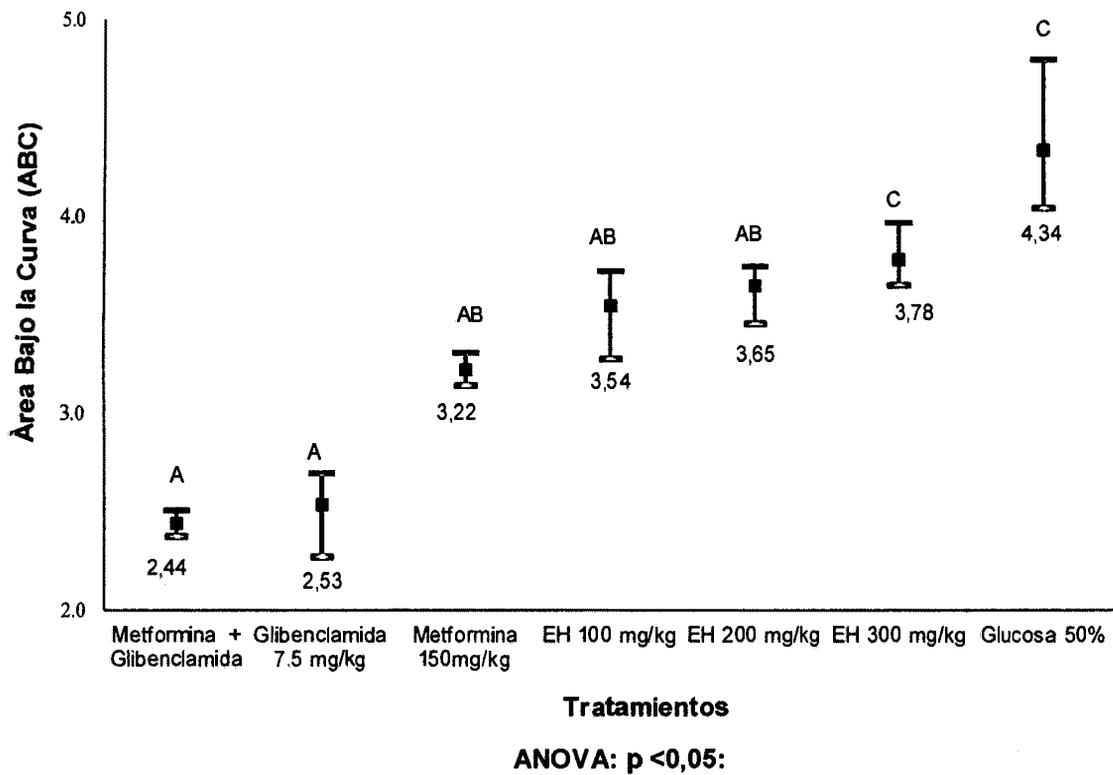
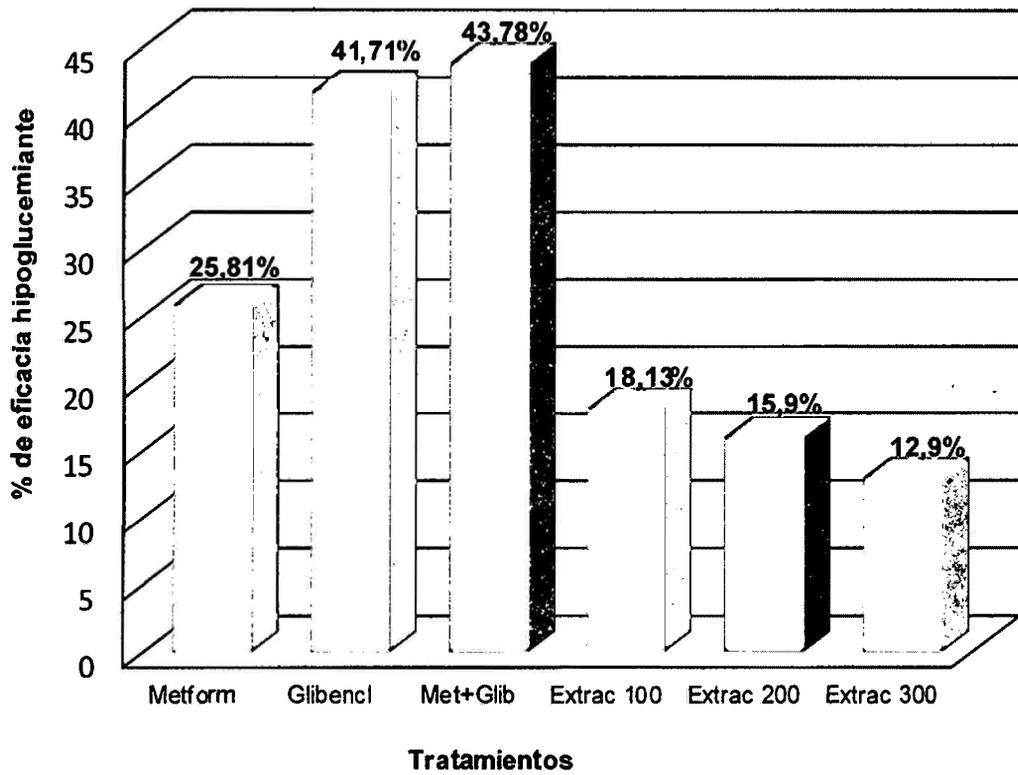


Figura 4. Área Bajo la Curva según tratamientos.



ANOVA: $p < 0,05$:

Figura 5. Porcentaje de eficacia hipoglucemiante según tratamientos.

V. DISCUSIÓN

La gran diversidad de especies vegetales que existe en el planeta ha permitido que desde hace mucho tiempo varias civilizaciones hayan usado las plantas para tratar o aliviar algunas enfermedades. Este uso de las plantas con fines medicinales viene desde tiempos remotos y el uso de diversas especies es tan diverso como sitios ha habitado el hombre.⁴

Hasta ahora el campo de investigación sobre la medicina tradicional ha sido abordado principalmente por la antropología, pero cada vez mayor número de disciplinas científicas se incorporan para enriquecer el rescate y la revalorización de este patrimonio cultural que ha contribuido sustancialmente a la conservación de la salud humana, al igual que al desarrollo del conocimiento médico autóctono y de sus recursos. Las necesidades actuales de salud en el mundo y la crisis económica de muchos países como el nuestro, hacen indispensables un estudio más profundo de los recursos médicos disponibles.²⁰

Los metabolitos secundarios evaluados en el extracto hidroalcohólico de la planta *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris "apallanchaca" dan como resultado la presencia de fenoles y/o taninos, lactonas y/o cumarinas, terpenos y/o esteroides, flavonoides, saponinas, aminoácidos libres y catequinas (Tabla 1).

La reducción del nivel de la glicemia en la presente investigación, se explica por presencia de compuestos fenólicos y flavonoides.³⁴

Coinciden con las investigaciones reportadas en las otras plantas utilizadas empíricamente por su efecto hipoglucemiante, dentro de estos metabolitos podemos señalar como los posibles responsables del efecto hipoglucemiante a los triterpenoides, flavonoides, taninos, catequinas sustancias fenòlicos y alcaloides las cuales coinciden con las descritas por Caceres.³⁵

Podemos decir que todos los grupos de "ratas" Holtzman, presentan un promedio de concentración de glucosa basal en sangre de 80,2 mg/dl, este primer dato sirvió para demostrar que los animales adquiridos en el Instituto Nacional de Salud son ratas normoglucémicos aptos para el trabajo de investigación que se ejecutó. Los valores promedio en condiciones basales de los animales se asemejan a los de los humanos con valores entre 60 - 115 mg/dl.

La glucosa es una sustancia necesaria en el metabolismo y es el estímulo principal de la secreción regulada de insulina en el organismo, el mismo que estimula el transporte de glucosa a través de las glucoproteínas que son las transportadoras hacia los músculos y tejidos. Un desbalance en la producción de insulina deviene en una hiperglicemia, conduciendo a una alteración en el metabolismo de los lípidos, carbohidratos y proteínas y un mayor riesgo de complicaciones por enfermedades vasculares.

Grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales, se caracteriza por hiperglucemia crónica, propiciando alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, grasas y proteínas, que puede favorecer la aparición de complicaciones agudas (cetoacidosis, hiperosmolaridad) y crónicas (micro y macroangiopatía: ocular, renal, nerviosa, dermatológica, cardiovascular).²⁵

Existen muchos métodos para la determinación de glucosa, hoy en día el sistema ACCU CHEK Active es parte de una nueva generación de medidores de

glucemia, donde las tiras reactivas son tratadas con productos químicos tales como la glucosa oxidasa, deshidrogenasa o hexoquinasa. Estos productos químicos reaccionan con la glucosa presente en la sangre produciendo una corriente eléctrica que lleva los resultados al monitor.

Para el análisis de glucosa del presente trabajo de investigación se utilizó el Glucómetro ACCU CHEK Active donde las tiras reactivas poseen seis electrodos de oro que realizan chequeos de temperatura y humedad ambiental para un mejor control ofreciendo ventajas, la medición se realizó cinco segundos, codificación automática por chip, un mínima muestra (solo 0,6 ul) y amplia pantalla para fácil lectura.³⁶

En la Figura 3, se observa la variación de los niveles de glucosa sanguínea de los diferentes tratamientos en función al tiempo.

El grupo blanco (administrado con solución salina fisiológica 1,0 ml/kg de peso) presentó una variación entre 60 mg/dl de glucosa sanguínea durante los tiempos de tratamiento, permitió determinar que los niveles basales de glucosa se mantienen durante el tiempo de tratamiento de los grupos experimentales.

En el grupo control (administrado con glucosa a 2 g/kg de peso), se observó un aumento de los niveles de glucosa sanguínea durante la primera hora (137 mg/dl), que luego desciende llegando a los niveles basales en cuatro horas (56,7 mg/dl), esta respuesta es debido a que las ratas normoglicémicas liberan insulina en respuesta al aumento de los niveles de glucosa sanguínea. La glucosa ingresa a las células beta a través del transportador de glucosa GLUT 2, donde la glucosa pasa a la glucólisis y el ciclo respiratorio produciendo por oxidación varias moléculas de ATP de alta energía. Los canales de potasio (K^+) dependiente de los niveles de ATP y por tanto, de los niveles de glucosa en sangre, se cierran y la membrana celular se despolariza, con ello los canales de

calcio (Ca^{2+}) dependiente del voltaje se abren y el calcio ingresa a la célula, un aumento intracelular de ello produce la activación de Fosfolipasa C, que desdobla los fosfolípidos de la membrana fosfatidil inositol 4, 5-bisfosfato en inositol 1,4,5-trifosfato (IP3) y diacilglicerol. El IP3, se une a los receptores proteicos sobre la membrana del retículo endoplásmico (RE), esto permite la liberación de calcio del RE a través de los canales IP3 aumentando más aún la concentración intracelular de calcio, estas cantidades significativamente mayores de calcio dentro de las células provocan la liberación de insulina presintetizada y almacenada en las vesículas secretoras.³⁷

En la Figura 4, se observa que el grupo estándar (administrado con metformina 150 mg/kg, glibenclamida 7,5 mg/kg y metformina 150 mg/kg más glibenclamida 7,5 mg/kg de peso), se evaluó el Área bajo la Curva con la finalidad de comparar la variación de la glucosa versus tiempo de las diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris "apallanchaca". Según se observa en la Figura 5, con metformina 150 mg/kg de peso, los niveles de glucosa sanguínea tiende al descenso desde el nivel basal determinado (60 mg/dl), hasta el tiempo final de tratamiento (56,7 mg/dl), con un nivel de eficacia hipoglucémica de 25,81 %, siendo este valor similar a lo obtenido por León (2011)³⁸ en el trabajo de investigación de la actividad hipoglucemiante del extracto de las hojas de Frutipan (*Artocarpus altilis*) en "ratas" *Rattus norvegicus* con hiperglucemia inducida, con una disminución de la glucemia a 70,5 mg/dl en función a la misma dosis administrada. El descenso de los niveles de glucosa sanguínea se debe a que la metformina clorhidrato es un agente antihiperglucémico que mejora la tolerancia de la glucosa en los pacientes con diabetes tipo 2, disminuyendo la glucosa plasmática tanto basal como postprandial. metformina clorhidrato disminuye la producción de glucosa

hepática, disminuye la absorción intestinal de glucosa, y mejora la sensibilidad a la insulina al aumentar la captación periférica y utilización de la glucosa.³⁹

Según se observa en la Figura 5, con glibenclamida 7,5 mg/kg de peso, los niveles de glucosa sanguínea tiende al descenso desde el nivel basal determinado (66,4 mg/dl), hasta el tiempo final de tratamiento (29,6 mg/dl), con un nivel de eficacia hipoglucémica de 41,71 %, siendo valores distintos al de Carrasco (2012),⁴⁰ en el trabajo de investigación comprobación del efecto hipoglucemiante del extracto del fruto de la tuna *Opuntia ficus-indica*, en "ratones" *Mus musculus* con hiperglucemia inducida, con una disminución de la glucemia basal determinado (174 mg/dl), hasta el tiempo final de tratamiento (144,33 mg/dl), debido a la concentración administrada glibenclamida en relación de (0,0028 g/ml), dando una interacción específica y de alta afinidad con los receptores de la membrana de las células beta pancreáticas, como consecuencia de esta interacción, se cierran los canales de K⁺, provocando la despolarización de la célula beta pancreática y un cambio en el potencial de membrana que abre los canales de Ca²⁺ 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.⁴¹

El tercer estándar utilizado fue con metformina 150 mg/kg más glibenclamida 7,5 mg/kg de peso, los niveles de glucosa sanguínea tiende al descenso desde el nivel basal determinado (58,5 mg/dl), hasta el tiempo final de tratamiento (23,5 mg/dl), con un nivel de eficacia hipoglucémica de 43,78 %, obteniendo el mejor resultado de los estándares evaluados, debido a que la combinación de estos fármacos disminuyen la glucogenólisis (liberación hepática) y neoglucogénesis (formación de glucosa a partir de otros sustratos como aminoácidos y glicerol). Éstos son los del grupo de las biguanidas, aumentan la sensibilidad a la insulina en el tejido periférico, principalmente en músculo. Además, la metformina tiene

efectos favorables sobre los lípidos, con reducción de los triglicéridos, LDL y colesterol total.⁴²

Las diferentes dosis (100 mg/kg; 200 mg/kg y 300 mg/kg de peso) del extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca", administrados presentan efectos hipoglicemiantes moderados, con niveles de eficacia de 18,13 %; 15,9 % y 12,9 %, respectivamente (Figura 5).

El mecanismo de acción por el cual ciertas especies vegetales disminuyen la glucosa sanguínea, puede ser atribuido a los siguientes factores: aumento de la liberación de insulina a través de la estimulación de las células β -pancreáticas, resistencia a las hormonas que aumentan el nivel de glucosa, aumento de la sensibilidad de los receptores de insulina, disminución de gluconeogénesis, aumento del consumo de glucosa en tejidos y órganos, eliminación de radicales libres, resistencia a la peroxidación de los lípidos, corrección del desorden metabólico causado en lípidos y proteínas.⁴³

Estudios similares efectuados por Salazar⁴⁴ en el trabajo de investigación "Contribución al Estudio Químico y Farmacológico de la *Gentianella umbellata* (G. Don) Fabris", encontró que el extracto de diclorometánico produce la máxima reducción de la glicemia a las 5 horas de la administración en un 24,2 % y aún mantiene su actividad a las 24 horas en un porcentaje menor (19,3 %). El extracto metanólico produce su máxima actividad a las 5 horas reduciendo la glicemia en 38,3 %, esta actividad a las 24 horas se reduce en 20,6 %.⁴⁴ Otros estudios con *Gentianella thyrsoidea* reportaron una reducción de 25,4 % a las 5 horas y 21,8 % a las 24 horas con el extracto diclorometánico y de 51,4 % a 39,9 % con el extracto metanólico respectivamente; por lo que la *Gentianella thyrsoidea* tendría un mejor perfil hipoglicemiante; aunque los resultados no son concluyentes.⁴⁵ Pues esta relativa actividad hipoglicémica se justificaría por

cuanto el extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris “apallanchaca” contiene flavonoides y xantonas de efecto hipoglucemiante.

El análisis de varianza, es una prueba estadística para analizar si más de dos grupos son diferentes significativamente entre sí en cuanto a sus medias y varianzas. El nivel de significancia es una probabilidad de equivocarse que fija de manera prioritaria el investigador. El nivel de significancia de 0,05; el cual implica que el investigador tiene 95 % de seguridad para generalizar sin equivocarse y solo 5 % en contra. En términos de probabilidad, 0,95 y 0,05, respectivamente ambos suman la unidad.⁴⁶

En base a lo anterior se determinó la diferencia que existe entre los grupos de tratamiento (Anexo 16) obteniéndose una diferencia significativa ($p < 0,05$).

En el Figura 3 se confirma que el extracto hidroalcohólico de la planta *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris “apallanchaca” en el modelo experimental la mayor disminución de la glicemia fue a menor concentración del extracto.

Se demostró que el extracto hidroalcohólico de la planta *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris “apallanchaca” en “ratas” albinas Holtzman posee actividad hipoglucemiante en las condiciones experimentales y podría ser considerada como un producto natural de utilidad como coadyuvante en los tratamientos de pacientes que presentan intolerancia a la glucosa y diabetes mellitus.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca", presentó hipoglucemiante.
2. El extracto hidroalcohólico, reportó la presencia de fenoles y/o taninos, lactonas y/o cumarinas, terpenos y/o esteroides, flavonoides. alcaloides, saponinas, azúcares reductoras, aminoácidos libres y catequinas.
3. El extracto hidroalcohólico de la planta *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca" a la dosis de 100 mg/kg de peso obtuvo mayor eficacia hipoglucémica con un 18,13 %.
4. La dosis del extracto hidroalcohólico de la planta *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca" de 100 mg/kg de peso con un 18,13 %, posee mayor eficacia hipoglucémica, siendo inferior a la combinación de la glibenclamida 7,5 mg/kg más metformina 150 mg/kg de peso con un 43,78%.

VIII. RECOMENDACIONES

1. Continuar investigando sobre la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca”, a diferentes concentraciones, utilizando otros diseños metodológicos y aislando los metabolitos secundarios responsables del efecto estudiado.
2. Continuar con el estudio químico de la planta, presenta xantonas y flavonoides por identificar.
3. Evaluar las actividades farmacológicas con otras dosis, con mayor tiempo de seguimiento, con compuestos aislados y otros métodos de experimentación.
4. Elucidar principios activos presentes en la planta, los cuales seguramente tienen mayor eficacia.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Balkan B, Steffens A, Bruggink J, Strubbe J. Hyperinsulinemia and glucose tolerance in obese raton foodintake and route of administration: PubMed [internet]. 1991. [acceso 03 de marzo del 2013]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1943735>
2. Barceló A, Orellana P, Ramírez M, Gil E, Gregg E, Meiners M, Valdez R, Pérez E, Cafiero E. Encuesta de diabetes, hipertensión y factores de riesgo de enfermedades crónicas [revista en internet] 2006. [acceso 20 de marzo del 2013]. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=16148&Itemid=
3. Charlton Fernando, Núñez Chavez, Tapia Zegarra, Untiveros Mayorga. Complicaciones tardías en diabetes mellitus tipo 2 en el Hospital II Essalud. Cañete. Rev. Cubana PlantMed. 2004; 64-69. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1018130X2004000200002&script=sci_abstract
4. Yesid Bernal H, García Martínez H, Quevedo Sanchez G. Estrategia Nacional para la Conservación de Plantas. 1ra edición. Colombia: Ediprint Ltda.; 2011.
5. Córdova Rengifo J. Uso y utilización de plantas medicinales en Universidades de Lima. [Tesis de pregrado] Perú. Pontificia Universidad Católica del Perú; 2009. Disponible en: <http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/123456789/1077>
6. García Moreira A, Rocha Gonzales R. Efecto de *Mangifera indica* sobre la hiperglucemia aguda en "ratas" normoglucémicas [Tesis de pregrado]. Chile: Universidad de Chile; 2005. Disponible en: http://www.tesis.uchile.cl/tesis/uchile/2005/garcia_a/html/index-frames.html
7. Ramírez Roca E, Mamani Quispe R. Actividad antioxidante e hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas *Stevia rebaudiana Bertoni* "hierba dulce". Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Perú; 2007.
8. Betalleluz A. Actividad Hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* "yawar soqo" [Tesis de pregrado]. Perú: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2008.
9. Orellana R. Actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Rizoma cúrcuma loriga* "palillo" en "ratas" Wistar. "[Tesis de pregrado]. Perú: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2008.
10. Tunque N, Actividad Hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Jatropha macrantha* M. Arg. "huanarpo macho" en "ratas" Holtzman [Tesis de pregrado]. Perú: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2009.
11. Carrillo Solis P. Comprobación del efecto hipoglucemiante del zumo del fruto de noni (*Morinda citrifolia*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con hiperglucemia inducida [Tesis de pregrado]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2011. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/1591/1/56T00279.pdf>.
12. Brack Egg A. Diccionario Enciclopédico de Plantas útiles del Perú. Centro de Estudios Regionales Andinos "Bartolomé de las Casas". Perú; 1999.
13. Haeberli Wilfred, Beniston Martin. Mountain environments in changing climates. London; 1994. Disponible en:

- <http://www.jstor.org/discover/10.2307/4314732?uid=3738800&uid=2&uid=4&sid=21102839079041>.
14. Cronquist A. An Integrated System of Clasification of Flowering Plants. The New York Botanical Garden Columbia. University Press [revista en internet] 1981. [acceso 15 de febrero del 2013]. Disponible en: <http://www.cabdirect.org/abstracts/19691601739.html;jsessionid=25F537B0B4E6AB2A2403CCDC481DD286>.
 15. Castillo S, Salinas N, León B, Sánchez I. El libro rojo de las plantas endémicas del Perú. Perú: Ed. Blanca León; 2006.
 16. Lock de Ugaz O. Manual de Fitoterapia. Pontificia Universidad Católica del Perú. Capítulo IV. Perú; 2006.
 17. Bruneton J. Farmacognosia Fotoquímica plantas Medicinales. 2da ed. España: Editorial Acriba; 2001.
 18. Aguilar Felices E. Estudios de los flavonoides de las hojas *smallan thussan chifolius* (yacon) y determinación de su actividad antioxidante e inmunológica. Perú; 2006.
 19. Peña García N. Biosensores Amperométricos compósitos basados en peroxidasa. Aplicación la determinación de analitos de interés en alimentos mediante electrodos bienzimáticos y multienzimáticos. [Tesis Doctoral]. España. Universidad Complutense de Madrid; 2003. Disponible en: <http://biblioteca.ucm.es/tesis/qui/ucm-t26582.pdf>.
 20. Flores J. Compendio de la farmacología humana. España: Editorial Masson; 1998.
 21. Cotillo Zegarra P. Farmacología. Mecanismos de acción - Glosario. Perú: Editorial Lluvia editores; 1998.
 22. Litter M. Compendio de farmacología. Cuarta edición. Buenos Aires: Editorial El Ateneo; 1998.
 23. Bravo L, Miranda E. Manual de Farmacoterapia. 17va ed. Madrid – España: Editorial Elsevier; 2005.
 24. Guías Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD) de diagnóstico, control y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2; [revista en internet] 2006. [acceso 14 de enero del 2013]. Disponible en: <http://www.alad-latinoamerica.org/>.
 25. Guyton A. And Hall. Tratado de fisiología médica .13 ed. México: Editorial Mac Gra. Gill; 2001.
 26. Goodman, Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Octava edición. Buenos Aires: Editorial Medicina Panamericana; 1996.
 27. Salido E, Hernández D, Torres A. Avances moleculares y terapéuticas en la diabetes perspectiva de futuro. Hospital Universitario de Canarias. España. 2001.
 28. López A, Moreno L, Villagrasa V. Manual de Farmacología. 17 va ed. Madrid-España: Editorial Elsevier; 2006.
 29. Malgor L, Valsecia E. Farmacología de la Diabetes. Farmacología Médica. Facultad de Medicina. Universidad Nacional del Nordeste. Ediciones Donato/FARM. Vol. 2; 1999.
 30. Taylor M, Reide P. Farmacología. Primera ed. Bracelona – España: Editorial Harcourt; 1999.
 31. Miranda M. Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y productos naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad la Habana. Ciudad Habana – Cuba; 2000.
 32. CYTED, Manual de Técnicas de Investigación. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Sub programa. química Fina Farmacéutica; 1995.

33. Kurada M, Mimaki Y, Kitahara M. Hypoglycemic effects of Turmeric (*cúrcuma longa* L. *Rhizomes*) on *Genetic* Diabetic KK-Ay mice. Pharmaceutical Society of Japan. *Bioi. Pharn. Bull*; 2005.
34. Asgary S, Naderi Gh, Sarrafzadegan N, Ghassemi N, Boshtam M, Rafie M, Arefian A. Anti-oxidante effect of flavonoids on hemoglobin glycosylation. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*; 1999.
35. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. 1ra edición. Guatemala: Editorial universitaria; 1995.
36. Roche Diagnostics. All rights reserved Products Roche ACCU-CHEK and ACCU-CHEK Active is trademarks of Roche. Made in U.S.A. [revista en internet] 2006. [acceso 10 de enero del 2013]. Disponible en: www.accu-chek.com.co/productos/manuales/prod_accuactive.pdf.
37. Kumar V, Cotrán S, Robbins S. Patología Humana. Séptima ed. España: Editorial Elsevier; 2005.
38. León Encalada J. Efecto hipoglucemiante del extracto de las hojas de Frutipan (*Artocarpus altilis*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con hiperglucemia inducida. [Tesis de pregrado]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2011. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1594/1/56T00282.pdf>.
39. Diagnopharm. Glibenclamida y Metformina. . [revista en internet] 2008. [acceso 10 de enero del 2013]. Disponible en: <http://diagnopharm.com>.
40. Carrasco Parra N. Comprobación del efecto hipoglucemiante del Extracto del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) en Ratones (*Mus musculus*) con hiperglucemia inducida. [Tesis de pregrado]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2011. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2019>.
41. Villavicencio M. Mecanismos moleculares y bioquímicos de la acción de la insulina. La diabetes mellitus y los avances en su tratamiento. Primera ed. Perú: Editorial Buenaventura; 1995.
42. Prado A, Calvo C, Herradac, M, López M, Tezanose R. Tratamiento Farmacológico de la Diabetes Mellitus; 2002. Disponible en: <http://www.doymafarma.com>.
43. Negri G. Diabetes mellitus: plantas e principios ativos naturais hipoglicemiantes. *Revista Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Universidade Federal de São Paulo. São Paulo– Brasil; 2005.
44. Salazar Díaz J. Contribución al Estudio Químico y Farmacológico de la *Gentianella umbellata* (g. Don) Fabris. [Tesis de pregrado]. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2003. Disponible en: http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/549/SALAZAR_JUAN_CONTRIBUCION_AL_ESTUDIO.pdf?sequence=1.
45. Tomas G. Estudio Químico y Farmacológico de la *Gentianella thyrsoidea* Hooker Fabris. [Tesis de pregrado]. Perú. Pontificia Universidad Católica del Perú; 2000. Disponible en: http://biblat.unam.mx/detalle_bib.php?tipobus=disciplinas&revista=Bolet%EDn+de+la+Sociedad+Qu%EDmica+del+Per%FA&iddisciplina=&articulos=536
46. Hernández R, Fernández C, Bautista P. Metodología de la Investigación. Cuarta Ed. México: Editorial McGraw-Hill; 2006.

ANEXOS

Anexo 1

Tabla 2. Certificado de identificación de *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris "apallanchaca".



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

C E R T I F I C A

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, Srta. Fujita Qori Urpi, HUAMANCUSI SARMIENTO, 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
SUBCLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	GENTIANALES
FAMILIA	:	GENTIANACEAE
GENERO	:	<i>Gentianella</i>
ESPECIE	:	<i>Gentianella thyrsoides</i> (Hook.) Fabris.
N.V.	:	"apallanchaca"

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

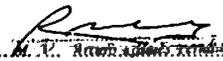
Ayacucho, 02 de Junio del 2012

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

Dra. Lenny Carolina Sotomayor
JCFR

Anexo 2

Tabla 3. Certificado sanitario de los animales de experimentación.

	INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIÓTERIO
CERTIFICADO SANITARIO Nº 289-2812	
Producto : Rata Albina	Lote Nº : R-10-2012
Especie : <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad : 35
Cepa : Holtzman	Edad : 1mes ½
Peso : 130 a 145 gr.	Sexo : Hembras
Guía de Remisión : 026689	Destino : Huamancusi Sarmiento, Fujita Qori Urpi Ayacucho
Lima : 26-10-2012	
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia : P.R.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p> <p>Chorrillos, 26 de Octubre del 2012 (Fecha de emisión del certificado)</p> <p style="text-align: right;"> M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586</p> <p>NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>	

Anexo 3



Figura 5. Diagrama del diseño metodológico.

Anexo4

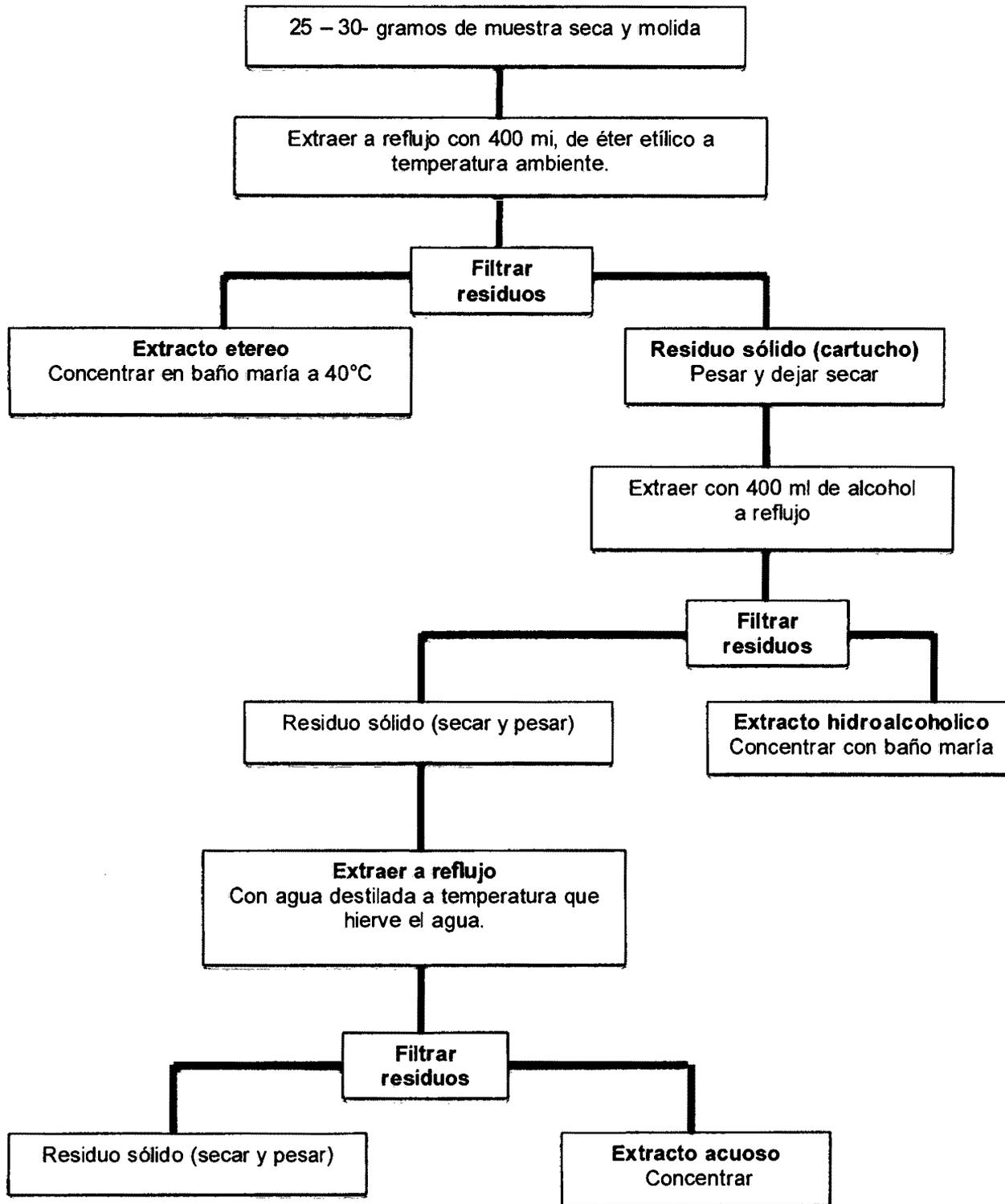


Figura 6. Flujograma del screening fitoquímico.

Anexo 5

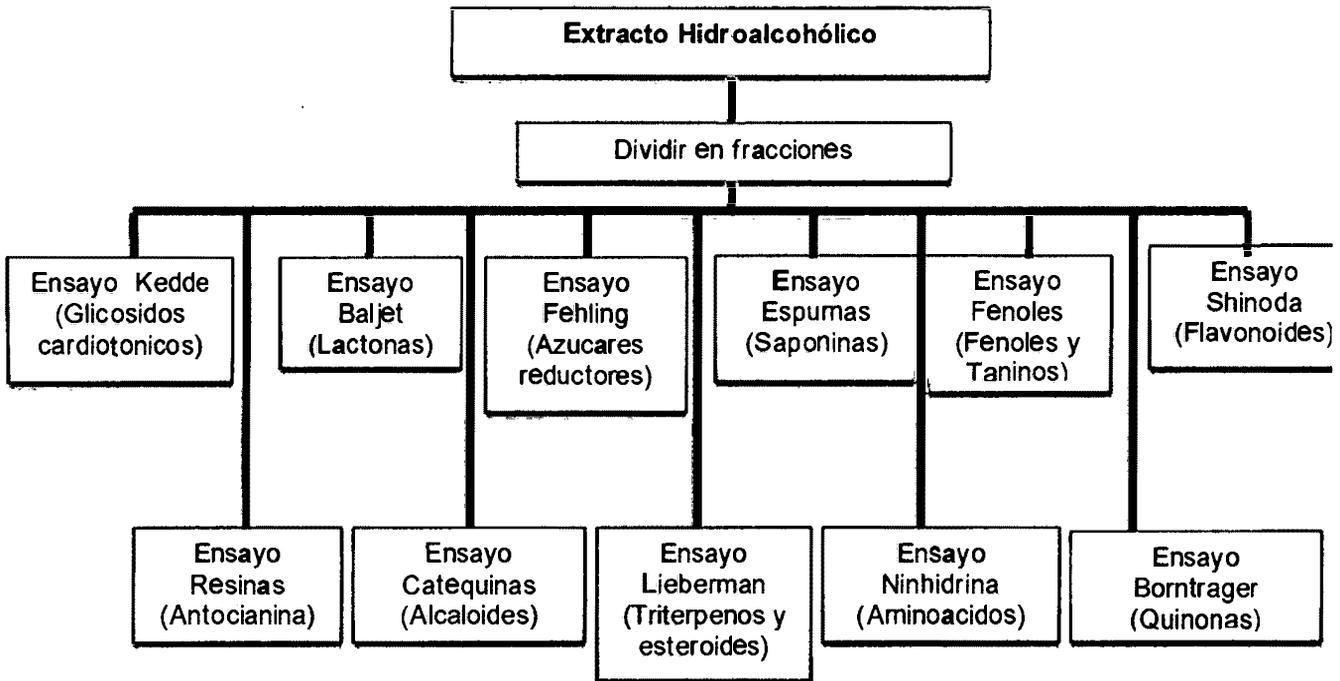


Figura 7. Screening fitoquímico.

Anexo 7



Figura 9. Muestra macerada del extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca".

Anexo 8

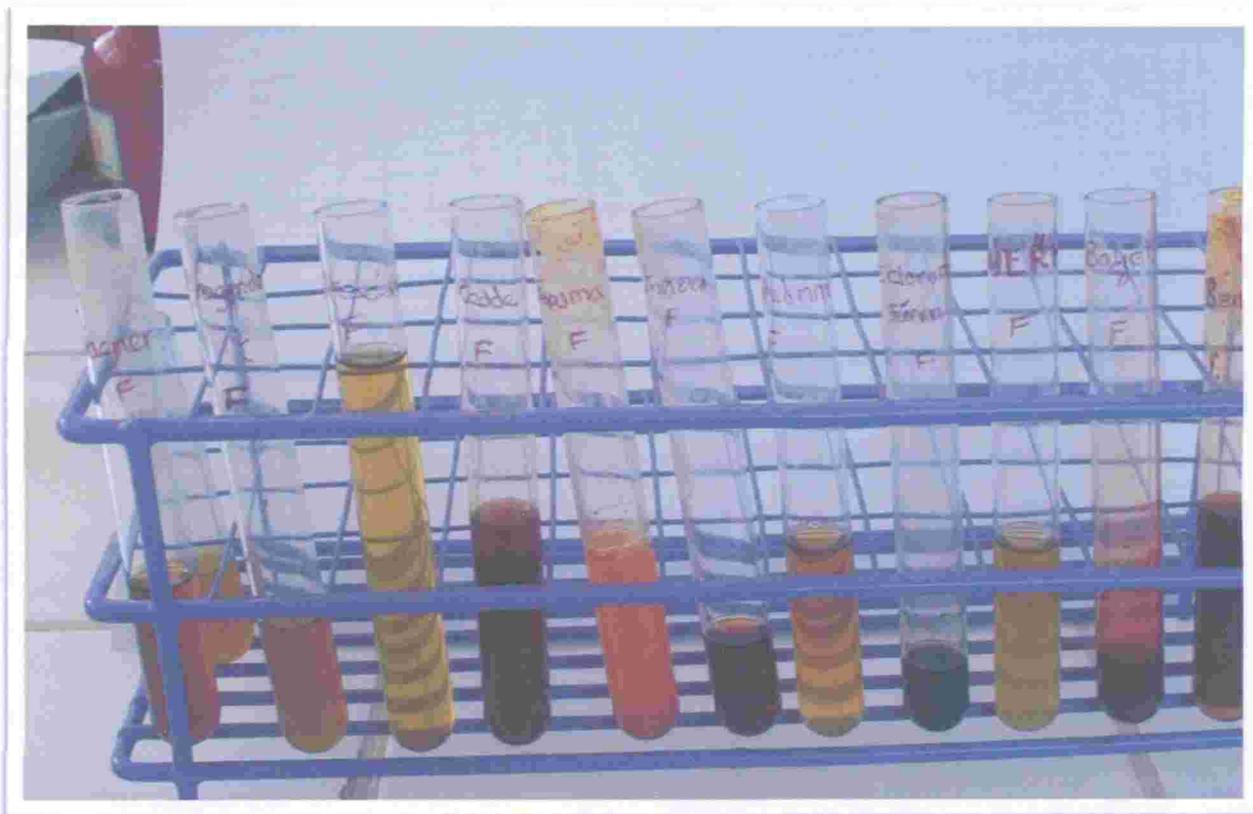


Figura 10. Tubos de prueba con metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico.

Anexo 9



Figura 11. Administración por vía oral del extracto hidroalcohólico.

Anexo 10



Figura 12. Toma de muestra de la glicemia basal a las “ratas” Holtzman.

Anexo 11

Tabla 4. Área bajo la curva y porcentaje de eficacia hipoglucemiante en función de tratamientos.

Tratamientos	Área bajo la Curva	% área bajo la curva	% eficacia hipoglucémica
Glucosa (control)	4,34	100,0	0,0
Metformina 150 mg/kg	3,22	74,19	25,81
Glibenclámda 7.5 mg/kg	2,53	58,29	41,71
Metf 150 mg/kg + Glib 7.5 mg/kg	2,44	56,22	43,78
Extracto 100 mg/kg	3,54	81,87	18,13
Extracto 200 mg/kg	3,65	84,1	15,9
Extracto 300 mg/kg	3,78	87,1	12,9

Anexo 12

Tabla5. Valores descriptivos del efecto hipoglucemiante.

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Control Fisiológico	5	2,4000	,27129	,12133	2,0631	2,7369	2,08	2,73
Insulina 50%	5	4,3362	,31336	,14014	3,9471	4,7253	4,04	4,72
Formina 150mg/kg	3	3,2220	,08429	,04866	3,0126	3,4314	3,14	3,43
Glibenclamida 7.5 mg/kg	5	2,5332	,17504	,07828	2,3159	2,7505	2,27	2,75
Formina + Glibenclamida	4	2,4413	,06547	,03273	2,3371	2,5454	2,37	2,54
100 mg/kg	3	3,5433	,23820	,13752	2,9516	4,1350	3,27	4,13
200 mg/kg	3	3,6473	,16660	,09619	3,2335	4,0612	3,46	4,06
300mg/kg	5	3,7816	,13828	,06184	3,6099	3,9533	3,65	3,95
Total	33	3,2199	,74784	,13018	2,9548	3,4851	2,08	4,13

Anexo 13

Tabla 6. Análisis de varianza del efecto hipoglucemiante.

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	16,814	7	2,402	55,486	,000
Intra-grupos	1,082	25	,043		
Total	17,897	32			

SI: Sig. <0.05: Por lo menos uno de los tratamientos es diferente al resto.

Anexo 14

Tabla 7. Prueba de Tukey de los promedios del efecto hipoglucemiante.

HSD de Tukey

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Suero Fisiologico	5	2,4000			
Metformina + Glibenclamida	4	2,4413			
Glibenclamida 7.5 mg/kg	5	2,5332			
Metformina 150mg/kg	3		3,2220		
EH 100 mg/kg	3		3,5433	3,5433	
EH 200 mg/kg	3		3,6473	3,6473	
EH 300 mg/kg	5			3,7816	
Glucosa50%	5				4,3362
Sig.		,984	,126	,746	1,000

Se muestran las medidas para los grupos .en los subconjuntos homogéneos.

Anexo 15
Tabla 8. Matriz de consistencia

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCO TEORICO	HIPOTESIS	VARIABLES	METODOLOGIA
Actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de <i>Gentianaella thyrsoides</i> (Hook) Fabris "apallanchaca" en ratas albinas Holtzman. Ayacucho - 2012	¿Tendrá actividad hipoglucemiante el extracto hidroalcohólico de <i>Gentianaella thyrsoides</i> (Hook) Fabris "apallanchaca" en ratas albinas Holtzman. Ayacucho 2012?	<p>Objetivos general:</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de <i>Gentianaella thyrsoides</i> (Hook) Fabris "apallanchaca" en ratas albinas Holtzman. <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> Realizar el screening fitoquímico de <i>Gentianaella thyrsoides</i> (Hook) Fabris "apallanchaca". Determinar la concentración óptima efectiva del extracto hidroalcohólico de la planta <i>Gentianaella thyrsoides</i> (Hook) Fabris "apallanchaca", como hipoglucemiante. Comparar la acción hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de la planta <i>Gentianaella thyrsoides</i> (Hook) Fabris "apallanchaca", con el estándar de metformina y glibenclamida. 	<p>Descripción <i>Gentianaella thyrsoides</i> (Hook) Fabris</p> <p>La familia <i>Gentianeaceae</i> consta de unos 75 géneros y cerca de 1000 especies, distribuidas en muchas zonas. Las especies de <i>Gentianaella</i> también se encuentran a una altura mayor de 3000 msnm. Hierba perenne conocida en varias localidades en el norte y centro del país, en las cuencas del Mantaro, Marañón y Santa</p> <p>Propiedades y usos medicinales</p> <p>Como era de esperar por la quimiotaxonomía, se han aislado principalmente xantonas y en menor extensión flavonoides. Algunos de los extractos y xantonas aisladas han sido sometidas a en sayos de actividad hipoglucemiante, antimicrobiana y antioxidante.</p> <p>Diabetes Mellitus</p> <p>Desorden metabólico caracterizado por la presencia de hiperglucemia crónica que se acompaña, en mayor o menor medida, de modificaciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, las proteínas y los lípidos.</p> <p>Tratamiento Farmacológico Insulina:</p> <p>La insulina es un polipéptido de 51 aminoácidos sintetizado en las células beta-pancreáticas, se almacena en los gránulos formando cristales en los que están unidos dos átomos de zinc con seis moléculas de insulina.</p> <p>Biguanidas:</p> <p>Son compuestos derivados de la guanidina. Este grupo de fármacos no tiene efectos sobre la secreción de insulina, por lo que el riesgo de hipoglucemia se ve muy reducido. Pero las biguanidas no pueden considerarse agentes hipoglucemiantes de forma estricta, ya que solo disminuyen la glucemia en los pacientes diabéticos.</p>	<p>El extracto a diferentes concentraciones de <i>Gentianaella thyrsoides</i> (Hook) Fabris "apallanchaca" tiene actividad hipoglucemiante.</p>	<p>Variable independiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> Extracto hidroalcohólico de <i>Gentianaella thyrsoides</i> (Hook) Fabris "apallanchaca". <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> Dosis de 100 mg/Kg, 200 mg/kg y 300mg/kg de extracto hidroalcohólico de <i>Gentianaella thyrsoides</i> (Hook) Fabris "apallanchaca". <p>Variable dependiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> Actividad hipoglucemiante. <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> Niveles de glucosa (mg/dl). 	<p>Tipo de Investigación:</p> <p>Aplicada - Experimental.</p> <p>Diseño metodológico</p> <p>Muestra: Conformado por 5 kg de <i>Gentianaella thyrsoides</i> (Hook) Fabris "apallanchaca", que fueron recolectadas aleatoriamente durante el mes de setiembre del 2012.</p> <p>Procedimiento Experimental</p> <p>300 mg de muestra seca y pulverizada se macerará en 1200 ml de alcohol al 97 %, se deja en un frasco color ámbar durante siete días a temperatura ambiente. Se concentrará y el filtrado a sequedad en un Rotavapor BUCHI 3000 para la eliminación del solvente.</p> <p>Diseño experimental</p> <p>Se utilizará el diseño de tipo experimental.</p> <p>Análisis estadístico</p> <p>Los resultados de la variación de la glucosa versus tiempo, se calculó en Área Bajo la Curva (ABC), por el método de trapecio utilizando el software SIMFIT, versión 5.6.25. Las diferencias entre las curvas de cada tratamiento se contrastarían mediante el Análisis de Varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey utilizando el software SPSS.</p>

Actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca” en ratas albinas Holtzman Ayacucho-2012.

Fujita Qori Urpi, Huamancusi Sarmiento¹ Johnny Aldo, Tinco Jayo¹

¹Farmacia y Bioquímica: UNSCH

RESUMEN

La diabetes mellitus es una compleja enfermedad metabólica por un estado de hiperglucemia en los niveles sanguíneos, elevados por encima de los límites fisiológicos normales acompañadas de otros síntomas. La diabetes es un serio problema de salud pública y causa de mortalidad temprana debida a sus graves complicaciones. El presente trabajo de investigación, se realizó con el objetivo de determinar el efecto hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca”, en muestras recolectadas de la localidad San Antonio, región de Ancash, provincia de Huaraz a 3100 m.s.n.m.

Los metabolitos secundarios se determinaron mediante reacciones de coloración y precipitación; el efecto hipoglucemiante fue determinado en ratas Holtzman, distribuidos en 8 grupos de 5 unidades experimentales cada uno. Tras 12 horas de ayuna previo al tratamiento, se determinó los niveles basales de glucosa sanguínea, luego de media hora al grupo I se le administró agua destilada, grupo II glucosa al 50 %, grupo III metformina 150 mg/kg, grupo IV glibenclamida 7,5 mg/kg, los grupos V, VI, y VII; 100 mg/kg, 200 mg/kg y 300 mg/kg del extracto respectivamente y el grupo VIII la combinación de glibenclamida 7,5 mg/kg y metformina 150 mg/kg. Los niveles de glucosa sanguínea se determinaron utilizando el glucómetro de la marca ACCU-CHECK, los resultados obtenidos fueron interpretados mediante el análisis del área bajo la curva, análisis de varianza y prueba de Tukey.

El extracto presentó flavonoides, taninos, fenoles, catequinas, saponinas, lactonas y/o cumarinas, cardenolidos. Encontrándose que la dosis de 100 mg/kg extracto hidroalcohólico *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca”, posee efecto hipoglucemiante con un porcentaje de eficacia de 18,13 % respecto al grupo control de glucosa, seguido por la dosis de 200 mg/kg con 15,9 %; y el de menor efecto la dosis de 300 mg/kg con 12,9 % de eficacia, sin embargo se demostró que la combinación de los estándares de glibenclamida 7,5 mg/kg más metformina 150 mg/kg mostró mayor nivel de eficacia hipoglucémica con 43,78 %.

Se concluye que la administración oral del extracto hidroalcohólico *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca”, posee efecto hipoglucemiante en ratas Holtzman.

Palabras clave: Efecto hipoglucemiante, extracto hidroalcohólico *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris.

SUMMARY

Diabetes mellitus is a complex metabolic disease by hyperglycemia in blood levels, elevated above normal physiological limits accompanied by other symptoms. Diabetes is a serious public health problem and causes early death due to serious complications. The present research work was carried out with the objective of determining the hypoglycaemic effect of the hydroalcoholic extract *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca” in it that was run with the samples collected from the town San Antonio, Ancash region, province Huaraz to 3100 m.

Secondary metabolites were determined by staining reactions and precipitation was induced hyperglycemia with 50% glucose in “rat” Holtzman, divided into eight experimental groups of five units each. Group I was given distilled water, group II 50 % glucose, group III metformin 150 mg/kg, group IV glibenclamide 7,5 mg/kg, groups V, VI, and VII, 100 mg/kg, 200 mg/kg and 300 mg/kg of the extract, respectively, and the group VIII combining glyburide 7,5 mg/kg and metformin 150 mg/kg. Blood glucose levels were determined using the brand glucometer ACCU-CHECK, the results were interpreted by calculating the percentage of hypoglycemic efficiency, analysis of the area under the curve, ANOVA and Tukey's test.

The present extract flavonoids, tannins, phenols, catechins, saponins, lactones and coumarins, cardenolides. Dose of 100 mg/kg hydroalcoholic extract possesses hypoglycemic effect with a percentage of 18,13 % efficacy compared to the control group of glucose, followed by a dose of 200 mg/kg with 15,9 % and the lowest effect dose of 300 mg/kg with 12,9 % efficiency, however it was demonstrated that the combination of standards glyburide 7,5 mg/kg and metformin 150 mg/kg showed higher level of hypoglycemic with 43,78 % efficiency.

Key words: Effect hypoglycemic hydroalcoholic extract *Gentianella thyrsoidea* (Hook).

INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus, es una enfermedad, en la cual existe mayor glucosa en la sangre, esto debido a que el cuerpo es incapaz de convertir la glucosa en energía, como lo haría normalmente. En la mayoría de los casos, esto se debe a que el páncreas no produce suficiente insulina o existe una resistencia a la función de la insulina en el organismo.¹

En el año 2000, se estimó que el número de personas que sufrían de diabetes en el continente americano era de 35 millones, de las cuales 19 millones vivían en América Latina y el Caribe. Las proyecciones indican que en el 2025 este número se incrementará a 64 millones de los cuales 62 % vivirán en América Latina y el Caribe que representa un aproximado de 40 millones.² En el Perú, la prevalencia de diabetes es del 1 al 8 % de la población general, siendo Piura y Lima como los departamentos más afectados (2,5 %). Se menciona que en la actualidad la Diabetes Mellitus afecta a más de un millón de peruanos y menos de la mitad han sido diagnosticados.³

La gran diversidad de especies vegetales que existe en el planeta ha permitido que desde hace mucho tiempo varias civilizaciones hayan usado las plantas para tratar o aliviar algunas enfermedades. Este uso de las plantas con fines medicinales viene desde tiempos remotos y el uso de diversas especies es tan diverso como sitios ha habitado el hombre.⁴ Conocemos que antes de la llegada de los españoles al Perú, el uso de plantas con virtudes terapéuticas era muy común para tratar todo tipo de dolencias que aquejaban a la población. En los lugares donde todavía se realizan sus prácticas médicas de manera rutinaria, sus habitantes se resisten a perder este sistema médico local y conservar a través de él, su identidad cultural.⁵

Por lo tanto, la presente investigación estuvo orientado a evaluar experimentalmente la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris "apallanchaca" en "ratas" albinas Holtzman, comparado con un patrón de referencia. Para lo cual se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General

• Conocer la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris "apallanchaca" en "ratas" albinas Holtzman.

Objetivo Específico

• Determinar el screening fitoquímico de *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris "apallanchaca".

• Evaluar la concentración óptima efectiva del extracto hidroalcohólico de la planta *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris "apallanchaca" en "ratas" albinas Holtzman, como hipoglucemiante.

• Comparar la acción hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de la planta *Gentianella thyrsoides*

(Hook) Fabris "apallanchaca", con el estándar de metformina y glibenclamida.

MATERIAL Y MÉTODOS

Ubicación de la zona de estudio

El presente trabajo de investigación se desarrolló en la ciudad de Huamanga durante los meses de setiembre a noviembre del 2012.

Población y muestra

Población: *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris "apallanchaca", de la localidad de San Antonio de la región de Ancash provincia de Huaraz a 3100 m.s.n.m.

Muestra: Conformado por 5 kg de *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris "apallanchaca", que fueron recolectadas aleatoriamente durante el mes de setiembre del 2012.

Animales de experimentación

Se utilizaron treinta "ratas" Holtzman del mismo sexo, con peso entre 150 - 200 g. que se adquirieron del Bioterio del Instituto Nacional de Salud de la ciudad de Lima - Chorrillos, con una semana de anticipación a las condiciones de laboratorio con alimento balanceado y agua.

Diseño metodológico para la recolección de datos

Recolección, identificación y selección de la muestra

La muestra fue recolectada y transportada en bolsas a los Laboratorios del Área de Farmacia, donde se seleccionó las hojas y fueron secadas a medio ambiente durante siete días. Una parte de la planta con hojas y flor fue llevada al Laboratorio de Botánica de la UNSCH para la identificación taxonómica.

Preparación del extracto hidroalcohólico

300 mg de muestra seca y pulverizada fue macerado en 1200 ml de alcohol al 97 %, se dejó en un frasco color ámbar durante siete días a temperatura ambiente. Se filtró el concentrado y el filtrado se concentró a sequedad en un Rotavapor BUCHI 3000 para la eliminación del solvente.

Tamizaje fitoquímico

La identificación cualitativa de los principales grupos de metabolitos secundarios, se realizó con las reacciones de coloración y precipitación.⁶

Determinación de la hiperglucemia

Fundamento: Se utilizó el modelo para la hiperglucemia glucosa al 50 %, induciendo un incremento de la glicemia.^{7 8}

Procedimiento experimental

Los animales fueron aclimatados en jaulas metálicas con libre acceso a agua y alimento estándar. La temperatura ambiental fue constante (21 °C) y 50 - 60 % de humedad con un ciclo de 12 horas luz y oscuridad. Después de 12 horas de ayuno se preparó ocho grupos experimentales, distribuidos al azar:

Grupo I: Control; solución salina fisiológica, con 5 animales (n=5)

Grupo II: Solución de glucosa al 50 % a razón de 2 gramos de glucosa/kg de peso, con 5 animales (n=5).

Grupo III: Solución de glucosa al 50 % a razón de 2 gramos de glucosa/kg de peso e inmediatamente metformina 150 mg/kg de peso, con 5 animales (n=5).

Grupo IV: Solución de glucosa al 50 % a razón de 2 gramos de glucosa/kg de peso e inmediatamente glibenclamida 7,5 mg/kg, con 5 animales (n=5).

Grupo V: Solución de glucosa al 50 % a razón de 2 gramos de glucosa/kg de peso e inmediatamente 100 mg/kg de extracto hidroalcohólico *Gentianaella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca”, con 5 animales (n=5).

Grupo VI: Solución de glucosa al 50 % a razón de 2 gramos de glucosa/kg de peso e inmediatamente 200 mg/kg de extracto hidroalcohólico *Gentianaella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca”, con 5 animales (n=5).

Grupo VII: Solución de glucosa al 50 % a razón de 2 gramos de glucosa/kg de peso e inmediatamente 300 mg/kg de extracto hidroalcohólico *Gentianaella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca”, con 5 animales (n=5).

Grupo VIII: Solución de glucosa al 50 % a razón de 2 gramos de glucosa/kg de peso e inmediatamente metformina 150 mg/kg de peso y glibenclamida 7,5 mg/kg, con 5 animales (n=5).

Las muestras de sangre se obtuvieron de la vena caudal en el extremo distal de la cola del animal, mediante un corte suficientemente amplio como para obtener un volumen adecuado (1 gota) para cubrir por completo la zona de prueba de la tira reactiva, a intervalos de 30 minutos después de la carga de glucosa. La glucosa se determinó por el método de la glucosa oxidasa con tiras reactivas de un glucómetro de la marca ACCU – CHECK, se calculó el área bajo la curva de tolerancia y el valor medio de la glucosa que puede ser sometido a pruebas estadísticas.²²

Análisis estadístico

Los datos se expresaron en forma de medias, desviación estándar, y fueron representados en forma de tablas, figuras en forma de curvas histogramas.

Asimismo, con los resultados de la variación de la glucosa versus tiempo, se calculó en Área Bajo la Curva (ABC), por el método de trapecio utilizando el software SIMFIT, Simulationfitting, Statistic and Plotting versión 5,6,25.

Las diferencias entre las curvas de cada tratamiento se contrastarían mediante el Análisis de Varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey utilizando el software SPSS.

RESULTADOS

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes del extracto hidroalcohólico de *Gentianaella thyrsoidea* (Hook) Fabris “apallanchaca”

Metabolitos secundarios	Ensayo	Resultados	Observación
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico	+++	Verde intenso
Flavonoides	Shinoda	+++	Rojo
Esteroides y/o terpenos	Lieberman	+	Verde claro
Saponinas	Espuma	++	Espuma
Resinas	Resinas	+++	Verde oscuro
Lactonas y/o cumarinas	Bajet	++	Rojo
Aminoácidos (aminas)	Ninhidrina	+++	Rojizo

LEYENDA: (+++) Abundante (++) Moderado (+) Leve

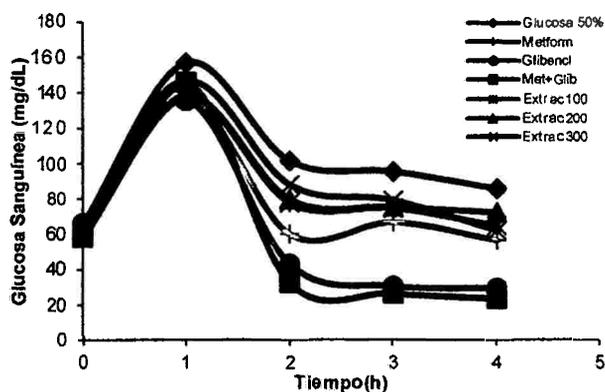
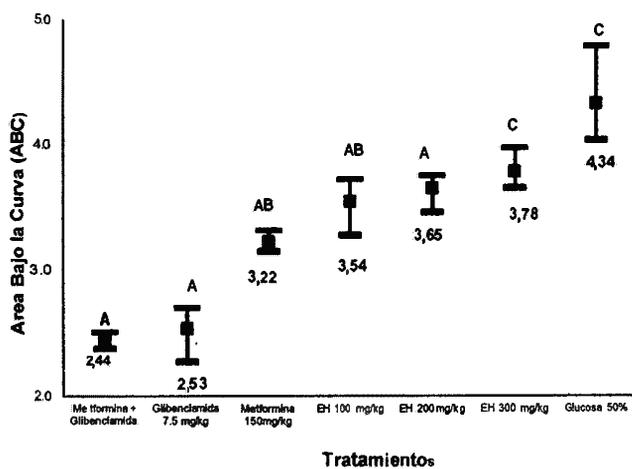


Figura 1. Variación de los niveles de glucosa sanguínea en función del tiempo.



ANOVA: p < 0,05:

Figura 2. Área Bajo la Curva según tratamientos.

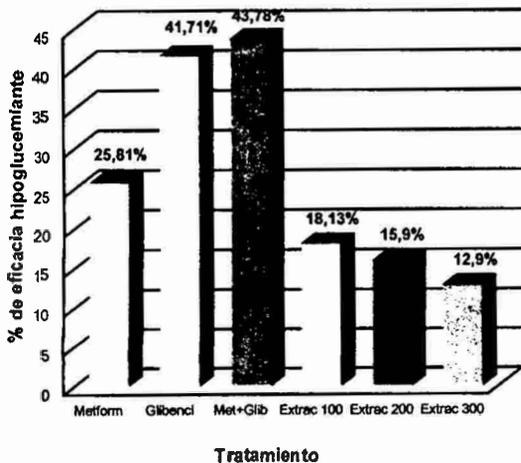


Figura 3. Porcentaje de actividad hipoglucemiante según tratamientos.

DISCUSIÓN

La gran diversidad de especies vegetales que existe en el planeta ha permitido que desde hace mucho tiempo varias civilizaciones hayan usado las plantas para tratar o aliviar algunas enfermedades. Este uso de las plantas con fines medicinales viene desde tiempos remotos y el uso de diversas especies es tan diverso como sitios ha habitado el hombre.⁴

Hasta ahora el campo de investigación sobre la medicina tradicional ha sido abordado principalmente por la antropología, pero cada vez mayor número de disciplinas científicas se incorporan para enriquecer el rescate y la revalorización de este patrimonio cultural que ha contribuido sustancialmente a la conservación de la salud humana, al igual que al desarrollo del conocimiento médico autóctono y de sus recursos. Las necesidades actuales de salud en el mundo y la crisis económica de muchos países como el nuestro, hacen indispensables un estudio más profundo de los recursos médicos disponibles.⁹

Los metabolitos secundarios evaluados en el extracto hidrohacohólico de la planta *Gentianella thyrsoides* (Hook) Fabris "apallanchaca" dan como resultado la presencia de fenoles y/o taninos, lactonas y/o cumarinas, terpenos y/o esteroides, flavonoides, saponinas, aminoácidos libres y catequinas.

La reducción del nivel de la glicemia en la presente investigación, se explica por presencia de compuestos fenólicos y flavonoides.¹⁰

Coinciden con las investigaciones reportadas en las otras plantas utilizadas empíricamente por su efecto hipoglucemiante, dentro de estos metabolitos podemos señalar como los posibles responsables del efecto hipoglucemiante a los triterpenoides, flavonoides, taninos, catequinas sustancias fenólicas y alcaloides las cuales coinciden con las descritas por Caceres.¹¹

Podemos decir que todos los grupos de "ratas" Holtzman, presentan un promedio de concentración de glucosa basal en sangre de 80,2 mg/dl, este primer dato sirvió para demostrar que los animales adquiridos en el instituto Nacional de Salud son ratas normoglucémicos aptos para el trabajo de investigación que se ejecutó. Los valores promedio en condiciones basales de los animales se asemejan a los de los humanos con valores entre 60 - 115 mg/dl.

La glucosa es una sustancia necesaria en el metabolismo y es el estímulo principal de la secreción regulada de insulina en el organismo, el mismo que estimula el transporte de glucosa a través de las glucoproteínas que son las transportadoras hacia los músculos y tejidos. Un desbalance en la producción de insulina deviene en una hiperglicemia, conduciendo a una alteración en el metabolismo de los lípidos, carbohidratos y proteínas y un mayor riesgo de complicaciones por enfermedades vasculares.

Grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales, se caracteriza por hiperglicemia crónica, propiciando alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, grasas y proteínas, que puede favorecer la aparición de complicaciones agudas (cetoacidosis, hiperosmolaridad) y crónicas (micro y macroangiopatía: ocular, renal, nerviosa, dermatológica, cardiovascular).¹²

Existen muchos métodos para la determinación de glucosa, hoy en día el sistema ACCU CHEK Active es parte de una nueva generación de medidores de glucemia, donde las tiras reactivas son tratadas con productos químicos tales como la glucosa oxidasa, deshidrogenasa o hexoquinasa. Estos productos químicos reaccionan con la glucosa presente en la sangre produciendo una corriente eléctrica que lleva los resultados al monitor.

Para el análisis de glucosa del presente trabajo de investigación se utilizó el Glucómetro ACCU CHEK Active donde las tiras reactivas poseen seis electrodos de oro que realizan chequeos de temperatura y humedad ambiental para un mejor control ofreciendo ventajas, la medición se realizó cinco segundos, codificación automática por chip, un mínima muestra (solo 0,6 ul) y amplia pantalla para fácil lectura.¹³

En la Figura 3, se observa la variación de los niveles de glucosa sanguínea de los diferentes tratamientos en función al tiempo.

El grupo blanco (administrado con solución salina fisiológica 1,0 ml/kg de peso) presentó una variación entre 60 mg/dl de glucosa sanguínea durante los tiempos de tratamiento, permitió determinar que los niveles basales de glucosa se mantienen durante el tiempo de tratamiento de los grupos experimentales.

En el grupo control (administrado con glucosa a 2 g/kg de peso), se observó un aumento de los niveles de glucosa sanguínea durante la primera hora (137 mg/dl), que luego desciende llegando a los niveles basales en cuatro horas (56,7 mg/dl), esta respuesta es debido a que las "ratas" normoglicémicas liberan insulina en respuesta al aumento de los niveles de glucosa sanguínea. La glucosa ingresa a las células beta a través del transportador de glucosa GLUT 2, donde la glucosa pasa a la glucólisis y el ciclo respiratorio produciendo por oxidación varias moléculas de ATP de alta energía. Los canales de potasio (K^+) dependiente de los niveles de ATP y por tanto, de los niveles de glucosa en sangre, se cierran y la membrana celular se despolariza, con ello los canales de calcio (Ca^{2+}) dependiente del voltaje se abren y el calcio ingresa a la célula, un aumento intracelular de ello produce la activación de Fosfolipasa C, que desdobla los fosfolípidos de la membrana fosfatidil inositol 4, 5-bisfosfato en inositol 1,4,5-trifosfato (IP3) y diacilglicerol. El IP3, se une a los receptores proteicos sobre la membrana del retículo endoplásmico (RE), esto permite la liberación de calcio del RE a través de los canales IP3 aumentando más aún la concentración intracelular de calcio, estas cantidades significativamente mayores de calcio dentro de las células provocan la liberación de insulina presintetizada y almacenada en las vesículas secretoras.¹⁴

En la Figura 2, se observa que el grupo estándar (administrado con metformina 150 mg/kg, glibenclamida 7,5 mg/kg y metformina 150 mg/kg más glibenclamida 7,5 mg/kg de peso), se evaluó el Área Bajo la Curva con la finalidad de comparar el nivel de eficacia hipoglucemiante de las diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca". Según se observa en la Figura 3, con metformina 150 mg/kg de peso, los niveles de glucosa sanguínea tiende al descenso desde el nivel basal determinado (60 mg/dl), hasta el tiempo final de tratamiento (56,7 mg/dl), con un nivel de eficacia hipoglucémica de 25,81 %, siendo este valor similar a lo obtenido por León (2011)¹⁵ en el trabajo de investigación de la actividad hipoglucemiante del extracto de las hojas de Frutipan (*Artocarpus altilis*) en "ratas" *Rattus norvegicus* con hiperglucemia inducida, con una disminución de la glucemia a 70,5 mg/dl en función a la misma dosis administrada. El descenso de los niveles de glucosa sanguínea se debe a que la metformina clorhidrato es un agente antihiperглиcémico que mejora la tolerancia de la glucosa en los pacientes con diabetes tipo 2, disminuyendo la glucosa plasmática tanto basal como postprandial. metformina clorhidrato disminuye la producción de glucosa hepática, disminuye la absorción intestinal de glucosa, y

mejora la sensibilidad a la insulina al aumentar la captación periférica y utilización de la glucosa.¹⁶ Según se observa en la Figura 5, con glibenclamida 7,5 mg/kg de peso, los niveles de glucosa sanguínea tiende al descenso desde el nivel basal determinado (66,4 mg/dl), hasta el tiempo final de tratamiento (29,6 mg/dl), con un nivel de eficacia hipoglucémica de 41,71 %, siendo valores distintos al de Carrasco (2012),¹⁷ en el trabajo de investigación comprobación del efecto hipoglucemiante del extracto del fruto de la tuna *Opuntia ficus-indica*, en "ratones" *Mus musculus* con hiperglucemia inducida, con una disminución de la glucemia basal determinado (174 mg/dl), hasta el tiempo final de tratamiento (144,33 mg/dl), debido a la concentración administrada glibenclamida en relación de (0,0028 g/ml), dando una interacción específica y de alta afinidad con los receptores de la membrana de las células beta pancreáticas, como consecuencia de esta interacción, se cierran los canales de K^+ , provocando la despolarización de la célula beta pancreática 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.¹⁸

El tercer estándar utilizado fue con metformina 150 mg/kg más glibenclamida 7,5 mg/kg de peso, los niveles de glucosa sanguínea tiende al descenso desde el nivel basal determinado (58,5 mg/dl), hasta el tiempo final de tratamiento (23,5 mg/dl), con un nivel de eficacia hipoglucémica de 43,78 %, obteniendo el mejor resultado de los estándares evaluados, debido a que la combinación de estos fármacos disminuyen la glucogenólisis (liberación hepática) y neoglucogénesis (formación de glucosa a partir de otros sustratos como aminoácidos y glicerol). Éstos son los del grupo de las biguanidas, aumentan la sensibilidad a la insulina en el tejido periférico, principalmente en músculo. Además, la metformina tiene efectos favorables sobre los lípidos, con reducción de los triglicéridos, LDL y colesterol total.¹⁹

Las diferentes dosis (100 mg/kg; 200 mg/kg y 300 mg/kg de peso) del extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca", administrados presentan efectos hipoglicemiantes moderados, con niveles de eficacia de 18,13 %; 15,9 % y 12,9 %, respectivamente (Figura 3).

El mecanismo de acción por el cual ciertas especies vegetales disminuyen la glucosa sanguínea, puede ser atribuido a los siguientes factores: aumento de la liberación de insulina a través de la estimulación de las células β -pancreáticas, resistencia a las hormonas que aumentan el nivel de glucosa, aumento de la sensibilidad de los receptores de insulina, disminución de gluconeogénesis, aumento del consumo de glucosa en tejidos y órganos,

eliminación de radicales libres, resistencia a la peroxidación de los lípidos, corrección del desorden metabólico causado en lípidos y proteínas.²⁰

Estudios similares efectuados por Salazar²¹ en el trabajo de investigación "Contribución al Estudio Químico y Farmacológico de la *Gentianella umbellata* (G. Don) Fabris", encontró que el extracto de diclorometánico produce la máxima reducción de la glicemia a las 5 horas de la administración en un 24,2 % y aún mantiene su actividad a las 24 horas en un porcentaje menor (19,3 %). El extracto metanólico produce su máxima actividad a las 5 horas reduciendo la glicemia en 38,3 %, esta actividad a las 24 horas se reduce en 20,6 %.²² Otros estudios con *Gentianella thyrsoidea* reportaron una reducción de 25,4 % a las 5 horas y 21,8 % a las 24 horas con el extracto diclorometánico y de 51,4 % a 39,9 % con el extracto metanólico respectivamente; por lo que la *Gentianella thyrsoidea* tendría un mejor perfil hipoglucemiante; aunque los resultados no son concluyentes.⁴⁵ Pues esta relativa actividad hipoglucémica se justificaría por cuanto el extracto hidroalcohólico de *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca" contiene flavonoides y xantonas de efecto hipoglucemiante.

El análisis de varianza, es una prueba estadística para analizar si más de dos grupos son diferentes significativamente entre sí en cuanto a sus medias y varianzas. El nivel de significancia es una probabilidad de equivocarse que fija de manera prioritaria el investigador. El nivel de significancia de 0,05; el cual implica que el investigador tiene 95 % de seguridad para generalizar sin equivocarse y solo 5 % en contra. En términos de probabilidad, 0,95 y 0,05, respectivamente ambos suman la unidad.²³

En base a lo anterior se determinó la diferencia que existe entre los grupos de tratamiento obteniéndose una diferencia significativa ($p < 0,05$).

En el Figura 3 se confirma que el extracto hidroalcohólico de la planta *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca" en el modelo experimental la mayor disminución de la glicemia fue a menor concentración del extracto.

Se demostró que el extracto hidroalcohólico de la planta *Gentianella thyrsoidea* (Hook) Fabris "apallanchaca" en "ratas" albinas Holtzman posee actividad hipoglucemiante en las condiciones experimentales y podría ser considerada como un producto natural de utilidad como coadyuvante en los tratamientos de pacientes que presentan intolerancia a la glucosa y diabetes mellitus.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Balkan B, Steffens A, Bruggink J, Strubbe J. Hyperinsulinemia and glucose tolerance in obese raton food intake and route of administration: PubMed [internet]. 1991. [acceso 03 de marzo del

2013]. Disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1943735>

2. Barceló A, Orellana P, Ramírez M, Gil E, Gregg E, Meiners M, Valdez R, Pérez E, Cafiero E. Encuesta de diabetes, hipertensión y factores de riesgo de enfermedades crónicas [revista en internet] 2006. [acceso 20 de marzo del 2013]. Disponible en:

http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=16148&Itemid=

3. Charlton Fernando, Níñez Chavez, Tapia Zegarra, Untiveros Mayorga. Complicaciones tardías en diabetes mellitus tipo 2 en el Hospital II Essalud. Cafete. Rev. Cubana PlantMed. 2004; 64-69. Disponible en:

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1018130X2004000200002&script=sci_abstract

4. Yesid Bernal H, García Martínez H, Quevedo Sanchez G. Estrategia Nacional para la Conservación de Plantas. 1ra edición. Colombia: Ediprint Ltda. ; 2011.

5. Córdova Rengifo J. Uso y utilización de plantas medicinales en Universidades de Lima. [Tesis de pregrado], Perú. Pontificia Universidad Católica del Perú; 2009. Disponible en: <http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/handle/123456789/1077>.

6. Miranda M. Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y productos naturales. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad la Habana. Ciudad Habana – Cuba; 2000.

7. CYTED, Manual de Técnicas de Investigación. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Sub programa. química Fina Farmacéutica; 1995.

8. Kurada M, Mimaki Y, Kitahara M. Hypoglycemic effects of Turmeric (*curcuma longa* L. Rhizomes) on Genetical Diabetic KK-Ay mice. Pharmaceutical Society of Japan. Biol. Pharn. Bull; 2005.

9. Flores J. Compendio de la farmacología humana. España: Editorial Masson; 1998.

10. Asgary S, Naderi Gh, Sarrafzadegan N, Ghassemi N, Boshtam M, Rafie M, Arefian A. Anti-oxidante effect of flavonoids on hemoglobin glycosylation. Pharmaceutica Acta Helvetiae; 1999.

11. Cíceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. 1ra edición. Guatemala: Editorial universitaria; 1995.

12. Guyton A. And Hall. Tratado de fisiología médica. 13 ed. México: Editorial Mac Gra. Gill; 2001.

13. Roche Diagnostics. Ali rights reserved Products Roche ACCU-CHEK and ACCU-CHEK Active is trademarks of Roche. Made in U.S.A. [revista en internet] 2006. [acceso 10 de enero del 2013]. Disponible en: www.accu-chek.com.co/productos/manuales/prod_accuactive.pdf.

14. Kumar V, Cotrán S, Robbins S. Patología Humana. Séptima ed. España: Editorial Elsevier; 2005.
15. León Encalada J. Efecto hipoglucemiante del extracto de las hojas de Frutipan (*Artocarpus altilis*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con hiperglucemia inducida. [Tesis de pregrado]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2011. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1594/1/56T00282.pdf>.
16. Diagnopharm. Glibenclamida y Metformina. . [revista en internet] 2008. [acceso 10 de enero del 2013]. Disponible en: <http://diagnopharm.com>.
17. Carrasco Parra N. Comprobación del efecto hipoglucemiante del Extracto del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) en Ratones (*Mus musculus*) con hiperglucemia inducida. [Tesis de pregrado]. Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2011. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2019>.
18. Villavicencio M. Mecanismos moleculares y bioquímicos de la acción de la insulina. La diabetes mellitus y los avances en su tratamiento. Primera ed. Perú: Editorial Buenaventura; 1995.
19. Prado A, Calvo C, Herradac, M, López M, Tezanose R. Tratamiento Farmacológico de la Diabetes Mellitus; 2002. Disponible en: <http://www.doymafarma.com>.
20. Negri G. Diabetes mellitus: plantas e principios ativos naturais hipoglicemiantes. Revista Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. Universidade Federal de São Paulo. São Paulo – Brasil; 2005.
21. Salazar Díaz J. Contribución al Estudio Químico y Farmacológico de la *Gentianella umbellata* (g. Don) Fabris. [Tesis de pregrado]. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2003. Disponible en: http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/549/SALAZAR_JUAN_CONTRIBUCION_AL_ESTUDIO.pdf?sequence=1.
22. Tomas G. Estudio Químico y Farmacológico de la *Gentianella thyrsoidea* Hooker Fabris. [Tesis de pregrado]. Perú. Pontificia Universidad Católica del Perú; 2000. Disponible en: http://biblat.unam.mx/detalle_bib.php?tipobus=disciplinas&revista=Bolet%EDn+de+la+Sociedad+Qu%EDmica+del+Per%FA&iddisciplina=&articulos=536
23. Hernández R, Fernández C, Bautista P. Metodología de la Investigación. Cuarta Ed. México: Editorial McGraw-Hill; 2006.