

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA



**Efecto hipoglicemiante de una tableta elaborada a
base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana*
en ratas albinas. Ayacucho - 2013**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICA**

Presentado por:
YANCE RONDINEL, Mercedes.

AYACUCHO - PERÚ
2014

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Bach. Mercedes YANCE RONDINEL

R.D. N° 095-2014-FBC-D

En la ciudad de Ayacucho siendo las 4:15 de la tarde del día viernes 22 de Agosto de 2014, en el auditorio del Departamento académico de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga se reunieron los miembros del jurado Evaluador presidido por el Blgo. Pedro Antonio Vila Quintanilla encargado mediante Memorando N° 361-2014-UNSCHE-FCB, así como miembro del Jurado Evaluador, y como miembros del jurado calificador la Blga. Edna León Palomino y el Q.F. Hugo Roberto Luna Molero, y actuando como Secretario Docente encargado el Q.F. Hugo Roberto Luna Molero, con la finalidad de recepcionar el acta de Sustentación de Tesis Titulada "Efecto hipoglicemiante de una tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* en ratas albinas". Ayacucho – 2013 presentada por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica Srta. Mercedes Yance Rondinel, quien pretende optar el Título profesional de Química Farmacéutica.

Constatada la documentación, el presidente (e) invita a los miembros del jurado para que puedan realizar sus preguntas, y así como realizar las aclaraciones necesarias, dando respuesta a ello la Sustentante.

Concluido con este proceso, se invita a la Sustentante como al público asistente para que abandonen el auditorio, con la finalidad de efectuar la calificación por parte de los miembros del Jurado Evaluador en estricto privado, obteniéndose los siguientes resultados.

Jurado Evaluador	Exposición	Respuestas	Promedio
Blgo. Pedro Antonio Vila Quintanilla	17.0	17.0	17.0
Blga. Edna León Palomino	18.0	14.0	16.0
Q.F. Hugo Roberto Luna Molero	17.0	17.0	17.0
		Promedio	17.0

A continuación, se invita a la sustentante y al público asistente a ingresar al auditorio con la finalidad de que se le dé a conocer los resultados de la evaluación, de la calificación efectuada por los miembros del Jurado Evaluador se tiene una nota de Diecisiete (17.0).

El acto de sustentación, culminó siendo las 6:10 p.m. de día 22 de Agosto de 2014, firmando al pie de la presente los miembros del Jurado Evaluador en señal de conformidad.



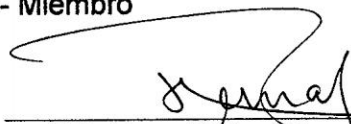
Blgo. Pedro Antonio Vila Quintanilla

Presidente (e) - Miembro



Blga. Edna León Palomino

Miembro



Q.F. Hugo Roberto Luna Molero

Miembro – Secretario (e)

DEDICATORIA: Con todo amor a Alberto y Mercedes quienes estuvieron conmigo en cada paso que doy, dándome fortaleza para continuar haciendo todo en la vida para que pueda lograr mis sueños, a mis hermanos Edú y Caroline por ser mi motivación.

AGRADECIMIENTO

Mi especial agradecimiento a la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por darme la oportunidad de estudiar y ser profesional.

Al Mg. Marco Rolando Aronés Jara, Profesor Asociado adscrito al Departamento Académico de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; por su colaboración y exigencia en la realización del presente trabajo.

A los Docentes de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga porque todos han aportado con mi formación, y en especial al Q.F Juan Paniagua Segovia, por su enseñanza y apoyo en la realización del presente trabajo.

Al Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica por facilitarme sus ambientes para la realización del presente trabajo.

ÍNDICE

	Página
CARÁTULA	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	viii
I. INTRODUCCIÓN	01
II. MARCO TEÓRICO	03
2.1 Antecedentes	03
2.2 Bases Teóricas	04
2.2.1 <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	04
2.2.2 Diabetes mellitus	10
2.2.3 Glicemia	13
2.2.4 Glibenclamida	14
2.2.5 Comprimidos	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS	24
3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN	24
3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA	24
3.3 METODOLOGÍA Y RECOLECCIÓN DE DATOS	25
3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL	35
3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	35
IV. RESULTADOS	36
V. DISCUSIÓN	44
VI. CONCLUSIONES	50
VII. RECOMENDACIONES	51
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXOS	55

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 01: Excipientes de una tableta hipoglucemiante elaborada a base del extracto atomizado de la <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	30
Tabla 02: Aleatorización de las ratas en distintos grupos de tratamiento.	33
Tabla 03: Parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de las hojas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni. Ayacucho – 2014	37
Tabla 04: Metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de la <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni. Ayacucho – 2014	38
Tabla 05: Formulación de una tableta hipoglucemiante elaborada a base del extracto atomizado de la <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni. Ayacucho – 2014	39
Tabla 06: Controles realizados a la tableta hipoglucemiante elaborada a base del extracto atomizado de la <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni. Ayacucho – 2014	40
Tabla 07: Valoración por HPLC de los niveles de esteviósido presentes en cada tableta de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni. Ayacucho – 2014	41
Tabla 08: Prueba de Duncan ($p < 0,05$) del área bajo la curva de niveles plasmáticos de glucosa de los distintos tratamientos. Ayacucho – 2014	43

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 01: Área bajo la curva por el método de los trapecios	34
Figura 02: Variación de los niveles medios de glucosa de los tratamientos en función del tiempo. Ayacucho – 2014	42

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Tabla 09: Valores descriptivos de los niveles de glucosa en función del tiempo. Ayacucho – 2014	56
Tabla 10: Valores descriptivos del área bajo la curva de niveles plasmáticos de glucosa de los distintos tratamientos.	57
Tabla 11: Análisis de varianza del área bajo la curva de niveles plasmáticos de glucosa de los distintos tratamientos.	58
Tabla 12: Valores descriptivos del tamaño, peso y desintegración de la tableta elaborada a base del extracto atomizado de la <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	59
Figura 03: Cromatograma del estándar de esteviósido.	60
Figura 04: Cromatograma de la muestra de tableta elaborada a base del extracto atomizado de la <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	61
Figura 05: Clasificación taxonómica de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	62
Figura 06: Fotografía de la hojas desecadas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	63
Figura 07: Fotografía del molino de cuchillas del Centro de Desarrollo Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos	64
Figura 08: Fotografía de las hojas reducidas de tamaño <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	65
Figura 09: Fotografía de los equipos de Extracción del Centro de Desarrollo Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos	66
Figura 10: Fotografía del atomizador Spray Driver B290 del Centro de Desarrollo Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos	67
Figura 11: Fotografía del extracto atomizado de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	68
Figura 12: Fotografía de la identificación de los metabolitos secundarios de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	69
Figura 13: Fotografía de la determinación del contenido de humedad y ceniza del extracto atomizado de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	70
Figura 14: Fotografía de la tableteadora monopunzona y comprimidos elaborados a base del extracto atomizado de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	71
Figura 15: Fotografía de la valoración de los niveles de esteviósido por HPLC	72
Figura 16: Fotografía de los controles realizados a la tableta hipoglucemiante elaborada a base del extracto atomizado de la <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni.	73
Figura 17: Fotografía de la evaluación de la actividad hipoglucemiante	74
Tabla 13: Matriz de consistencia	75

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar el efecto hipoglicemiante de una tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Se desarrolló en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. El tipo de investigación fue experimental. Se evaluaron los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado, así mismo se formularon y elaboraron las tabletas. Finalmente se valoraron los niveles de esteviósido y se determinaron el efecto hipoglicemiante utilizando el método del test de tolerancia oral a la glucosa. El extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni presenta características organolépticas como: color beige, olor característico, sabor dulce y un aspecto de polvo fino homogéneo. Características fisicoquímicas como: humedad 3,57 %, cenizas totales 4,66 % y compuestos químicos como: alcaloides, flavonoides, fenoles, taninos, triterpenos y esteroides. La fórmula final de la tableta contiene los siguientes excipientes: celulosa microcristalina PH-101, carboximetil celulosa sódica, dióxido de silicio y estearato de magnesio, cumpliendo con los estándares permitidos. Se determinó los niveles de esteviósido en la tableta empleando la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), obteniéndose un 2,33% y 4,77 mg de esteviósido por tableta. Se determinaron las áreas bajo la curva de los niveles de glicemia en función del tiempo y al realizar la comparación de las medias utilizando la prueba de Duncan, las tabletas de *Stevia rebaudiana* Bertoni estadísticamente tienen el mismo comportamiento con el grupo tratado con insulina y glibenclamida. En conclusión las tabletas de *Stevia rebaudiana* Bertoni tienen efecto hipoglicemiantes en ratas albinas.

Palabras clave: tabletas, extracto atomizado, *Stevia rebaudiana* Bertoni, efecto hipoglicemiante, glicemia.

I. INTRODUCCIÓN

La *Stevia* es un género de planta con poder edulcorante, la cual es utilizada como un producto alternativo al azúcar y a los endulzantes artificiales. Es un pequeño arbusto originario de la flora sudamericana que se criaba espontáneamente en el hábitat semiárido de las laderas montañosas de Paraguay y en las zonas adyacentes de Brasil.⁽¹⁾

Esta planta tiene efectos beneficiosos en la absorción de la grasa y la presión arterial. Contiene carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales, por lo que hoy en día, en países como Japón abarca el 41% de los edulcorantes consumidos. El sabor dulce de la planta se debe a un glucósido llamado esteviósido, además de otros compuestos como glucosa y rebaudiósido.⁽¹⁾

Según la FDA, la *Stevia* en su forma natural es 15 veces más dulce que el azúcar de mesa (sucrosa) y el extracto es de 100 a 300 veces más dulce que la sucrosa. Algo importante de recalcar es que se ha descubierto que no afecta los niveles de azúcar sanguíneo, por el contrario, se ha podido encontrar que posee propiedades hipo glucémicas, las cuales mejoran la tolerancia a la glucosa. Por este motivo se recomienda su uso a pacientes diabéticos.⁽²⁾

La diabetes mellitus es un problema de salud pública importante que afecta a gran parte de la población mundial y nacional. En las Américas se tiene un número de personas con diabetes mellitus de 35 millones para el año 2000, de

40 millones el año 2005 y se espera que alcanzará a los 63 millones para el año 2025. ⁽³⁾

Las investigaciones sobre el estudio de plantas medicinales son reconocidas y de gran importancia para la Organización Mundial de la Salud. Considerando los estudios químicos y farmacológicos realizados en nuestro país y el extranjero sobre esta planta, se ha encontrado reiteradas evidencias de su acción hipoglucemiante, para lo cual se elaboró una tableta a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni y se evaluó el efecto hipoglicemiante utilizando el método del test de tolerancia oral a la glucosa según Arroyo 2012.

Planteándose los siguientes objetivos:

Objetivo general:

- Conocer el efecto hipoglicemiante de una tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni.

Objetivos específicos:

1. Evaluar las características fisicoquímicas del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni.
2. Formular una tableta hipoglicemiante elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni.
3. Valorar los niveles de esteviósido en la tableta empleando Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).
4. Evaluar el efecto hipoglicemiante empleando el método de hiperglicemia inducida con glucosa.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES:

Numerosas investigaciones del departamento de endocrinología y metabolismo de la Universidad Aarhus de Dinamarca han determinado que “la *Stevia* actúa directamente sobre el páncreas, restaurando sus células para que estas produzcan su propia insulina”. Esto se debe al potencial antihiper glucémico que posee esta planta sobre los pacientes que padecen diabetes tipo 2. ⁽⁴⁾

Otros estudios realizados sobre el uso de la *Stevia* han demostrado cualidades de su consumo en personas obesas con problemas de diabetes. Este estudio se basó en el análisis de las curvas de tolerancia a la sobrecarga de glucosa postprandial fue mejor en aquellos que habían sido tratados previamente con 130-140 mg de extracto de hierba dulce (*Stevia*), que en aquellos que habían recibido 280-300 mg del hipoglucemiante de síntesis glibenclamida. El porcentaje de descenso fue en promedio del 35% respecto a los niveles basales al cabo de 6-8 horas. El efecto hipoglucemiante como el incremento en la tolerancia a la glucosa también se evidenció en las personas euglucémicas, durante y después de la toma de un extracto acuoso elaborado con 5 g de hojas de *Stevia*. ⁽⁵⁾

En el laboratorio del Instituto de Gastroenterología Boliviano Japonés se realizó una investigación de la actividad hipoglucemiante de la *Stevia rebaudiana* en pacientes con diabetes Mellitus tipo 2, determinando que tanto la glibenclámina como la *Stevia*, son considerados hipoglucemiantes. A dosis de 1.0 gramo por día de las hojas molidas de *Stevia* disminuyen la glicemia hasta valores próximos al límite superior de los valores de referencia, es decir, logran disminuir la glicemia por encima de 110 mg/dl. ⁽³⁾

En el departamento de Endocrinología, Metabolismo y Bioquímica Clínica, en el Laboratorio de Diagnóstico Molecular del Hospital Universitario de Aarhus en Dinamarca, se realizó un estudio para determinar el efecto antihiper glucémico y antihipertensivo del esteviósido de la *Stevia rebaudiana* en ratas diabéticas. Concluyendo que el tratamiento oral a largo plazo con esteviósido tiene efecto Antihiper glucémico y así mismo reduce la presión arterial en las ratas. ⁽⁶⁾

En el departamento de Endocrinología, Metabolismo y Bioquímica Clínica, en el Laboratorio de Diagnóstico Molecular del Hospital Universitario de Aarhus en Dinamarca, se realizó un estudio para determinar el efecto antihiper glucémico del esteviósido en pacientes diabéticos de tipo II. Concluyendo que el esteviósido reduce los niveles postprandiales de glucosa en sangre en pacientes diabéticos de tipo II, lo que indica los efectos beneficiosos sobre el metabolismo de la glucosa. ⁽⁷⁾

2.2 BASES TEÓRICAS:

2.2.1 *Stevia rebaudiana* Bertoni.

La *Stevia rebaudiana* Bertoni conocida también como Kaa Hee, hoja dulce del Paraguay, hoja del caramelo, hierba de la miel, dulce hierba, etc. es un pequeño arbusto nativo del norte de Paraguay y de las zonas adyacentes al Brasil. Las

hojas de la planta han sido utilizadas por la tribu de indios Guaraní desde los tiempos precolombinos para endulzar los alimentos, sin embargo no fue sino hasta 1887 que el científico americano Anthony Bertoni la descubrió. ⁽³⁾

Es un arbusto perenne, perteneciente a la familia de las compuestas, caracterizada por presentar una altura de 30-80 cm; tallo color pardo; hojas sésiles ovoidales con bordes aserrados, las terminales agrupadas en número de 3 ó 4; y flores pequeñas terminales, blanquecinas, hermafroditas, de corola tubular. La raíz es pivotante, siendo su tamaño equivalente a un cuarto de la planta. ⁽³⁾

La *Stevia* se cultiva a temperaturas entre los 20 y 25 °C, crece entre los 500 y 1600 m.s.n.m., su hábitat es en zonas con mucha luz solar pero poco caliente. ⁽³⁾

Tiene un componente de gran poder edulcorante en sus hojas. Esteviósido y rebaudiósido, estos compuestos son 400 veces más dulces que la sacarosa, contiene además carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales, tiene bajas calorías. Se le atribuyen diversas propiedades como antiácida, antibacteriana, laxante osmótico de acción suave, hipotensor, etc. la principal propiedad de investigación del presente trabajo es que no afecta los niveles de azúcar sanguíneo, por el contrario, estudios han demostrado su propiedades hipoglicémicas, mejora la tolerancia a la glucosa y es por eso que es recomendado para los pacientes diabéticos Es un edulcorante no calórico, por lo que forma parte de dietas reducidas en azúcar y/o calorías. ⁽³⁾

2.2.1.1 Clasificación taxonómica.

Según la constancia emitida por la Blga. Laura Aucasime Medina del Herbarium "Huamangensis" de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNSCH, la clasificación es como sigue:

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA

CLASE : MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE : ASTERIDAE

ORDEN : ASTERALES

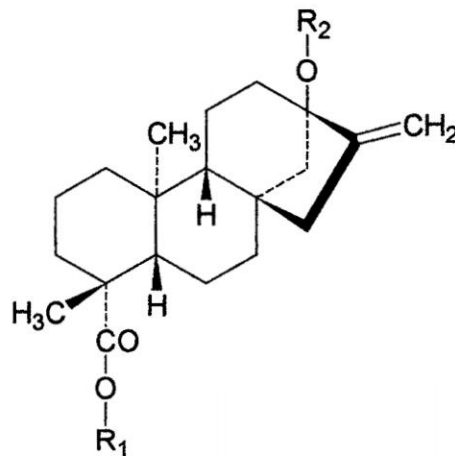
FAMILIA : ASTERACEAE

GÉNERO : *Stevia*

ESPECIE : ***Stevia rebaudiana* Bertoni.**

N. V. : Estevia, caá heé, kaa hee, yerba dulce.

2.2.1.2 Características químicas del esteviósido



- Fórmula: $C_{38}H_{60}O_{18}$
- Peso molecular = 804 g/mol
- Los cristales en estado de pureza funden a 238° C.
- Se mantiene su sabor estable a altas y bajas temperaturas.
- No fermenta.
- Es soluble en agua, alcohol etílico y metílico.
- Diversos análisis de laboratorio han demostrado que la *Stevia* es extraordinariamente rica en: hierro, manganeso y cobalto.

- No contiene cafeína.
- La Stevia tiene bajas calorías y tiene efectos beneficiosos en la absorción de la grasa y la presión arterial. Contiene carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales. ⁽³⁾

2.2.1.3 Mecanismo de acción de la *Stevia rebaudiana*.

El mecanismo por el cual la *Stevia rebaudiana* logra que la glucosa baje en la sangre sigue siendo desconocido. Un estudio conducido en el Departamento de Endocrinología y Metabolismo, del Hospital de la Universidad de Aarhus, Dinamarca, encontró que el esteviósido realza la secreción de la insulina en los islotes pancreáticos del ratón en la presencia de la glucosa. El esteviósido estimula la secreción de la insulina vía una acción directa en las células beta pancreática. Los resultados indican que los compuestos pueden tener un papel potencial como agente hipoglicemiante en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. ⁽³⁾

La especialista en Endocrinología, Nutrición y Diabetes, Nilsa Noemi Ibarrola Arce explica lo siguiente: " A diferencia de los hipoglicemiantes convencionales, mejora la circulación pancreática, en especial la de los islotes y como consecuencia hay secreción de insulina. El uso continuado de *Stevia rebaudiana* Bertoni en infusiones, es decir consumo regular, disminuye la absorción de hidratos de carbono a nivel intestinal, actuando de este modo como adelgazante, alivia también los dolores reumáticos. Habiendo tratado a cientos de pacientes diabéticos, conseguía mediante el uso regular de la *Stevia rebaudiana* Bertoni liberar de la insulina a la insulina dependiente. ⁽⁵⁾

Tanake y Mitsuhashi de la Universidad de Hiroshima, Japón, citados por Peña. Investigaron los detalles de los glucósidos aislados de varias especies. Además

del esteviósido, principal glicérido (6 - 8%) fueron identificados en la planta otros glucósidos diterpenos como el rebaudiósido A, B, D, E (2,3%) con grado de dulzor mayor que el esteviósido puro, alcanzando hasta 350 veces superior al azúcar de caña (Sacarosa). Luego fue identificado el dulcósido A, B con grados de dulzor de hasta 50 veces mayor que el azúcar. De esta manera puede verse que el producto industrial extraído de la Stevia es en realidad una combinación de varios glucósidos, cuyas cantidades varían en función a las variedades y de las localidades. Los cuatro glucósidos principales del steviol son: esteviósido, rebaudiósido A, rebaudiósido C y dulcósido A. ⁽³⁾

Dos de los otros glucósidos que pueden estar presentes en tejido fino de planta son el rebaudiósido D y E; el rebaudiósido B. Las proporciones normales de los cuatro glucósidos principales son: esteviósido 5-10%, rebaudiósido A 2-4%, rebaudiósido C 1- 2% y dulcósido A 0,5-1%. Se extienden en dulzor a partir del 40 250 veces a más dulce que el azúcar. Un número de genotipos del Stevia con proporciones anómalas del glucósido se han divulgado en la literatura científica y de la patente coreana y japonesa. ⁽³⁾

Se ha sabido de largo que el rebaudiósido A tiene las mejores características sensoriales (más dulces, lo menos amargas posible) de los cuatro glucósidos.

Sus principios activos son: Heterósidos diterpénicos: esteviósidos (6%), dulcósidos, rebaudiósidos A, B, C, D y E. Saponósidos. Aceite esencial: alcohol bencílico, alfa bergamoteno, beta-burboneno, alfa y gamma-cadineno, calacoreno, clameneno, carvacrol, cosmosiina. Flavonoides: quercetósido, apigenol, austroinulina. ⁽³⁾

2.2.1.4 Aspectos farmacológicos de la *Stevia rebaudiana*.

Presenta efectos farmacológicos como: laxante osmótico de acción suave, ligeramente hipoglucemiante e hipotensor, antibacteriano. Se indica como sucedáneo del azúcar para diabéticos. ⁽³⁾

Otras aplicaciones tradicionales (sobre todo en América Latina) incluyen las siguientes: contrarresta la fatiga, facilita la digestión y las funciones gastrointestinales, regula los niveles de glucosa en la sangre, nutre el hígado, el páncreas y el bazo. ⁽³⁾

En aplicaciones externas se usa para el tratamiento de la piel con manchas y granos (con este fin podemos encontrarla en Europa). También alivia las “hambres falsas” y ayuda a promover la sensación de bienestar. ⁽³⁾

Estudios muestran actividades antibióticas, especialmente contra las bacterias *E. coli*, *Estafilococos áureos*, y *Corynebacterium difteria*, así como también contra el hongo *Cándida albicans* productor frecuente de vaginitis en la mujer. Así mismo no afecta los niveles de azúcar sanguíneo, por el contrario, estudios han demostrado sus propiedades hipoglicemiantes, mejora la tolerancia a la glucosa y es por eso que es recomendado para los pacientes diabéticos. ⁽³⁾

2.2.1.5 Otras características

La *Stevia rebaudiana* se absorben muy bien por vía oral. Puede usarse en infusión y beberse como cualquier té o bien utilizar el preparado para endulzar otras bebidas o alimentos. El extracto obtenido de la *Stevia* es usado como edulcorante de mesa y como aditivo para endulzar diversos tipos de preparados tales como bebidas, gaseosas, confituras, repostería, salsas, pickles, productos medicinales, de higiene bucal, gomas de mascar y golosinas. ⁽³⁾

Se puede encontrar en varias formas: Como un líquido denso de color oscuro y que es el resultado de hervir las hojas en agua, en esta forma se potencian los sabores de los alimentos a los que la añadamos. Otro tipo de líquido es el obtenido a través del macerado de las hojas en agua destilada o en una mezcla de licor alcohólico (apto para el consumo humano) y agua. Una tercera forma de presentación es un líquido obtenido desde el esteviósido disuelto en agua. Todos ellos son métodos totalmente naturales. ⁽³⁾

Reacciones Adversas

No se reportan efectos secundarios de ninguna clase, como efectos mutagénicas u otros efectos que dañen la salud. ⁽³⁾

Aplicaciones Terapéuticas

Se utiliza exclusivamente en la diabetes mellitus tipo 2. La *Stevia* es importante para la gente que desea perder peso, no sólo porque les ayudará a disminuir la ingesta de calorías, sino porque reduce los antojos o la necesidad de estar comiendo dulces. A la *Stevia rebaudiana* también se le confieren propiedades para el control de la presión arterial, ya que tiene efecto vasodilatador, diurético y cardiotónico. ⁽³⁾

2.2.2 Diabetes mellitus

La diabetes mellitus es un grupo de alteraciones metabólicas que se caracteriza por elevados niveles de glucosa en sangre secundaria por una alteración absoluta o relativa de la secreción de insulina y/o por una alteración de la acción de la hormona en los tejidos insulino dependiente. La hiperglicemia crónica se acompaña de modificaciones del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas. ⁽³⁾

Los síntomas más característicos que suelen presentar los pacientes son polidipsia, a polifagia, poliuria y visión borrosa teniendo además una mayor predisposición padecer infecciones bacterianas, en cualquier caso los efectos más graves se producen cuando aparece el síndrome hiperosmolar. Una diabetes mal controlada puede ocasionar a largo plazo daños vasculares que veremos de forma más amplia. ⁽³⁾

2.2.2.1 Clasificación

En 1979 el National Diabetes Data Group (NDDG) constituido por un grupo de expertos de la Asociación Americana de Diabetes, clasificó la enfermedad en dos grandes grupos: Diabetes Mellitus tipo 1 o insulino dependiente y Diabetes Mellitus tipo 2 no insulino dependiente, esta clasificación es la que fue aceptada por el comité de expertos en diabetes de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Pero los estudios y el avance en los conocimientos de la enfermedad llevaron al NDDG a volver clasificar la enfermedad pues era confusa, ya que se basaba en el tratamiento de los pacientes y no en la etiología o la clínica de la enfermedad. ⁽³⁾

La clasificación actual es:

- Diabetes tipo 1
- Diabetes tipo 2
- Diabetes gestacional
- Otros tipos

Diabetes Mellitus tipo 2

En la etiología de la Diabetes Mellitus tipo 2 juegan papel primordial dos defectos: La resistencia a la insulina y el déficit en su secreción.

La resistencia a la insulina se presenta cuando las células del hígado, tejido graso y músculos de nuestro cuerpo no pueden utilizar de manera adecuada a la insulina producida por el páncreas. Las células de los tejidos mencionados, tienen ciertos receptores en su superficie, que son los encargados de "abrir" la puerta de la célula para que entre la glucosa y sea utilizada para producir energía o para que sea almacenada en forma de grasa o de glucógeno. Cuando esos receptores no pueden "abrirle" la puerta a la glucosa para que entre, entonces se presenta la resistencia a la insulina, o sea, los tejidos se resisten a la acción de la insulina, no la dejan actuar correctamente. Las células beta continúan respondiendo progresivamente hasta que fallan, falla que parece determinada genéticamente e inician una serie de alteraciones metabólicas representadas inicialmente por hiperglicemia de ayuno (HA) e intolerancia a los hidratos de carbono (IHC), que finalmente llevan al desarrollo de una diabetes manifiesta, la cual puede ser controlada. ⁽³⁾

Los pacientes del tipo 2 se dividen a su vez en dos grupos: Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente obesos en un 90% y Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente no obesos en un 10%. El riesgo de padecer diabetes en el individuo adulto con un índice de masa corporal superior a 30 kg/m² es cinco veces superior a cuando este índice es inferior a 25 kg/m² ya que la obesidad es una causa de resistencia a la insulina, la distribución androgénica de la grasa corporal parece ser también un factor de riesgo en pacientes no obesos. ⁽³⁾

La enfermedad puede estar sin diagnosticar durante años ya que el paciente no tiene ningún síntoma aunque va aumentando los riesgos de padecer los problemas micro y macro-vasculares. Un diagnóstico precoz de la enfermedad puede ser beneficioso para el paciente ya que suele responder bastante bien

con un cambio de hábitos higiénico dietéticos que evitan la necesidad de tratamiento farmacológico y la rápida evolución de la enfermedad. ⁽³⁾

2.2.3 Glicemia

La glicemia o glucemia es el azúcar (glucosa) contenido en la sangre. ⁽³⁾

2.2.3.1 Hipoglicemia

La hipoglicemia se define como el síndrome clínico que aparece en aquellas situaciones en las que las concentraciones de glucosa en sangre se sitúan por debajo de 50 mg/dl. ⁽³⁾

Esto significa que la cantidad de azúcar en su sangre no es suficiente para darle a las células del cerebro o a los músculos la energía que necesitan para funcionar. En ocasiones pueden aparecer síntomas hipo glicémicos con niveles de glucosa normales, esto ocurre cuando la disminución de los niveles tiene lugar de forma brusca. ⁽³⁾

2.2.3.2 Hipoglicemia severa

Hipoglicemia severa: la que ocasiona coma, convulsiones o alteraciones neurológicas que impiden que el paciente pueda auto tratarse, precisando ayuda de otra persona. ⁽³⁾

2.2.3.3 Hipoglicemia moderada

Hipoglicemia moderada: existe alteración de la función motora, confusión o conducta inadecuada, pero está lo suficientemente alerta para el auto tratamiento. ⁽³⁾

2.2.3.4 Hipoglicemia leve

Hipoglicemia leve: es el propio paciente el que siente necesidad de tomar alimento, sin presentar alteración neurológica. ⁽³⁾

Los signos y síntomas de la hipoglicemia son: visión borrosa, entorpecimiento, confusión, convulsiones (ataques) si el azúcar está demasiado baja, mareos o aturdimiento, desmayos, palpitaciones aceleradas, dolor de cabeza, hambre, mal genio, náuseas (malestar estomacal), nerviosismo, piel pálida y sudorosa, desvanecimiento (si el azúcar está muy bajo), temblores, sudor, cansancio, debilidad. ⁽³⁾

2.2.3.5 Hiperglicemia: La hiperglicemia es la concentración de glucosa en sangre superior a lo normal asociada frecuentemente a diabetes mellitus. ⁽³⁾

Los signos y síntomas de la hiperglicemia son: polidipsia, poliuria puede empezar a notarse, debilidad, dolor de barriga, fatiga, vómitos, pocas ganas de comer, respiración rápida, por último puede llegar a presentar somnolencia y pérdida del conocimiento.

2.2.4 Glibenclamida

La glibenclamida es un antidiabético oral, es un fármaco que actúa disminuyendo los niveles de glucosa en sangre. La insulina es una hormona y no puede ser administrada por vía oral, porque sería destruida por las mismas enzimas que intervienen en nuestra digestión, siendo reducida a sustancias simples o aminoácidos sin ningún efecto sobre los niveles de glicemia. ⁽⁸⁾

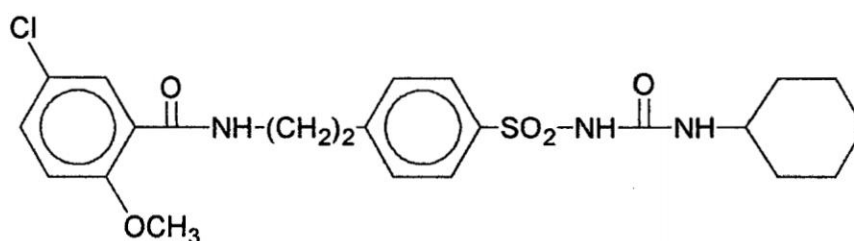
El descubrimiento de los antidiabéticos orales cambió radicalmente el tratamiento de la diabetes mellitus a partir de los estudios de Janbon y Col. en 1942, los cuales observaron hipoglicemia en un paciente con fiebre tifoidea tratado con sulfonamidas. ⁽⁸⁾

Los antidiabéticos orales abarcan cuatro familias de drogas bien definidas: sulfonilureas, biguanidas, inhibidores de la alfa glucosidasas, tiazolidinedionas.

Dentro de las sulfonilureas tenemos a los fármacos de duración corta como: glibenclamida (droga prototipo), tolbutamida, glipizida, gliquidona, gliciclamida. ⁽⁸⁾

2.2.4.1 Características químicas de la glibenclamida

Son derivados de las sulfamidas, en los cuales la estructura sulfoniluria constituye el grupo esencial de la actividad hipoglicemiante. Diversas sustituciones en el anillo bencénico y en el grupo urea han originado compuestos cuya potencia y propiedades farmacocinéticas difieren notablemente. ⁽⁸⁾



2.2.4.2 Mecanismo de acción

El mecanismo de acción de estas drogas comprende efectos pancreáticos y extra pancreáticos. Los primeros incluyen un aumento de la estimulación a las células beta del páncreas para la liberación de insulina, este efecto se produce por un bloqueo de la bomba K-ATPasa lo que se traduce en una despolarización prolongada de la membrana celular, con el consiguiente ingreso del Ca⁺⁺ extracelular provocando la liberación de la insulina de los gránulos secretorios hacia el torrente sanguíneo. ⁽⁸⁾

Los efectos extra pancreáticos comprenden fundamentalmente un aumento de los receptores de insulina en monocitos, eritrocitos y adipocitos; aumentan el efecto de la insulina y el número de transportadores para dicha hormona; producen inhibición de la gluconeogénesis hepática y aumento del consumo de glucosa a nivel periférico. ⁽⁸⁾

Es preciso distinguir entre la acción a corto y largo plazo. A corto plazo las sulfonilureas provocan la liberación de la insulina preformada en las células B del páncreas porque aumentan su sensibilidad a la glucosa. Para ello las sulfonilureas actúan con gran afinidad sobre receptores asociados a los canales de K sensibles a ATP (KATP), fijándose de manera específica a la proteína SUR1 adjunta a dicho canal. A estos receptores puede unirse también la meglitinina, fracción no sulfonilureica de la glibenclamida que estimula igualmente la liberación de insulina. Como consecuencia de esta acción el canal se cierra y la despolarización causada facilita la secreción de insulina. Para ello es preciso que las células B sean funcionantes. Esta acción liberadora es potenciada por otros estímulos, como el de la propia glucosa, si bien es apreciable incluso en células B que han perdido su sensibilidad a la glucosa. Los canales KATP con la proteína SUR1 no son exclusivos de las células B del páncreas sino que se encuentran en otros tejidos y órganos como los vasos sanguíneos, corazón, cerebro, etc. ⁽⁸⁾

La larga tolerancia a la glucosa mejora, pero los niveles plasmáticos de insulina tanto basal como después de glucosa no permanecen altos, sino que pueden ir descendiendo, de ahí que se piensa que la acción de los hipoglucemiantes orales se deba no sólo a la acción secretora de insulina en el páncreas sino también a una mejora o potenciación de la acción de la hormona en los tejidos. De hecho, las sulfonilureas, pueden aumentar la acción hipoglicémica de la insulina exógena incluso en animales pancreatectomizados y facilitar el transporte de hexosas y la síntesis de glucógeno en células aisladas en cultivo. Se piensa que puede deberse a una acción sobre el receptor insulínico o en algún proceso posterior a su activación. ⁽⁸⁾

En algunos sistemas se demostró que los hipoglucemiantes orales aumentaban el número de receptores insulínicos, pero hay células en las que potencian la acción insulínica sin que incrementen el número de receptores. Por eso predomina la idea de que su acción mantenida a nivel pos receptor con lo que aumenta la utilización periférica de glucosa. ⁽⁸⁾

Las sulfonilureas producen además, un marcado descenso en la producción hepática de glucosa de gran importancia en el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2. Por último también parece que reduce a la larga la secreción de glucagón pancreático, pero esto puede ser simplemente el resultado de un mejor funcionamiento de las células B del páncreas. ⁽⁸⁾

2.2.4.3 Efectos farmacológicos

El efecto fundamental es la reducción de los niveles plasmáticos de glucosa. Este descenso en los niveles de glicemia disminuye la glucotoxicidad a la que son tan sensibles las células B del páncreas. El descenso de la glicemia se traduce en la consiguiente mejoría de los síntomas agudos propios de la diabetes. El descenso de la glicemia es proporcional a la potencia variable de un fármaco a otro y a la concentración plasmática del producto pudiendo ocasionar hipoglicemia. ⁽⁸⁾

Es más problemática la eficacia hipoglicemiante de las sulfonilureas a largo plazo, la cual depende en gran parte, del rigor con que se seleccionen los pacientes. Los criterios de selección son los siguientes:

- Edad de comienzo de la diabetes por encima de los 40 años
- Pacientes sin tendencia a la cetosis y
- Pacientes con tendencia a la obesidad o a los que la dieta adecuada no sea suficiente para obtener buenos controles metabólicos

En definitiva la diabetes ha de ser de carácter moderado y responde adecuadamente a las restricciones dietéticas. Sustraerse a estos requisitos de selección implicará la aparición de la diabetes. ⁽⁸⁾

2.2.5 Comprimidos

Se definen como formas farmacéuticas sólidas, de forma discoidea o lenticular, de sustancias medicamentosas solas o mezcladas con otras sustancias que facilitan su preparación, conservación y/o empleo. ⁽⁹⁾

En la actualidad, son la forma de administración de medicamentos más utilizada, generalmente se considera la administración oral de ellos; sin embargo, existen diversos tipos de comprimidos como: sublinguales, pellets, vaginales, solubles, masticables, dispersables, antisépticos, etc. Estos se preparan por los mismos métodos que los comprimidos de uso oral. ⁽¹⁰⁾

Las ventajas que ofrecen los comprimidos son numerosas:

- Pueden llevar una gran dosis de medicamento en un pequeño volumen.
- Permiten enmascarar el sabor de los medicamentos.
- Se obtiene una dosificación uniforme del principio activo.
- El principio activo es más estable bajo esta forma que en solución.
- Bajo costo de fabricación industrial.
- Se pueden administrar medicamentos insolubles en agua.
- Se puede recubrir fácilmente el principio activo para facilitar la administración o con un fin terapéutico local (recubrimiento entérico). ⁽⁹⁾

Un cierto número de sustancias cristalinas pueden comprimirse directamente con excelentes resultados; sin embargo, la mayoría de los principios activos resisten esta comprensión directa y no es posible obtener comprimidos satisfactorios.

Para que estas sustancias puedan dar origen a comprimidos, deben cumplir con tres requisitos:

- Deslizarse o fluir con facilidad (Fluidez).
- Tener propiedades aglutinantes o cohesivas (Compresibilidad).
- No adherirse a los punzones o matrices. ⁽⁹⁾

Las dos primeras condiciones se cumplen si el material se convierte primero en gránulos. La tercera condición se satisface agregando sustancias llamadas lubricantes. ⁽⁹⁾

La granulación de las sustancias a comprimir puede obtenerse por dos métodos: vía húmeda y vía seca. Además, es necesario agregar sustancias que faciliten la compresión o que aseguren la liberación posterior del p.a. desde el comprimido; estas sustancias son llamadas excipientes y pueden clasificarse en 5 tipos según la función que desempeñan. ^(9,10)

Diluyentes: Se incorporan cuando el p.a. está en pequeña cantidad en la formulación y su volumen no alcanza a formar un comprimido de forma satisfactoria. Están destinados a darle volumen al comprimido. Entre los diluyentes más utilizados tenemos: el almidón de maíz y de arroz, sacarosa, lactosa, glucosa, manitol, celulosa, etc. ⁽⁹⁾

Absorbentes: La introducción de estos excipientes en la formulación de un comprimido es indispensable cuando se deben incorporar sustancias líquidas o pastosas, como: esencias, extractos (fluidos, blandos), tinturas. etc., cuando se forman mezclas eutécticas o cuando los principios activos tienden a absorber humedad. Entre los productos absorbentes más empleados en la manufactura de comprimidos tenemos el carbonato de magnesio, fosfato tricálcico, talco, caolín, almidón, etc. ⁽⁹⁾

Aglutinantes: Son sustancias que sirven para que la mezcla conserve su forma granular y a la vez proporcionarle la dureza y solidez necesaria al comprimido, para que durante las manipulaciones posteriores a la compresión no se desintegren.

Los más utilizados son los siguientes: engrudo de almidón en concentraciones que pueden variar entre 5 y 10%; goma arábiga en soluciones al 10 ó 20%; jarabe simple; solución de gelatina al 10 ó 20%; carboximetilcelulosa al 0.5 -1%; polivinilpirrolidona (PVP) solución alcohólica o acuosa al 10 o 20%; avicel (celulosa microcristalina) en polvo para aglutinar en seco.⁽⁹⁾

Desintegrantes: Tienen por objeto romper en el menor tiempo posible la cohesión entre las partículas del comprimido en el estómago, a fin de evitar que una tableta demasiado dura pase como tal a través del tubo digestivo sin liberar su principio activo. El efecto desintegrante puede obtenerse de diversas maneras:

- Acción de gomas o productos hidrocarbonados, que al hincharse con la humedad del medio gastrointestinal producen la ruptura del comprimido.
- Adición de peróxidos que reaccionan con el medio formando oxígeno y rompiendo el comprimido.

El porcentaje de agentes desintegrantes depende de la acción del agente mismo. En general, se recomienda entre 5 y 20% para almidones y gomas; el desintegrante más usual es el almidón de maíz. El almidón que se añade como aglutinante en solución no tiene efecto desintegrante. Otras sustancias muy utilizadas como desintegrantes son: Carboximetilcelulosa, Alginato de sodio, Veegum (silicatos de aluminio y magnesio coloidal), Bentonita (silicato de aluminio hidratado).⁽⁹⁾

Lubricantes: La adición de lubricantes cumple los siguientes objetivos:

- Proporcionar o manejar las propiedades de flujo de los polvos o granulados.
- Facilitar la expulsión de los comprimidos de las matrices.
- Evitar que los comprimidos se adhieran a los punzones.
- Proporcionar a los comprimidos un aspecto brillante, mejorando así su presentación.

El lubricante se mezcla con los gránulos y el resto de la formulación. Las sustancias comúnmente utilizadas con este fin son: talco, estearato de magnesio, ácido esteárico, aceite mineral, carbowax, benzoato de sodio, ácido bórico, etc. ⁽⁹⁾

2.2.5.1 Métodos para la elaboración de un comprimido.

Se distinguen dos vías: el método de granulación por vía húmeda y por vía seca.

^(9,10)

Granulación por vía húmeda

En este método se pueden distinguir varias operaciones:

- Preparación de la solución aglutinante.
- Mezcla de los principios activos y excipientes.
- Humectación de los polvos con la solución
- Granulación propiamente tal, pasando la masa humectada a través de una malla o tamiz.
- Secado del granulado.
- Homogeneización del tamaño del granulado haciéndolo pasar por un tamiz.

- Adición de los lubricantes y desintegrantes.
- Compresión. ⁽¹⁰⁾

Granulación por vía seca

La obtención de comprimidos mediante el proceso de granulación por vía seca, llamado también doble compresión, se aplica cuando alguno de los principios activos de la fórmula se altera en contacto con la humedad o con el calor del secado. En este procedimiento, la mezcla de polvos, a la cual se le ha agregado una parte de los lubricantes, se lleva a una tableteadora, generalmente bastante potente y se comprime a una gran presión a fin de aglutinarlos. Estos comprimidos imperfectos e irregulares en cuanto a peso y tamaño, llamados tabletones, se rompen y se hacen pasar por un tamiz. Se obtiene así un granulado al cual se le agrega el resto de los lubricantes dándoles el tamaño y peso adecuado, de manera definitiva. ⁽¹⁰⁾

2.2.5.2 Controles realizados a un comprimido:

Los controles pueden clasificarse en Oficiales y no Oficiales, de acuerdo a la exigencia que hace de ellos la Farmacopea de los EE.UU. ⁽¹¹⁾

Controles oficiales

Uniformidad de dosificación: Se puede realizar por variación de peso o por uniformidad de contenido. ⁽¹¹⁾

Desintegración: El control del tiempo de desintegración se determina en agua a 37 °C. La prueba se realiza de acuerdo al procedimiento descrito en la USP. Los márgenes de tolerancia aparecen en la monografía de cada producto. ⁽¹¹⁾

Test de disolución: Se realiza según la metodología descrita por la USP para cada producto y está destinado a evaluar la cesión del principio activo. ⁽¹¹⁾

Controles no oficiales

Fuera de los controles indicados en la farmacopea, es conveniente efectuar otros ensayos con el propósito de determinar la resistencia mecánica del comprimido:

Dureza: Se determina con la ayuda de un aparato especial denominado durómetro. Los márgenes de aceptación fluctúan de acuerdo a la formulación estudiada. ⁽¹¹⁾

Friabilidad: Se determina con la ayuda de un instrumento especial denominado friabilómetro. Los márgenes de aceptación fluctúan hasta un 1%.⁽¹¹⁾

III. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el Centro de Desarrollo Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga de la ciudad de Ayacucho, ubicada a 2746 metros sobre el nivel del mar, durante los meses de noviembre del 2013 a mayo del 2014.

3.2 POBLACION Y MUESTRA.

Población muestral: Plantas de *Stevia rebaudiana* Bertoni, del Valle de los Ríos Apurímac, Ene y Mantaro (VRAEM), comunidad de Palestina Baja del Distrito de Kimbiri, Provincia de La Convención, Departamento de Cusco.

Muestra: 5 kg de hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni tomadas al azar y recolectadas durante el mes octubre del 2013, del bosque húmedo tropical de la comunidad de Palestina Baja del Distrito de Kimbiri, Provincia de La Convención, Departamento de Cusco.

3.3 METODOLOGÍA Y RECOLECCIÓN DE DATOS

3.3.1 Materiales, Equipos y Reactivos:

Materiales

Crisoles de porcelana, desecador, matraz de erlenmeyer (250 ml), tubos de ensayo, embudo de vidrio, pipetas, placas de vidrio, placa petri, jeringa de (1 ml, 3 ml, 5 ml y 10 ml), cocinilla eléctrica, varilla de vidrio, fioles, vasos de precipitado (25 ml, 50 ml, 250 ml y 500 ml) y papel de filtro.

Equipos:

Balanza analítica O`Hauus, estufa, baño maría, mufla, molino de martillos, pH meter, termómetro, glucómetro, atomizador, mezcladora, tableteadora monopunzona y Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

Reactivos:

Agua purificada, ácido clorhídrico 1N, hidróxido de sodio, alcohol al 96%, hidróxido de amonio, cloroformo, reactivo de Dragendorff, reactivo de Hager, reactivo de Mayer, reactivo de Wagner, reactivo de Liebermann-Buchard.

Material Biológico

Para el estudio se utilizó 25 ratas albinas de peso entre 200 ± 10 g, obtenidas del Bioterio de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Todos los animales fueron adquiridos en buen estado de salud y acondicionados en jaulas de los Laboratorios de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Los animales fueron obtenidos con una semana de anticipación para su acondicionamiento y mantenidos con alimento balanceado y agua a disposición.

3.3.2 Recolección de muestras:

5 kg de hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni tomadas al azar, recolectadas durante el mes octubre del 2013, de la comunidad de Palestina Baja del Distrito de Kimbiri, Provincia de La Convención, Departamento de Cusco.

3.3.3 Obtención del extracto atomizado de las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni.

Las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni, fueron secadas a temperatura ambiente, en un lugar con buena ventilación, cambiando el papel de soporte cada 24 horas y removiendo el vegetal para evitar su descomposición, por un periodo de 30 días.^(12,13)

Las hojas desecadas de *Stevia rebaudiana* Bertoni fueron reducidas utilizando el molino de cuchillas con malla de 1 cm de diámetro de luz, 1,0 kg de *Stevia* se sometió a lixiviación utilizando 20 litros de solución que se obtiene al disolver ácido cítrico en un porcentaje del 10% a temperatura ambiente. La solución se enfrió en una cámara de refrigeración hasta una temperatura de 2 °C, a continuación se filtró utilizando membranas de 0,1 – 0,2 mm y se concentró por evaporación a temperatura menor a 45 °C, hasta llegar a un 10% de sólidos totales.⁽¹²⁾

Luego la solución concentrada se secó utilizando el Atomizador Spray Driver B290 del CEDACMEF de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, se mezcló antes del proceso de atomización con maltodextrina como vehículo de atomización en una concentración del 10%. Se consideró los siguientes parámetros para su atomización:

- Temperatura de entrada: 170 a 180°C
- Temperatura de salida: 77 a 83°C
- Aspirador: 100%

- Porcentaje de bomba: 15 a 30%
- Flujo de muestra: 3-4 cm³/min.

El producto atomizado fue envasado en un recipiente herméticamente cerrado.

(12)

3.3.4 Evaluación de las características fisicoquímicas del extracto atomizado

Una vez obtenida el extracto, se evaluaron los parámetros fisicoquímicos que definan la calidad de los mismos, que a continuación señalamos:

a) Determinación de las características organolépticas

Color: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj o tubo de ensayo, esta es colocada en un fondo blanco, se observó y se determinó el tipo de color, utilizando el círculo cromático. ^(13,14)

Olor: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj o tubo de ensayo, se percibe y se determina el tipo de olor. Según la estructura estereoquímica correspondiente y olores primarios, se consideraron los siguientes tipos de olores: naftalínico, almizclado, alcanforado, jazmínico, anisado, graso, floral, leñoso y característico. ^(13,14)

Sabor: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, para luego hacer contacto con la lengua y se determinó el tipo de sabor. Se consideraron cinco sabores elementales: dulce, amargo, ácido, salado y umami. ^(13,14)

Aspecto: Se tomó cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, se observó y se determinó el aspecto de la muestra. ^(13,14)

b) Identificación fitoquímica

La identificación de los diferentes compuestos químicos (metabolitos secundarios) del extracto atomizado de la *Stevia rebaudiana* Bertoni, se realizó siguiendo los procedimientos de Miranda M. y Cuellar A. del Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de la Habana - Cuba. ^(14,15)

c) Determinación de la solubilidad

Solubilidad en agua: Verter en un tubo de ensayo 1 ml de agua destilada, luego añadir 1 g de muestra, agitar fuertemente y filtrar, en caso de no disolverse aumentar el disolvente a 10 ml agitar y observar. ^(14,15)

Solubilidad en alcohol: Verter en un tubo de ensayo 1 ml de alcohol etílico, luego añadir 1 g de muestra, agitar fuertemente y filtrar en caso de no disolverse aumentar el disolvente a 10 ml agitar y observar, así sucesivamente para 0,03 l; 0,1 l; 1 l y más de 10 l. ^(14,15)

Solubilidad en cloroformo: Verter en un tubo de ensayo 1 ml de cloroformo, luego añadir 1 g de muestra, agitar fuertemente y filtrar en caso de no disolverse aumentar el disolvente a 10 ml agitar y observar, así sucesivamente para 0,1 l; 1 l y más de 10 l.

d) Determinación de pH

Para determinar el pH se utilizó el pHmetro digital marca Jenway, siguiendo el procedimiento descrito en el manual de uso y las determinaciones se realizaron a 25 °C, previamente calibrado el equipo. (Las determinaciones que presenten variaciones dentro de 0,02 unidades de pH, son aceptables para promedio, con un nivel de 95% de confiabilidad). ^(14,15)

e) Determinación del contenido de humedad

Se pesó 2 g de muestra con desviación permisible de 0,5 mg y se transfirió a una cápsula de porcelana previamente tarada y se desecó a 105 °C durante 3 horas

hasta masa constante. La cápsula se colocó en la desecadora donde se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pesó, colocándose nuevamente en la estufa durante 1 hora, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante. ^(14,15)

Cálculo:

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

Dónde:

%H = Pérdida en peso por desecación (%)

M = Masa de la cápsula vacía (g)

M₁ = Masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

M₂ = Masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g)

100 = factor matemático.

f) Determinación de cenizas totales

Se pesó de 2,0 g de muestra, con una desviación permisible de 0,5 mg en un crisol de porcelana o platino previamente tarado. Se calentó suavemente la muestra de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incineró en una mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, durante 2 horas. Se enfrió el crisol en una desecadora y se pesó, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0,5 mg. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco. ^(14,15)

Cálculo:

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

Dónde:

% C = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M = Masa del crisol vacío (g)

M₁ = Masa del crisol con la porción de ensayos (g)

M_2 = Masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático.

g) Determinación de sustancias solubles

Se pesó exactamente 5 g de la muestra de ensayo y se transfirieron a un erlenmeyer de 250 ml, se añadió 100 ml de disolvente, se tapó y se agitó durante 6 h, dejándose en reposo hasta el día siguiente; se agitó 30 min., se dejó reposar alrededor de media hora más y se filtró por papel. Se tomó una alícuota de 20 ml y se transfirió a una cápsula previamente tarada. Se evaporó sobre baño de agua y se desecó en estufa a 100 °C durante 2,5 - 3 h se enfrió y se pesó.

Cálculo:

$$\% S = \frac{R \cdot 500 \cdot 100}{M \cdot (100 - \% H)}$$

Dónde:

$\% S$ = Sustancias solubles

$\% H$ = Humedad de la muestra

500 y 100 = Factores matemáticos para los cálculos

R = Residuo de la muestra (g)

M = Masa de la muestra (g)

3.3.5 Formulación y elaboración de tabletas de *Stevia rebaudiana* Bertoni

3.3.5.1 Formulación de la tableta:

Tabla 01: Excipientes de una tableta hipoglucemiante elaborada a base del extracto atomizado de la *Stevia rebaudiana* Bertoni.

PRINCIPIO ACTIVO Y EXCIPIENTES	FÓRMULAS	
	TRATAMIENTO	BLANCO
Extracto atomizado de <i>Stevia</i>	X	

Celulosa microcristalina (PH - 101)	x	x
Carboximetilcelulosa sódica	x	x
Dióxido de silicio	x	x
Estearato de magnesio	x	x

3.3.5.2 Método de elaboración de la tableta

Se elaboró con los materiales y equipos del CEDACMEF, de acuerdo al siguiente procedimiento:

- Se tamizó la celulosa microcristalina (PH-101), la carboximetilcelulosa sódica, dióxido de silicio y el extracto atomizado por un tamiz con una malla de 0,4 mm de diámetro.
- Se mezcló en bombo en "V" por 10 minutos.
- Se adiciona el lubricante y se tamizo por tamiz de diámetro 0,4 mm de diámetro.
- Se mezcló nuevamente en bombo "V" por 10 minutos.
- Se realizó la compresión en la tableteadora monopunzona, con un parámetro de 60 golpes por minuto.⁽¹³⁾

Controles

- Tamaño: se midieron el diámetro y altura de las tabletas haciendo uso de un vernier digital.
- Uniformidad de peso: se pesaron 10 tabletas haciendo uso de la balanza analítica.
- Desintegración: la prueba se realizó haciendo uso del equipo de desintegración, de acuerdo al procedimiento descrito por la USP. Se colocó

la tableta en cada una de las canastillas y se controlaron los tiempos de desintegración a una temperatura de 37 °C. ⁽¹³⁾

3.3.6 Valoración de los niveles de esteviósido en la tableta

La metodología analítica empleada es la sugerida por Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (2010). Se utilizó el equipo de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) marca DIONEX ULTIMATE 3000, del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos, equipado con inyección automática, compresor de aire y un detector UV/Vis. La solución estándar se preparó utilizando 50 mg de estándar disolviendo y enrasando con agua-acetonitrilo (7:3) a 50 ml. La solución de muestra se preparó utilizando 50-100 mg de muestra disolviendo y enrasando con agua-acetonitrilo (7:3) a 50 ml. A una longitud de onda de 210 nm se inyectó 5 µl de solución estándar y de muestra, utilizando una columna C18 (longitud: 250 mm; diámetro interior: 4,6 mm y tamaño de partícula: 5 µm) a temperatura de 40°C. Se utilizó una fase móvil de acetonitrilo y buffer de fosfato de sodio 10 mmol/l (pH 2.8) en proporción 32:68, Aplicando un flujo de 1 ml/min. ⁽¹⁶⁾

El porcentaje del esteviósido en la muestra se calcula a partir de la fórmula:

$$\%X = \left(\frac{W_S}{W} \right) \cdot \left(\frac{f_X \cdot A_X}{A_S} \right) \cdot 100$$

Dónde:

$\%X$ = Porcentaje del esteviósido

W_S = Cantidad (mg), calculado sobre la sustancia seca de esteviósido en la solución estándar

W = Cantidad (mg), calculado sobre la sustancia seca de la muestra en la solución de la muestra

A_S = Área del pico del esteviósido de la solución estándar

A_X = Área del pico de X para la solución de muestra; y

f_x = Relación del peso de la fórmula de X para el peso de la fórmula de esteviósido: 1.00 (esteviósido)

3.3.7 Evaluación de la actividad hipoglucemiante

Se utilizó el Test de tolerancia oral a la glucosa, según CYTED 1995 y Arroyo 2012. ^(17,18)

Procedimiento:

- Se utilizó ratas machos cepa Holtzman con un peso promedio (210 ±10g).
- Se aclimataron por dos días en jaulas metálicas con viruta de madera; en condiciones estándares iluminación y temperatura para eliminar el efecto de estrés, con alimentos y agua a libertad.
- Las ratas en tratamiento fueron sometidas a un ayuno 15 horas antes del tratamiento.
- Se pesó, codificó y se realizó una aleatorización las ratas en grupos, teniendo en cuenta el siguiente diseño:

Tabla 02: Aleatorización de las ratas en distintos grupos de tratamiento.

GRUPOS	TRATAMIENTO	DOSIS
1	Suero Fisiológico	2 ml/kg
2	Glucosa	2000 mg/kg
3	Glucosa + Glibenclamida	50 mg/kg
4	Glucosa + Insulina	4 UI/kg
5	Glucosa + Tableta de <i>Stevia</i>	100 mg/ kg

- Se determinó el nivel de glucosa basal en cada uno de los animales para lo cual se tomó la muestra de sangre de la cola con una lanceta, descartando la primera gota, utilizando el glucómetro digital.

- El producto evaluado, la insulina y la glibenclamida se disolvió en agua destilada y se administró inmediatamente después de la glucosa por vía oral, a excepción de la insulina por vía subcutánea.
- El tratamiento se administró por vía oral a los grupos correspondientes. Paralelamente se administró glucosa por vía intraperitoneal en dosis de 200 mg/kg las medidas de la glucosa se hicieron antes de iniciar los tratamiento, 1, 2 y 4 horas después de la administración de glucosa. ^(17,18)

Se graficó los niveles de glucosa a diferentes tiempos y se calculó el área bajo la curva de niveles plasmáticos, utilizando el método de los trapecios.

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

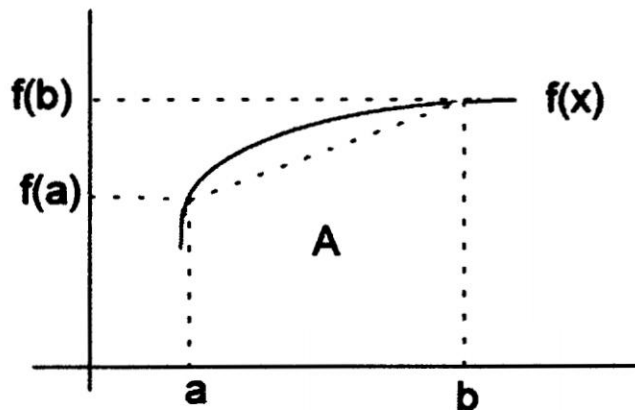


Figura 01: Área bajo la curva por el método de los trapecios.

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

$$A = \frac{1}{2}(f(a) + f(b)) \cdot (b - a)$$

3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

Tipo de Investigación

- Experimental. ⁽¹⁹⁾

Diseño de investigación

Diseño con posprueba únicamente y grupo control. ⁽¹⁹⁾

RG1 **X** **O₁**

RG2 **-** **O₂**

R: Asignación al azar o aleatoria

G: Grupos de sujetos (G1, grupo 1; G2 grupo 2; etc.)

X: Tratamiento, estímulo o condición experimental.

O: Medición experimental.

- : Ausencia de estímulo. Indica grupo control o testigo.

3.5 ANALISIS ESTADISTICO.

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) al 95% de nivel de confianza. La significación estadística entre los grupos se evaluó a través de la prueba Duncan. Para determinar dichas pruebas se utilizó el paquete estadístico SPSS 21.

IV. RESULTADOS

Tabla 03: Características fisicoquímicas del extracto atomizado de las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Ayacucho – 2014

CARACTERÍSTICAS	ENSAYOS	RESULTADOS
Organolépticos	Color	Beige
	Olor	Característico
	Sabor	Dulce
	Aspecto	Polvo fino homogéneo
Solubilidad	Agua	Muy Soluble
	Metanol	Poco Soluble
	Cloroformo	Insoluble
pH	Extracto Atomizado al 5 %	5,70
Humedad	Gravimétrico	3,57%
Cenizas	Gravimétrico	4,66%
Rendimiento		12,5%

Tabla 04: Metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de la *Stevia rebaudiana* Bertoni. Ayacucho – 2014

	ENSAYOS	RESULTADOS	OBSERVACIONES
ALCALOIDES	Dragendorff	++	Turbidez definida
	Mayer	-	No presenta
	Wagner	++	Turbidez definida
FLAVONOIDES	Shinoda	+	Fase amílca coloreada
FENOLES Y/O TANINOS	Cloruro férrico	+++	Coloración azul verdosa
TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	Liebermann- Burchard	+++	Coloración verde oscura

LEYENDA:

- (-) : Ausente
- (+) : Escasa
- (++) : Buena
- (+++): Excelente

Tabla 05: Formulación de una tableta hipoglucemiante elaborada a base del extracto atomizado de la *Stevia rebaudiana* Bertoni. Ayacucho – 2014

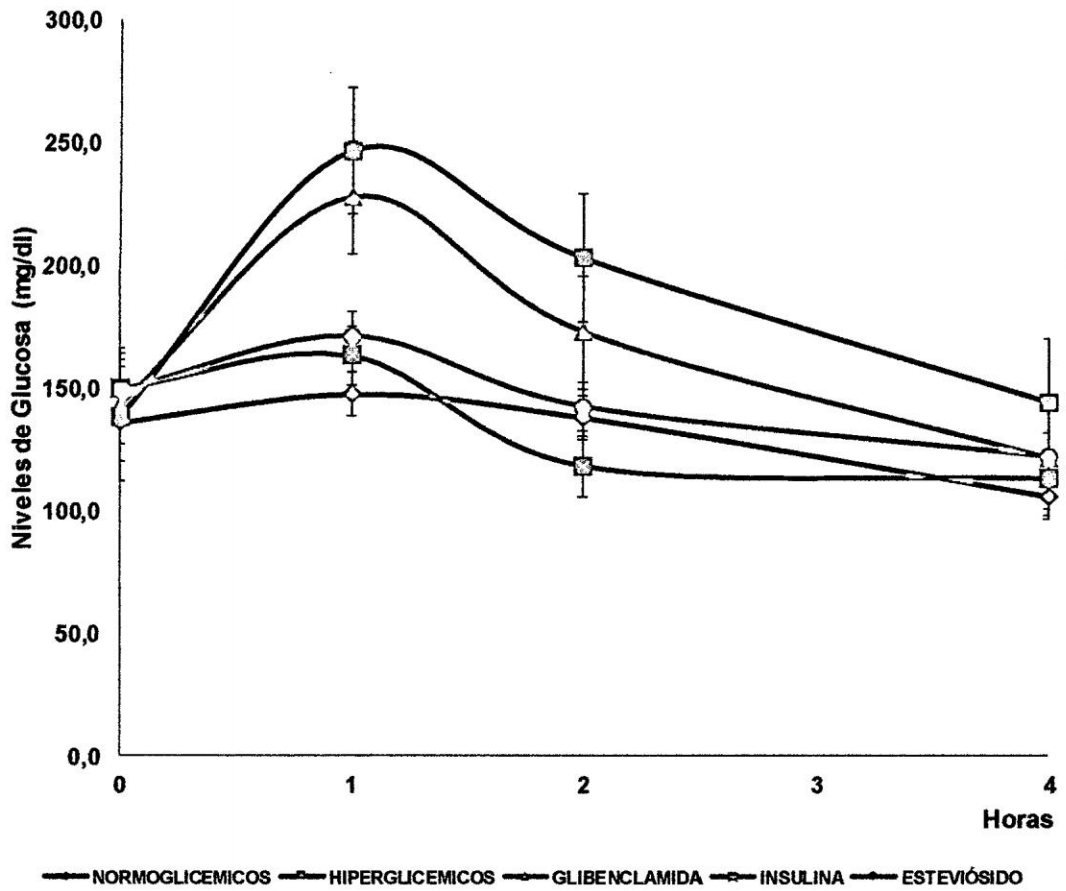
PRINCIPIO ACTIVO Y EXCIPIENTES	Porcentaje (%)
Extracto atomizado de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	48,89
Celulosa microcristalina (PH-101)	48,22
Carboximetil celulosa sódica	1,89
Dióxido de silicio	0,76
Estearato de magnesio	0,24

Tabla 06: Controles realizados a la tableta hipoglucemiante elaborada a base del extracto atomizado de la *Stevia rebaudiana* Bertoni. Ayacucho – 2014

CONTROLES		RESULTADOS
	Diámetro	8,05
Tamaño	Coefficiente de variación	0,000
(milímetros)	Altura	5,46
	Coefficiente de variación	0,001
	Media	205,02
Uniformidad de Peso	Desviación estándar	1,103
(miligramos)	Coefficiente de variación	1,217
	Media	14,97
Prueba de Desintegración	Desviación estándar	0,048
(minutos)		

Tabla 07: Valoración por HPLC de los niveles de esteviósido presentes en cada tableta de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Ayacucho – 2014

	Tiempo de Retención (min)	Área	% Esteviósido	Concentración/ tableta (mg)
Estándar (56,73%)	8,873	16,057		
Muestra	9,040	0,329	2,33	4,77



Fuente: Tabla N° 08

Figura 02: Variación de los niveles medios de glucosa de los tratamientos en función del tiempo. Ayacucho – 2014

Tabla 08: Prueba de Duncan ($p < 0,05$) del área bajo la curva de niveles plasmáticos de glucosa de los distintos tratamientos. Ayacucho – 2014

Grupos	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
Insulina	4	185,8125	
Normoglicémicos	4	193,3750	
<i>Stevia rebaudiana</i>	4	210,6875	
Glibenclamida	4	247,4375	247,4375
Hiperglicémicos	4		286,2500
Sig.		,053	,175

V. DISCUSIÓN

Las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni fueron recolectadas y seleccionadas del Valle de los Ríos Apurímac, Ene y Mantaro (VRAEM), comunidad de Palestina Baja del Distrito de Kimbiri, Provincia de La Convención, Departamento de Cusco. Para la obtención del extracto atomizado se siguió el procedimiento descrito por Razo⁽²⁾. La Tabla 03 muestra un porcentaje de rendimiento de 12,56 %, es decir de 1 kg de hojas se obtiene 125,6 g de extracto atomizado, resultado menor a la obtenida por Razo⁽²⁾. Esta variación podría ser debido al lugar de procedencia de la *Stevia rebaudiana* Bertoni, esta planta se cultiva a temperaturas entre los 20 y 25 °C, crece entre los 500 y 1600 m.s.n.m., su hábitat es en zonas con mucha luz solar pero poco caliente.

Las características fisicoquímicas del extracto atomizado que muestra la Tabla 03, presentan características organolépticas como un olor característico, sabor dulce y de aspecto polvo fino homogéneo, específicos para los extractos atomizados de *Stevia rebaudiana* Bertoni, mientras que el color beige difiere de los obtenidos por Razo⁽²⁾, debido al proceso de ultrafiltración utilizado. El extracto atomizado es muy soluble en agua, poco soluble en metanol y prácticamente insoluble en cloroformo. El pH igual a 5,70 ligeramente ácido, la humedad igual a 3,57 % menor a la obtenida por Razo⁽²⁾, valor que se encuentra dentro de las

especificaciones, pues un exceso de humedad puede provocar crecimiento microbiano o hidrólisis de algunos metabolitos como manifiesta Miranda⁽¹⁴⁾ y Sharapin⁽¹³⁾. Las cenizas totales igual a 4,66 % mayor a la obtenida por Razo⁽³⁾, posiblemente debido a las materias extrañas principalmente suelo y arena que se adhieren a superficie de las hojas.

En la tabla 04 observamos los metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado como: alcaloides, flavonoides, fenoles, taninos, triterpenos y esteroides; corroborados por Bravo⁽²⁰⁾. Demostrándonos que en el proceso de secado por atomización no se pierden los metabolitos secundarios responsables del efecto farmacológico, específicamente los diterpenos, que muchos estudios reportan como el responsable del efecto hipoglicemiante.

Trillo⁽⁹⁾ nos manifiesta que un estudio de formulación debe ir precedido del conocimiento de determinadas propiedades físicas, químicas y biofarmacéuticas del principio activo y la influencia sobre éstas de los excipientes y proceso tecnológico, para conseguir tres cualidades fundamentales del medicamento: estabilidad, seguridad y eficacia. Así mismo González⁽²¹⁾ expresa que la elaboración de un comprimido por el método de la compresión directa presenta algunos inconvenientes potenciales, como tendencia a la dureza elevada y a la adherencia, tiempo de disgregación excesivo y problemas asociados al flujo irregular. En el presente estudio esta situación se agrava debido a la higroscopicidad inherente a los extractos atomizados y a la cantidad de extracto añadida. Las medidas utilizadas para contrarrestar dichos problemas en la elaboración de tabletas a base del extracto atomizado *Stevia rebaudiana* Bertoni fue el empleo de coadyuvantes derivados de la celulosa en el proceso por compresión directa.

Tomando como referencia la fórmula propuesta por González⁽²¹⁾ y después de elaborar varios pilotos y realizándolos los controles respectivos, se llegó a una fórmula final única tal como muestra la Tabla 05, donde podemos observar a la celulosa microcristalina (PH-101) como diluyente que le concede a las tabletas buenas características en la dureza, friabilidad y desintegración, a la carboximetil celulosa sódica que facilita la desintegración o disgregación de la tableta, el dióxido de silicio como deslizantes que reducen la fricción en la etapa de compresión entre las partículas y el estearato de magnesio como antiadherente evitando que la tableta se adhiera a la matriz o a los punzones.

Seguidamente se realizaron controles a fin de garantizar la eficacia y seguridad del medicamento. Como podemos ver en la Tabla 06, las tabletas cumplen con los estándares permitidos al presentar una uniformidad en el diámetro y altura, ya que el rango de variación permitido es de $\pm 5\%$, así mismo estas dimensiones físicas del material junto con las densidades de los excipientes determinarán su peso. Con respecto a la uniformidad de pesos se han pesado 20 tabletas tomadas al azar, obteniendo un promedio de 205,02 mg y una variación de 1,217, cumpliendo con los estándares permitidos ya que la variación permitida es de $\pm 5\%$ según la USP 35⁽²²⁾, así mismo, ningún peso individual se desvía del peso promedio en más o menos de la desviación porcentual permitida. La desintegración nos sirve como guía en la preparación de una fórmula óptima y en las pruebas de control de proceso para asegurar la uniformidad de lote a lote, el tiempo que tardó en desintegrarse como se observa en la Tabla 06 fue de 14,97 minutos, igual que los controles anteriores cumplen con los estándares permitidos, ya que la especificación de una tableta no recubierta es de 5 a 30 minutos según la USP 35⁽²²⁾.

Para la valoración de los niveles de esteviósido en la tableta, se tomó como referencia la técnica establecida en la 73^a reunión del Comité de Expertos de la FAO / OMS en Aditivos Alimentarios.¹⁶ Los niveles de esteviósido es de 2,33% y una concentración de 4,77 mg por cada tableta, como se puede observar en la Tabla 07, los niveles de esteviósido soy muy bajos en comparación a lo mencionado por Peña⁽¹³⁾ y Jiménez⁽²³⁾ quien manifiesta que existe una gran variabilidad para los contenidos de esteviósido y rebaudiósido A observándose valores de 0 -21% para esteviósido, y 0 a 12% para rebaudiósido A. Dicha variabilidad se debe como menciona Jiménez⁽²³⁾, a que la estevia se reproduce sexualmente por fecundación cruzada (alogama) por lo que no debe extrañar la diversidad fenotípica y genotípica que se observa en plantas que crecen espontáneamente, así como en cultivos comerciales, ambas características son gobernadas por genes de herencia cuantitativa por lo que es de esperar influencias de factores ambientales sobre los mismos (época de cosecha, pos cosecha, temperatura, humedad, etc.)

El WHO⁽¹⁶⁾ refiere que la diabetes mellitus como un desorden metabólico de múltiples etiologías caracterizado por hiperglicemia crónica con disturbios en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos resultando en defectos de la secreción de insulina. El diagnóstico clínico de la diabetes es frecuentemente indicado por la presencia de síntomas tales como poliuria, polidipsia y pérdida de peso corporal, y es confirmado por la medida de niveles anormales de glicemia. El WHO⁽¹⁶⁾ establece una glicemia plasmática venosa (GPV) $\geq 7,0$ mmol/l (≥ 126 mg/dl) previo ayuno o ausencia de ingesta calórica, o de una glicemia plasmática venosa (GPV) ≥ 11.1 mmol/l (≥ 200 mg/dl) a las dos horas después de la ingesta de una carga de 75 g de glucosa oral (test de tolerancia oral a la glucosa).

El modelo experimental para determinar el efecto hipoglicemiante fue el Test de tolerancia oral a la glucosa, propuesta por CYTED⁽¹⁸⁾ y Arroyo⁽¹⁷⁾. La Figura 02 muestra los niveles de glicemia en función del tiempo de los distintos tratamientos, igualmente la Tabla N° 08 presenta los valores descriptivos de los niveles de glicemia, donde podemos observar que la hiperglicemia (≥ 200 mg/dl) perdura por más de dos horas después de la ingesta de 2000 mg/kg de glucosa por vía oral (grupo hiperglicémicos). Así mismo podemos presenciar que la tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni, reduce los niveles de glicemia a las dos horas (142 ± 39 mg/dl) en comparación al control glibenclamida (173 ± 37 mg/dl).

Jeppesen⁽⁶⁾ y Gregersen⁽⁷⁾, determinaron el efecto Antihiper glucémico de la *Stevia rebaudiana* Bertoni, utilizando el área bajo la curva de los niveles de glicemia. De igual forma el Anexo 02 muestra los valores descriptivos del área bajo la curva de niveles plasmáticos de glucosa de los distintos tratamientos, para determinar el área bajo la curva se utilizó el método de los trapecios, observando que la tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni presenta un área de $210,68 \pm 57$ menor en comparación del control glibenclamida con un área de $247,43 \pm 33$.

Para el análisis de datos se utilizó el programa SPSS versión 21; el análisis de Varianza de las áreas bajo la curva de niveles glicemia de los tratamientos presenta un valor de significancia $p = 0,012$ como muestra el Anexo 03, es decir que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los tratamientos a un nivel de confianza del 95%.

Seguidamente se realizó las comparaciones múltiples de las medias de las áreas bajo la curva de niveles de glicemia de los distintos tratamientos utilizando la prueba de Duncan. La Tabla 08 muestra la clasificación de los tratamientos basado en el grado de parecido existente entre sus medias, donde podemos

observar a los grupos de tratamiento como la Insulina, Normoglicémicos, *Stevia rebaudiana* y Glibenclamida que no difieren significativamente, clasificados en el subconjunto 1, es decir tienen estadísticamente el mismo comportamiento. El subconjunto 2 formado por el grupo de tratamiento de Glibenclamida e Hiperglicémicos estadísticamente tiene el mismo comportamiento, pero difieren con los demás grupos de tratamientos.

Todos estos resultados nos conducen a afirmar que la tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni, tiene efecto hipoglicemiante estadísticamente semejante al grupo tratado con Insulina y Glibenclamida, esta afirmación es sustentada por las buenas características fisicoquímicas de la tableta, como el menor tiempo de desintegración y la presencia del esteviósido y rebaudiósido A en la tableta.

Muchos estudios reportaron reducciones estadísticamente significativas del efecto hipoglicemiante atribuyéndosele principalmente al esteviósido, metabolito presente en la *Stevia rebaudiana* Bertoni como refiere Jeppesen⁽⁶⁾ y Gregersen⁽⁷⁾. El presente estudio refuerza tal hipótesis pues se ha demostrado que la tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni contiene el esteviósido y tiene efecto hipoglicemiante.

Jeppesen⁽⁶⁾ investigaron profundamente al esteviósido como metabolito activo en el efecto hipoglicemiante, para lo cual utilizaron las líneas celulares beta INS-1 de los islotes de Langerhans del ratón, esclareciendo el posible mecanismo de acción, pues el esteviósido estimula la secreción de la insulina vía una acción directa en las células beta pancreática.

VI. CONCLUSIONES

1. Se evaluaron los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni.
2. Se formuló y elaboró la tableta a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni cumpliendo con los estándares permitidos.
3. Se determinaron los niveles de esteviósido en la tableta empleando Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Presentando un 2,33% y 4,77 mg de esteviósido por cada tableta.
4. La tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni tiene efecto hipoglicemiante.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar investigaciones sobre la optimización de proceso de obtención de extracto atomizado de *Stevia rebaudiana*.
2. Realizar estudios de estabilidad de las tabletas elaboradas a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* cumpliendo con los estándares permitidos.
3. Realizar un estudio farmacocinético de las tabletas elaboradas a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana*.
4. Realizar un estudio clínico del efecto hipoglicemiante del comprimido elaborado a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana*.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. **Rodríguez J y Sáenz M.** Obtención de un edulcorante natural proveniente de la *stevia* (*stevia rebaudiana bertonii*). Universidad Earth, Costa Rica [Internet] 2005 [acceso 12 de Setiembre del 2013]. Disponible en: <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/dpg/200533.pdf>
2. **Stevia Canada.** 2004. Learning From Ancient Wisdom (en línea). Canadá, [Internet] 2005 [acceso 12 de Setiembre del 2013]. Disponible en: <http://www.steviacanada.com/>
3. **Peña N.** La *stevia rebaudiana* y su propiedad hipoglicemiante en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 realizado en el Instituto de Gastroenterología Boliviano Japonés. Universidad Mayor de San Andrés. Bolivia [Internet] 2006 [acceso 12 de Setiembre del 2013]. Disponible en: <http://bibliotecadigital.umsa.bo:8080/rddu/bitstream/123456789/520/1/TN954.pdf>
4. **Sociedad Latinoamericana de Nefrología e Hipertensión.** Stevia peruana, lo nuevo para la diabetes, hipertensión y obesidad. (en línea). Sao Paulo, BR. s.e. [Internet] 2005 [acceso 12 de Setiembre del 2013]. Disponible en: http://www.slanh.org/noticias/noticias_detalhes.asp?noticia_id=49
5. **UVA (Unión Vegetariana Argentina).** Stevia (en línea). Buenos Aires, [Internet] 2003 [acceso 12 de Setiembre del 2013] Disponible en: <http://www.uva.org.ar/stevia.html>
6. **Jeppesen P, Gregersen S, Rolfsen S, Jepsen M, Colombo M, Agger A, Xiao J, Kruhøffer M, Orntoft T y Hermansen K.** Antihyperglycemic and blood pressure-reducing effects of stevioside in the diabetic Goto-Kakizaki rat. *Metabolism* [Internet] 2003 [acceso 12 de Setiembre del 2013]; 52 (3): 372-378. Disponible en: [http://www.steviainfo.com/research_articles/Jeppesen%20et%20al%20\(2003\).pdf](http://www.steviainfo.com/research_articles/Jeppesen%20et%20al%20(2003).pdf)
7. **Gregersen S, Jeppesen P, Holst J y Hermansen K.** Antihyperglycemic Effects of Stevioside in Type 2 Diabetic Subjects. *Metabolism* [Internet] 2004 [acceso 12 de Setiembre del 2013]; 53 (1): 73-76. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026049503003871>
8. **Brunton L, Lazo J y Parker K.** Goodman y Gillman. Las bases Farmacológicas de la terapéutica, 11a edición. McGraw-Hill Interamericana - México. 2006

9. **Trillo F.** Tratado de Farmacia Galénica. Edit. Luzán S.A. Primera edición. Madrid. 1993.
10. **Vila J.** Tecnología Farmacéutica. Volumen II (Formas Farmacéuticas). 1ra Reimpresión. Edit. Síntesis S.A. Madrid. 2001
11. **Aulton M.** Farmacia. La ciencia del Diseño de las Formas Farmacéuticas. Edit. Elsevier. 2da Edición. 2004
12. **Razo E.** Diseño de una planta piloto para la industrialización de *stevia* en la Comunidad Cueva de los Monos, Cantón Sacha, Provincia de Orellana. [tesis]. Quito: Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria de la Escuela Politécnica Nacional; 2011.
13. **Sharapin N.** Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Convenio Andrés Bello (CAB) y el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología (CYTED). 2000
14. **Miranda M.** Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Edit. Instituto de Farmacia y Alimentos – Universidad de la Habana. Habana – Cuba. 2002
15. **Miranda M., Cuellar A.** Manual de Practicas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Edit. Instituto de Farmacia y Alimentos – Universidad de la Habana. Habana – Cuba. 2000
16. **Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.** Compendium of Food Additive Specifications. [Internet] Roma: FAO; 2010 [acceso 01 de Abril del 2014]; Disponible en:
<http://www.fao.org/docrep/013/i1782e/i1782e.pdf>
17. **Arroyo J y Cisneros C.** Modelos Experimentales de Investigación Farmacológica. 1ra Edición. Lima: Edit. ASDIMOR S.A.C.; 2012.
18. **CYTED.** Manual de Técnicas de Investigación. Programa Iberoamericano de Ciencia y tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-1; Búsqueda de Principios Activos en Plantas de la Región. 1995
19. **Hernandez R, Fernández C y Baptista L.** Metodología de la Investigación Científica. 4ta Edición. México: McGraw-Hill Interamericana; 2006.
20. **Bravo A, Ale B, Rivera C, Huamán M, Delmás R, Rodríguez B et al.** Caracterización Química de la *Stevia Rebaudiana*. Rev. Per. Quím. Ing. Quím. [Internet] 2009 [acceso 12 de Setiembre del 2013]; 12(2): 5-8
Disponible en:
http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/publicaciones/ing_quimica/v12_n2/pdf/a01v12.pdf

- 21. González G y Schmidt P.** Obtención de Comprimidos conteniendo Extractos Atomizados de Flor de la Pasión (*Passiflora incarnata* L.). Acta Farm. Bonaerense. [Internet] 1995 [acceso 01 de Abril del 2014]; 14 (3): 173-80. Disponible en:
http://www.latamjpharm.org/resumenes/14/3/LAJOP_14_3_1_3.pdf
- 22. The Official Compendia of Standards USP 35 NF 30.** The United States Pharmacopoeia. The National Formulary. Convention Inc. 2012.
- 23. Jiménez T, Cabrera G, Álvarez E y Gómez F.** Evaluación del contenido de esteviósido y rebaudiósido A en una población de *Stevia rebaudiana* Bertoni (kaâ heê) cultivada comercialmente. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud [Internet] 2010 [acceso 12 Setiembre del 2013]; 6(1):47-53. Disponible en:
http://scielo.iics.una.py/scielo.php?pid=S1812-95282010000100007&script=sci_arttext
- 24. World Health Organization.** Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia. [Internet] Geneva: WHO; 2006 [acceso 01 de Abril del 2014]; Disponible en:
<http://www.fao.org/docrep/013/i1782e/i1782e.pdf>
- 25. Jeppesen P, Gregersen S, Poulsen C y Hermansen K.** Stevioside acts directly on pancreatic beta cells to secrete insulin: actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate-sensitive K \pm channel activity. Metabolism [Internet] 2000 [acceso 01 de Abril del 2014]; 49 (2):208-14. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10690946>

ANEXOS

Tabla 09: Valores descriptivos de los niveles de glucosa en función del tiempo.
Ayacucho – 2014

		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Normoglicémicos (mg/dl)	0 horas	4	135,7500	26,13267	13,06634	94,1671	177,3329	114,00	168,00
	1,0 horas	4	147,5000	13,52775	6,76387	125,9743	169,0257	135,00	164,00
	2,0 horas	4	138,0000	21,60247	10,80123	103,6257	172,3743	116,00	162,00
	4, horas	4	106,0000	7,95822	3,97911	93,3367	118,6633	98,00	117,00
	Total	16	131,8125	23,16957	5,79239	119,4663	144,1587	98,00	168,00
Hiperglicémicos (mg/dl)	0 horas	4	138,0000	48,27007	24,13504	61,1915	214,8085	86,00	200,00
	1,0 horas	4	246,7500	55,81144	27,90572	157,9415	335,5585	165,00	290,00
	2,0 horas	4	203,2500	28,66327	14,33164	157,6403	248,8597	176,00	241,00
	4,0 horas	4	144,2500	27,95681	13,97841	99,7645	188,7355	110,00	177,00
	Total	16	183,0625	59,52419	14,88105	151,3443	214,7807	86,00	290,00
Glibenclamida (mg/dl)	0 horas	4	143,0000	31,14482	15,57241	93,4416	192,5584	115,00	182,00
	1,0 horas	4	227,7500	80,80171	40,40086	99,1764	356,3236	157,00	327,00
	2,0 horas	4	173,0000	37,04952	18,52476	114,0460	231,9540	130,00	210,00
	4,0 horas	4	121,5000	11,38713	5,69356	103,3805	139,6195	108,00	135,00
	Total	16	166,3125	59,15372	14,78843	134,7917	197,8333	108,00	327,00
Insulina (mg/dl)	0 horas	4	149,5000	22,48703	11,24352	113,7181	185,2819	131,00	181,00
	1,0 horas	4	163,2500	20,28752	10,14376	130,9680	195,5320	147,00	190,00
	2,0 horas	4	118,0000	38,88444	19,44222	56,1262	179,8738	66,00	160,00
	4,0 horas	4	113,0000	24,26245	12,13123	74,3930	151,6070	80,00	136,00
	Total	16	135,9375	32,82777	8,20694	118,4448	153,4302	66,00	190,00
Stevia rebaudiana (mg/dl)	0 horas	4	148,7500	17,28921	8,64460	121,2390	176,2610	123,00	160,00
	1,0 horas	4	171,2500	24,60860	12,30430	132,0922	210,4078	140,00	197,00
	2,0 horas	4	142,5000	39,02563	19,51282	80,4015	204,5985	93,00	185,00
	4,0 horas	4	122,0000	49,13247	24,56624	43,8193	200,1807	77,00	166,00
	Total	16	146,1250	36,01643	9,00411	126,9332	165,3168	77,00	197,00

Tabla 10: Valores descriptivos del área bajo la curva de niveles plasmáticos de glucosa de los distintos tratamientos. Ayacucho – 2014

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Normoglicémicos	4	193,3750	13,70903	6,85451	171,5609	215,1891	177,75	205,50
Hiperglicémicos	4	286,2500	27,52650	13,76325	242,4492	330,0508	261,75	322,00
Glibenclamida	4	247,4375	33,49712	16,74856	194,1361	300,7389	206,75	288,50
Insulina	4	185,8125	44,97563	22,48781	114,2462	257,3788	126,25	235,50
<i>Stevia rebaudiana</i>	4	210,6875	57,76474	28,88237	118,7709	302,6041	145,75	271,00
Total	20	224,7125	51,43355	11,50089	200,6409	248,7841	126,25	322,00

Tabla 11: Análisis de varianza del área bajo la curva de niveles plasmáticos de glucosa de los distintos tratamientos. Ayacucho – 2014

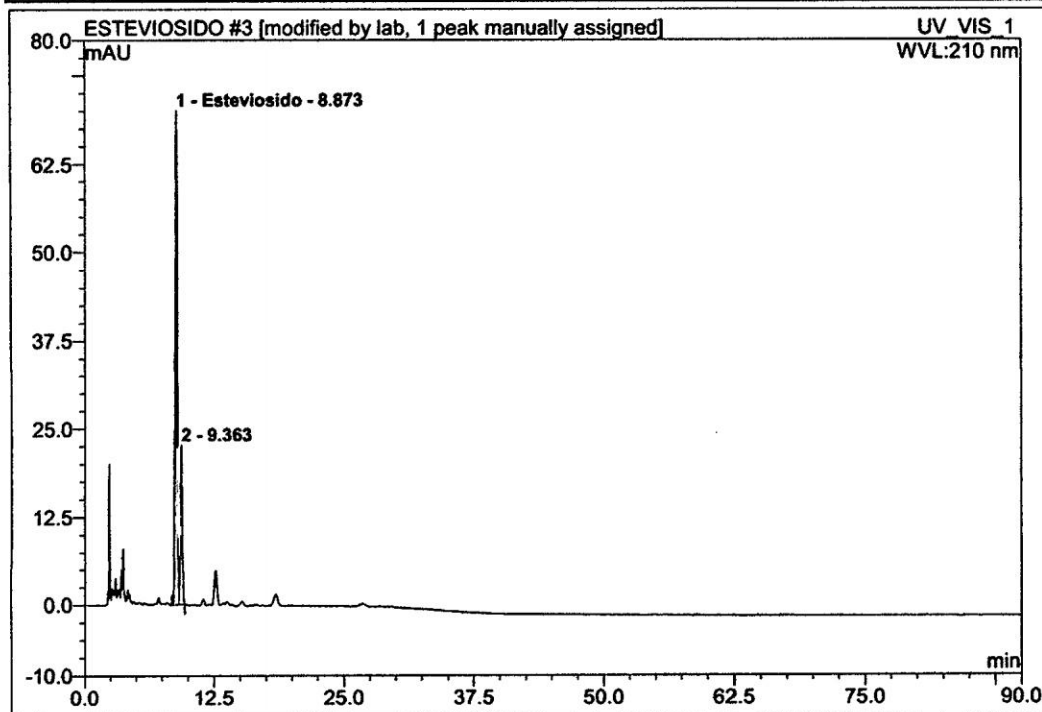
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	27980,956	4	6995,239	4,709	,012
Intra-grupos	22281,828	15	1485,455		
Total	50262,784	19			

Tabla 12: Valores descriptivos del tamaño, peso y desintegración de la tableta elaborada a base del extracto atomizado de la *Stevia rebaudiana* Bertoni. Ayacucho – 2014

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.	Varianza
Diámetro	10	8,04	8,06	8,0520	,00632	,000
N válido (según lista)	10					
Altura	10	5,43	5,49	5,4620	,02300	,001
N válido (según lista)	10					
Variación de Peso	20	203,30	207,30	205,0200	1,10339	1,217
N válido (según lista)	20					
Tiempo de Desintegración	10	14,90	15,00	14,9700	,04830	,002
N válido (según lista)	10					

Figura 03: Cromatograma del estándar de esteviósido. Ayacucho – 2014

3 ESTEVIOSIDO56,730%			
Sample Name:	ESTEVIOSIDO56,730%	Injection Volume:	2,0 µl
Vial Number:	RA2	Channel:	UV_VIS_1
Sample Type:	Standard	Wavelength:	210,0 nm
Control Program:	Esteviósido	Bandwidth:	2
Quantif. Method:	Esteviósido	Dilution Factor:	1,0000
Recording Time:	5/2/2014 12:44	Sample Weight:	1,0000
Run Time (min):	90,00	Sample Amount:	1,0000



N°	Ret. Time min	Peak Name	Height mAU	Area mAU*min	Rel. Area %	Amount	Type
1	8,87	Esteviósido	70,004	16,057	75,54	0,551	BM*^
2	9,36	n.a.	22,638	5,198	24,46	n.a.	MB*
Total:			252,645	21,256	100,00	0,551	

Figura 04: Cromatograma de la muestra de tableta elaborada a base del extracto atomizado de la *Stevia rebaudiana* Bertoni. Ayacucho – 2014

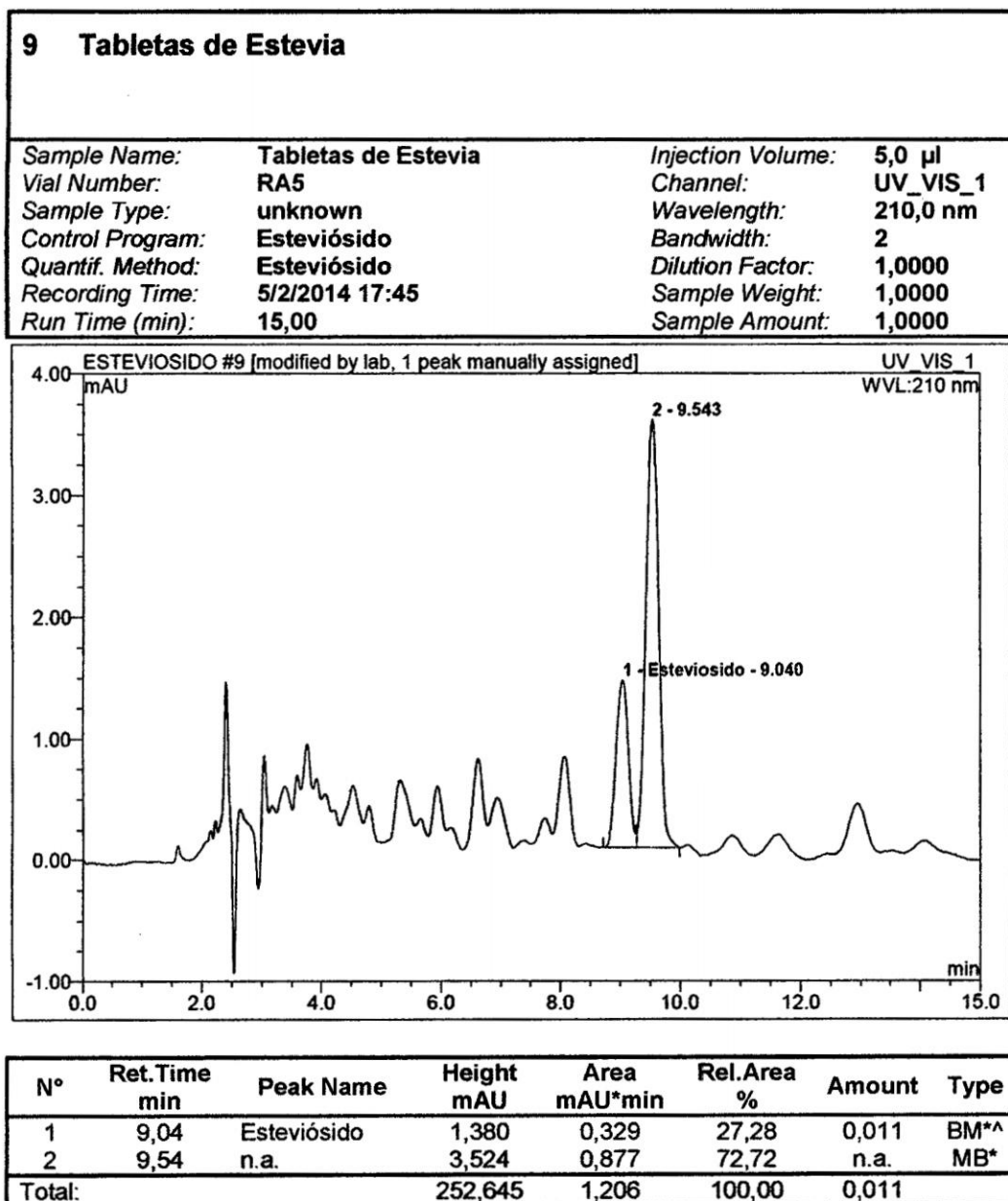


Figura 05: Clasificación Taxonómica de *Stevia rebaudiana* Bertoni



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. Mercedes, YANCE RONDINEL, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	<i>Stevia</i>
ESPECIE	:	<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni
N.V.	:	"estevia"

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

Ayacucho, 21 de Noviembre del 2013

Figura 06: Fotografía de la hojas desecadas de *Stevia rebaudiana* Bertoni

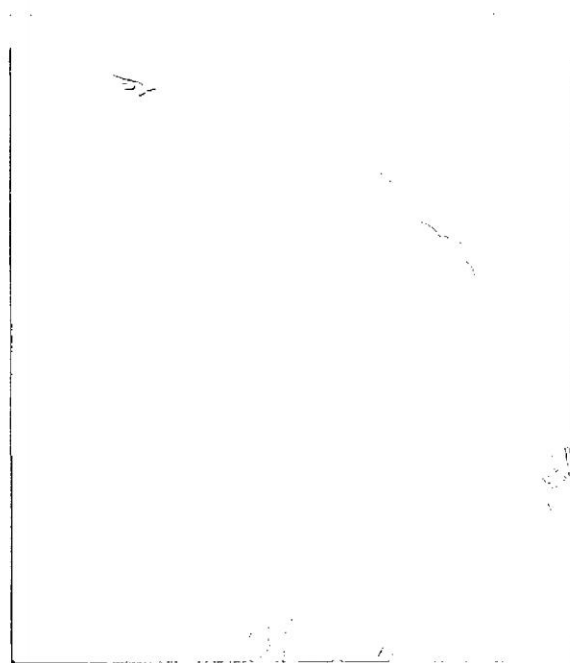


Figura 07: Fotografía del molino de cuchillas del Centro de Desarrollo Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos



Figura 08: Fotografía de las hojas reducidas de tamaño *Stevia rebaudiana* Bertoni



Figura 09: Fotografía de los equipos de extracción del Centro de Desarrollo Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos



Figura 10: Fotografía del atomizador Spray Driver B290 del Centro de Desarrollo Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos



Figura 11: Fotografía del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni

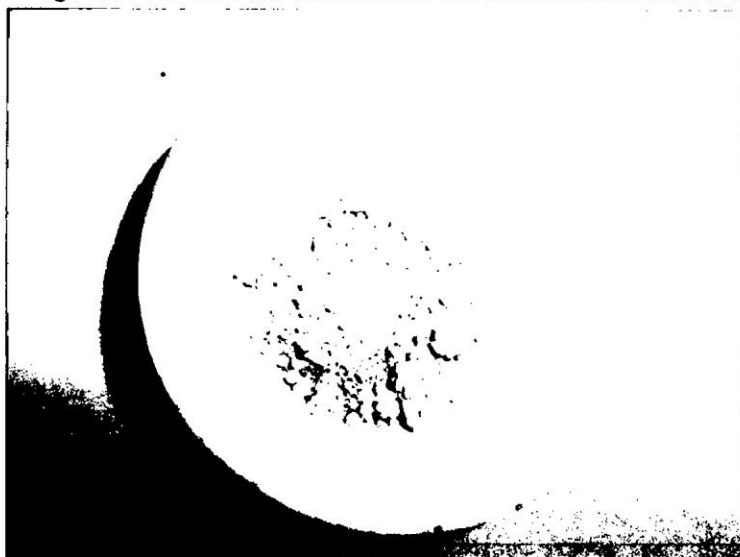


Figura 12: Fotografía de la identificación de los metabolitos secundarios de *Stevia rebaudiana* Bertoni

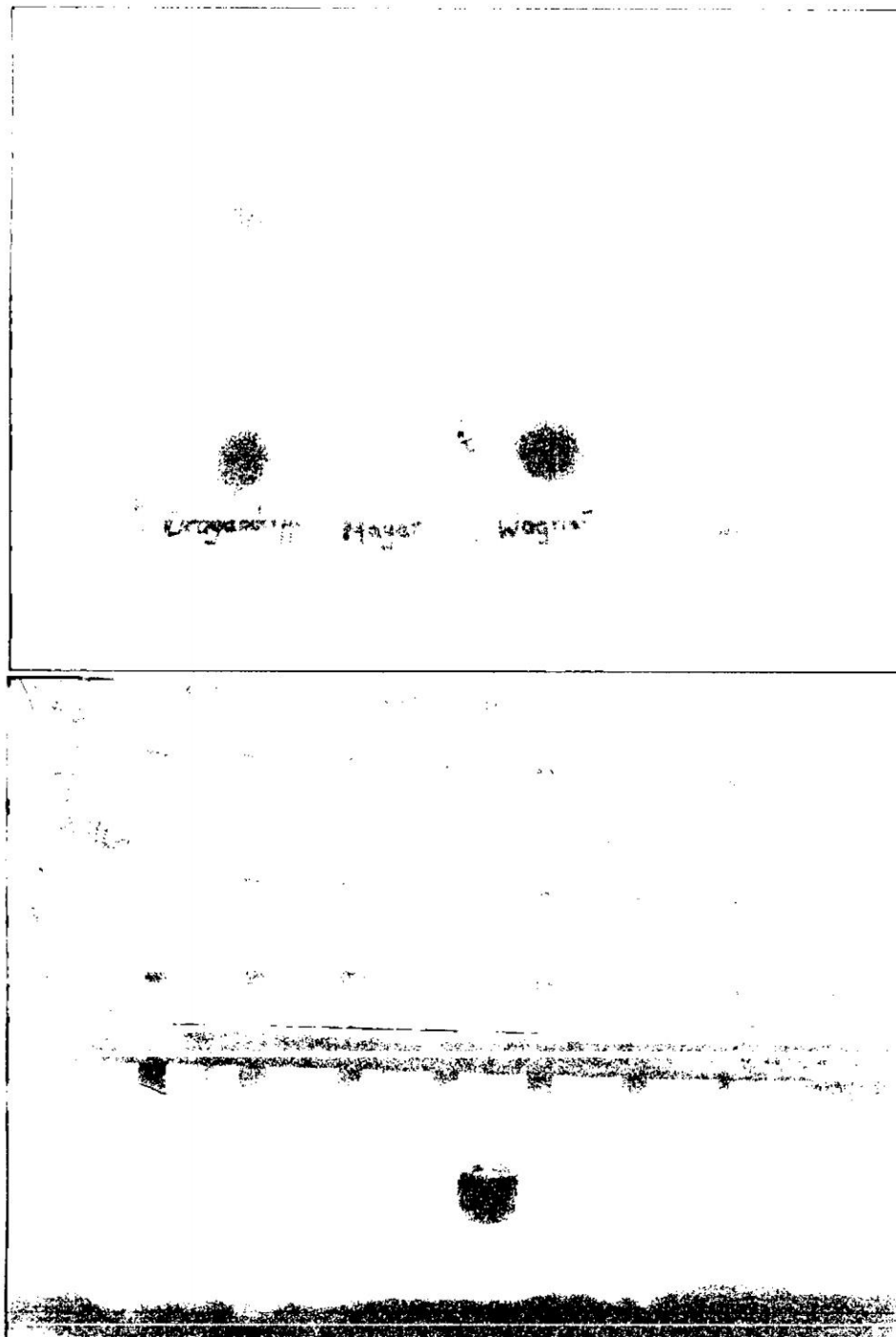


Figura 13: Fotografía de la determinación del contenido de humedad y ceniza del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni

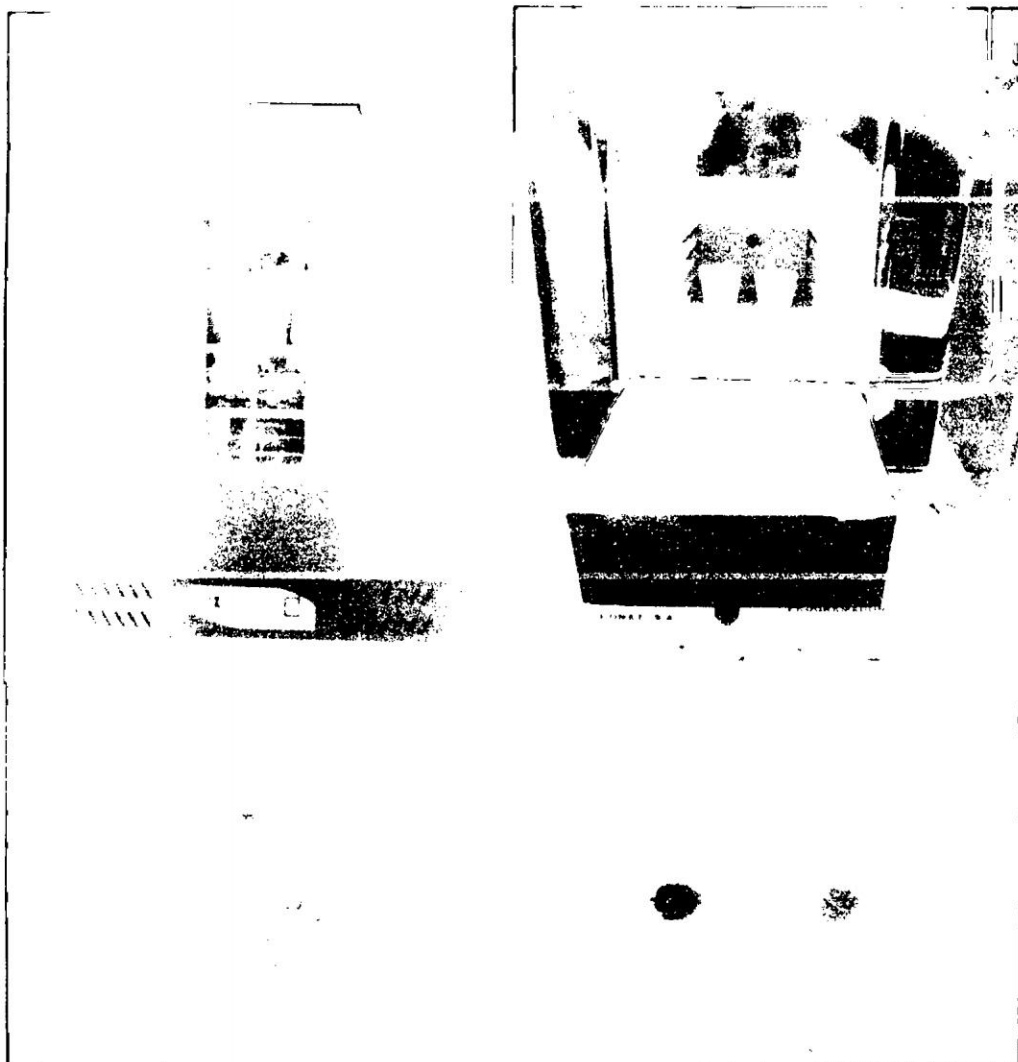


Figura 14: Fotografía de la tableteadora monopunzona y comprimidos elaborados a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni

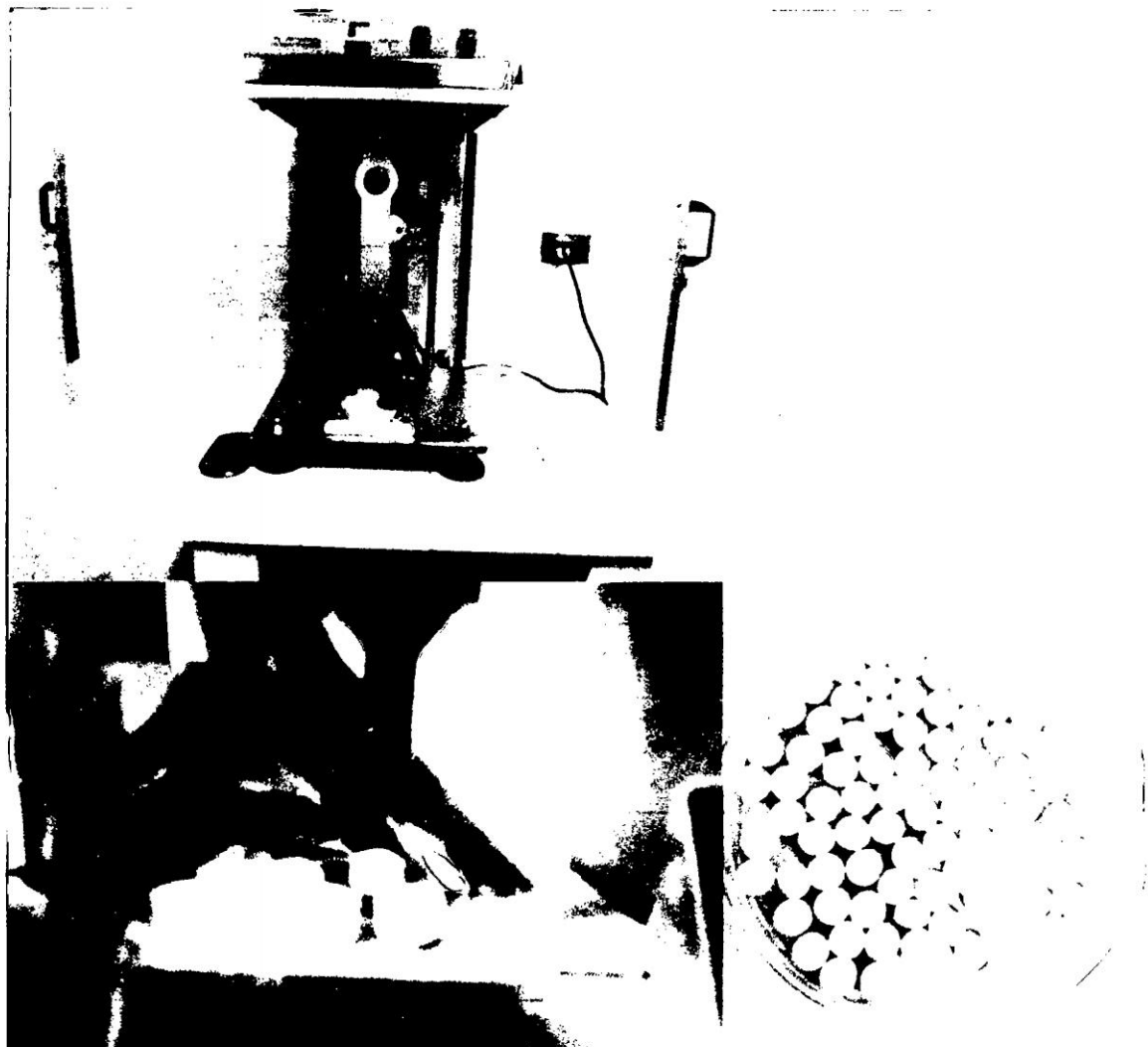


Figura 15: Fotografía de los controles realizados a la tableta hipoglucemiante elaborada a base del extracto atomizado de la *Stevia rebaudiana* Bertoni.

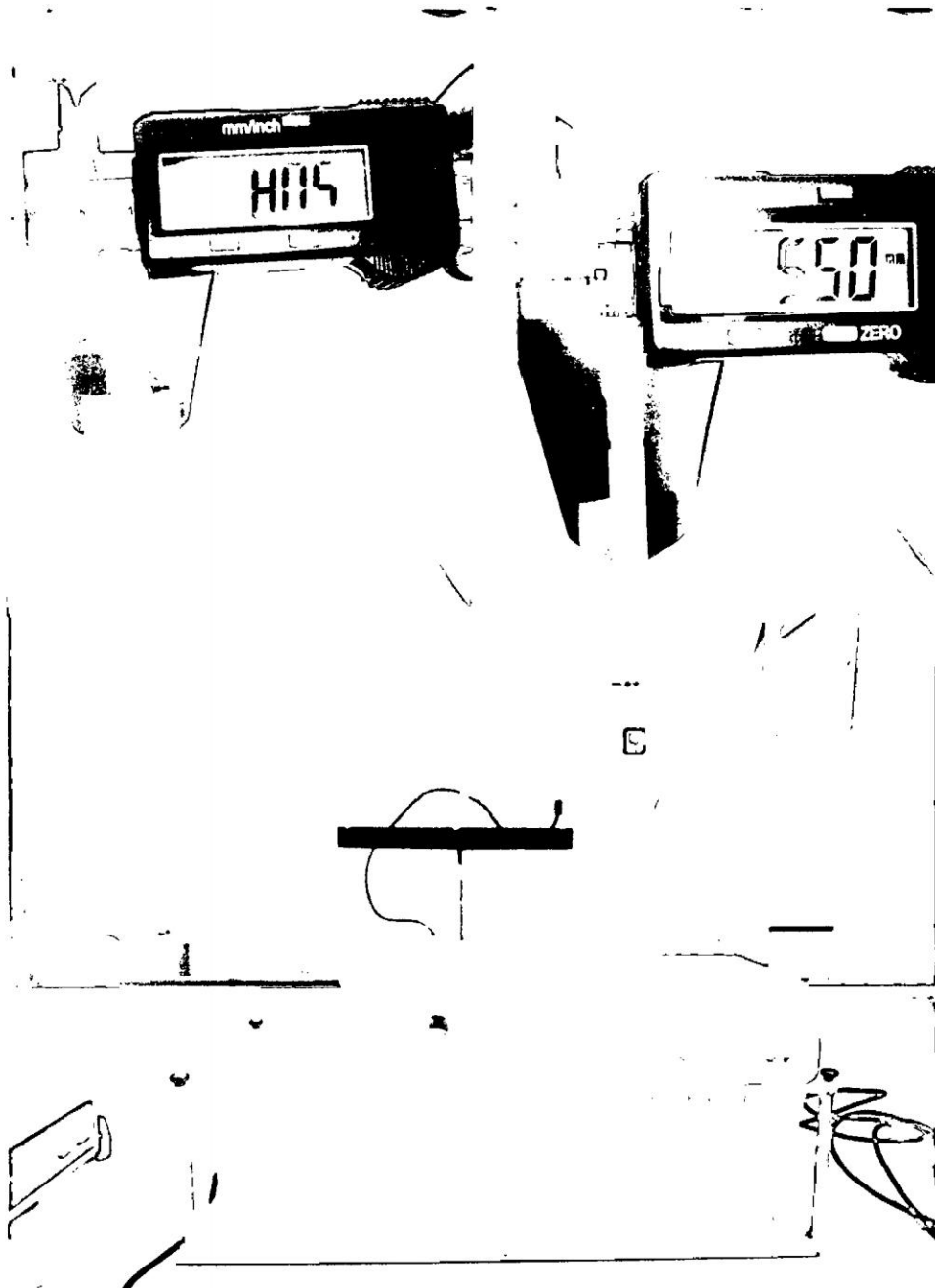
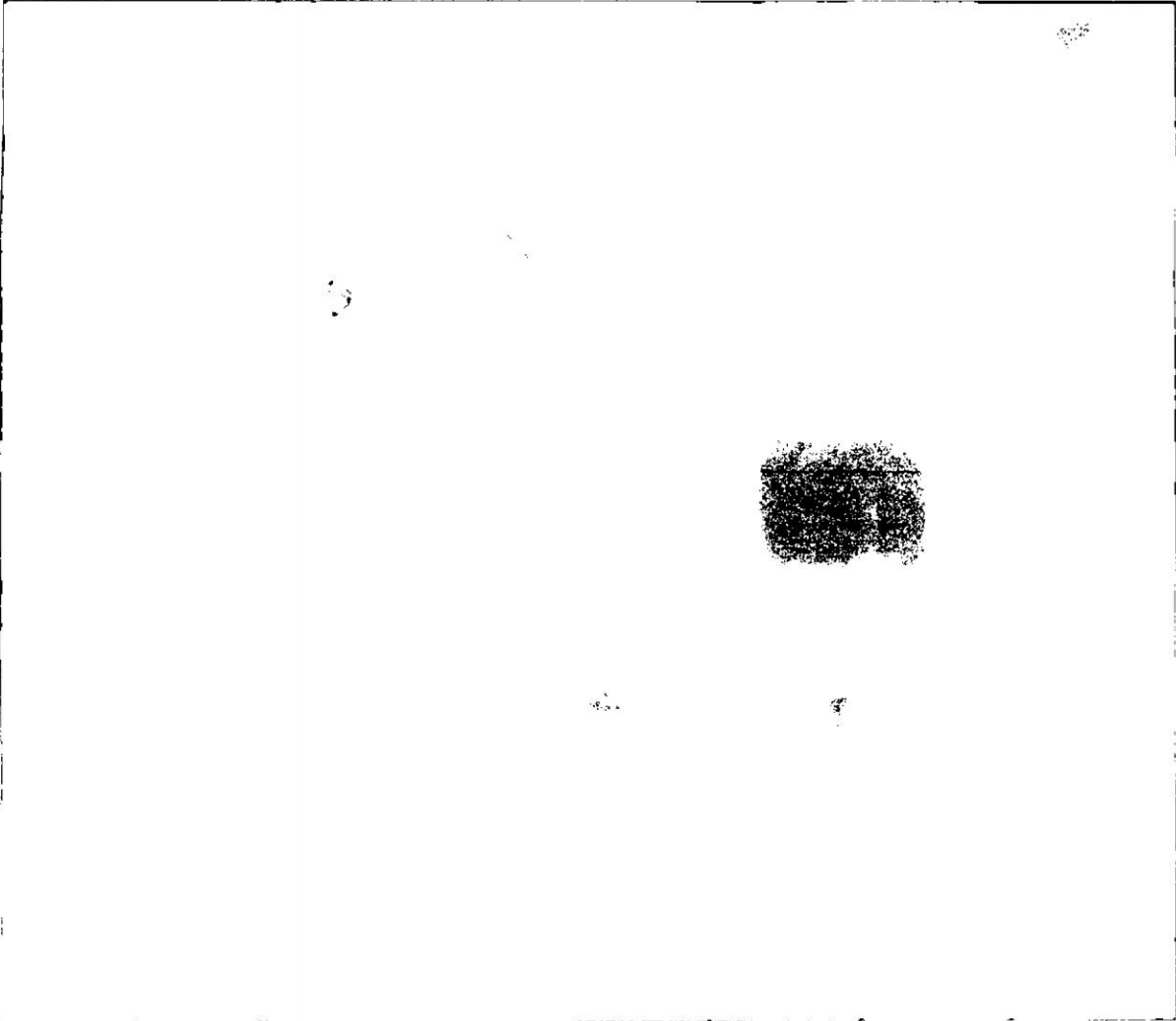


Figura 16: Fotografía de la valoración de los niveles de esteviósido por HPLC



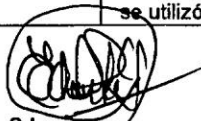
Figura 17: Fotografía de la evaluación del efecto hipoglucemiante



TITULO: Efecto hipoglicemiente de una tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* en ratas albinas. Ayacucho - 2013

PERSONAL INVESTIGADOR: Mercedes Yance Rondinel.

TITULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA						
Efecto hipoglicemiente de una tableta elaborada a base del extracto atomizado de <i>Stevia rebaudiana</i> en ratas albinas. Ayacucho - 2013	¿Tendrá efecto hipoglucemiante una tableta elaborada a base del extracto atomizado de <i>Stevia rebaudiana</i> ?	<p>Objetivo General</p> <ul style="list-style-type: none"> Conocer el efecto hipoglicemiente de una tableta elaborada a base del extracto atomizado de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni. <p>Objetivos Específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> Evaluar las características fisicoquímicas del extracto atomizado de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni. Formular una tableta hipoglicemiante elaborada a base del extracto atomizado de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni. Valorar los niveles de esteviósido en la tableta empleando Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). Evaluar el efecto hipoglicemiente empleando el método de hiperglicemia inducida con glucosa. 	<p>H₁: La tableta elaborada a base del extracto atomizado de <i>Stevia rebaudiana</i> tiene efecto hipoglicemiente.</p> <p>H₀: La tableta formulada a base del extracto atomizado de <i>Stevia rebaudiana</i> no tiene efecto hipoglicemiente</p> <p>Hipótesis Estadística:</p> <p>H₁: $O_2 < O_4$</p> <p>H₀: $O_2 = O_4$</p>	<p>Variable independiente: Tableta elaborada a base del extracto atomizado de <i>Stevia rebaudiana</i>.</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> 100 mg/kg extracto atomizado de <i>Stevia rebaudiana</i>. Parámetros fisicoquímicos de la tableta. <p>Variable dependiente: Efecto hipoglucemiante.</p> <p>Indicadores:</p> <ul style="list-style-type: none"> Niveles de glucemia en sangre. 	<p>Población: Planta de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni, que crece en el Valle del Río Apurímac y Ene (VRAE), comunidad de Palestina Baja, del Distrito de Kimbiri, Provincia de La Convención, Departamento de Cusco.</p> <p>Muestra: 5 kg de hojas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni que serán tomadas al azar, se recolectaran durante el mes octubre del 2013, del bosque húmedo tropical de la comunidad de Palestina Baja, del Distrito de Kimbiri, Provincia de La Convención, Departamento de Cusco.</p> <p>Unidad experimental: Ratas albinas W., machos de peso promedio 200 ±10 g, en buen estado de salud, que serán proporcionados por el bioterio de la Universidad Nacional Agraria La Molina</p> <p>Procedimiento para la recolección de datos</p> <p>Obtención del extracto atomizado. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado</p> <ul style="list-style-type: none"> Características organolépticas. Identificación de compuestos químicos Determinación de pH. Determinación de sustancias solubles. Determinación de cenizas totales. Determinación del contenido de humedad (método gravimétrico) <p>Formulación y elaboración de tabletas de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni. Valoración de los niveles de esteviósido en la tableta Determinación del efecto hipoglucemiante.</p> <p>Diseño experimental.</p> <p>Tipo de Investigación: Experimental.</p> <p>Diseño de investigación: Diseño con posprueba únicamente y grupo control:</p> <table style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td>RG1</td> <td>X</td> <td>O₂</td> </tr> <tr> <td>RG2</td> <td>-</td> <td>O₄</td> </tr> </table> <p>R : Asignación al azar o aleatoria G : Grupos de sujetos (G1, grupo 1; G2 grupo 2; etc.) X : Tratamiento, estímulo o condición experimental. O : Medición experimental. - : Ausencia de estímulo. Indica grupo control o testigo.</p> <p>Análisis Estadístico: Se realizó las siguientes pruebas: el análisis de varianza (ANOVA) al 95% de nivel de confianza. La significación estadística entre los grupos se evaluó a través de la prueba Duncan. Para determinar dichas pruebas se utilizó el paquete estadístico SPSS 21 (PASW Statistics).</p>	RG1	X	O₂	RG2	-	O₄
RG1	X	O₂									
RG2	-	O₄									


Blga. Edna
León Palomares

Efecto hipoglicemiante de una tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* en ratas albinas. Ayacucho - 2013

Mercedes Yance Rondinel¹ y Marco Arones Jara¹.

¹Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar el efecto hipoglicemiante de una tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Se desarrolló en el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. El tipo de investigación fue experimental. Se evaluaron los parámetros fisicoquímicos del extracto atomizado, así mismo se formularon y elaboraron las tabletas. Finalmente se valoraron los niveles de esteviosido y se determinaron el efecto hipoglicemiante utilizando el método del test de tolerancia oral a la glucosa. El extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni presenta características organolépticas como: color beige, olor característico, sabor dulce y un aspecto de polvo fino homogéneo. Características fisicoquímicas como: humedad 3,57 %, cenizas totales 4,66 % y compuestos químicos como: alcaloides, flavonoides, fenoles, taninos, triterpenos y esteroides. La fórmula final de la tableta contiene los siguientes excipientes: celulosa microcristalina PH-101, carboximetil celulosa sódica, dióxido de silicio y estearato de magnesio, cumpliendo con los estándares permitidos. Se determinó los niveles de esteviosido en la tableta empleando la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), obteniéndose un 2,33% y 4,77 mg de esteviosido por tableta. Se determinaron las áreas bajo la curva de los niveles de glicemia en función del tiempo y al realizar la comparación de las medias utilizando la prueba de Duncan, las tabletas de *Stevia rebaudiana* Bertoni estadísticamente tienen el mismo comportamiento con el grupo tratado con insulina y glibenclamida. En conclusión las tabletas de *Stevia rebaudiana* Bertoni tienen efecto hipoglicemiantes en ratas albinas.

Palabras clave: tabletas, extracto atomizado, *Stevia rebaudiana* Bertoni, efecto hipoglicemiante, glicemia.

SUMMARY

This research was conducted to evaluate the hypoglycemic effect of a tablet produced from atomized extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni. It was developed in the Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF) of the Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. The research was experimental. Physicochemical parameters were evaluated atomized extract, also formulated and prepared tablets. Finally stevioside levels were assessed and the hypoglycemic effect was determined using the test method of oral glucose tolerance. The atomized extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni having organoleptic characteristics as: beige color, characteristic odor, sweet taste and a homogeneous appearance of fine dust. Physicochemical properties such as moisture 3,57%, 4,66% total ash and chemical compounds such as alkaloids, flavonoids, phenols, tannins, triterpenes and steroids. The final formula of the tablet contains the following inactive ingredients: microcrystalline cellulose PH-101, sodium carboxymethyl cellulose, silicon dioxide and magnesium stearate, complying with the permitted standards. Stevioside levels were determined on the tablet using the High Resolution Liquid Chromatography (HPLC) to yield 2,33% and 4,77 mg of stevioside per tablet. Areas under the curve of blood glucose levels versus time and the comparison of means using the Duncan test were determined tablets *Stevia rebaudiana* Bertoni statistically have the same behavior with the insulin and glibenclamide group. In conclusion tablets *Stevia rebaudiana* Bertoni have hypoglycemic effect in albino rats.

Keywords: tablet, atomized extract, *Stevia rebaudiana* Bertoni, hypoglycemic effect, glycemia.

INTRODUCCIÓN

La *Stevia* es un género de planta con poder edulcorante, la cual es utilizada como un producto alternativo al azúcar y a los endulzantes artificiales. Es un pequeño arbusto originario de la flora sudamericana que se criaba espontáneamente en el hábitat semiárido de las laderas montañosas de Paraguay y en las zonas adyacentes de Brasil.⁽¹⁾

Esta planta tiene efectos beneficiosos en la absorción de la grasa y la presión arterial. Contiene carbohidratos, proteínas, vitaminas y minerales, por lo que hoy en día, en países como Japón abarca el 41% de los edulcorantes consumidos. El sabor dulce de la planta se debe a un glucósido llamado esteviósido, además de otros compuestos como glucosa y rebaudiósido.⁽¹⁾

Según la FDA, la *Stevia* en su forma natural es 15 veces más dulce que el azúcar de mesa (sucrosa) y el extracto es de 100 a 300 veces más dulce que la sucrosa. Algo importante de recalcar es que se ha descubierto que no afecta los niveles de azúcar sanguíneo, por el contrario, se ha podido encontrar que posee propiedades hipo glucémicas, las cuales mejoran la tolerancia a la glucosa. Por este motivo se recomienda su uso a pacientes diabéticos.⁽²⁾

La diabetes mellitus es un problema de salud pública importante que afecta a gran parte de la población mundial y nacional. En las Américas se tiene un número de personas con diabetes mellitus de 35 millones para el año 2000, de 40 millones el año 2005 y se espera que alcanzará a los 63 millones para el año 2025.⁽³⁾

Las investigaciones sobre el estudio de plantas medicinales son reconocidas y de gran importancia para la Organización Mundial de la Salud. Considerando los estudios químicos y farmacológicos realizados en nuestro país y el extranjero sobre esta planta, se ha encontrado reiteradas evidencias de su acción hipoglucemiante, para lo cual se elaboró una tableta a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni y se evaluó el efecto hipoglucemiante utilizando el método del test de tolerancia oral a la glucosa según Arroyo 2012. Planteándose los siguientes objetivos:

Objetivo general:

- Conocer el efecto hipoglucemiante de una tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni.

Objetivos específicos:

- Evaluar las características fisicoquímicas del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni.
- Formular una tableta hipoglucemiante elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni.

- Valorar los niveles de esteviósido en la tableta empleando Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).
- Evaluar el efecto hipoglucemiante empleando el método de hiperglicemia inducida con glucosa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Definición de la población y muestra

Población muestral: Plantas de *Stevia rebaudiana* Bertoni, del Valle de los Ríos Apurímac, Ene y Mantaro (VRAEM), comunidad de Palestina Baja del Distrito de Kimbiri, Provincia de La Convención, Departamento de Cusco.

Muestra: 5 kg de hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni tomadas al azar y recolectadas durante el mes octubre del 2013, del bosque húmedo tropical de la comunidad de Palestina Baja del Distrito de Kimbiri, Provincia de La Convención, Departamento de Cusco.

Diseño metodológico

Tipo de Investigación

- Experimental.⁽¹⁹⁾

Diseño de investigación

Diseño con posprueba únicamente y grupo control.⁽¹⁹⁾

Metodología para la recolección de datos

Recolección de muestras:

5 kg de hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni tomadas al azar, recolectadas durante el mes octubre del 2013, de la comunidad de Palestina Baja del Distrito de Kimbiri, Provincia de La Convención, Departamento de Cusco.

Obtención del extracto atomizado de las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni.

Las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni, fueron secadas a temperatura ambiente, en un lugar con buena ventilación, cambiando el papel de soporte cada 24 horas y removiendo el vegetal para evitar su descomposición, por un periodo de 30 días.^(12,13)

Las hojas desecadas de *Stevia rebaudiana* Bertoni fueron reducidas utilizando el molino de cuchillas con malla de 1 cm de diámetro de luz, 1,0 kg de *Stevia* se sometió a lixiviación utilizando 20 litros de solución que se obtiene al disolver ácido cítrico en un porcentaje del 10% a temperatura ambiente. La solución se enfrió en una cámara de refrigeración hasta una temperatura de 2 °C, a continuación se filtró utilizando membranas de 0,1 – 0,2 mm y se concentró por evaporación a temperatura menor a 45 °C, hasta llegar a un 10% de sólidos totales.⁽¹²⁾

Luego la solución concentrada se secó utilizando el Atomizador Spray Driver B290 del CEDACMEF de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica, se mezcló antes del proceso de

atomización con maltodextrina como vehículo de atomización en una concentración del 10%. Se consideró los siguientes parámetros para su atomización:

- Temperatura de entrada: 170 a 180°C
- Temperatura de salida: 77 a 83°C
- Aspirador: 100%
- Porcentaje de bomba: 15 a 30%
- Flujo de muestra: 3-4 cm³/min.

El producto atomizado fue envasado en un recipiente herméticamente cerrado.⁽¹²⁾

Evaluación de las características fisicoquímicas del extracto atomizado

Una vez obtenida el extracto, se evaluaron los parámetros fisicoquímicos que definan la calidad de los mismos, que a continuación señalamos:

- Determinación de las características organolépticas
- Identificación fitoquímica
- Determinación de la solubilidad
- Determinación de pH
- Determinación del contenido de humedad
- Determinación de cenizas totales
- Determinación de sustancias solubles

Formulación y elaboración de tabletas de *Stevia rebaudiana* Bertoni

Formulación de la tableta:

Tabla 01: Excipientes de una tableta hipoglucemiante elaborada a base del extracto atomizado de la *Stevia rebaudiana* Bertoni.

PRINCIPIO ACTIVO Y EXCIPIENTES	FÓRMULAS	
	TRATAMIENTO	BLANCO
Extracto atomizado de <i>Stevia</i>	X	
Celulosa microcristalina (PH - 101)	X	X
Carboximetilcelulosa sódica	X	X
Dióxido de silicio	X	X
Estearato de magnesio	X	X

Método de elaboración de la tableta

Se elaboró con los materiales y equipos del CEDACMEF, de acuerdo al siguiente procedimiento:

- Se tamizó la celulosa microcristalina (PH-101), la carboximetilcelulosa sódica, dióxido de silicio y el extracto atomizado por un tamiz con una malla de 0,4 mm de diámetro.
- Se mezcló en bombo en "V" por 10 minutos.
- Se adiciona el lubricante y se tamizo por tamiz de diámetro 0,4 mm de diámetro.

- Se mezcló nuevamente en bombo "V" por 10 minutos.
- Se realizó la compresión en la tableteadora monopunzona, con un parámetro de 60 golpes por minuto.⁽¹³⁾

Controles

- Tamaño: se midieron el diámetro y altura de las tabletas haciendo uso de un vernier digital.
- Uniformidad de peso: se pesaron 10 tabletas haciendo uso de la balanza analítica.
- Desintegración: la prueba se realizó haciendo uso del equipo de desintegración, de acuerdo al procedimiento descrito por la USP. Se colocó la tableta en cada una de las canastillas y se controlaron los tiempos de desintegración a una temperatura de 37 °C.⁽¹³⁾

Valoración de los niveles de esteviósido en la tableta

La metodología analítica empleada es la sugerida por Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (2010). Se utilizó el equipo de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) marca DIONEX ULTIMATE 3000, del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos, equipado con inyección automática, compresor de aire y un detector UV/Vis. La solución estándar se preparó utilizando 50 mg de estándar disolviendo y enrasando con agua-acetonitrilo (7:3) a 50 ml. La solución de muestra se preparó utilizando 50-100 mg de muestra disolviendo y enrasando con agua-acetonitrilo (7:3) a 50 ml. A una longitud de onda de 210 nm se inyectó 5 µl de solución estándar y de muestra, utilizando una columna C18 (longitud: 250 mm; diámetro interior: 4,6 mm y tamaño de partícula: 5 µm) a temperatura de 40°C. Se utilizó una fase móvil de acetonitrilo y buffer de fosfato de sodio 10 mmol/l (pH 2.8) en proporción 32:68, Aplicando un flujo de 1 ml/min.⁽¹⁶⁾

El porcentaje del esteviósido en la muestra se calcula a partir de la fórmula:

$$\%X = \left(\frac{W_s}{W} \right) \cdot \left(\frac{f_x \cdot A_x}{A_s} \right) \cdot 100$$

Dónde:

%X = Porcentaje del esteviósido

W_s = Cantidad (mg), calculado sobre la sustancia seca de esteviósido en la solución estándar

W = Cantidad (mg), calculado sobre la sustancia seca de la muestra en la solución de la muestra

A_s = Área del pico del esteviósido de la solución estándar

A_x = Área del pico de X para la solución de muestra; y

f_x = Relación del peso de la fórmula de X para el peso de la fórmula de esteviósido: 1.00 (esteviósido)

Evaluación de la actividad hipoglucemiante

Se utilizó el Test de tolerancia oral a la glucosa, según CYTED 1995 y Arroyo 2012. ^(17,18)

Procedimiento:

- Se utilizó ratas machos cepa Holtzman con un peso promedio (210 ±10g).
- Se aclimataron por dos días en jaulas metálicas con viruta de madera; en condiciones estándares iluminación y temperatura para eliminar el efecto de estrés, con alimentos y agua a libertad.
- Las ratas en tratamiento fueron sometidas a un ayuno 15 horas antes del tratamiento.
- Se pesó, codificó y se realizó una aleatorización las ratas en grupos, teniendo en cuenta el siguiente diseño:

Tabla 02: Aleatorización de las ratas en distintos grupos de tratamiento.

GRUPOS	TRATAMIENTO	DOSIS
1	Suero Fisiológico	2 ml/kg
2	Glucosa	2000 mg/kg
3	Glucosa + Glibenclamida	50 mg/kg
4	Glucosa + Insulina	4 UI/kg
5	Glucosa + Tableta de <i>Stevia</i>	100 mg/ kg

- Se determinó el nivel de glucosa basal en cada uno de los animales para lo cual se tomó la muestra de sangre de la cola con una lanceta, descartando la primera gota, utilizando el glucómetro digital.
- El producto evaluado, la insulina y la glibenclamida se disolvió en agua destilada y se administró inmediatamente después de la glucosa por vía oral, a excepción de la insulina por vía subcutánea.
- El tratamiento se administró por vía oral a los grupos correspondientes. Paralelamente se administró glucosa por vía intraperitoneal en dosis de 200 mg/kg las medidas de la glucosa se hicieron antes de iniciar los tratamiento, 1, 2 y 4 horas después de la administración de glucosa. ^(17,18)

Se graficó los niveles de glucosa a diferentes tiempos y se calculó el área bajo la curva de niveles plasmáticos, utilizando el método de los trapecios.

Método del trapecio: Consiste en aproximar el área bajo la curva $f(x)$ en el intervalo $[a, b]$ que contiene

los datos, mediante el área del trapecio rectángulo determinado por los puntos $(a,0)$, $(b,0)$, $(a, f(a))$ y $(b, f(b))$, tal y como muestra la figura 01:

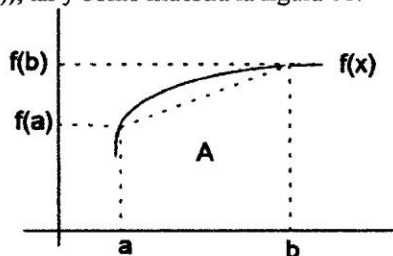


Figura 01: Área bajo la curva por el método de los trapecios.

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

$$A = \frac{1}{2}(f(a) + f(b)) \cdot (b - a)$$

Análisis de datos.

Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) al 95% de nivel de confianza. La significación estadística entre los grupos se evaluó a través de la prueba Duncan. Para determinar dichas pruebas se utilizó el paquete estadístico SPSS 21.

RESULTADOS

Tabla 03: Características fisicoquímicas del extracto atomizado de las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Ayacucho – 2014

CARACTERÍSTICAS	ENSAYOS	RESULTADOS
Organolépticos	Color	Beige
	Olor	Característico
	Sabor	Dulce
	Aspecto	Polvo fino homogéneo
Solubilidad	Agua	Muy Soluble
	Metanol	Poco Soluble
	Cloroformo	Insoluble
pH	Extracto Atomizado al 5 %	5,70
	Humedad	Gravimétrico
Cenizas	Gravimétrico	4,66%
Rendimiento		12,5%

Tabla 04: Metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado de la *Stevia rebaudiana* Bertoni. Ayacucho – 2014

	ENSAYOS	RESULTADOS	OBSERVACIONES
ALCALOIDES	Dragendorff	++	Turbidez definida
	Mayer	-	No presenta
	Wagner	++	Turbidez definida
FLAVONOIDES	Shinoda	+	Fase amilica coloreada
FENOLAS Y/O TANINOS	Cloruro férrico	+++	Coloración azul verdosa
TRITERPENOS Y/O	Liebermann-	+++	Coloración verde

ESTEROIDES	Burchard	oscura
LEYENDA:		
(-)	: Ausente	
(+)	: Escasa	
(++)	: Buena	
(+++)	: Excelente	

Tabla 05: Formulación de una tableta hipoglucemiante elaborada a base del extracto atomizado de la *Stevia rebaudiana* Bertoni. Ayacucho – 2014

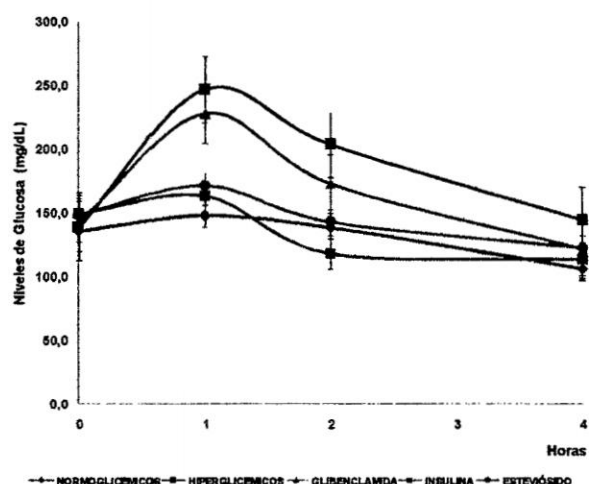
PRINCIPIO ACTIVO Y EXCIPIENTES	Porcentaje (%)
Extracto atomizado de <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni	48,89
Celulosa microcristalina (PH-101)	48,22
Carboximetil celulosa sódica	1,89
Dióxido de silicio	0,76
Estearato de magnesio	0,24

Tabla 06: Controles realizados a la tableta hipoglucemiante elaborada a base del extracto atomizado de la *Stevia rebaudiana* Bertoni. Ayacucho – 2014

CONTROLES		RESULTADOS
Tamaño (milímetros)	Diámetro	8,05
	Coefficiente de variación	0,000
	Altura	5,46
Uniformidad de Peso (miligramos)	Coefficiente de variación	0,001
	Media	205,02
	Desviación estándar	1,103
Prueba de Desintegración (minutos)	Coefficiente de variación	1,217
	Media	14,97
	Desviación estándar	0,048

Tabla 07: Valoración por HPLC de los niveles de esteviósido presentes en cada tableta de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Ayacucho – 2014

	Tiempo de Retención (min)	Área	% Esteviósido	Concentración/tableta (mg)
Estándar (56,73%)	8,873	16,057		
Muestra	9,040	0,329	2,33	4,77



Fuente: Tabla N° 08

Figura 02: Variación de los niveles medios de glucosa de los tratamientos en función del tiempo. Ayacucho – 2014

Tabla 08: Prueba de Duncan ($p < 0,05$) del área bajo la curva de niveles plasmáticos de glucosa de los distintos tratamientos. Ayacucho – 2014

Grupos	N	Subconjunto para alfa = 0,05	
		1	2
Insulina	4	185,8125	
Normoglicémicos	4	193,3750	
<i>Stevia rebaudiana</i>	4	210,6875	
Glibenclámda	4	247,4375	247,4375
Hiperglicémicos	4		286,2500
Sig.		,053	,175

DISCUSIÓN

Las hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni fueron recolectadas y seleccionadas del Valle de los Ríos Apurímac, Ene y Mantaro (VRAEM), comunidad de Palestina Baja del Distrito de Kimbiri, Provincia de La Convención, Departamento de Cusco. Para la obtención del extracto atomizado se siguió el procedimiento descrito por Razo⁽²⁾. La Tabla 03 muestra un porcentaje de rendimiento de 12,56 %, es decir de 1 kg de hojas se obtiene 125,6 g de extracto atomizado, resultado menor a la obtenida por Razo⁽²⁾. Esta variación podría ser debido al lugar de procedencia de la *Stevia rebaudiana* Bertoni, esta planta se cultiva a temperaturas entre los 20 y 25 °C, crece entre los 500 y 1600 m.s.n.m., su hábitat es en zonas con mucha luz solar pero poco caliente.

Las características fisicoquímicas del extracto atomizado que muestra la Tabla 03, presentan características organolépticas como un olor característico, sabor dulce y de aspecto polvo fino homogéneo, específicos para los extractos atomizados de *Stevia rebaudiana* Bertoni, mientras que el color beige difiere de los obtenidos por Razo⁽²⁾, debido al proceso de ultrafiltración utilizado. El extracto atomizado es muy soluble en agua, poco soluble en metanol y prácticamente insoluble en cloroformo. El pH igual a 5,70 ligeramente ácido, la humedad igual a 3,57 % menor a la obtenida por Razo⁽²⁾, valor que se encuentra dentro de las especificaciones, pues un exceso de humedad puede provocar crecimiento microbiano o hidrólisis de algunos metabolitos como manifiesta Miranda⁽¹⁴⁾ y Sharapin⁽¹³⁾. Las cenizas totales igual a 4,66 % mayor a la obtenida por Razo⁽³⁾, posiblemente debido a las materias extrañas principalmente suelo y arena que se adhieren a superficie de las hojas.

En la tabla 04 observamos los metabolitos secundarios presentes en el extracto atomizado como: alcaloides, flavonoides, fenoles, taninos, triterpenos y esteroides; corroborados por Bravo⁽²⁰⁾. Demostrándonos que en el proceso de secado por atomización no se pierden los metabolitos secundarios responsables del efecto farmacológico, específicamente los diterpenos, que muchos estudios reportan como el responsable del efecto hipoglucemiante.

Trillo⁽⁹⁾ nos manifiesta que un estudio de formulación debe ir precedido del conocimiento de determinadas propiedades físicas, químicas y biofarmacéuticas del principio activo y la influencia sobre éstas de los excipientes y proceso tecnológico, para conseguir tres cualidades fundamentales del medicamento: estabilidad, seguridad y eficacia. Así mismo González⁽²¹⁾ expresa que la elaboración de un comprimido por el método de la compresión directa presenta algunos inconvenientes potenciales, como tendencia a la dureza elevada y a la adherencia, tiempo de disgregación excesivo y problemas asociados al flujo irregular. En el presente estudio esta situación se agrava debido a la higroscopicidad inherente a los extractos atomizados y a la cantidad de extracto añadida. Las medidas utilizadas para contrarrestar dichos problemas en la elaboración de tabletas a base del extracto atomizado *Stevia rebaudiana* Bertoni fue el empleo de coadyuvantes derivados de la celulosa en el proceso por compresión directa.

Tomando como referencia la fórmula propuesta por González⁽²¹⁾ y después de elaborar varios pilotos y realizándolos los controles respectivos, se llegó a

una fórmula final única tal como muestra la Tabla 05, donde podemos observar a la celulosa microcristalina (PH-101) como diluyente que le concede a las tabletas buenas características en la dureza, friabilidad y desintegración, a la carboximetil celulosa sódica que facilita la desintegración o disgregación de la tableta, el dióxido de silicio como deslizantes que reducen la fricción en la etapa de compresión entre las partículas y el estearato de magnesio como antiadherente evitando que la tableta se adhiera a la matriz o a los punzones.

Seguidamente se realizaron controles a fin de garantizar la eficacia y seguridad del medicamento. Como podemos ver en la Tabla 06, las tabletas cumplen con los estándares permitidos al presentar una uniformidad en el diámetro y altura, ya que el rango de variación permitido es de $\pm 5\%$, así mismo estas dimensiones físicas del material junto con las densidades de los excipientes determinarán su peso. Con respecto a la uniformidad de pesos se han pesado 20 tabletas tomadas al azar, obteniendo un promedio de 205,02 mg y una variación de 1,217, cumpliendo con los estándares permitidos ya que la variación permitida es de $\pm 5\%$ según la USP 35⁽²²⁾, así mismo, ningún peso individual se desvía del peso promedio en más o menos de la desviación porcentual permitida. La desintegración nos sirve como guía en la preparación de una fórmula óptima y en las pruebas de control de proceso para asegurar la uniformidad de lote a lote, el tiempo que tardó en desintegrarse como se observa en la Tabla 06 fue de 14,97 minutos, igual que los controles anteriores cumplen con los estándares permitidos, ya que la especificación de una tableta no recubierta es de 5 a 30 minutos según la USP 35⁽²²⁾.

Para la valoración de los niveles de esteviósido en la tableta, se tomó como referencia la técnica establecida en la 73^a reunión del Comité de Expertos de la FAO / OMS en Aditivos Alimentarios.¹⁶ Los niveles de esteviósido es de 2,33% y una concentración de 4,77 mg por cada tableta, como se puede observar en la Tabla 07, los niveles de esteviósido soy muy bajos en comparación a lo mencionado por Peña⁽¹³⁾ y Jiménez⁽²³⁾ quien manifiesta que existe una gran variabilidad para los contenidos de esteviósido y rebaudiósido A observándose valores de 0 -21% para esteviósido, y 0 a 12% para rebaudiósido A. Dicha variabilidad se debe como menciona Jiménez⁽²³⁾, a que la estevia se reproduce sexualmente por fecundación cruzada (alogama) por lo que no debe extrañar la diversidad fenotípica y genotípica que se observa en plantas que crecen espontáneamente, así como en cultivos comerciales,

ambas características son gobernadas por genes de herencia cuantitativa por lo que es de esperar influencias de factores ambientales sobre los mismos (época de cosecha, pos cosecha, temperatura, humedad, etc.)

El WHO⁽¹⁶⁾ refiere que la diabetes mellitus como un desorden metabólico de múltiples etiologías caracterizado por hiperglicemia crónica con disturbios en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos resultando en defectos de la secreción de insulina. El diagnóstico clínico de la diabetes es frecuentemente indicado por la presencia de síntomas tales como poliuria, polidipsia y pérdida de peso corporal, y es confirmado por la medida de niveles anormales de glicemia. El WHO⁽¹⁶⁾ establece una glicemia plasmática venosa (GPV) $\geq 7,0$ mmol/l (≥ 126 mg/dl) previo ayuno o ausencia de ingesta calórica, o de una glicemia plasmática venosa (GPV) $\geq 11,1$ mmol/l (≥ 200 mg/dl) a las dos horas después de la ingesta de una carga de 75 g de glucosa oral (test de tolerancia oral a la glucosa).

El modelo experimental para determinar el efecto hipoglicemiante fue el Test de tolerancia oral a la glucosa, propuesta por CYTED⁽¹⁸⁾ y Arroyo⁽¹⁷⁾. La Figura 02 muestra los niveles de glicemia en función del tiempo de los distintos tratamientos, igualmente la Tabla N° 08 presenta los valores descriptivos de los niveles de glicemia, donde podemos observar que la hiperglicemia (≥ 200 mg/dl) perdura por más de dos horas después de la ingesta de 2000 mg/kg de glucosa por vía oral (grupo hiperglicémicos). Así mismo podemos presenciar que la tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni, reduce los niveles de glicemia a las dos horas (142 ± 39 mg/dl) en comparación al control glibenclamida (173 ± 37 mg/dl).

Jeppesen⁽⁶⁾ y Gregersen⁽⁷⁾, determinaron el efecto Antihiper glucémico de la *Stevia rebaudiana* Bertoni, utilizando el área bajo la curva de los niveles de glicemia. De igual forma el Anexo 02 muestra los valores descriptivos del área bajo la curva de niveles plasmáticos de glucosa de los distintos tratamientos, para determinar el área bajo la curva se utilizó el método de los trapecios, observando que la tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni presenta un área de $210,68 \pm 57$ menor en comparación del control glibenclamida con un área de $247,43 \pm 33$.

Para el análisis de datos se utilizó el programa SPSS versión 21; el análisis de Varianza de las áreas bajo la curva de niveles glicemia de los tratamientos presenta un valor de significancia $p = 0.012$ como

muestra el Anexo 03, es decir que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los tratamientos a un nivel de confianza del 95%.

Seguidamente se realizó las comparaciones múltiples de las medias de las áreas bajo la curva de niveles de glicemia de los distintos tratamientos utilizando la prueba de Duncan. La Tabla 08 muestra la clasificación de los tratamientos basado en el grado de parecido existente entre sus medias, donde podemos observar a los grupos de tratamiento como la Insulina, Normoglicémicos, *Stevia rebaudiana* y Glibenclamida que no difieren significativamente, clasificados en el subconjunto 1, es decir tienen estadísticamente el mismo comportamiento. El subconjunto 2 formado por el grupo de tratamiento de Glibenclamida e Hiperglicémicos estadísticamente tiene el mismo comportamiento, pero difieren con los demás grupos de tratamientos.

Todos estos resultados nos conducen a afirmar que la tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni, tiene efecto hipoglicemiante estadísticamente semejante al grupo tratado con Insulina y Glibenclamida, esta afirmación es sustentada por la buenas características fisicoquímicas de la tableta, como el menor tiempo desintegración y la presencia del esteviósido y rebaudiósido A en la tableta.

Muchos estudios reportaron reducciones estadísticamente significativas del efecto hipoglicemiante atribuyéndosele principalmente al esteviósido, metabolito presente en la *Stevia rebaudiana* Bertoni como refiere Jeppesen⁽⁶⁾ y Gregersen⁽⁷⁾. El presente estudio refuerza tal hipótesis pues se ha demostrado que la tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni contiene el esteviósido y tiene efecto hipoglicemiante.

Jeppesen⁽⁶⁾ investigaron profundamente al esteviósido como metabolito activo en el efecto hipoglicemiante, para lo cual utilizaron las líneas celulares beta INS-1 de los islotes de Langerhans del ratón, esclareciendo el posible mecanismo de acción, pues el esteviósido estimula la secreción de la insulina vía una acción directa en las células beta pancreática.

Conclusión: La tableta elaborada a base del extracto atomizado de *Stevia rebaudiana* Bertoni tiene efecto hipoglicemiante.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodríguez J y Sáenz M. Obtención de un edulcorante natural proveniente de la *stevia (stevia rebaudiana bertoni)*. Universidad Earth,

- Costa Rica [Internet] 2005 [acceso 12 de Setiembre del 2013]. Disponible en: <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/dpg/200533.pdf>
2. Stevia Canada. 2004. Learning From Ancient Wisdom (en línea). Canadá, [Internet] 2005 [acceso 12 de Setiembre del 2013]. Disponible en: <http://www.steviacanada.com/>
 3. Peña N. La *stevia rebaudiana* y su propiedad hipoglicemiante en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 realizado en el Instituto de Gastroenterología Boliviano Japonés. Universidad Mayor de San Andrés. Bolivia [Internet] 2006 [acceso 12 de Setiembre del 2013]. Disponible en: <http://bibliotecadigital.umsa.bo:8080/rddu/bitstream/123456789/520/1/TN954.pdf>
 4. Sociedad Latinoamericana de Nefrología e Hipertensión. Stevia peruana, lo nuevo para la diabetes, hipertensión y obesidad. (en línea). Sao Paulo, BR. s.e. [Internet] 2005 [acceso 12 de Setiembre del 2013]. Disponible en: http://www.slanh.org/noticias/noticias_detalhes.asp?noticia_id=49
 5. UVA (Unión Vegetariana Argentina). Stevia (en línea). Buenos Aires, [Internet] 2003 [acceso 12 de Setiembre del 2013] Disponible en: <http://www.uva.org.ar/stevia.html>
 6. Jeppesen P, Gregersen S, Rolfsen S, Jepsen M, Colombo M, Agger A, Xiao J, Kruhøffer M, Orntoft T y Hermansen K. Antihyperglycemic and blood pressure-reducing effects of stevioside in the diabetic Goto-Kakizaki rat. *Metabolism* [Internet] 2003 [acceso 12 de Setiembre del 2013]; 52 (3): 372-378. Disponible en: [http://www.steviainfo.com/research_articles/Jeppesen%20et%20al%20\(2003\).pdf](http://www.steviainfo.com/research_articles/Jeppesen%20et%20al%20(2003).pdf)
 7. Gregersen S, Jeppesen P, Holst J y Hermansen K. Antihyperglycemic Effects of Stevioside in Type 2 Diabetic Subjects. *Metabolism* [Internet] 2004 [acceso 12 de Setiembre del 2013]; 53 (1): 73-76. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026049503003871>
 8. Brunton L, Lazo J y Parker K. Goodman y Gillman. Las bases Farmacológicas de la terapéutica, 11a edición. McGraw-Hill Interamericana - México. 2006
 9. Trillo F. Tratado de Farmacia Galénica. Edit. Luzán S.A. Primera edición. Madrid. 1993.
 10. Vila J. Tecnología Farmacéutica. Volumen II (Formas Farmacéuticas). 1ra Reimpresión. Edit. Síntesis S.A. Madrid. 2001
 11. Aulton M. Farmacia. La ciencia del Diseño de las Formas Farmacéuticas. Edit. Elsevier. 2da Edición. 2004
 12. Razo E. Diseño de una planta piloto para la industrialización de *stevia* en la Comunidad Cueva de los Monos, Cantón Sacha, Provincia de Orellana. [tesis]. Quito: Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria de la Escuela Politécnica Nacional; 2011.
 13. Sharapin N. Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Convenio Andrés Bello (CAB) y el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología (CYTED). 2000
 14. Miranda M. Métodos de Análisis de Drogas y Extractos. Edit. Instituto de Farmacia y Alimentos – Universidad de la Habana. Habana – Cuba. 2002
 15. Miranda M, Cuellar A. Manual de Practicas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales. Edit. Instituto de Farmacia y Alimentos – Universidad de la Habana. Habana – Cuba. 2000
 16. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Compendium of Food Additive Specifications. [Internet] Roma: FAO; 2010 [acceso 01 de Abril del 2014]; Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/013/i1782e/i1782e.pdf>
 17. Arroyo J y Cisneros C. Modelos Experimentales de Investigación Farmacológica. 1ra Edición. Lima: Edit. ASDIMOR S.A.C.; 2012.
 18. CYTED. Manual de Técnicas de Investigación. Programa Iberoamericano de Ciencia y tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-1; Búsqueda de Principios Activos en Plantas de la Región. 1995
 19. Hernandez R, Fernández C y Baptista L. Metodología de la Investigación Científica. 4ta Edición. México: McGraw-Hill Interamericana; 2006.
 20. Bravo A, Ale B, Rivera C, Huamán M, Delmás R, Rodríguez B et al. Caracterización Química de la *Stevia Rebaudiana*. *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* [Internet] 2009 [acceso 12 de Setiembre del 2013]; 12(2): 5-8 Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/publicaciones/ing_quimica/v12_n2/pdf/a01v12.pdf
 21. González G y Schmidt P. Obtención de Comprimidos conteniendo Extractos Atomizados de Flor de la Pasión (*Passiflora incarnata* L.). *Acta Farm. Bonaerense.* [Internet] 1995 [acceso 01 de Abril del 2014]; 14 (3): 173-80. Disponible en:

http://www.latamjpharm.org/resumenes/14/3/LAJOP_14_3_1_3.pdf

22. The Official Compendia of Standards USP 35 NF 30. The United States Pharmacopoeia. The National Formulary. Convention Inc. 2012.
23. Jiménez T, Cabrera G, Álvarez E y Gómez F. Evaluación del contenido de esteviósido y rebaudiósido A en una población de *Stevia rebaudiana Bertoni* (kaâ heê) cultivada comercialmente. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud [Internet] 2010 [acceso 12 Setiembre del 2013]; 6(1):47-53. Disponible en: http://scielo.iics.una.py/scielo.php?pid=S1812-95282010000100007&script=sci_arttext
24. World Health Organization. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia. [Internet] Geneva: WHO; 2006 [acceso 01 de Abril del 2014]; Disponible en:

<http://www.fao.org/docrep/013/i1782e/i1782e.pdf>

25. Jeppesen P, Gregersen S, Poulsen C y Hermansen K. Stevioside acts directly on pancreatic beta cells to secrete insulin: actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate-sensitive K^{\pm} channel activity. Metabolism [Internet] 2000 [acceso 01 de Abril del 2014]; 49 (2):208-14. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10690946>