



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**Evaluación del efecto antioxidante e hipoglicemiante
del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea
tecunarium* “abuta” en ratones albinos con
hiperglicemia inducida por aloxano**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica

AUTOR

Camila Maritza ESPÍNDOLA CÁCERES

Johanna Carolina CHAMBI CHOQUE

ASESOR

Francisco Javier María RAMIREZ CRUZ

Lima, Perú

2018



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Espíndola C. Evaluación del efecto antioxidante e hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* “abuta” en ratones albinos con hiperglicemia inducida por aloxano. [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2018.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



501

261.

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

2117
767

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

Evaluación del Efecto Antioxidante e Hipoglicemiante del Extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* "Abuta" en ratones albinos con hiperglicemia inducida por Aloxano

Que presentan las Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

CAMILA MARITZA ESPÍNDOLA CÁCERES Y
JOHANNA CAROLINA CHAMBI CHOQUE

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

Diecisiete (17)

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 18 de abril de 2018

Gloria Clotilde Gordillo Rocha
 Mg. Gloria Clotilde Gordillo Rocha
 Presidente

Margarita Eva Lobatón Erazo
 Mg. Margarita Eva Lobatón Erazo
 Miembro

José Ángel Mercedes Ortiz Rodríguez
 Med. José Ángel Mercedes Ortiz Rodríguez
 Miembro

Fritz Fedor Choquesillo Peña
 Q.F. Fritz Fedor Choquesillo Peña
 Miembro

FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú
 teléfonos: (511) 328-4737 / (511) 679-7000 anexo 4826 Ap. Postal 4559 – Lima 1
 e-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>



AGRADECIMIENTOS

Yo Camila Maritza dedico mi tesis a mis padres Walter Espíndola y Maritza Cáceres por acompañarme en todos mis momentos altos y bajos a lo largo de mi carrera estos 6 años disculpen si alguna vez pensaron en que los defraudaría sin embargo gracias por confiar en mis decisiones y ser mejor cada día ahora les agradezco por darme la oportunidad de la vida y estudiar, siempre ser una familia unida y confianza que todo paso que doy se los dedico.

Yo Johanna Carolina le doy gracias a mis padres Juan Chambi y Juana Choque por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado sobretodo con su ejemplo, su comprensión, por ser un soporte fundamental, por haberme dado la oportunidad de estudiar y cumplir mis sueños.

Un especial agradecimiento a la cátedra de farmacognosia por su apoyo incondicional a la Dra. Q.F. Bertha Jurado Texeira que nos acompaña desde el cielo y a nuestro Colega Jossimar Tarazona Huamaní, por su amistad brindada.

Un sincero agradecimiento a nuestro asesor de tesis Mg. Q.F. Francisco Javier María Ramirez por su tiempo, dedicación, darnos el empuje para culminar este proyecto de una vez, y sobre todo el cariño brindado, por ser nuestra guía para el inicio de una nueva etapa en nuestras vidas.



RESUMEN

El presente trabajo de investigación, es un estudio experimental, prospectivo y longitudinal, cuyo objetivo es determinar el efecto hipoglicemiante y antioxidante del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* “abuta”.

El estudio se realizó con treinta ratones albinos Balb C57 hembras, con peso promedio de 30 ± 5 g a los cuales se indujo hiperglicemia por administración intraperitoneal de aloxano mediante el método de Méndez modificado.^{1,2} Posteriormente se les administró el extracto hidroalcohólico de corteza de *Curarea tecunarium*, a dosis de 30 mg/kg, 50 mg/kg y 100 mg/kg y se comparó el efecto hipoglicemiante con la droga patrón glibenclamida 10 mg/Kg.

El estudio determinó que existe diferencia significativa entre los tres tratamientos de 100 mg/Kg, 50 mg/Kg y 30 mg/Kg de extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium*, asimismo se demostró que la dosis de 100 mg/Kg de extracto supera al efecto hipoglicemiante de glibenclamida.

La actividad antioxidante se determinó en las concentraciones de 300 ppm y 600 ppm del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* mediante el método de Brand-Williams (DPPH), comparando la actividad antioxidante de la “abuta” frente a la vitamina C, obteniendo como resultado 96% de actividad antioxidante.

Se corroboró las propiedades medicinales de la “abuta” como uso tradicional para el tratamiento de la diabetes, teniendo efecto hipoglicemiante y antioxidante.

Palabras claves: Abuta, hipoglicemiante, actividad antioxidante, aloxano.

ABSTRACT

The present work research is an experimental, prospective and longitudinal study, whose objective is to determine the hypoglycemic and antioxidant effect of the hydroalcoholic extract of the bark of *Curarea tecunarium* "abuta".

The study was carried out with 30 female Balb C57 albino mice, with an average weight of 30 ± 5 g, to which hyperglycemia was induced by intraperitoneal administration of alloxan by the modified Mendez method.^{1,2} Subsequently they were administered the hydroalcoholic extract of bark of *Curarea tecunarium*, at a dose of 30 mg/kg, 50 mg/kg and 100 mg / kg and the hypoglycemic effect was compared with the standard drug glibenclamide 10 mg/Kg .

The study determined that there is a significant difference between the three treatments of 100 mg/Kg, 50 mg/Kg and 30 mg/Kg of hydroalcoholic extract of *Curarea tecunarium*, also showed that the dose of 100 mg/Kg of extract exceeds the hypoglycemic effect of glibenclamide.

The antioxidant activity was determined in the concentrations of 300 ppm and 600 ppm of the hydroalcoholic extract of the bark of *Curarea tecunarium* by the Brand-Williams method (DPPH), comparing the antioxidant activity of "abuta" against vitamin C, obtaining as a result 96% of antioxidant activity.

The medicinal properties of "abuta" were corroborated as traditional use for the treatment of diabetes, having a hypoglycemic and antioxidant effect.

Key words: Abuta, hypoglycemic, antioxidant activity, alloxan.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

I.- INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 JUSTIFICACIÓN.....	1
1.2 OBJETIVO GENERAL.....	3
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
1.4 HIPÓTESIS.....	4
II.- GENERALIDADES.....	5
2.1 ANTECEDENTES.....	5
2.2 MARCO TEÓRICO.....	9
III.- PARTE EXPERIMENTAL.....	46
IV.- RESULTADOS.....	65
V.- DISCUSIONES.....	88
VI.- CONCLUSIONES.....	94
RECOMENDACIONES.....	95
VII.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	96
ANEXOS.....	108

I.- INTRODUCCIÓN

1. JUSTIFICACIÓN

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica, compleja, multifactorial caracterizada por hiperglicemia crónica debido al desorden metabólico por defectos de la secreción de la insulina, asociada a complicaciones a largo plazo sobre varios órganos; ojos, riñón, nervio, bazo sanguíneos, corazón.^{3,4,5}

Siendo los factores predisponentes congénitos y adquiridos, tales como glucotoxicidad, lipotoxicidad, depósitos de amilina y disminución de la masa celular beta pancreáticas.

La OMS considera a la diabetes como un problema de salud pública y en nuestro país constituye una de las enfermedades crónicas no transmisibles con un progresivo aumento en la prevalencia por inadecuado estilos de vida como obesidad, inactividad física, colesterol alto, consumo de tabaco y alcohol.^{3,6}

El manejo clínico y control de la diabetes a nivel de salud pública se convierte en un reto para cualquier sistema de salud por la complejidad y asociaciones de diversas patologías, por tal motivo los pacientes pueden recibir varios medicamentos (polifarmacia) y estos pueden interactuar entre sí, los cuales son un riesgo para el paciente. En un estudio de interacciones medicamentosas en la unidad de medicina interna del Hospital Universitario San Cecilio de Granada, España se evidenció posibles interacciones entre bloqueadores beta en pacientes con complicaciones cardíacas desencadenado por la diabetes.⁷

En los últimos años la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas, a partir de la medicina tradicional como una opción de mantenimiento, control y prevención de la salud hace uso de un gran número de especies vegetales.⁸

Se han registrado datos y observaciones por las comunidades indígenas de la región Iquitos, distrito del Río Mazán, provincia de Maynas, donde el uso de la corteza de *Curarea tecunarium*, conocido vulgarmente como “abuta”, se utiliza para el tratamiento de la diabetes. La abuta perteneciente a la familia Menispermaceae contiene generalmente alcaloides, terpenoides, butenólidos y flavonoides.^{9,10}

El estudio tiene por finalidad corroborar la utilización de *Curarea tecunarium*, para el tratamiento de la diabetes. Se aporta la dosis óptima resultante del ensayo y los metabolitos importantes que se relacionan con la actividad hipoglicemiante y antioxidante.

1.2. OBJETIVO GENERAL:

- ✓ Determinar el efecto hipoglicemiante y antioxidante del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium*.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- ✓ Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico obtenido de la corteza de *Curarea tecunarium*, "abuta".
- ✓ Cuantificar los fenoles totales presentes en el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium*, "abuta".
- ✓ Determinar el efecto antioxidante mediante el ensayo de captación del radical 2,2-difenilpicril-3-hidracil (DPPH).
- ✓ Determinar el efecto hipoglicemiante en ratones albinos cepa Balb C57, al administrar el extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium* y glibenclamida en tiempos de 0.5 h, 1h, 1.5h, 2h, 24h, y 4 días.
- ✓ Determinar los efectos sobre los órganos involucrados, como hígado y páncreas.

1.4. HIPÓTESIS

¿El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* tiene efecto antioxidante y efecto hipoglicemiante?

II.- GENERALIDADES

2.1 ANTECEDENTES

En el Perú; la diabetes mellitus es una enfermedad que afecta a casi dos millones de personas y es la décimo quinta causa de mortalidad, según informe de la Oficina de Estadística e Informática del Ministerio de Salud del año 2003.¹¹

El extracto de *Curarea tecunarium* Bameby & Krukoff, al ser administrado a pacientes diagnosticados como diabéticos tipo 2, con un promedio de edad de 58 años, que continuaron con sus hábitos y tratamiento habitual en los últimos tres meses, mostró un notable efecto hipoglicemiante al reducir los niveles de glucosa plasmática en 48% luego de 60 días de administración a una dosis de 300 mg de extracto de la corteza de *Curarea tecunarium*.¹²

Abuta plus es una fórmula que contiene tres hierbas de América del Sur *Cymbopogon citratus*, *Geranium dalsianum* y corteza de *Curarea tecunarium*, siendo esta última no estudiada científicamente, solo fue introducida por conocimientos tradicionales registrados en algunas partes de la selva del Perú.

Whole World Botanicals Inc realizó un estudio a doble ciego, controlado con un grupo placebo que incluyó a 20 pacientes, que tomaban medicación oral para la diabetes tipo 2. Se les pidió continuar con su medicación y previo a ello tomaran una cápsula de la fórmula Abuta plus dos veces al día con el desayuno y el almuerzo. Los pacientes en el estudio tenían niveles de glicemia de entre 180 mg/dL y 270 mg/dL. Al final de las ocho semanas del estudio todos los pacientes estaban dentro de los límites normales de nivel de glicemia, que van desde 70 mg/dL a 120 mg/dL. Sin embargo hasta el momento no se han publicado los resultados del estudio, se presenta sólo un resumen.¹³

Curarea tecunarium Barneby & Krukoff pertenece a la familia Menispermaceae. Liana aplanada que se encuentra en los departamentos Amazonas, Loreto y Ucayali. Entre sus usos tradicionales más importantes está el ser un afrodisiaco, antianémico, anticonceptivo, dismenorreico, como diurético, contra el reumatismo y contra la diabetes. Contiene homoschatolina, imeluteina, imenina, imerubina, nor-rufescina y rufescina.¹⁴

Según los resultados obtenidos del extracto acuoso liofilizado de *Abuta rufescens*, a dosis de 14,6 mg/Kg/pc y 29,36 mg/Kg/pc, disminuyen los niveles séricos de glucosa en 78.16% y 80.74% respectivamente, encontrándose resultados estadísticamente significativos ($p < 0.05$) de la glicemia, comparado con el basal hiperglicémico, además se encontraron diferencias estadísticamente significativas con los grupos controles (suero fisiológico y glibenclamida).

Estos resultados son índices de la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso liofilizado de *Abuta rufescens*, sobre la diabetes mellitus tipo 2.¹⁵

Se determinó el efecto hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de *Abuta rufescens* a dosis de 6,53 mg/Kg.; 13,06 mg/Kg. p.c. y *Notholaena nivea* a dosis de 5,4 mg/Kg.; 10,72 mg/Kg. p.c. sobre la hiperglicemia inducida en ratas albinas machos cepa Holtzmann mediante el estudio experimental. Según los resultados el extracto acuoso liofilizado de *Abuta rufescens* disminuye los niveles de glucosa en 60 % y *Notholaena nivea* disminuye los niveles de glucosa en 62%. Encontrándose disminución y aumento estadístico significativo ($p < 0.05$) de la glicemia e insulina respectivamente, comparado con el basal hiperglicémico y los grupos controles (positivo y negativo). Dando como mejores resultados

hipoglicémicos a *Abuta rufescens* a dosis de 6,53 mg/Kg. y a *Notholaena nívea* a dosis de 10,72 mg/Kg.¹⁶

Zavaleta J. y Gerstein W., realizaron una investigación usando la corteza de la planta selvática conocida como barbasco, lograron reducir los niveles de glicemia en 40 ratas diabéticas, manifestaron que el objetivo del estudio fue determinar el efecto que produce la cocción de esta corteza, probada en 40 roedores machos de 5 meses de la cepa Holtzmann, a quienes se les administró por 150 días diferentes dosis de corteza de *Curarea tecunarium*. Al concluir la investigación, los altos niveles de azúcar presente en la sangre de los animales fueron controlados, indicaron que la planta tiene un efecto similar a la glibenclamida (un antidiabético muy popular) y no presenta resultados tóxicos.¹⁷

Los alcaloides de la familia tropical, Menispermaceae son en su mayoría 1-bencilisoquinolina o compuestos teóricamente derivados de tales precursores.

Los alcaloides encontrados en *Curarea* son candicusinc, curinc, isochondrodendrinc, limacina, liinacusina, limacinc-2p-N-óxido, limacina-2' P-óxido, krukovina.

Desde su descubrimiento, este compuesto se utilizó como un relajante muscular en la anestesia quirúrgica. Los principios activos se encuentran en maderas madre y raíces.¹⁸

La quercetina es uno de los flavonoides más comunes y está presente en una amplia gama de productos alimenticios, tales como verduras, frutas y té. Los flavonoides, incluyendo quercetina, se ha sugerido para prevenir la enfermedad cardiovascular y otras enfermedades relacionadas con el estilo de vida, previniendo la inhibición de la peroxidación de lípidos, y otras acciones

antioxidantes. La quercetina, posiblemente, tiene el potencial de prevenir las enfermedades relacionadas con estilos de vida, aunque se sospecha que un exceso de los flavonoides puede actuar como prooxidante o un mutágeno. Sin embargo, la quercetina sólo se ha demostrado para reducir los niveles de algunos marcadores de estrés oxidativo tales como tiobarbitúrico sustancias reactivas a ácido (TBARS) y malondialdehído (MDA) y las actividades de las enzimas antioxidantes tales como superóxido dismutasa (SOD) y la catalasa, en el plasma, el hígado, los riñones y el páncreas.¹⁹

Se destaca en la familia Menispermaceae la presencia de alcaloides, terpenoides, butenolidos y flavonoides. Entre los usos etnomedicinales podemos mencionar: diabetes, malaria, cólera, dolores, hipertensión, desórdenes uterinos, infección urinaria, entre otras.²⁰

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 *Curarea tecunarium*

Conocida también como “abuta” es una planta nativa de origen amazónico, utilizada para tratar desordenes glicémicos en pacientes con diabetes como práctica cotidiana, según conocimientos de pobladores indígenas. Se le atribuye también propiedades analgésica, antiinfecciosa urinaria, anticonceptiva y antianémica.^{9,21,22}

2.2.2 La Clasificación taxonómica es la siguiente:

Tabla N°1: Clasificación taxonómica

DIVISIÓN	MAGNOLIOPHYTA
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Magnoliidae
Orden	Ranunculales
Familia	Menispermaceae
Género	<i>Curarea</i>
Especie	<i>Curarea tecunarium</i> Barneby & Krukoff

Fuente: Museo de Historia Natural



Fig. N°1: Corteza (izquierda) y hojas de *Curarea tecunarium* (derecha).

2.2.3 Nombres vulgares

“Abuta“, “barbasco.”⁹

2.2.4 Distribución geográfica

La especie *Curarea tecunarium* se encuentra en las regiones de Amazonas, Huánuco, Loreto, Ucayali.²³

Habita a una altura de 0 a 1.000 msnm con presencia de precipitación pluvial de 1.150 a 3.400 mm/año, soportando temperaturas entre 22,5° a 27° C. desarrollandose en suelo arenoso o arcilloso, de escasa o abundante materia orgánica.⁹

2.2.5 Descripción botánica

Curarea tecunarium fue descrita por Barneby & Krukoff en 1971.

“Liana robusta, aplanada, con ramas y hojas glabras, ovado-oblongas u oblanceoladas, acuminadas o cuspidadas, limbo verde pálido; de 10 a 20 centímetros de longitud y de 6 a 12 de ancho; nervaduras palmeadas, flor con inflorescencia de 2 a 8 centímetros de longitud. Fruto drupa elipsoide, glabro, amarillento de 2 a 2,5 centímetros de longitud.”⁹

Por otro lado la recolectora R. Vásquez Martínez describe a la abuta como una liana de flores amarillentas, cauliforas.²⁴



Fig. N°2: Hojas de *Curarea tecunarium*



Fig. N°3: Hojas de *Curarea tecunarium* y fruto

Fuente: The Field Museum, 1400 S. Lake Shore Drive, Chicago, IL
60605 U.S.A.

2.2.6 Composición química

Estudios realizados en la familia menispermacea del género curarea revelan la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, flavonas, esteroides y triterpenoides algunas proantocianidinas, alcaloides, candicusina, curina, isochondrodendrina, limacina, limacusina, limacina-2'B-N-óxido, limacina-2'B-N-óxido, krukovina. Además se han identificado gran cantidad de alcaloides en *Curarea tecunarium* como la 1-bencilisoquinolina. no se detectó saponinas. Sin embargo, la bisbenciltetrahidroisoquinolina puede confundirse con saponinas en la prueba de espuma.¹⁸

2.2.7 Usos en la medicina tradicional

Entre sus usos más importantes tenemos: como afrodisíaco, antianémico, anticonceptivo, contra la diabetes, dismenorrea, como diurético, contra el dolor de muelas, para evitar la hemorragia, en infecciones urinarias y contra el reumatismo. ⁷



Fig. N°4: Corteza de *Curarea tecunarium*

Tabla N°2: Usos tradicionales de *Curarea tecunarium*

Afrodisíaco	Tallo y raíz, fresco, macerado por 7 días.
Antianémico	Hervir tallo limpio y fresco en agua
Anticonceptivo	Macerar tallo cortado en trozos
Diabetes	Corteza fresca, hervida macerada por 3 ó 4 días.
Dismenorrea	Corteza fresca, en agua hervida, reposar
Diurético	Tallos y un puñado de hojas.
Dolor de muelas	Hervir tallos en agua.
Evitar la hemorragia	Tallos en agua, hervir
Infecciones urinarias	Tallos en agua, hervir por 10 minutos, filtrar.
Reumatismo	Tallo en aguardiente macerar.

Fuente: Elsa Rengifo Salgado Las Ramas Floridas del Bosque Experiencia en el Manejo de plantas medicinales Amazónicas.⁹

Otras especies del género *Curarea*.

Dentro de la familia menispermacea se encuentran las especies del género *Curarea* tales como *Curarea candicans*, *Curarea crassa*, *Curarea cuatrecasasii*, *Curarea toxicofera*.¹⁸

Curarea candicans. Arbusto trepador vigoroso de la selva, muy utilizada por los nativos en la fabricación de la flechas para caza de animales. También tiene propiedades medicinales. La raíz contiene alcaloides tóxicos. Se utiliza en la

preparación de curare, un conocido veneno en sudamérica (Brasil, Perú, Venezuela, las Guyanas). Habitat Bosque pluvial de tierras altas

Entre sus usos medicinales es considerado como un diurético contiene una cantidad de alcaloides que incluyen la cironina, la beheerina y la misobeerina

En asociación con otras plantas se usa como un tónico en el tratamiento del dolor. La savia es utilizada para el tratamiento del dolor de oído. La madera se usa como afrodisíaco y para el tratamiento de la malaria y las úlceras.²⁵



Fig. N°5: Corteza de *Curarea tecunarium*

Fuente: Mutis, J.C., Drawings of the Royal Botanical Expedition to the new Kingdom of Granada, t. 1907 (1783-1816) [S.R. Blanco]

Curarea toxicofera. Arbusto lianoide. Hojas alternas, pecioladas, ovado-elípticas. Inflorescencia paniculada. Flores unisexuales. Flores masculinas con 6 sépalos carnosos. Flores femeninas con 3 pétalos. Gineceo de 3 carpelos separados. Fruto elevado por un carpóforo. *Curarea toxicofera* tiene un alto contenido de alcaloides y que forma parte para la preparación de algunos curares preparados en varias zonas de Perú y Brasil. Se empleó en 1942 como relajante muscular en actos quirúrgicos.²⁶



Fig. N°6: Hoja y fruto de *Curarea toxicofera*



Fig. N°7: Hoja de *Curarea toxicofera*

Fuente: The Field Museum, 1400 S. Lake Shore Drive, Chicago, IL 60605

U.S.A. (312) 922-9410

2.2.8 Diabetes

La diabetes mellitus es una enfermedad endocrino–metabólica que se caracteriza por aumento de la glicemia y glucosuria de forma crónica debido a alteraciones en la secreción de insulina y alteraciones en la acción de la misma, es decir insensibilidad a su efecto denominado insulinoresistencia.^{27,28}

La diabetes es una enfermedad predominantemente del metabolismo de la glucosa y que a largo plazo lleva a un estado patológico de aterogénesis acelerada.

Las células encargadas de secretar insulina son las células beta de los islotes de Langerhans (figura N°8) en respuesta de incremento en la glucemia en la regulación fisiológica no alterada.²⁹

Tabla N°3: Células de los islotes pancreáticos y sus productos de secreción:

Tipos celulares	Porcentaje aproximado de masa de islotes	Productos secretados
Células A (α)	20	Glucagón, proglucagón
Células B (β)	75	Insulina, Péptido C, proinsulina, amilina
Células D (δ)	3 a 4	Somatostatina
Células F (Célula PP)	<2	Polipéptido pancreático, (PP)

Fuente: Bertram G. Katzung Farmacología básica y clínica.³⁰

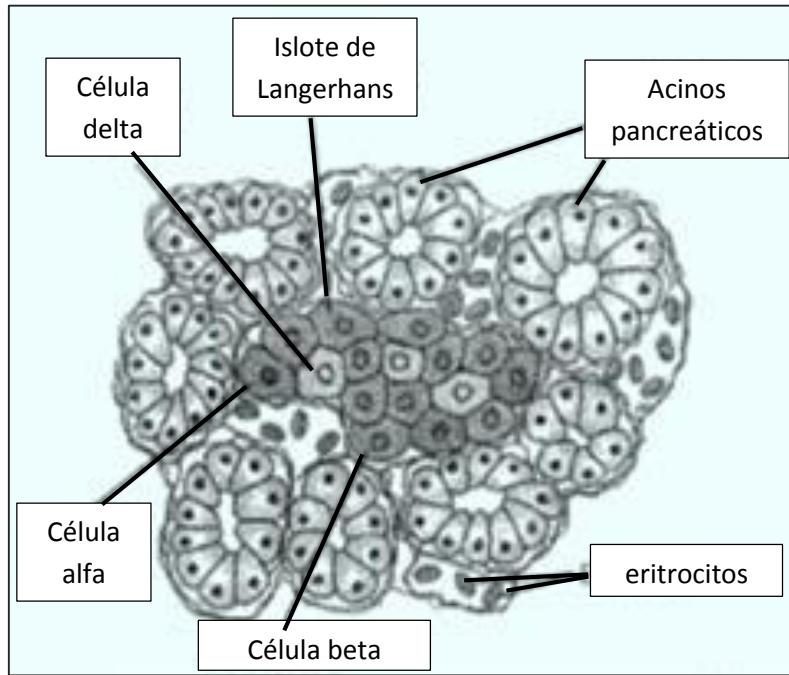


Fig. N°8: El páncreas endocrino y exocrino. (Guyton-Hall: Tratado de Fisiología Médica).³¹

La insulina

La insulina es una proteína pequeña de 51 aminoácidos, es liberada en las células beta a una velocidad basal baja, la cual es mayor en respuesta a varios estímulos, especialmente la glucosa (Tabla N°4), en la figura N°10 se muestra la liberación de insulina ante un estímulo.^{31,32}

Tabla N°4: Regulación de la secreción de insulina

Estimulantes	Potenciadores	Inhibidores
<ul style="list-style-type: none"> – Glucosa – Aminoácidos (Alanina) – Cetoácidos – Ácidos grasos – Aumento ATP 	<ul style="list-style-type: none"> – Acetilcolina – GIP (secretina) – GLP-1 y 2 – Colecistokinina – Glucagón – Aumenta AMP c 	<ul style="list-style-type: none"> – N.T. Alfa adren. – Somatostatina

Fuente: Bertram G. Katzung Farmacología básica y clínica.³⁰

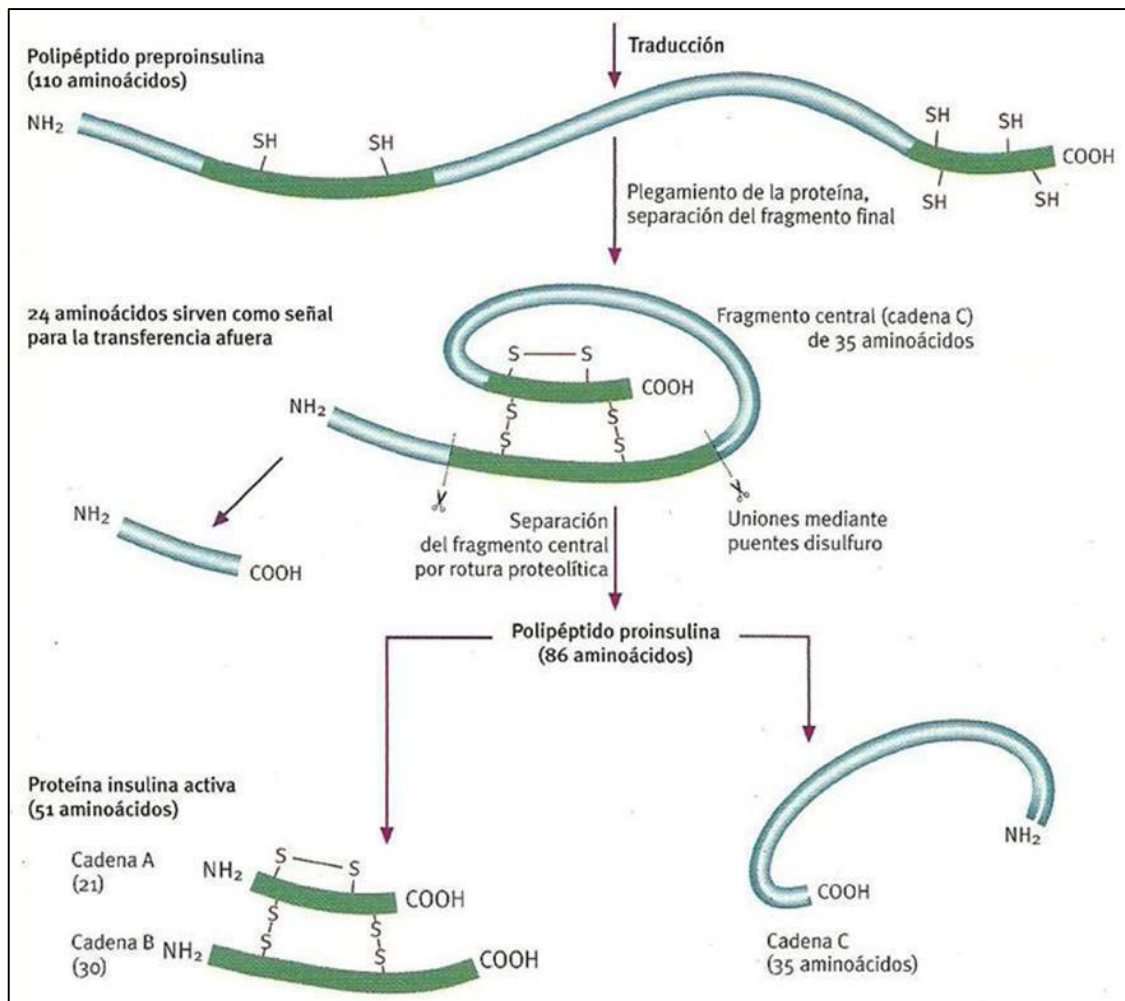


Fig. N°9: Síntesis de insulina

En la ingesta de alimentos (glucosa exógena) la hormona GLP es liberada por el sistema digestivo, el cual induce al páncreas la liberación de insulina, la insulina bloquea la producción de glucosa en el hígado. (glucosa endógena).

Se conoce dos fases de liberación de insulina en pacientes sanos:

- Primera fase.- Secreción de insulina rápida, inmediatamente después de la ingesta de alimentos
- Segunda fase.- Secreción de insulina lenta, 45 min después de la ingesta.³³

En las personas diabéticas hay un fenómeno de alteración de la primera fase de la insulina.

Se conocen otros estímulos para la liberación de insulina como las manosas ciertos aminoácidos, (leucina y arginina), hormonas parecidas al glucagón, el polipéptido 1 y la actividad vagal.³⁴

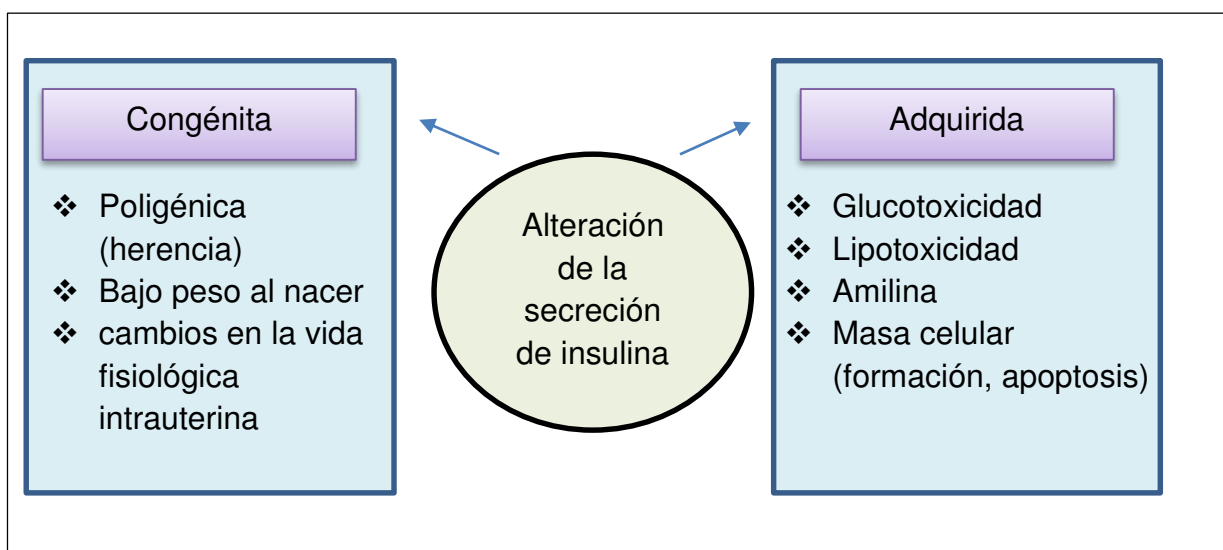


Gráfico N°1: Causas de la alteración de la secreción de la insulina

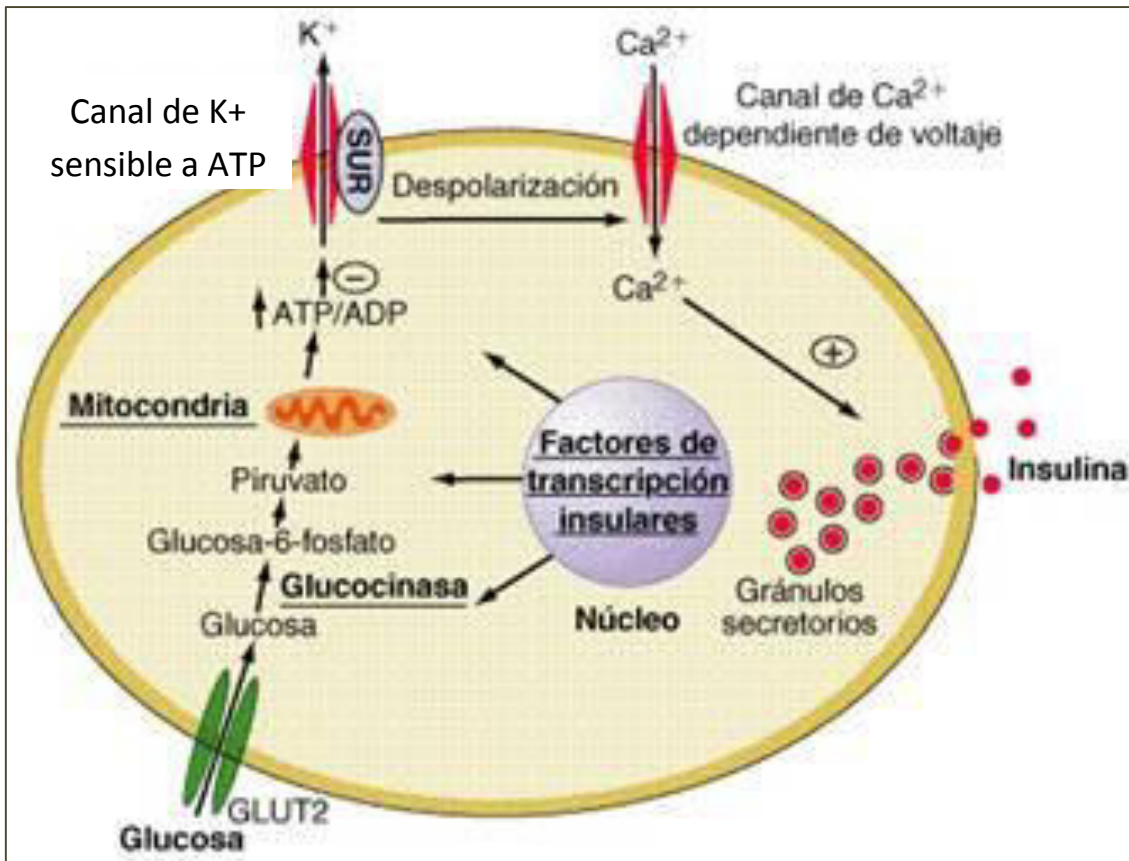


Fig. N°10: Mecanismo de la secreción de insulina por estimulación de glucosa, la glucosa entra a través del GLUT 2 dentro de la célula, la glucosa se transforma en glucosa-6-P y luego a piruvato a nivel de la mitocondria y produce ATP esto causa que se abra los canales de K⁺ que son sensibles al ATP y sale el potasio al salir potasio se abren los canales de calcio que dependen del voltaje debido a la despolarización de la célula y aumenta el calcio a nivel del citosol al aumentar el calcio se produce la activación de las proteínas a nivel del citoesqueleto y se produce la exocitosis de los granulos de insulina.

El grupo de medicamentos secretagogos de insulina (sulfonilurias, meglitinidas y defenilalanina) explotan partes de este mecanismo.

Acción de insulina sobre las células.

Para que la insulina pueda entrar y activar a la célula necesita de receptores (músculo, tejido adiposo, hígado, cerebro) están formados por dos unidades α que están unidas por puente disulfuro y dos unidades β que son las que entran en la membrana de la célula y que también están unidas por puente disulfuro. Estos receptores de la insulina hacen la apertura de los GLUT 4 a nivel de tejidos periféricos para poder ingresar la glucosa a la célula.³⁵

Tabla N°5: Transportadores de glucosa.³⁰

Transportador	Tejidos	Glucosa Km (mmol/L)	Función
GLUT 1	Todos los tejidos especialmente eritrocitos y cerebro	1 a 2	Captación basal de glucosa; transporte a través de la barrera hematoencefálica
GLUT 2	Células del páncreas hígado riñón e intestino	15 a 20	Regulación de la liberación de insulina; otros aspectos de la homeostasis de la glucosa
GLUT 3	Cerebro riñón placenta otros tejidos	<1	Captación en neuronas y otros tejidos
GLUT 4	Músculo, adiposo	=5	Captación de glucosa mediada por la insulina
GLUT 5	Intestino, riñón	1 a 2	Absorción de fructuosa

Acción de la insulina en el metabolismo de la glucosa en el hígado.³⁴

El hígado desempeña varias funciones en el metabolismo de la glucosa, las más importantes son:

En presencia de un exceso de insulina, glucosa o de ambas el hígado capta grandes cantidades de glucosa de la sangre

- Aumenta la concentración de glucoquinasa para atrapar la glucosa en el hígado mediante fosforilación.
- Favorece a la formación de glucógeno por dos cambios enzimáticos, aumento de la sintetasa de glucógeno y disminución de la fosforilasa.
- Aumenta la glicólisis por que hay un aumento de las enzimas glicolíticas.
- Disminuye la conversión de ácidos grasos libres a cuerpos cetónicos
- Una vez que el glucógeno almacenado alcance el 5 y 6% de la masa del hígado, la glucosa es convertida en grasa debido a un exceso de acetil-CoA, un exceso de iones de citrato formado por el ciclo del ácido cítrico cuando penetra en el un exceso de acetil-CoA (estos iones activan la carboxilasa enzima que sirve para iniciar la etapa de la lipogénesis) y la presencia de alfa glicerolfosfato, que proporcionan el núcleo de glicerol a los ácidos grasos para formación de triglicéridos siendo transportados como lipoproteínas hacia los adipocitos.

Sin embargo en ausencia de insulina o cuando la glicemia es muy baja, el hígado devuelve la glucosa a la sangre

- Por desintegración de glucógeno al elevarse los niveles de AMP cíclico de las células hepáticas, activando la fosforilasa e inhibiendo la sintetasa de glucógeno.

- Aumento de la gluconeogénesis: conversión de glucosa a partir de aminoácidos de las reservas proteicas y glicerol de las reservas de grasa.

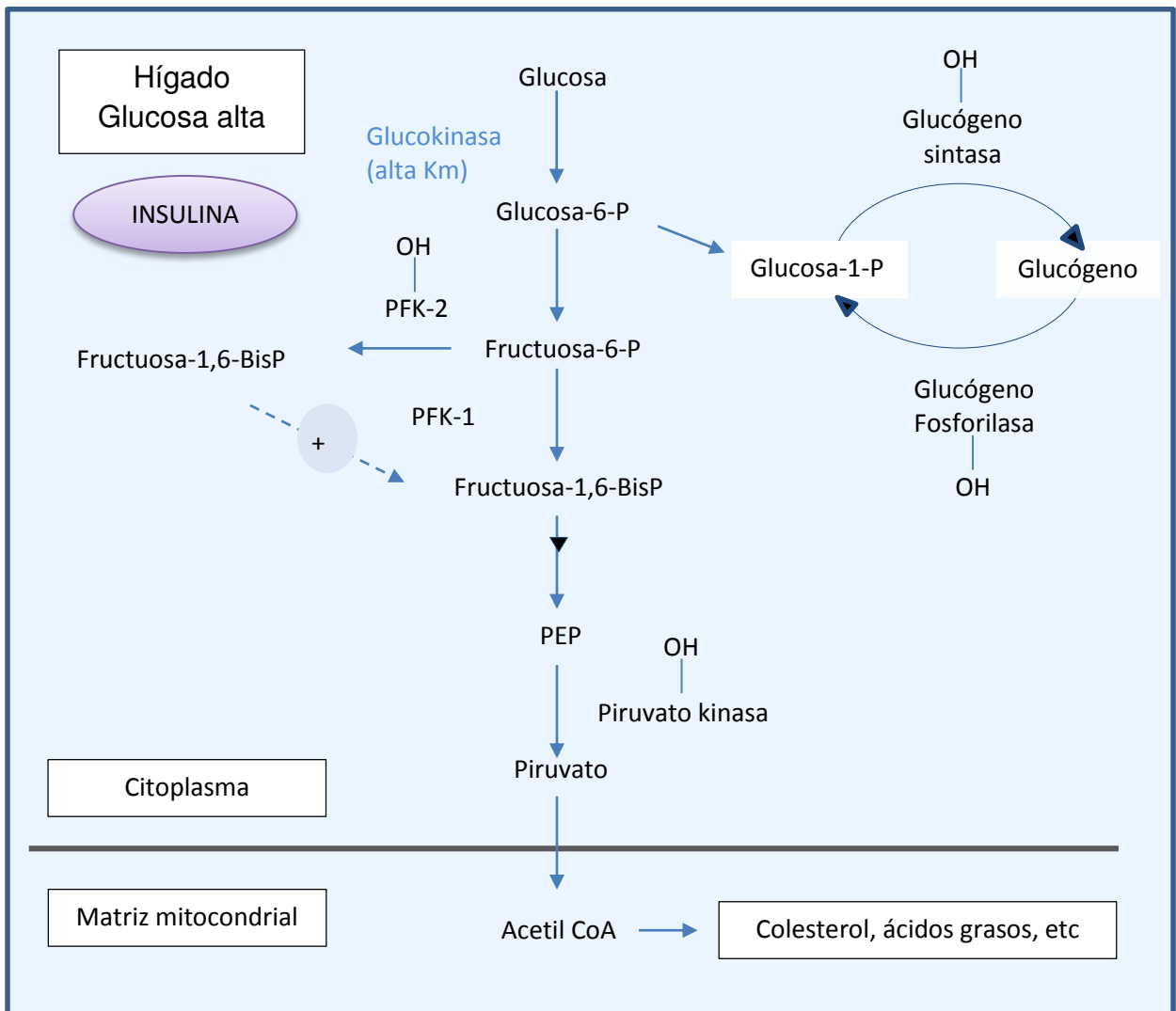


Fig. N°11: Acción de la insulina en el metabolismo de la glucosa.

Acción de la insulina en el tejido adiposo.^{30,31,36}

En presencia de la acción de la insulina

- Estimula el transporte de Glucosa (GLUT-4)
- Estimula el almacenamiento de grasa en el tejido adiposo por activación de la glicolisis formando glicerolfosfato que tiene afinidad por los ácidos grasos (formados por la propia célula o producidos por hidrólisis de los triglicéridos circulantes por acción de la enzima lipoproteinlipasa) para formar triglicéridos.
- Inhibe la lipasa intracelular.

En ausencia de la acción de la insulina:

- Se activa la enzima lipasa sensible a hormona que actúa sobre los triglicéridos produciendo moléculas de glicerol y ácidos grasos libres que son liberados al torrente sanguíneo en consecuencia se combinan con la albúmina para ser transportado a todo el cuerpo.
- Provoca deficiencia en la captación de glucosa por no activarse el transporte de Glucosa (GLUT-4)
- Se incrementan los ácidos grasos libres provenientes del tejido adiposo en el torrente sanguíneo los cuáles interrumpen la utilización de la glucosa en otras células para producir energía, debido a la formación de acetil-CoA por la ruptura de ácidos grasos libres al entrar al ciclo del ácido cítrico, también se inhibe la enzima fosfofructoquinasa, enzima necesaria para la glicólisis, por los productos energéticos ion citrato y ATP formados en el ciclo del ácido cítrico finalmente la falla del proceso glicolítico promueve a que se acumule grandes cantidades de glucosa-6-fosfato en

la célula, este a su vez inhibe a la enzima hexokinasa, enzima que fosforila la glucosa cuando penetra a la célula, en consecuencia se origina una difusión retrógrada de la célula a través de la membrana celular y no hay captación ni utilización de la glucosa por las células, este proceso se denomina ciclo de glucosa-ácido graso, provocando lipotoxicidad.

- Además del incremento de los ácidos grasos circulantes libres se eleva la concentración de todos los componentes lipídicos del plasma por un exceso del transporte de ácidos grasos hacia el hígado, donde son sintetizados dando triglicéridos, colesterol y fosfolípidos que luego pasan a la sangre en forma de lipoproteínas aumentando las VLDL y LDL.
- Esta elevada concentración de lípidos (> 0.6 %) en especial el colesterol causa el rápido desarrollo de aterosclerosis en personas que sufren de diabetes graves.
- Aumenta la concentración de ácido acetilacético cuando se movilizan ácidos grasos en mayores cantidades para obtener energía, esto ocurre en los diabéticos. Parte del ácido acetilacético también se convierte en ácido β-hidroxibutírico y acetona, estos son llamados cuerpos cetónicos, la presencia en grandes cantidades en el torrente sanguíneo se llama cetosis.

Acción de la insulina en el músculo.^{30,31}

En presencia de la acción de la insulina

- Aumenta la síntesis de proteínas por activación del transporte de aminoácidos hacia la célula, estimula la traducción acelerada del código del RNA mensajero por los ribosomas para formar cantidades mayores de

proteínas, aumenta la transcripción de ARN en los núcleos celulares para producir cantidades aumentadas de ARN que a su vez originen una síntesis mayor de proteína.

- Transporte de glucosa (GLUT 4)
- Activa la glicólisis
- Aumenta la síntesis de glucógeno
- Disminuye la liberación de aminoácidos

En ausencia de la acción de la insulina:

- Se produce un despilfarro de proteínas corporales acumulándose los aminoácidos en el torrente sanguíneo que pasan principalmente al hígado, donde son utilizados para dar energía para la gluconeogénesis, esta desintegración de grandes cantidades de aminoácidos también aumenta la eliminación de urea por la orina.
- La desnutrición proteica y la lipólisis causan gran pérdida de peso.

Se debe tener en cuenta que la desintegración de proteínas es normal en todos los tejidos, pero en este caso la proteína no es sustituida por proteína de nueva síntesis.

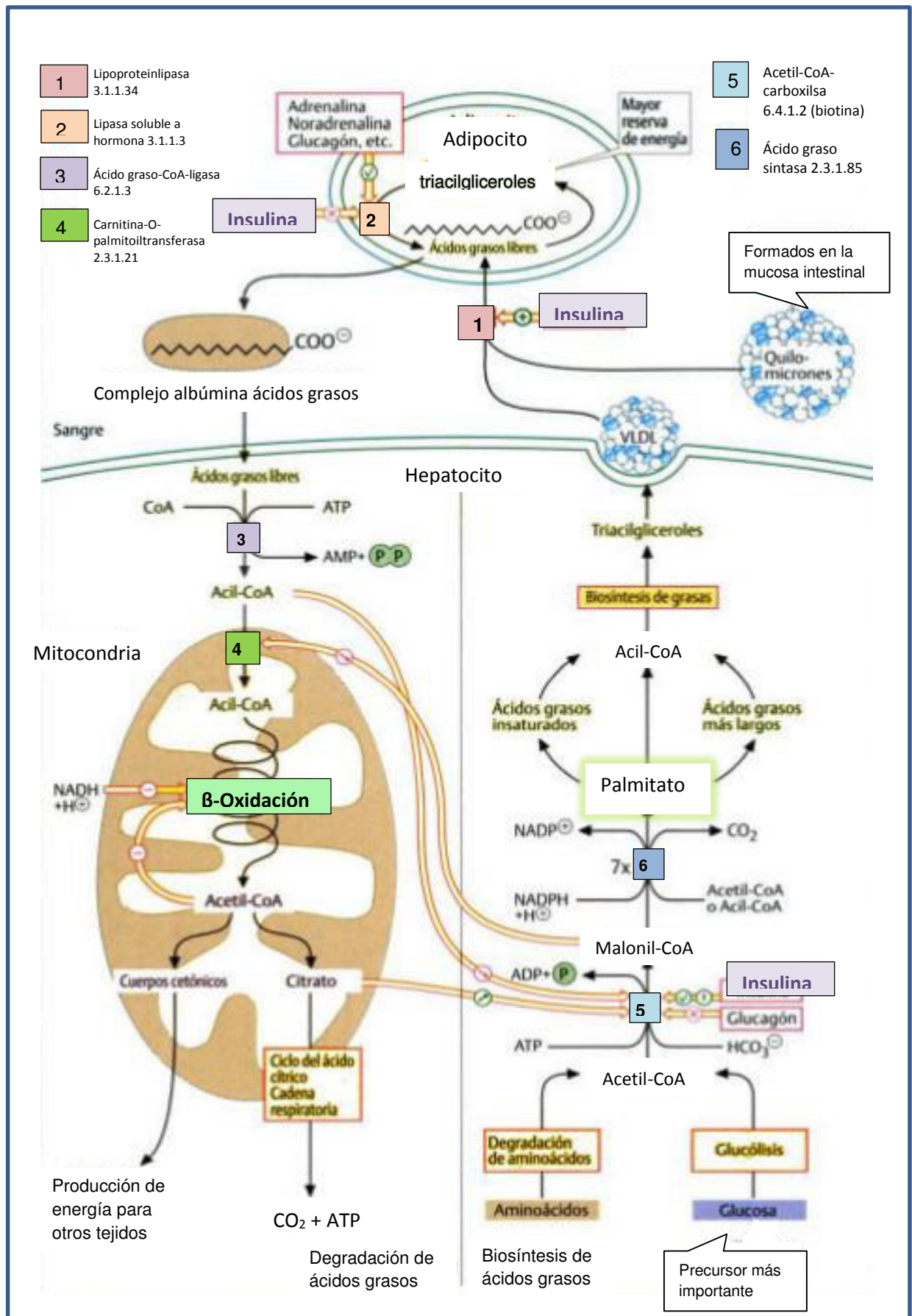


Fig. N°12: Metabolismo de los lípidos

Degradación de los ácidos grasos en el hígado

Muchos tejidos captan los ácidos grasos del plasma para sintetizar la grasa a partir de ellos o para obtener energía degradándolos. El metabolismo de los ácidos grasos es muy intenso en las células hepáticas.

El proceso más importante en la degradación de los ácidos grasos es la β -oxidación, una vía metabólica que se produce en la matriz de las mitocondrias. Para ello los ácidos grasos son activados en el citoplasma por unión con la coenzima A lo que da lugar a la formación de acil-CoA, con la ayuda de un sistema de transporte (lanzadera de carnitina) los ácidos grasos activados llegan a la matriz mitocondrial y allí son degradados hasta acetil-CoA. Los residuos de acetilo formados son oxidados por completo hasta CO_2 en el ciclo del ácido cítrico y durante el proceso se forma ATP por fosforilación oxidativa. (Figura N°12) Cuando la producción de acetil-CoA excede los requerimientos de energía de los hepatocitos, lo que ocurre ante una oferta elevada de ácidos grasos en el plasma (Fenómeno típico durante el hambre y en la diabetes mellitus), el exceso se transforma en cuerpos cetónicos.³⁷

Glucotoxicidad

Se han propuesto cinco mecanismos que podrían explicar la acción tóxica de la glucosa sobre la secreción insulínica:

- a) La hiperglicemia, por regulación negativa produciría una disminución del transportador de glucosa GLUT 2, en la célula beta; éste es el más aceptado.
- b) Menor actividad de la fosfolipasa C, enzima necesaria para la formación de inositidos fosfatos, que participan en la secreción insulínica al aumentar el nivel de calcio intracelular.

c) La hiperinsulinemia y principalmente la hiperproinsulinemia tendrían un efecto negativo (down regulation), frenando la síntesis de la hormona.

d) Aumento de radicales libres, la glucosa actúa como un radical libre produciendo citotoxicidad.

e) Glicosilación de insulina, que disminuiría la acción de la hormona, este último mecanismo es el menos fundamentado. Los productos finales de glicación (AGEs) son un grupo heterogéneo de moléculas generadas por medio de reacciones no enzimáticas de glicación y de oxidación de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. La formación aumentada de AGEs ocurre en condiciones tales como la diabetes mellitus y el envejecimiento. AGEs median sus efectos a través de tres mecanismos principales: 1) entrecruzamiento con proteínas de la matriz extracelular, afectando las propiedades mecánicas de los tejidos, 2) entrecruzamiento con proteínas intracelulares alterando sus funciones fisiológicas y 3) unión a sus receptores de superficie RAGE para inducir múltiples cascadas.³⁸

Un nivel elevado prolongado de glucosa en sangre promueve la peroxidación de lípidos y posteriormente aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo que daña los componentes macromoleculares y compromete el sistema de defensa antioxidante.

Peroxidación lipídica en la diabetes

El descontrol de la glicemia conduce al incremento de la velocidad de los procesos de glicosilación, oxidación de lípidos y proteínas de membrana, siendo los lípidos de las membranas biológicas y las lipoproteínas compuestos más vulnerables frente al ataque de las especies reactivas de oxígeno (EROs), lo que

provoca cambios conformacionales de estas macromoléculas y deterioro de sus funciones.

En la diabetes mellitus las fuentes de estrés oxidativo son generados por la vía enzimática, las no enzimáticas y la mitocondrial. Siendo la autooxidación de la glucosa el factor mas predominante debido a que la glucosa al igual que otros alfa-hidroxialdehídos, es capaz de autooxidarse a enediones (enolizarse) en solución acuosa y en presencia de metales de transición, como el Fe^{+3} , produciéndose citoaldehídos intermediarios oxidados y radicales libres, con alto poder oxidante como el O_2^- .

Los radicales libres generados actúan principalmente sobre los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) por que son más susceptibles a peroxidarse, debido a que sus hidrógenos bis-alílicos son fácilmente “extraíbles” comparados con los hidrógenos alifáticos, una vez iniciado éste proceso prosigue como una reacción en cadena, involucrando las etapas de propagación, ramificación y terminación.³⁹

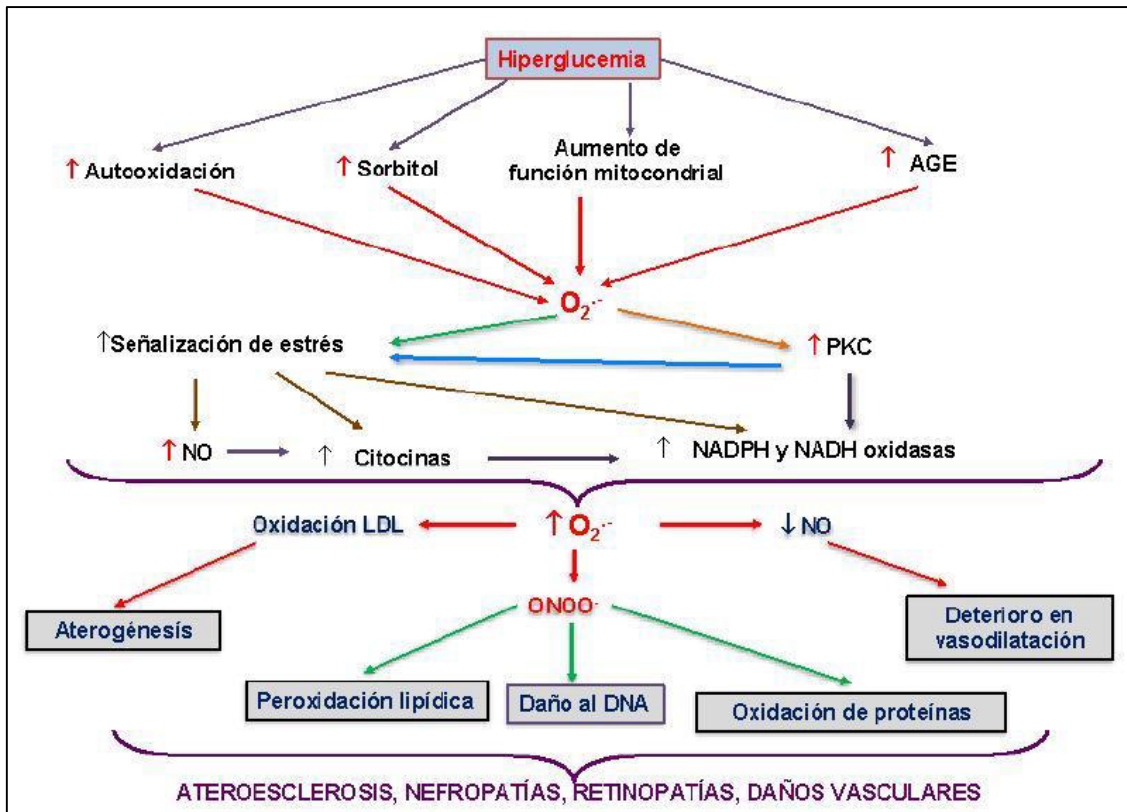


Fig. N°13: Modelo que propone la secuencia que relaciona la generación de especies reactivas en la diabetes con los daños vasculares, renales y neurológicos.

La aterosclerosis y la diabetes

En pacientes diabéticos los radicales libres y la peroxidación lipídica, juega un papel importante en la etiología de la aterosclerosis, debido a modificaciones estructurales de las LDL en LDL oxidadas (LDL oxi) en la íntima del endotelio.

Esta modificación se da durante la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) de la LDL, generandose hidroperóxidos de lípido, los que se descomponen en cetonas y aldehídos como el malondialdehído o el 4-hidroxinonenal. Estos productos interactúan con la apolipoproteína B, en la superficie de la LDL, modificando específicamente el residuo lisina y disminuyendo la carga positiva de apo B.^{38, 39,40}

Los monocitos dentro de la íntima se transforman en macrófagos y por medio de receptores "scavenger", incluyendo CD36, captan las LDLoxi (potente inmunógeno), internalizandolas de forma descontrolada hasta transformarse en células espumosas que llevan a la producción y liberación de moléculas proinflamatorias tales como IL- β 1, IL-8, TNF- α , interferón- γ y otras. Además los macrófagos activados producen y liberan especies reactivas de oxígeno (ROS), que van a aumentar la oxidación de las LDL en la íntima del endotelio para la formación de la placa ateromatosa, en un estadio avanzado el centro de la placa sufre apoptosis originando un centro necrótico rico en ésteres de colesterol extracelulares.⁴¹

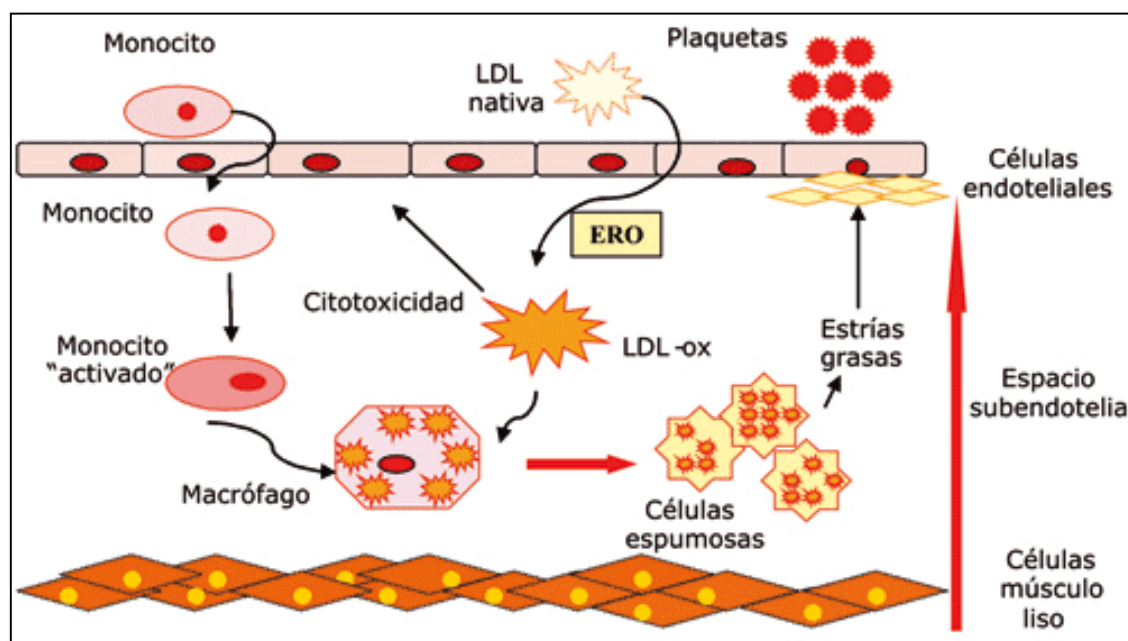


Fig. N°14: Oxidación de lipoproteínas por la generación de radicales libres

Clasificación de la diabetes

Diabetes mellitus insulino dependiente

Se caracteriza por la destrucción de las células beta debido a un proceso autoinmune que desencadena la inhibición irreversible de secreción de la insulina. El proceso autoinmune corresponde cuando se identifica la presencia de anticuerpos los más importantes son los anticuerpos anti glutamato decarboxilasa (GAD), anti tirosin fosfatasa 2 (IA2), anti insulina (AAI) y anti proinsulina que dependiendo del título de cada autoanticuerpo, la presencia de más de un autoanticuerpo y su asociación con ciertos genotipos de HLA-DR3. Este proceso crónico destructivo está asociado con cambios en la inmunidad celular y humoral que pueden detectarse meses o años antes del inicio de la diabetes clínica.^{42,43,44} La prevalencia de los anticuerpos anti GAD en pacientes con diabetes mellitus insulino dependiente recién diagnosticada es de 20 a 80% pudiendo preceder hasta 10 años a la aparición de los síntomas y persisten positivos en el 70% de los pacientes con más de 5 años luego del diagnóstico y se manifiesta clínicamente como una diabetes mellitus insulino no dependiente e inicialmente no requiere insulina.

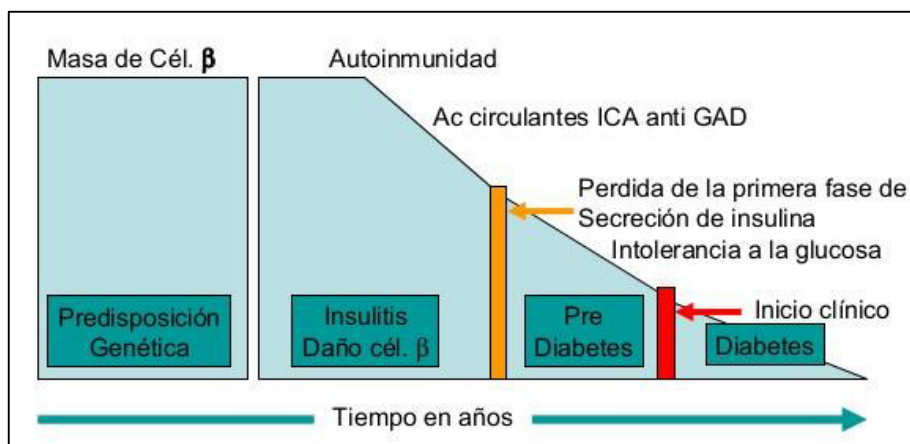


Fig. N°15: Historia natural de la diabetes mellitus insulino dependiente

Diabetes mellitus insulino no dependiente

Corresponde al 80% de los casos de diabetes mellitus, se caracteriza por la resistencia a la insulina, menor acción insulínica periférica que la esperada para su concentración plasmática, por alteración de los receptores en los tejidos periféricos (ejm. tejido muscular), por defectos en enzimas intermediarias entre el receptor y el sitio de acción, como por ejemplo la glucocinasa, por inhibición de transportadores de glucosa asociado por antecedentes familiares (herencia poligenética), edad avanzada, falta de ejercicios y obesidad, siendo la obesidad un factor de riesgo por ingesta excesiva en carbohidratos, lípidos y proteínas, junto con baja actividad metabólica, el páncreas genera una hiperactividad para regular los niveles de la glicemia.⁴⁵

La resistencia a la puede estar presente años antes del diagnóstico de DM2 y a esta etapa pre-diabética se le conoce como síndrome de resistencia a la insulina, síndrome metabólico (SM), o síndrome X.

El 20% de individuos, presentan disminución relativa de la secreción de insulina por mayor porcentaje de proinsulina, ausencia de la fase rápida de liberación de insulina y menor respuesta secretoria máxima al estímulo con glucosa por agotamiento celular beta debido a la falta de adaptación a la excesiva actividad del páncreas; la glucotoxicidad también contribuye a que se pierda la masa celular.^{46, 47}

Alteraciones para que el paciente manifieste hiperglicemia.

La hiperglicemia, es una de las manifestaciones de la diabetes por alteraciones de las actividades enzimáticas de los diversos órganos y tejidos.

- Disminución de la secreción de insulina

- Aumento de la secreción del glucagón
- Aumento de la producción hepática de la glucosa
- Disminución en la utilización periférica
- Disminución del efecto incretina
- Incremento de la lipólisis
- Aumento en la reabsorción de la glucosa
- Disfunción de neurotransmisores

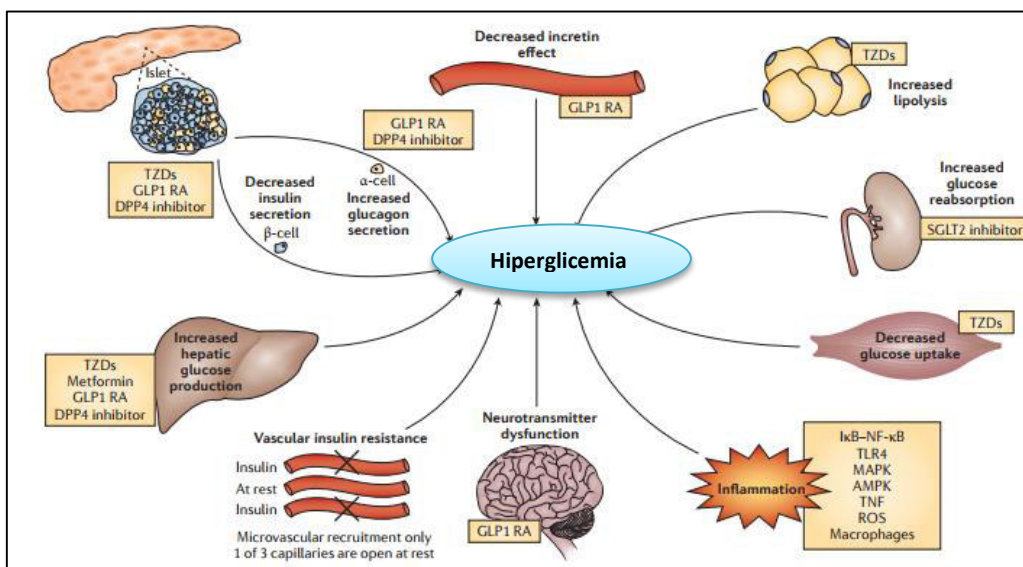


Fig. N°16: Octeto ominoso en hiperglicemia de diabetes mellitus insulino no dependiente

Tabla N°6: Criterios para el diagnóstico de DM, utilizando diferentes muestras de sangre y diferentes unidades de medida (18mg/dL = 1mmol/L).⁴⁸

Diagnóstico Diabetes Mellitus	Glucemia en ayunas		Glucemia en PTOG	
	mg/dL	mmol/L	mg/dL	mmol/L
Plasma o suero venoso (*)	≥ 126	≥ 7	≥ 200	≥ 11,1
Sangre total venosa	≥ 110	≥ 6,1	≥ 180	≥ 10
Plasma capilar	≥ 126	≥ 7	≥ 220	≥ 12,2
Sangre total capilar	≥ 110	≥ 6,1	≥ 200	≥ 11,1

2.2.9 Mecanismos de acción de la glibenclamida

La glibenclamida es un fármaco hipoglicemiante oral de la clase de las sulfonilureas de segunda generación, su mecanismo de acción es a nivel pancreático; aumenta la sensibilidad de las células beta frente a hiperglucemia y estimula la secreción de insulina.

La glibenclamida tiene una alta afinidad a los receptores específicos de las células beta del páncreas, la unión de la glibenclamida a los receptores beta pancreáticos provoca el cierre de los canales de K^+ , el cual despolariza la membrana cuya disminución de la diferencia del potencial hace que se aperturen los canales de Ca^{+2} , aumentando la concentración citosólica de calcio. Como resultado se desencadena la exocitosis dando lugar a la liberación de la insulina (figura N° 17).

La glibenclamida está indicada para pacientes que presentan diabetes mellitus insulino no dependiente, tiene una buena absorción oral, una duración de acción de 24 horas, con una vida media de 10 horas, presenta un pico de respuesta en 2 o 3 horas después de su administración. La biotransformación de la glibenclamida es a nivel hepático mientras que su eliminación es por la bilis y la orina. Entre sus reacciones adversas se encuentra la hipoglicemia, desnutrición, hepatopatías e insuficiencia renal con mayor frecuencia en la población geriátrica, otras reacciones son la intolerancia gástrica (náuseas y vómitos) y reacciones cutáneas (rash, dermatitis, etc.) puede tener efectos cardiovasculares peligrosos cuando se usa en condiciones de isquemia. El tratamiento con glibenclamida se inicia con 2,5 mg hasta llegar a una dosis máxima de 20 mg por día si fuera insuficiente la dosificación.^{49,50}

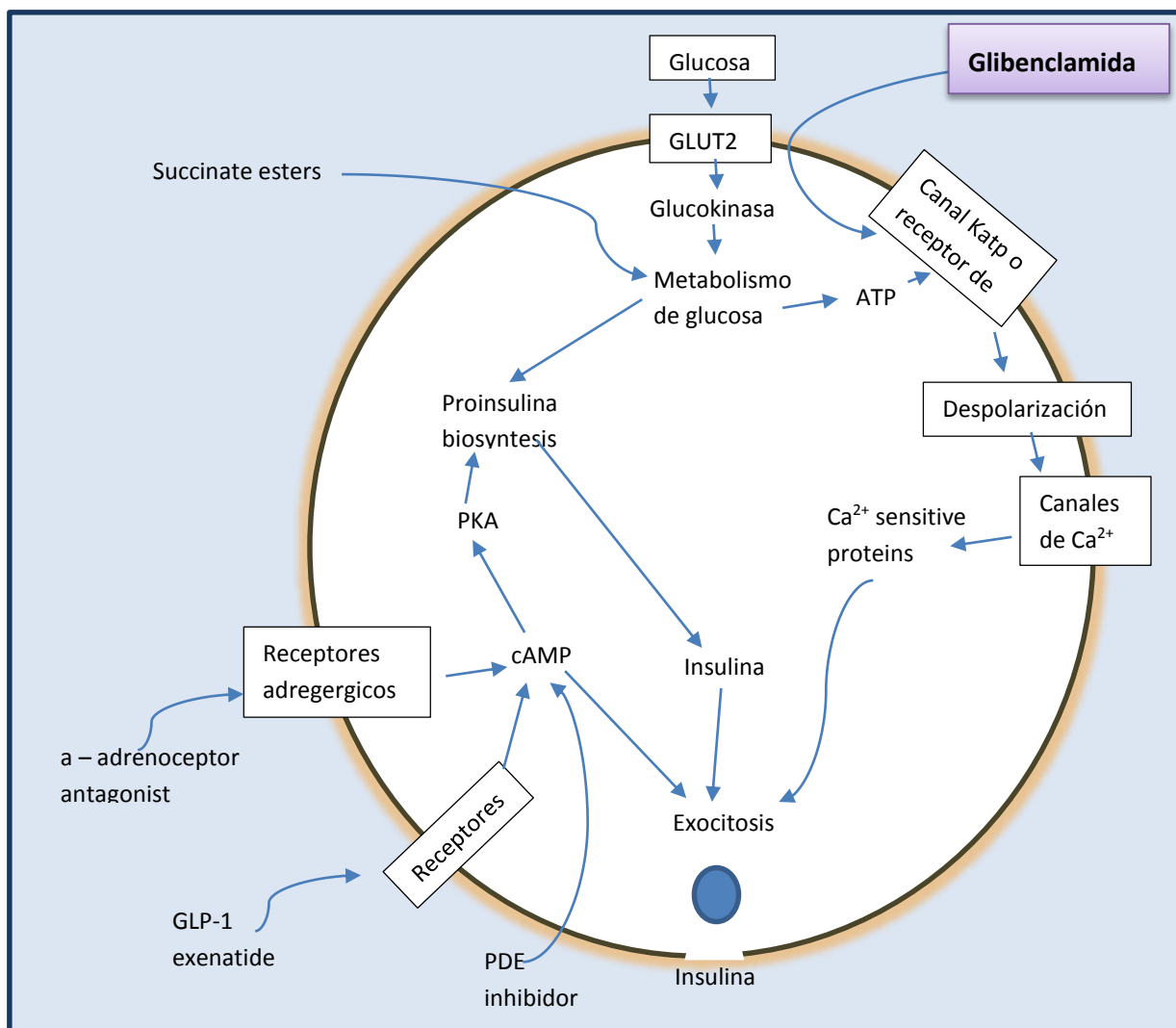


Fig. N°17: Mecanismo de acción de la glibenclamida

2.2.10 Modelo de inducción de diabetes

El aloxano es uno de los compuestos sintetizados a partir el ácido úrico por los científicos, Friedrich Wohler y Justus Liebig en 1838. El aloxano es la droga más utilizada para inducir diabetes mellitus insulino dependiente experimental usado en modelos de animales, como roedores y caninos, se caracteriza por la destrucción de las células β , con carácter progresivo.

La dosis de aloxano por vía intravenosa para inducir la diabetes en ratas es de 65 mg/Kg frecuentemente y cuando el aloxano es administrado por vía

intraperitoneal o por vía subcutánea la dosis efectiva es 2 a 3 veces más, la dosis intraperitoneal por debajo de 150 mg/Kg puede ser insuficiente para inducir diabetes en la rata. Los animales en ayunas son más susceptibles al aloxano, mientras que el aumento de la glucosa en sangre proporciona protección parcial.

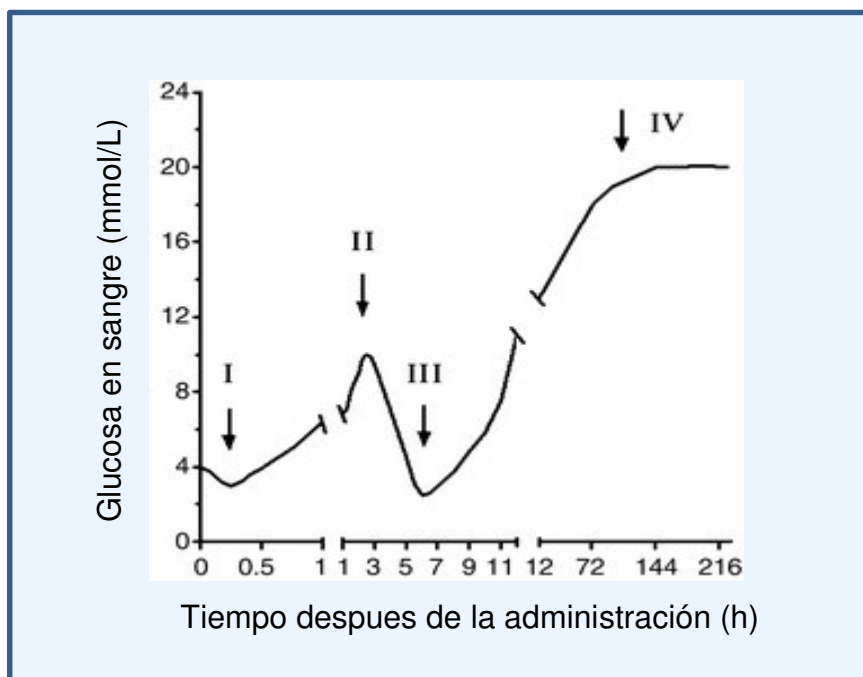


Fig. N°18: Fases de la glucosa en respuesta a la diabetes inducida por aloxano

- Fase I hipoglucémica transitoria de hasta 30 minutos
- Fase II hiperglucémica, que generalmente dura 2-4 h
- Fase III fase hipoglucémica de 4 a 8 h después de la inyección de las toxinas y dura varias horas.
- Fase IV hiperglucémica, la desgranulación completa y la pérdida de la integridad de las células beta se observan dentro de las 12-48 h.⁵¹

En un estudio experimental reportado por Méndez señala que el aloxano genera hiperglicemia en ratas y ratones a una dosis de 150 mg/Kg por

via intraperitoneal con un tiempo de respuesta luego de 48 horas post administración y se registra un aumento de hiperglicemia de 374mg/dL.¹

Mecanismo de inhibición de la glucokinasa por aloxano

La posición de la glucokinasa como la primera enzima en la cadena glicolítica permite regular la secreción de insulina que genera la tasa de flujo metabólico a través de la cadena glicolítica en la célula pancreática beta en relación con la glucosa extracelular.^{52.53}

El Aloxano, inhibe a la enzima glucokinasa de las células beta pancreáticas. El grupo activo del aloxano 5-CO se une a los grupos SH de la enzima, sitio activo, provocando una oxidación e induciendo especies reactivas de oxígeno (ROS) formación que causa una necrosis selectiva de las células. En consecuencia de la inhibición de la degradación de la glucosa se inhibe la secreción de la insulina.

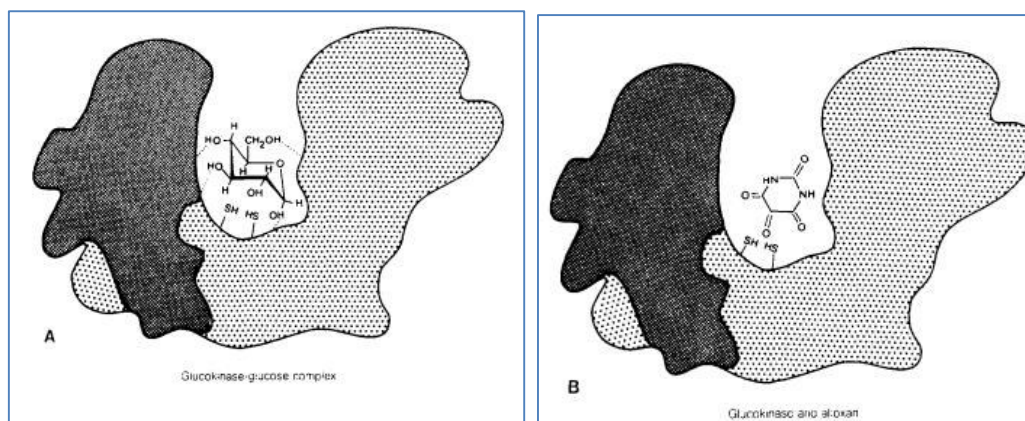


Fig. N°19: (A) Modelo de glucokinasa unido a la glucosa en el sitio activo por enlaces de hidrógeno, en ausencia del segundo sustrato ATP. (B) Cuando la glucosa no está unida a la enzima, el aloxano se une e inactiva la glucokinasa por oxidación de los dos grupos SH en la profundidad del sitio activo bajo la formación de puente S-S.⁵⁴

2.2.11 Antioxidantes

Es toda sustancia que retrasa o previene el deterioro, daño o destrucción provocados por una oxidación.⁵⁵ Esta oxidación se da por moléculas como los radicales libres, son moléculas de oxígeno que han perdido un electrón, son inestables, reactivos, con capacidad de producir daño.^{56,57}

El estrés oxidativo producido por los radicales libres está directamente relacionado con el envejecimiento celular y algunos procesos fisiopatológicos como enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y determinadas formas de cáncer.^{58,59,60}

Tabla N°7: Nomenclatura de las principales ROS

Radicales		No radicales	
Hidroxilo	•OH	Peróxidos orgánicos	ROOH
Alcoxilo	RO•	Oxígeno singlete	O ₂
Hidroperoxilo	HOO•	Peróxido de hidrógeno	H ₂ O ₂
Superóxido	O ₂ • -	Ácido nitroso	HClO
Peróxilo	ROO•	Catión nitrilo	HNO ₂
Óxido nítrico	NO•	Peroxinitrito	NO ₂ ⁺
Dióxido de nitrógeno	NO ₂ •	Ácido Peroxinitroso	ONOO
		Alquil peroxinitritos	ONOOH
		Ozono	O ₃
		Ácido hipobromoso	HBrO

Fuente: María Gabriela Gallego Iradi Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas.⁶¹

Clasificación de los Antioxidantes.^{62,63}

Los antioxidantes se clasifican de acuerdo a su función de defensa antioxidante en primarios, secundarios y terciarios.

Antioxidantes Primarios: Constituidos por enzimas que inhiben los procesos de activación:

- Superóxido dismutasa (SOD): transforma el oxígeno en peróxido de hidrógeno.
- Glutación peroxidasa (GPX): transforma el peróxido de hidrógeno y peróxidos lipídicos en moléculas inofensivas.
- Proteínas de unión a metales (GR): frenan la disponibilidad del Fe, necesario para la formación del radical OH.

Antioxidantes Secundarios: Se caracterizan por neutralizar los radicales libres.

- Antioxidantes hidrofílicos: la vitamina C, (ascorbato), ácido úrico, bilirrubina y albúmina.
- Antioxidantes lipofílicos: vitamina E (alfatocoferol), carotenoides y las ubiquinonas.

Antioxidantes Terciarios

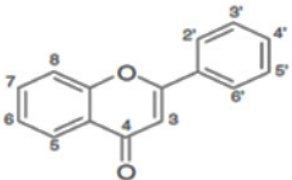
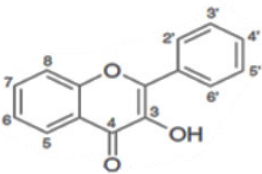
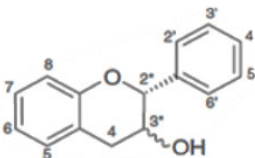
Reparan biomoléculas dañadas por los radicales libres se incluyen las proteasas reparadoras de ADN y la metionina sulfóxido reductasa.

Antioxidantes en plantas

Diversos estudios ponen en evidencia que las plantas son una fuente importante de antioxidantes naturales⁶⁴ contienen entre otros componentes vitaminas, moléculas conocidas como los polifenoles (flavonoides, oligómeros procianidólicos).⁵⁸

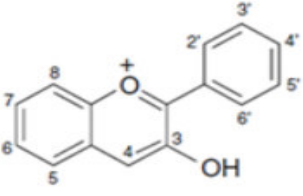
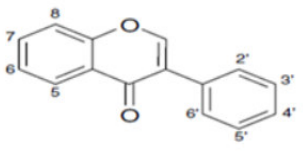
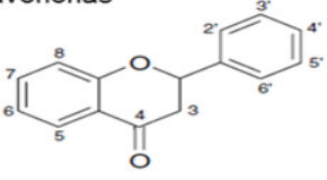
Los flavonoides son polifenoles derivados de origen vegetal, poseen diversas propiedades farmacológicas, como la protección de células y tejidos frente a especies reactivas de oxígeno a concentraciones menores que oscilan entre 10^{-9} M y 10^{-6} M.⁶⁵

Tabla N°8: Estructuras químicas flavonoides

Flavonas		Flavonoides		Flavanoles	
					
Apigenina	5=7=4'=OH	Keempferol	5=7=4'=OH	Catequina	5=7=3'=4'=OH
Luteolina	5=7=3'=4'=OH	Quercetina	5=7=3'=4'=OH	Epicatequina	5=7=3'=4'=OH
Diosmetina	5=7=3'= OH, 4'=OCH3	Morin	5=7=2'=4'=OH	Epigatocatequina	5=7=3'=4'=5'=OH
Isovitexina	5=7=4'= OH, 6=glucosa	Fisetina	7=3'=4'=OH	Galato de epicatequina	5=7=3'=4'=OH, 3 ester ácido galico
		Miricetina	5=7=3'=4'=5'=OH		

Fuente: María Gabriela Gallego Iradi Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas.⁶¹

Tabla N°9: Estructuras químicas flavonoides

Antocianidinas		Isoflavonas		Flavononas	
				<p>Flavononas</p> 	
Pelargonidina	5=7=4'=OH	Daidzeína	7=4'=OH	Naringenina	5=7=4'=OH
Cianidina	5=7=3'=4'=OH	Genisteína	5=7=4'=OH	Hesperetina	5=7=3'=OH, 4'=OCH3
Delfinidina	5=7=3'=4'=5'=OH	Antocianinas		Naringina	Naringenina-7-
malvidina	5=7=4'=OH, 3'=5'=OCH3	Cianidina 3-glucoosido		Hesperidina	Neohesperidosida
		Cianidina 3-rutinosido			Hesperidina-7-rutinosido
		Malvidina 3-glucósido			

Fuente: María Gabriela Gallego Iradi Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas.⁶¹

2.2.12 Determinación de la actividad antioxidante

La capacidad antioxidante se puede determinar mediante dos principios según HUANG, 2005, por ensayos basados en reacciones de transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y ensayos basados en transferencia de electrones (ET). En este último incluyen el ensayo de fenoles totales con el reactivo de Folin-Ciocalteu, y el método de DPPH.⁶⁶

Método del DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

Este método in vitro fue propuesta por Brand-Williams, el cual utiliza a la molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH⁺), como un radical orgánico estable, presenta inicialmente una coloración violeta. Cuando la solución de DPPH dona un átomo de hidrógeno al reaccionar con el sustrato antioxidante, el color violeta

inicial se desvanece. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente.^{67, 68}

Contenido de fenoles totales por el reactivo de Folin-Ciocalteu

El reactivo de Folin Ciocalteu utiliza un mecanismo de reacción de oxidación/reducción, mide la capacidad para reducir el reactivo de ácido fosfomolibdico/fosfotúngstico a un complejo azul que es monitoreado espectrofotométricamente, donde el molibdeno es reducido en el complejo y se da la reacción de transferencia de electrones entre el Mo (VI) y el reductor.

III.- PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

3.1.1 Tipo de estudio:

Se empleó un diseño cuantitativo, experimental, prospectivo y longitudinal.

- ✓ Cuantitativo: Se realizó a través de medición de la actividad hipoglucemiante del tipo casos y controles.
- ✓ Experimental-Analítico: Se realizó comparaciones de la variable dependiente entre los grupos experimentales y de control.
- ✓ Prospectivo: En el registro de la información se tomaron en cuenta los hechos a partir de la fecha de estudio.
- ✓ Longitudinal: Se estudiaron las variables a lo largo del tiempo durante el periodo de investigación.

Diseño experimental:

El estudio se realizó con ratones albinos cepa Balb C57 hembras, con peso promedio de 30 ± 5 g a los cuales se les administro el extracto hidroalcohólico de corteza de *Curarea tecunarium*, a dosis de 30 mg/kg, 50 mg/kg y 100 mg/kg, respectivamente.

Modelo experimental:

Animales: 30 ratones, cepa Balb C57 hembras, con peso promedio de 30 ± 5 g, procedentes del bioterio del Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú. Los animales tuvieron un periodo de adaptación de cinco días en el bioterio de la

Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, donde recibieron una dieta balanceada y agua *ad libitum*.

Muestra vegetal:

Corteza de *Curarea tecunarium*, planta medicinal conocida como “abuta” se recolectó en el distrito Río Mazán, provincia Maynas, región Iquitos a 108 de altitud. Se identificó taxonómicamente en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.



Fig. N°20: Corteza de *Curarea tecunarium*

Preparación del extracto:

500g de muestra en 2,4 L de etanol de 96° y agua (5:1) con un tiempo de maceración de 10 días en una botella ámbar. Terminado el tiempo de maceración se filtró y se distribuyó en placas Petri que se llevaron a sequedad en una estufa a 37° por 24 h, finalmente se obtuvo el extracto seco.



Fig. N°21: Secado de la corteza de *Curarea tecunarium*



Fig. N°22: Molienda de la corteza de *Curarea tecunarium*



Fig. N°23: Molienda de la corteza de *Curarea tecunarium* y su tamizado



Fig. N°24: Pesada de Polvo seco de la corteza de *Curarea tecunarium*



Fig. N°25: Filtración del macerado de la corteza *Curarea tecunarium*

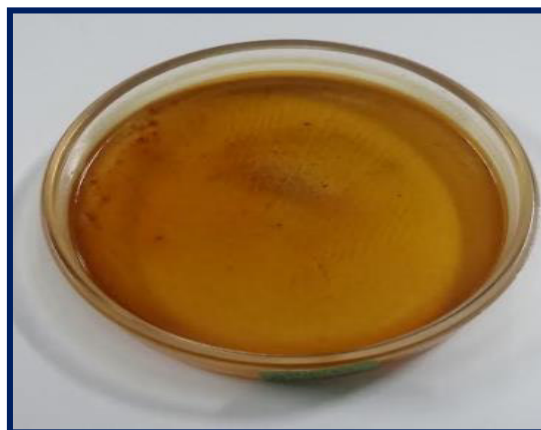


Fig. N°26: Extracto seco de la corteza de *Curarea tecunarium* en placa petri.

3.2 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.2.1 Prueba de solubilidad

Se realizó la prueba de solubilidad, utilizando 10 mg del extracto seco en un 1 mL de cada solvente; metanol, agua destilada, alcohol 96°, y cloroformo.

3.2.1 Estudio fitoquímico preliminar:

Se determinó cualitativamente la presencia de metabolitos secundarios según Lock Ugaz.⁶⁹ Se preparó 14 tubos utilizando 10 mg de extracto hidroalcohólico seco de *Curarea tecunarium* reconstituido en 2 mL, etanol 96° y agua (1:1).

Los reactivos utilizados para cada tubo fueron; Molish, FeCl₃, Gelatina, Dragendorff, Mayer, Rossenger, Shinoda, Ninhidrin, Hidroxilamina 10%, Vainillin sulfúrico, Liebermann Burchard, Antrona, Bortrager.

3.2.2 Cromatografía de capa fina de metabolitos de *Curarea tecunarium*

Se realizó complementariamente la identificación de metabolitos secundarios presentes en la muestra mediante la comparación del R_f con los estándares cromatográficos de ácido gálico, quercertina y hesperidina, en un sistema de solvente: acetato de etilo:etanol (1:3).



Fig. N°27: Sembrado de muestra en soporte de silica para cromatografía de capa fina con los estándares de quercetina, hesperidina, ácido gálico



Fig. N°28: Cromatografía de capa fina con los estándares de quercetina, hesperidina y ácido gálico.

3.2.3 Cuantificación de fenoles totales por Folin Ciocalteu

Se pesó 6.004 mg de extracto seco de la corteza de *Curarea tecunarium* en 25 mL de agua y se obtuvo una concentración final de 0.24016 mg/mL

El tratamiento de la muestra procedió de la siguiente manera:

- ✓ Se adicionó 2,5 ml de Rvo. Folin Ciocalteu al 10% y se homogenizó por 2 min.
- ✓ Se adicionó 2 ml de Na₂CO₃ 7.5% y se homogenizó por 2 min con un vortex.
- ✓ Se llevó a incubar en baño maría por 15 minutos a 45°C
- ✓ Se dejó a temperatura ambiente por 20 minutos y después se leyó a 760 nm.

Se preparó la curva de calibración con ácido gálico.

Preparación de la curva de Calibración de Ácido Gálico.

Solución madre de estándar: 20000 µg/50 mL → 400 µg/mL

Tabla N°10: Preparación de las diferentes concentraciones para la elaboración de la curva de calibración con ácido gálico.

Solución	Transferir el volumen indicado a una fiola de 10 mL	Concentración final µg/mL
A	2.50	100
B	1.25	50
C	1.00	40
D	0.75	30
E	0.50	20



Fig. N°29: Preparación de la solución madre de la muestra

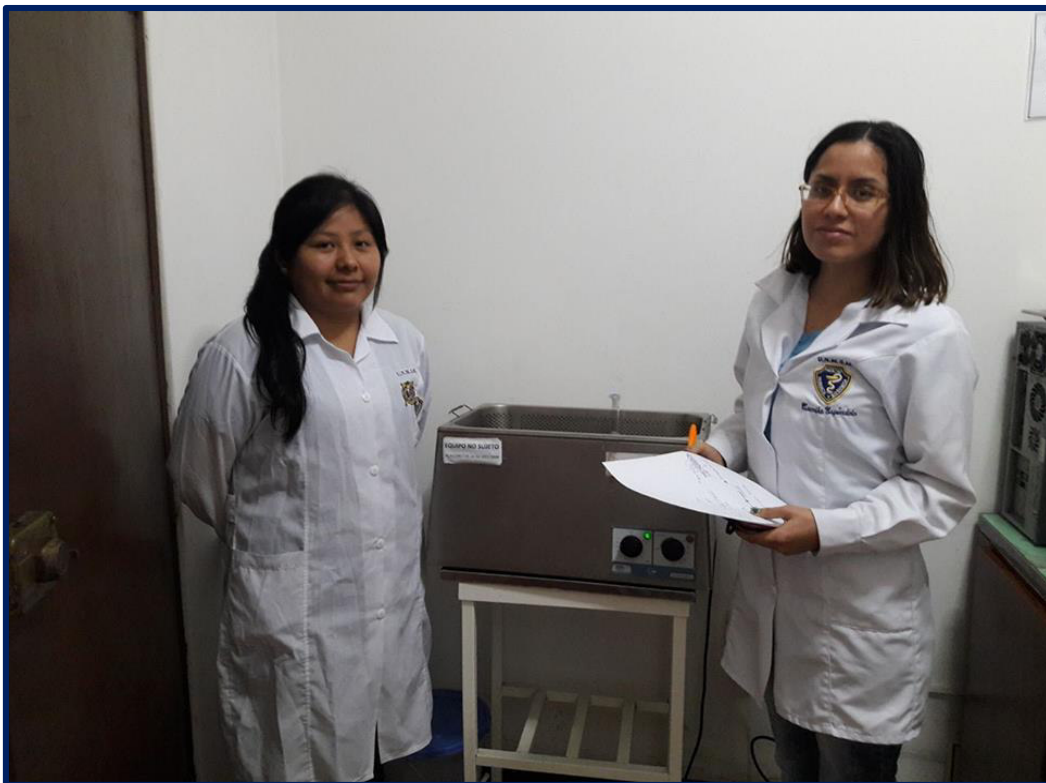


Fig. N°30: Disolución de la muestra con sonicador

3.2.5 Determinación de la actividad antioxidante por el método de DPPH del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium*

El DPPH muestra la fuerte banda de absorción a 517 nm en el espectro visible, sus soluciones son de color violeta oscuro el cual se decolora al aceptar electrones, siendo la decoloración estequiometrica con respecto al número de electrones aceptado.^{68, 70, 71}

Muestra

Extracto seco de corteza de *Curarea tecunarium* "abuta"

1. Se preparó 100 ml de una solución de DPPH (2,2- difenil-1-picril hidrazilo) en metanol de 20 mg/L.
2. Luego se preparó una solución metanólica de los extractos en una concentración de 300 µg/mL (Solución A) y de 600 µg/mL (Solución D).
3. El blanco consiste en metanol agua 2:1 para ajustar el espectrofotómetro a cero.
4. El blanco de muestra se preparó con 1.5 mL de muestra (solución A) y 3 mL de metanol.
5. Se preparó el patrón de referencia con 3 mL de DPPH y 1.5 mL de agua.

6. Luego se preparó la muestra con 1.5 mL de solución A y 3 mL de DPPH.
7. Se leyó las absorbancias a 517 nm en un espectrofotómetro.
8. Los extractos se evaluaron a las concentraciones de 300 µg /mL y 600 µg /mL, utilizando como fármaco control, vitamina C (ácido ascórbico).
9. Posteriormente, con los valores de las absorbancias obtenidas se determinó el % de captación de radicales libres (DPPH) mediante la siguiente fórmula:^{72,73}

$$AA\% = 100 - \left\{ \frac{(Am - Ab)100}{Acontrol} \right\}$$

Dónde:

AA%: Porcentaje de actividad antioxidante

Am: absorbancia de la muestra

Ab: Absorbancia del blanco

Acontrol: Absorbancia de DPPH

Tabla N°11: Esquema de preparación de tubos para la medida de absorbancia

[]	MP	Vol mL	DPPH mL	[]	ST	Vit C	DPPH mL
300 ppm	MP1	1.5	3.0	300 ppm	St1	1.5	3.0
	Mp2	1.5	3.0		St2	1.5	3.0
	MP3	1.5	3.0		St3	1.5	3.0
600 ppm	MP1	1.5	3.0	600 ppm	St1	1.5	3.0
	MP2	1.5	3.0		St2	1.5	3.0
	MP3	1.5	3.0		St3	1.5	3.0

- ✓ Se ajustó el espectrofotómetro a cero con metanol, agua (2:1)
- ✓ Blanco de la muestra 1.5 mL de MP y 3 mL de metanol.
- ✓ Lectura de DPPH 3 mL de DPPH y 1.5 mL de agua



Fig. N°31: Preparación de la solución madre de la muestra

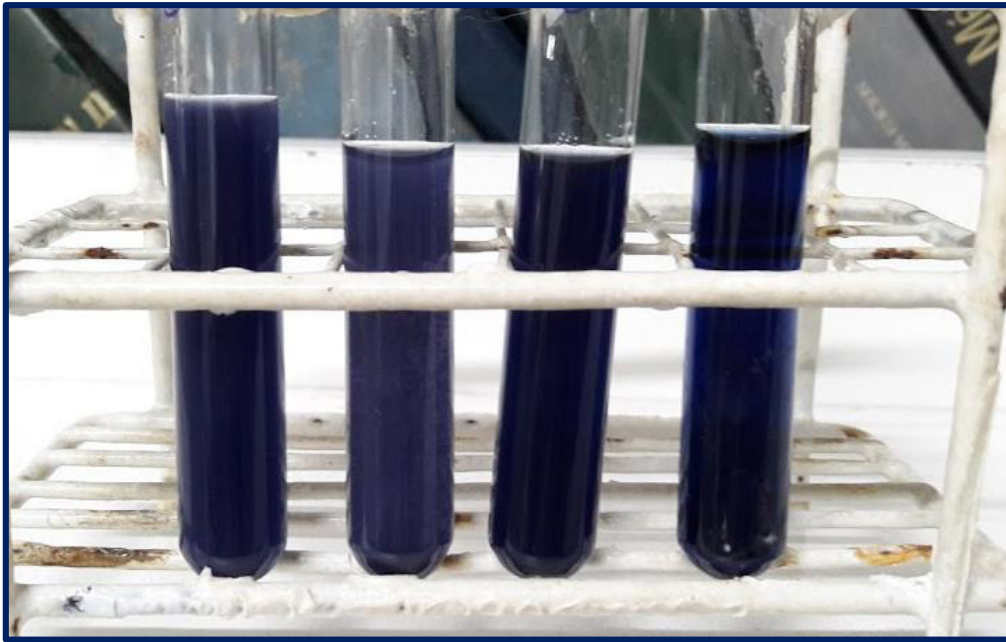


Fig. N°32: Bateria de tubos con el reactivo DPPH



Fig. N°33: Lectura en un espectrofotómetro.

Determinación de la actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium*

Diabetes inducida por aloxano (Método Mendez, J.D 1994).¹

Se administró aloxano vía intraperitoneal a ratones normoglicémicos en dosis de 150 mg/Kg p.v. al 5% en agua destilada. Los niveles de glucosa se midieron a las 48 horas después de la inducción, se consideraron hiperglicémicos si el valor de glicemia moderada es 180-250 mg/dL o severa de >250 mg/dL. Los ratones tuvieron un periodo de ayuno de 12 horas previo a la inducción de DM1.

La determinación de glucosa en sangre de ratones se realizó por el método de glucosa oxidasa.^{74, 75} El equipo utilizado para medir los niveles de glucosa en sangre fue un glucómetro marca ACCU-CHEK® Active de Roche (Alemania).

Se procedió hacer una pequeña incisión en el ápice de la vena caudal y se recolectó la 2^{da} gota de sangre en las tiras reactivas ACCU-CHEK®.

La determinación de glucosa en sangre se evaluó:

- En la etapa final de adaptación previo ayuno de 12 horas
- 48 horas después de la inducción del aloxano corroboramos la hiperglicemia.
- Previo a la administración de los tratamientos se determina la glicemia basal.
- Seguidamente se administró el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* reconstituido en agua destilada.
- ✓ 1er grupo: Suero fisiológico
- ✓ 2do grupo: 30 mg/Kg del extracto de la corteza de *Curarea tecunarium*

- ✓ 3er grupo: 50 mg /Kg del extracto de la corteza de *Curarea tecunarum*
- ✓ 4to grupo: 100 mg/ Kg del extracto de la corteza de *Curarea tecunarum*
- ✓ 5to grupo: 10 mg/Kg de glibenclamida.

Luego se midió la glicemia a las 0.5, 1, 1.5, 2, 24, 76 horas.

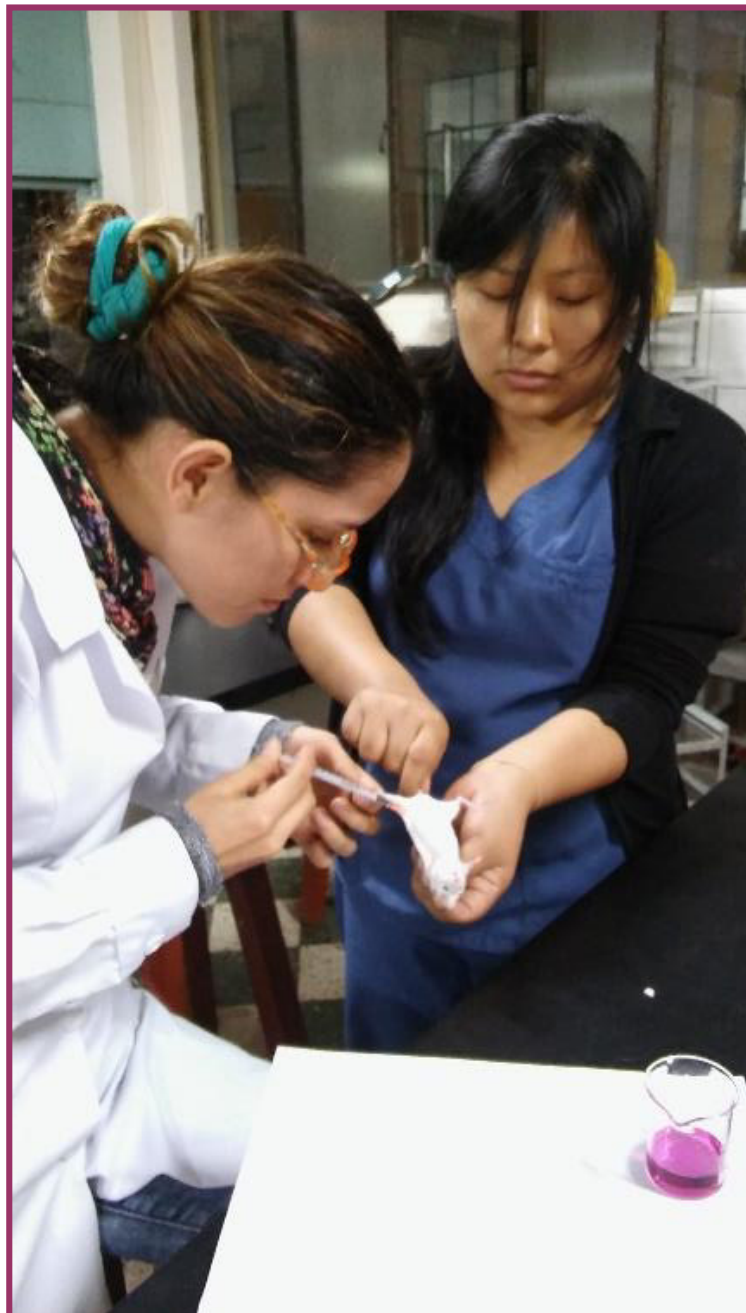


Fig. N°34: Administración intraperitoneal de aloxano en ratón.



Fig. N°35: Tiras reactivas de para medición de glucosa

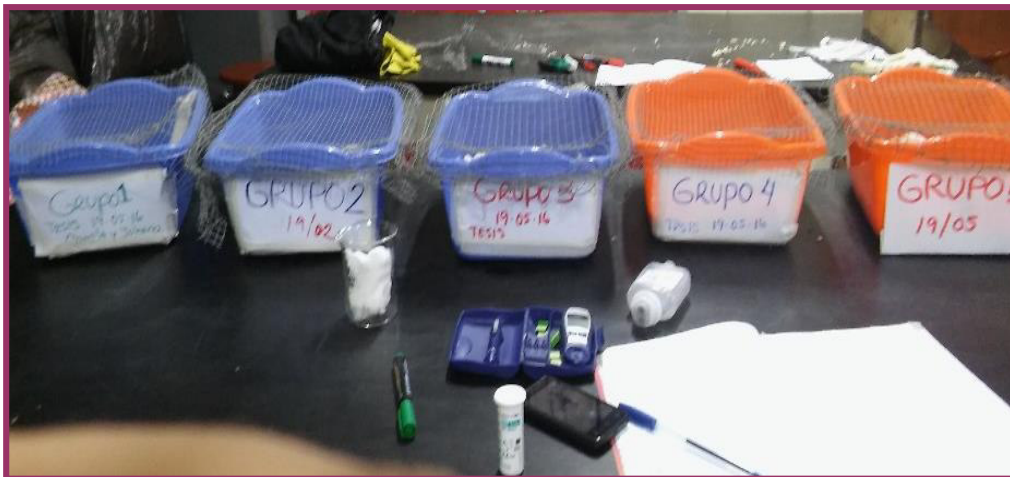


Fig. N°36: Grupos de trabajos conformado por 6 ratones cada uno.



Fig. N°37: De izquierda a derecha 10 mg/mL de glibenclamida, 30 mg/mL, 50 mg/mL y 100 mg/mL de *Curarea tecunarium*

3.3.4 Análisis estadístico:

Se realizó el análisis estadístico por Statistic 21 para investigar el efecto hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium*.

Los factores estudiados fueron el tiempo y tratamiento de tres dosis 30 mg/Kg, 50 mg/kg y 100 mg/Kg. La variable de respuesta fue una medida de la variación de glucosa en ratones aloxanizados. También se realizó la comparación sobre un grupo control de glibenclamida.

Variable dependiente: Variación de la glucosa en ratones aloxanizados.

Variable independiente: el extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium* en concentraciones 30 mg/Kg, 50 mg/Kg, 100 mg/Kg, y en diferentes tiempos de acción.

Diseño estadístico:

Análisis ANOVA Factorial de 2 factores (tiempo y concentración): Nivel de confianza al 95% con un $p < 0.05$ y para identificar los tratamientos específicos de significancia se utilizaron el test de análisis estadístico Tukey y Dunnett.

3.2.6 Extracción de los órganos de los animales de experimentación y observación de los cortes histológicos.

Se seleccionó 01 ratón por cada grupo (30 mg/Kg, 50 mg/Kg, 100 mg/Kg extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium*, glibenclamida y suero) con la finalidad de realizar el análisis anátomo-histopatológico y determinar si presenta algún efecto de toxicidad sobre los principales órganos: pulmón, páncreas, riñón, hígado y corazón. Luego se conservaron en una solución de formaldehído al 10%, pH=7,6 según procedimiento reportado por Bancroft y Gamble.⁷⁶ Al día siguiente se llevó al Instituto de Investigación Patología del Hospital Nacional Arzobispo Loayza para la realización de los cortes histológicos.



Fig. N°38: 01 ratón por cada grupo (30 mg/Kg, 50 mg/Kg, 100 mg/Kg extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium*, glibenclamida y suero)



Fig. N°39: Sacrificio y extracción de órganos páncreas, hígado corazón pulmón y riñón

IV.- RESULTADOS

4.1 ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO

Prueba de solubilidad

Se observó la solubilidad respectivamente en la Tabla N°12 y la Figura N°40 en donde se evidenció una mayor solubilidad en metanol agua y alcohol.

Tabla N°12: Resultado de la prueba de solubilidad de extracto de *Curarea tecunarium*

	Metanol	Agua	Alcohol	Cloroformo
Solubilidad	++++	+++	+++	+

Leyenda:++++: muy soluble ,+++ : soluble,++ : moderadamente soluble,+ : poco soluble.

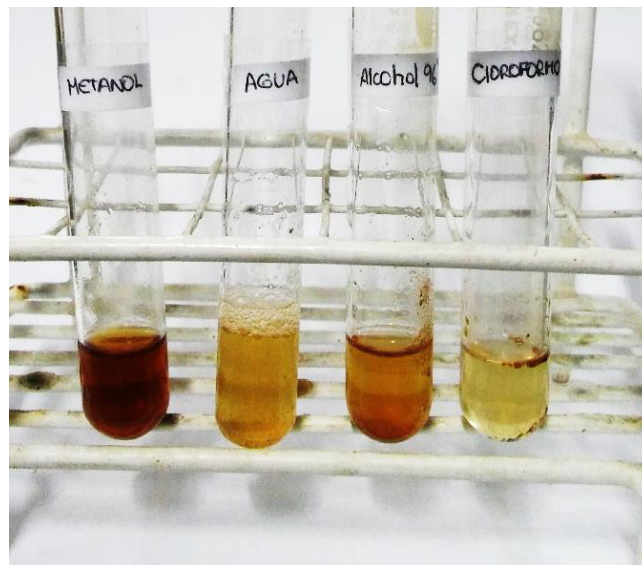


Fig. N°40: Solubilidad de *Curarea tecunarium* extracto 10 mg/mL, metanol, agua, alcohol 96° y cloroformo de izquierda a derecha.

Ensayo de identificación fitoquímica

En el ensayo de identificación fitoquímica realizada al extracto hidroalcohólico seco de *Curarea tecunarium* se observó la presencia de azúcares totales, taninos, alcaloides y flavonoides en mayor proporción, se evidencia en la Tabla N°13 y Figura N°41.

Tabla N°13: Resultado del tamizaje fitoquímico. Facultad de farmacia y bioquímica, cátedra de Farmacognosia.

Reactivo	Coloración	Metabolitos	Resultado (Ext acuoso)
Molish + Ac. Sulfurico	Anillo violeta	Azúcares totales	++++
Tricloruro de Hierro	Verde intenso	Compuestos fenólicos	++
Gelatina	Opalescencia	Taninos	++++
Dragendorff	Precipitado naranja	Alcaloides	++++
Mayer	Precipitado blanco	Alcaloides	++++
Rossenger	Precipitado rojo	Flavonoides/catequinas	+++
Shinoda	amarillo	isoflavonas	++
Ninhidrina	Color morado	proteinas	+ / ++
Hidroxilamina 10%	Color roja naranja	Compuestos carbonilos	-
Vainillin sulfúrico	Anillo pardo violeta	saponinas, lactonas sesquiterpénicas	++
Liebermann Burchard	Coloración naranja	Esteroides	++
Índice afrosimétrico	espuma	saponinas	++
Antrona	Anillo verde	Carbohidratos	++++
Bortrager	Coloración roja	Antraquinonas	-

Leyenda: (+) Poca intensidad para ese metabolito en el extracto, (++) mediana intensidad para ese metabolito en el extracto. (+++) mayor intensidad para ese metabolito en el extracto. (-) respuesta negativa para ese metabolito en el extracto.



Fig. N°41: Batería de tubos de ensayo del tamizaje fitoquímico de extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium* de izquierda a derecha: Molish, $FeCl_3$, Gelatina, Dragendorff, Mayer, Rossenger, Shinoda, Ninhidrin, Hidroxilamina 10%, Vainillín sulfúrico, Liebermann Burchard, Índice afrosimétrico, Antrona, Bortrager.

Cromatografía de capa fina de metabolitos de *Curarea tecunarium*

En la figura N° 42, se demuestra la presencia de los metabolitos de ácido gálico en el extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium*. Soporte: sílica gel, sistema de solvente: acetato de etilo:etanol (1:3)

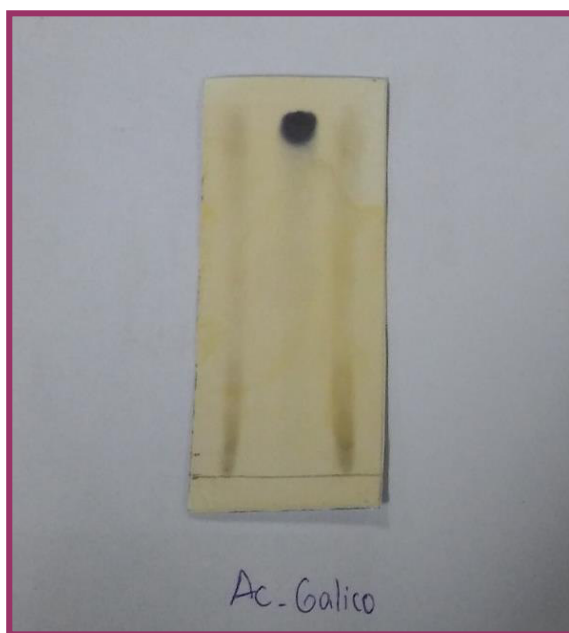


Fig. N°42: Cromatografía de capa fina de *Curarea tecunarium* frente a estándar de ácido gálico, se aprecia las manchas con un Rf similar entre el estándar y el extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium*.

En la determinación de compuestos fenólicos, se realizó la corrida de estándares de hesperidina y quercetina (Figura N°10), resultando positivo la presencia de estos dos metabolitos. sistema de solvente: acetato de etilo:etanol (1:3), revelador: tricloruro de aluminio.

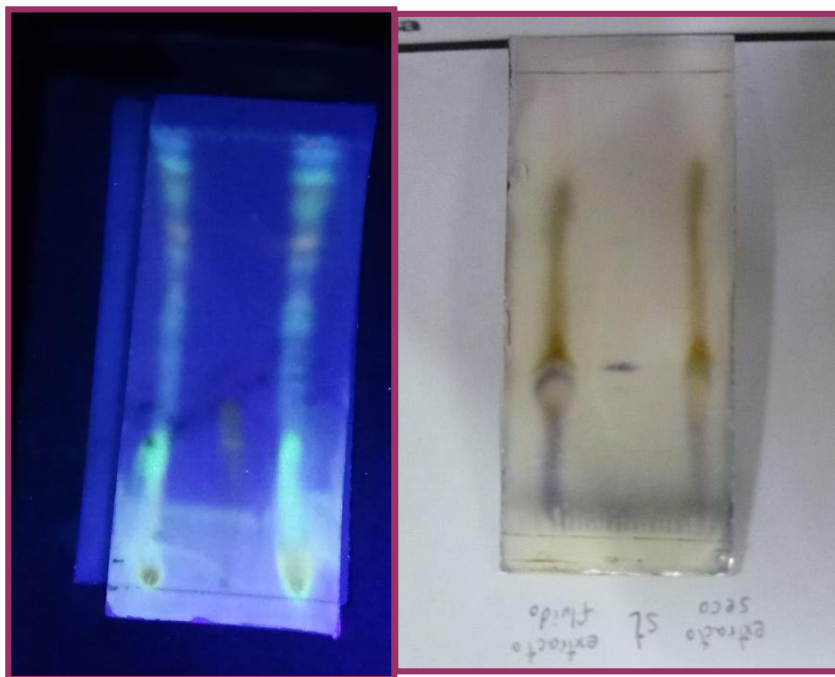


Fig. N°43: Cromatografía de capa fina de los metabolitos de *Curarea tecunarium* frente a estándar de quercetina, hesperidina, los Rf corresponden entre el estándar y la muestra.

Tabla N°14: Relación de frentes entre el extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium* y estándares.

Estándar	Rf estándar	Rf <i>Curarea tecunarium</i>
Ac. Gálico	Rf: 0.96	Rf: 0.96
Quercetina	Rf: 0.37	Rf: 0.39
Hesperidina	Rf: 0.44	Rf: 0.46

Cuantificación de fenoles totales por Folin Ciocalteu

Resultados de la lectura espectrofotométrica a una longitud de onda de 760 nm de *Curarea tecunarium* se observa en la Tabla N°15.

Tabla N°15: Resultados de absorbancia para cuantificación de fenoles totales por Folin Ciocalteu

Lectura	absorbancia:
N° 1	0.692
N° 2	0.688
N° 3	0.701
Absorbancia promedio	0.693667

Tabla N°16: Resultados de la lectura de absorbancia de las diferentes concentraciones de ácido gálico para la curva de calibración.

Solución	Concentración de la Solución (µg/mL)	Concentración en 0.5 mL de solución	Volumen final del tratamiento	Concentración final (µg/mL)	Abs
A	100	50	5	10	0.985
B	50	25	5	5	0.504
C	40	20	5	4	0.405
D	30	15	5	3	0.293
E	20	10	5	2	0.19

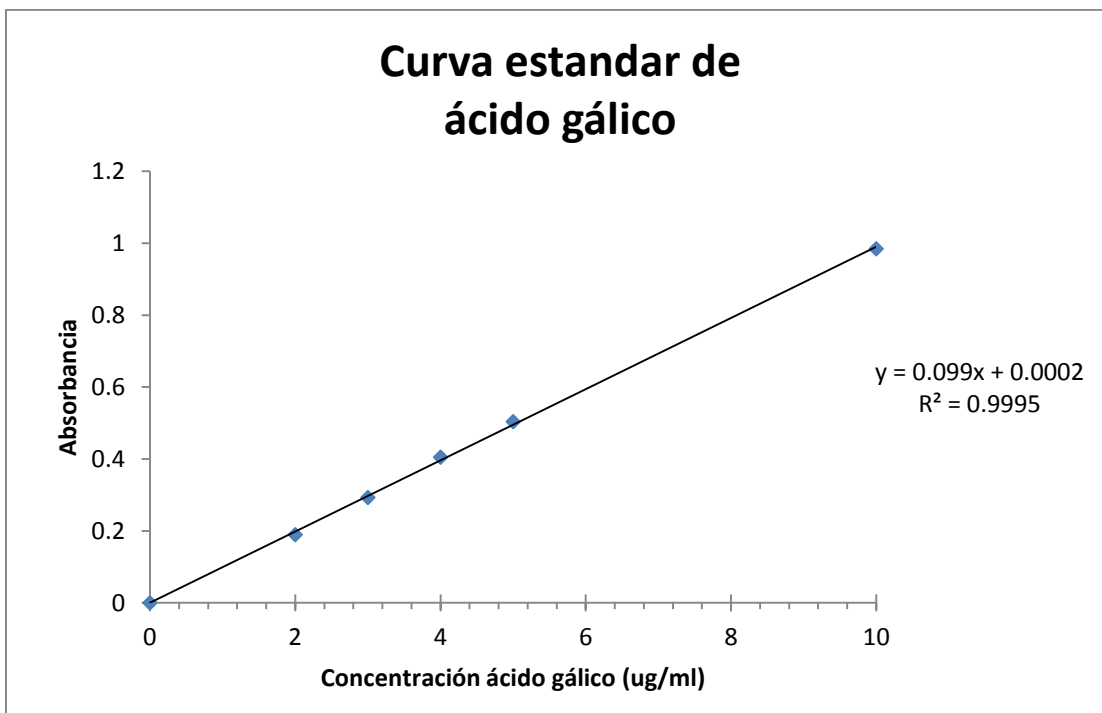


Gráfico N°2: Curva de calibración del estándar de ácido gálico según datos de la Tabla N° 16

Tabla N°17: Tabla de cálculo para hallar el contenido de ácido gálico por mg de extracto hidroalcohólico seco de *Curarea tecunarium*.

Ácido gálico en muestra según ecuación de la recta (μg)	Volumen (mL)		
7.026936027	1	equivalente en el extracto tomado (mL)	
35.13468013	5	0.5	Peso de <i>Curarea tecunarium</i> (mg)
70.26936027	-	1	0.24016
Por lo tanto en 1 mg de extracto seco hay 292.59393849667 μg de ácido gálico			
292.5939385	-	-	1

Los contenidos fenólicos de la *Curarea tecunarium* se expresaron como microgramos de ácido gálico equivalente a un miligramo de extracto seco de *Curarea tecunarium* (Tabla N°17).

Como resultado final se obtuvo 292.59 µg de ácido gálico por 1 mg de extracto seco.

Actividad antioxidante de la corteza de *Curarea tecunarium* por el método de DPPH

Tabla 18: Resultados de absorbancia de las concentraciones de 300 ppm y 600 ppm a 517 nm por el método de DPPH

Concentración		Abs	Abs blanco	Abs real
	Patrón DPPH	0.465		0.465
300 ppm	St 1	0.073	0.041	0.032
	St 2	0.06	0.043	0.017
	St 3	0.062	0.041	0.021
600 ppm	St 1	0.067	0.042	0.025
	St 2	0.06	0.043	0.017
	St 3	0.06	0.042	0.018
300 ppm	MP 1	0.102	0.058	0.044
	MP 2	0.08	0.054	0.026
	MP 3	0.078	0.054	0.024
600 ppm	MP 1	0.15	0.064	0.086
	MP 2	0.088	0.07	0.018
	MP 3	0.152	0.066	0.086

Tabla N°19: Resultados estadísticos de las absorbancias medidas para la actividad antioxidante por DPPH

		[]	%A.A.	Media de % A.A.	Desv. estándar	% Rsd
Capacidad antioxidante	%A.A	St 300 ppm	93.12	94.98	1.67	1.76
			96.34			
			95.48			
	%A.A	ST 600 ppm	94.62	95.70	0.94	0.98
			96.34			
			96.13			
	%A.A	MP 300 ppm	90.54	93.26	2.37	2.54
			94.41			
			94.84			
	%A.A	MP 600 ppm	81.51	86.38	8.44	9.77
			96.13			
			81.51			

Tabla N°20: Resultados de la actividad antioxidante

Ensayos	Métodos	Resultado de % de actividad antioxidante
Actividad antioxidante (DPPH)	Espectrofotometría Visible	...
Muestra a 300ppm		93,26%
Muestra a 600ppm		86,37%
Control vitamina C 300 ppm		94,98%
Control vitamina C 600 ppm		95,69%

La Tabla N°20 muestra que la concentración 300 ppm presenta un porcentaje de actividad antioxidante de 93,26% mayor a la concentración de 600 ppm de extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium*.

4.2 ESTUDIOS FARMACOLÓGICO

Evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium*

Tabla N° 21: Cuadro de promedios de variación de glucosa para los diferentes tratamientos frente al parámetro de tiempo.

	Basal	30 min	60 min	90 min	2h	24h	4dias
SUERO	0	-21.33	-44.17	3	33.33	-4	-6.33
30 mg/kg	0	66.67	62.83	122	80.83	-14.17	67.33
50 mg/kg	0	17.50	21.67	31.67	24	-12	-2.83
100 mg/kg	0	-168.33	-186.67	-165.67	-178	-203.67	-193.33
Glibenclamida	0	-1.67	6.677	10.67	-2	-69.67	2

Leyenda

(-) variación de glucosa favorable al efecto hipoglicemiante.

(+) Variación de glucosa no favorable al efecto hipoglicemiante.

Seguidamente se realizó el análisis estadístico ANOVA para los tratamiento a dosis de 30 mg/Kg, 50 mg/Kg y 100 mg/Kg de extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* y glibenclamida, respecto al tiempo para determinar si influyen en la disminución de glucosa en ratones aloxanizados.

Tabla N°22: ANOVA del tratamiento a dosis de 30 mg/Kg de extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* vs factor tiempo.

Resultados univariados para cada DV (hoja de cálculo14) Modelo sobre parametrizado Descomposición de tipo III					
Efecto	Grados de libertad	Variación de glucosa SS	Variación de glucosa MS	Variación de glucosa F	Variación de glucosa P
Intercepto	1	127380.2	127380.2	17.81049	0.000164
Tiempo del tratamiento a dosis de 30 mg/Kg del extracto	6	79889.6	13314.9	1.86171	0.115459
Error	35	250319.2	7152.0		
Total	41	330208.8			

En la Tabla N°22 se calculó que no existe diferencia significativa $p=0.115459$ ($p>0.05$) del tratamiento a dosis de 30 mg/Kg del extracto respecto a los diferentes tiempos en evaluación, es decir el tratamiento a dosis de 30 mg/Kg se comporta de manera similar en todos los tiempos. En el gráfico N°3 se observa que las barras de error se intersectan en el tiempo.

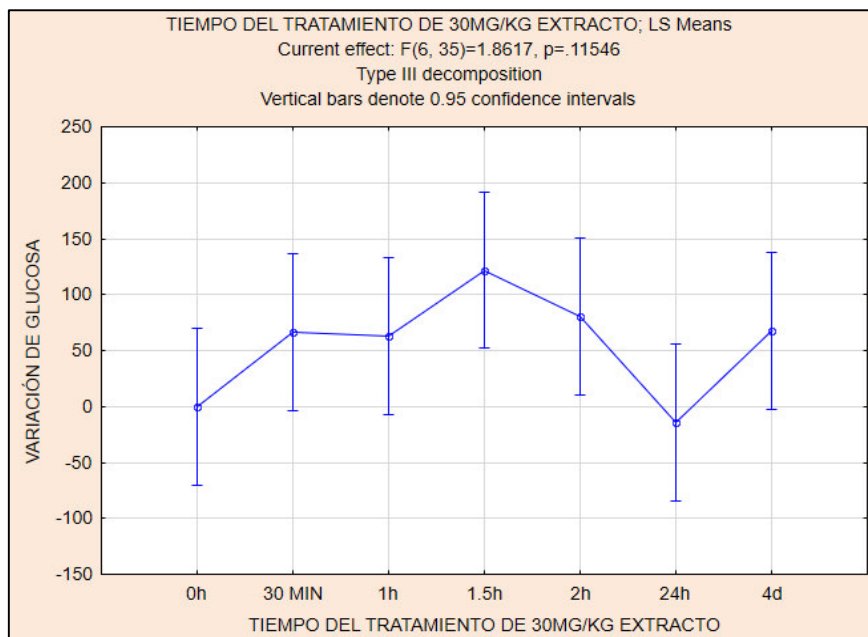


Gráfico N°3: Variación de glucosa frente al tiempo del tratamiento a dosis de 30 mg/Kg del extracto , teniendo el mismo comportamiento durante el tiempo.

Tabla N°23: ANOVA del tratamiento a dosis de 50 mg/Kg del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* vs factor tiempo.

Resultados univariados para cada DV (hoja de cálculo14) Modelo sobre parametrizado Descomposición de tipo III					
Efecto	Grados de libertad	Variación de glucosa SS	Variación de glucosa MS	Variación de glucosa F	Variación de glucosa P
Intercepto	1	5485.71	5485.714	17.66492	0.000173
Tiempo del tratamiento a dosis de 50 mg/Kg del extracto	6	9553.29	1592.214	5.12720	0.000718
Error	35	10869.00	310.543		
Total	41	20422.29			

En la tabla N°23 se muestra que existe diferencia significativa $p=0.000718$ ($p < 0.05$) del tratamiento a dosis de 50 mg/Kg del extracto respecto a los diferentes tiempos en evaluación, es decir el tratamiento a dosis de 50 mg/Kg del extracto se comporta de manera diferente en al menos en un tiempo. Siendo una variación de glucosa favorable en el tiempo de 24 horas, En el gráfico N°4 se observa que las barras de error no se intersectan en el tiempo de 24 h respecto a los tiempos de 1 h, 1.5 h, 2 h.

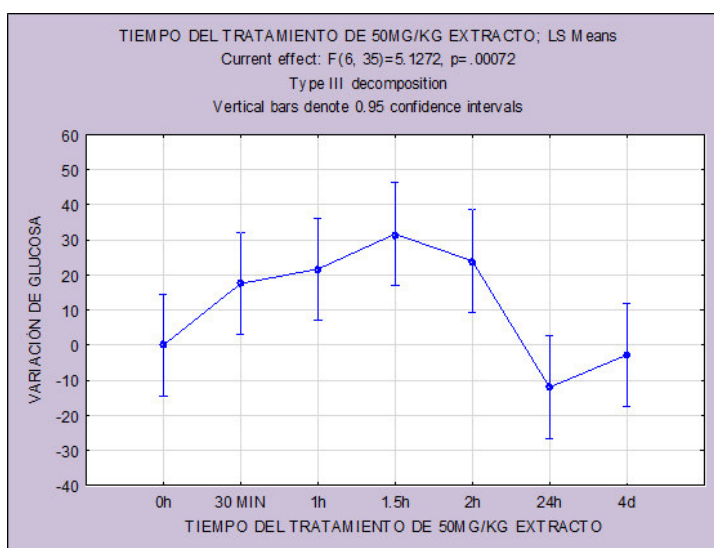


Gráfico N°4: Variación de glucosa frente al tiempo del tratamiento a dosis de 50 mg/Kg del extracto, teniendo el mismo comportamiento durante el tiempo.

Tabla N°24: ANOVA del tratamiento a dosis de 100 mg/Kg del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* vs tiempo

Resultados univariados para cada DV (hoja de cálculo14) Modelo sobre parametrizado Descomposición de tipo III					
Efecto	Grados de libertad	Variación de glucosa SS	Variación de glucosa MS	Variación de glucosa F	Variación de glucosa P
Intercepto	1	1028049	1028049	68.74685	0.000000
Tiempo del tratamiento a dosis de 100 mg/Kg del extracto	6	177738	29623	1.98093	0.095001
Error	35	523394	14954		
Total	41	701132			

En la Tabla N°24 se calculó que no existe diferencia significativa $p= 0.095001$ ($p>0.05$) del tratamiento a dosis de 100 mg/Kg del extracto respecto a los diferentes tiempos en evaluación, es decir el tratamiento a dosis de 100 mg/Kg del extracto se comporta de manera similar en todos los tiempo. En el gráfico N°5 se observa que las barras de error se intersectan en el tiempo.

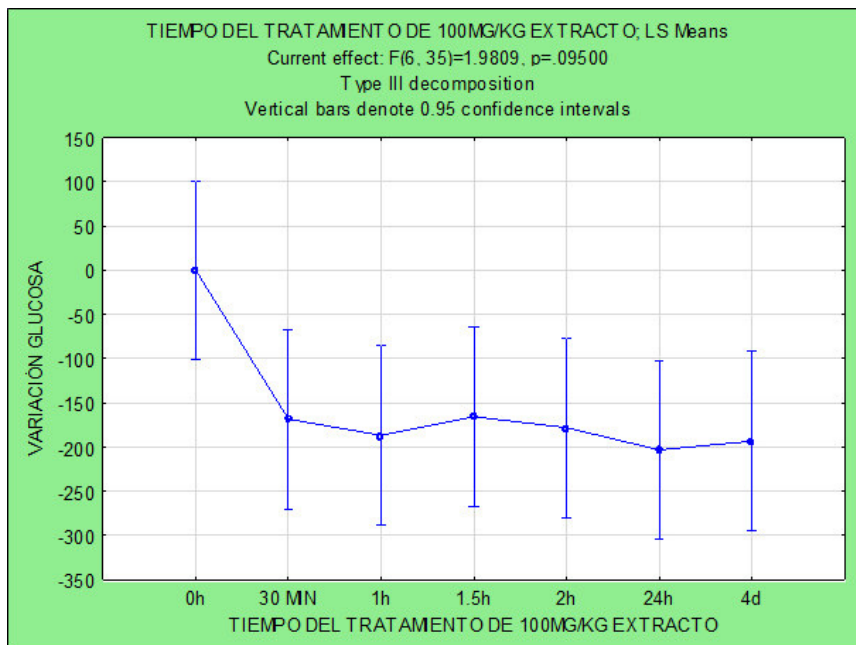


Gráfico N°5: Variación de glucosa frente al tiempo del tratamiento a dosis de 100 mg/Kg del extracto , teniendo el mismo comportamiento durante el tiempo.

Tabla N°25: ANOVA del tratamiento con glibenclamida vs tiempos

Resultados univariados para cada DV (hoja de cálculo14) Modelo sobre parametrizado Descomposición de tipo III					
Efecto	Grados de libertad	Tiempo del tratamiento de Glibenclamida a SS	Tiempo del tratamiento de Glibenclamida MS	Tiempo del tratamiento de Glibenclamida F	Tiempo del tratamiento de Glibenclamida P
Intercepto	1	372787.3	372787.3	187697.1	0.000000
Tratamiento con glibenclamida a dosis de 10 mg/kg	29	144.2	5.0	2.5	0.047783
Error	12	23.8	2.0		
Total	41	168.0			

En la Tabla N°25 se muestra que existe diferencia significativa $p=0.047783$ ($p < 0.05$) del tratamiento de glibenclamida a dosis de 10 mg/Kg respecto a los diferentes tiempos en evaluación, es decir el tratamiento de glibenclamida se comporta de manera diferente en al menos en un tiempo. Siendo una variación de glucosa favorable en el tiempo de 24 horas, En el gráfico N°6 se observa que las barras de error no se intersectan en el tiempo de 24 h respecto a los demás tiempos.

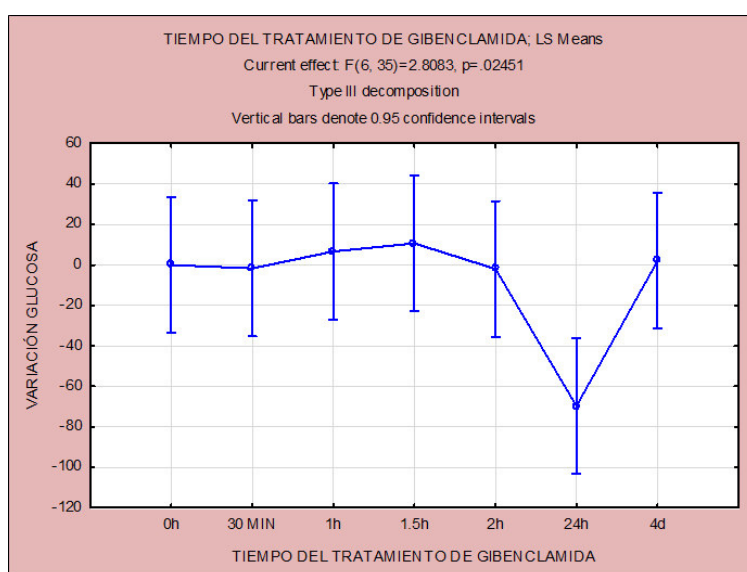


Gráfico N°6: Variación de glucosa frente al tiempo del tratamiento Control glibenclamida a dosis de 10 mg/kg

Seguidamente se evaluó el análisis factorial de los factores tiempo y tratamiento para comprobar si ambos influyen en la variación de glucosa en ratones.

Tabla N° 26: Análisis Factorial, tiempo y tratamientos.

	Resultados univariados para cada DV (hoja de cálculo1) Modelo sobre parametrizado Descomposición de tipo III				
Efecto	Grados de libertad	Variación glucosa SS	Variación glucosa MS	Variación glucosa F	Variación glucosa P
Intercept	1	89652	89652.0	13.17395	0.000372
Tratamientos	4	1075099	268774.8	39.49523	0.000000
Tiempo	6	81092	13515.3	1.98602	0.070037
Tratamiento * tiempo	24	233879	9745.0	1.43198	0.097935
Error	175	1190919	6805.2		
Total	209	2580989			

- Hipótesis nula de la interacción tratamiento y tiempo: el conjunto de tratamientos actúan de la misma forma en diferentes tiempos, no hay diferencia significativa ($p > 0.05$)
- Hipótesis alternativa de la interacción tratamiento y tiempo: que al menos uno de los conjuntos de tratamientos actúa diferente en un tiempo. Hay diferencia significativa. ($p < 0.05$)

Interpretación: Se acepta la hipótesis nula de la interacción tratamiento y tiempo, con una significancia de $p = 0.097935$ ($p > 0.05$). Al evaluar conjuntamente los tratamientos respecto a los tiempos, se observa que actúan de la misma forma mostrando una variación igual respecto al tiempo.

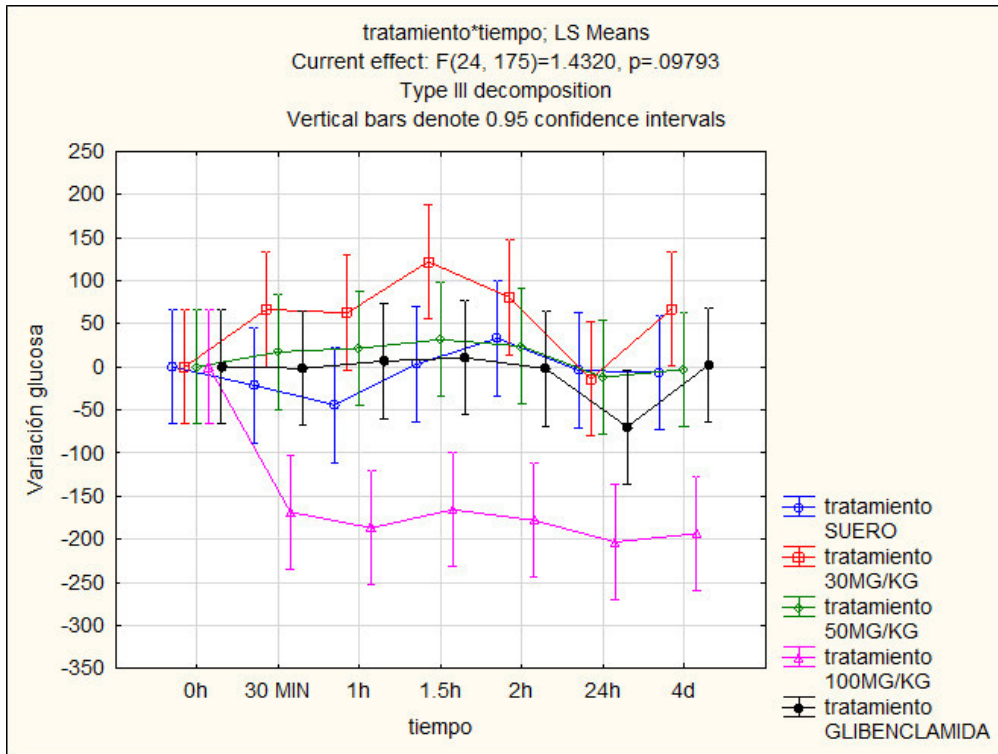


Gráfico N°7: Gráfico del comportamiento del tratamiento frente al tiempo

Sin embargo en la Tabla N°26 se muestra que hay diferencia significativa entre los tratamientos con una $p=0.00$ ($p<0.05$) y no entre los tiempos $p=0.07$ ($p>0.05$). Se concluye del análisis factorial que no hay interacción entre los factores tiempo y tratamiento, pero si en los tratamientos existe diferencia en la variación de glucosa al escoger cualquier tiempo. Por lo tanto se escogió el tiempo de 24 horas para el análisis.

Tabla N°27: Se muestra la diferencia entre los tratamientos en 24 horas

Efecto	Resultados univariados para cada DV (hoja de cálculo1) Modelo sobre parametrizado Descomposición de tipo III				
	Grados de libertad	Variación de glucosa SS	Variación de glucosa MS	Variación de glucosa F	Variación de glucosa P
Intercepto	1	110170.8	110170.8	18.25507	0.000245
Tratamientos en 24 h	4	168774.2	42193.6	6.99138	0.000638
Error	25	150877.0	6035.1		
Total	29	319651.2			

Existe diferencia significativa en al menos un tratamiento $p= 0.000638$ ($p<0.05$), se observa en la gráfico de variación de glucosa vs tratamiento (Fig. N°17)

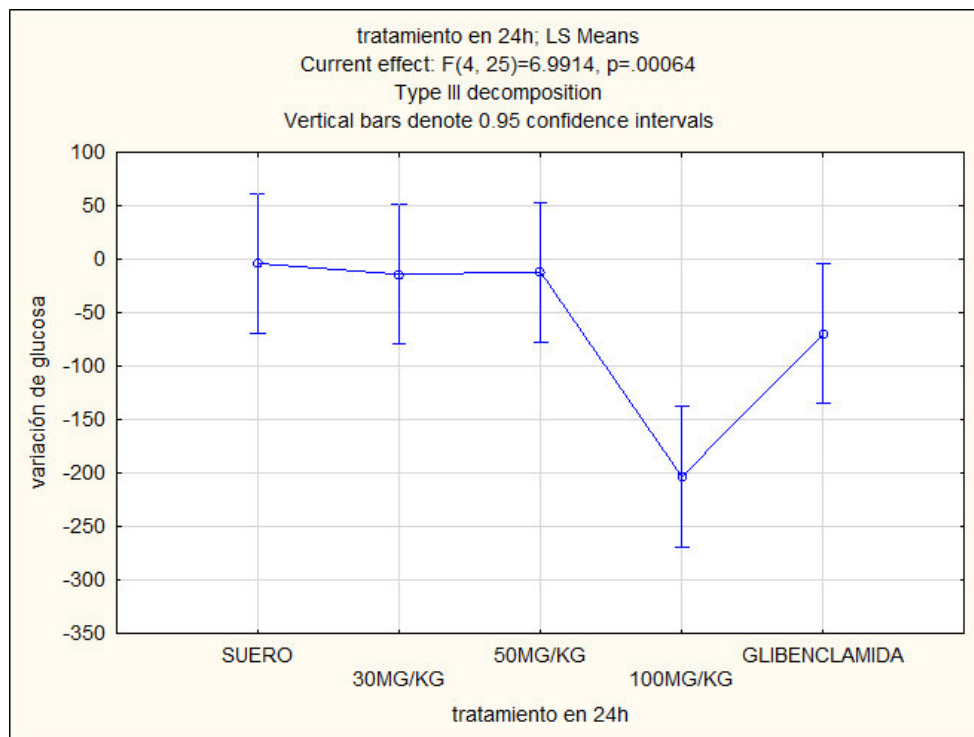


Gráfico N°8: Gráfico de variación de glucosa vs tratamiento en el tiempo de 24h.

Interpretación: Se observó que la dosis de 100 mg/Kg tiene mejor variación favorable de glucosa frente a las otras dos concentraciones.

Se realizó el test de Dunnett y Tukey para observar en el tiempo de 24 h qué tratamientos presentan diferencia significativa. (Tabla N°28, Tabla N°29)

Tabla N°28: Test de Dunnett

N°	Prueba de Dunnett; variable variación de glucosa (Hoja de cálculo 1) Probabilidades aproximadas para pruebas post hoc Error: entre MS = 6035.1, df = 25.000					
	Tratamiento en 24 h	{1} -4.000	{2} -14.17	{3} -12.00	{4} -203.2	{5} -69.67
1	Suero		0.833224	0.859987	0.000373	0.192416
2	30 mg/Kg	0.833224		0.961975	0.000455	0.227555
3	50 mg/Kg	0.859987	0.961975		0.000491	0.235944
4	100 mg/Kg	0.000373	0.000455	0.000491		0.006545
5	Glibenclamida	0.192416	0.227555	0.235944	0.006545	

Interpretación: El tratamiento de 100 mg/Kg presenta diferencia significativa frente a los demás tratamientos.

Tabla N°29: Test de Tukey

N°	Prueba de Tukey HSD; variable variación de glucosa (Hoja de cálculo 1) Probabilidades aproximadas para pruebas post hoc Error: entre MS = 6035.1, df = 25.000					
	Tratamiento en 24 h	{1} -4.000	{2} -14.17	{3} -12.00	{4} -203.2	{5} -69.67
1	Suero		0.999422	0.999776	0.001491	0.594078
2	30 mg/Kg	0.999422		0.999999	0.002530	0.730204
3	50 mg/Kg	0.999776	0.999999		0.002257	0.702118
4	100 mg/Kg	0.001491	0.002530	0.002257		0.045978
5	Glibenclamida	0.594078	0.730204	0.702118	0.045978	

Interpretación: El tratamiento de 100 mg/Kg presenta diferencia significativa frente a los demás tratamientos.

Luego se evaluó frente al patrón Glibenclamida, qué tratamientos es diferente al efecto de la glibenclamida.

Tabla N°30: Dunnet, evaluación del patrón glibenclamida frente a los demás tratamientos.

N°	Prueba de Dunnett; variable variación de glucosa (Hoja de cálculo 1) Probabilidades para pruebas post hoc (2 caras) Error: entre MS = 6035.1, df = 25.000	
	Tratamiento en 24 h	{5} -69.67
1	Suero	0.408841
2	30 mg/Kg	0.552446
3	50 mg/Kg	0.520321
4	100 mg/Kg	0.021895
5	Glibenclamida	

Interpretación: Cuando lo comparó con el grupo control de glibenclamida se observa que con 100 mg/Kg hay diferencia significativa de $p = 0.021895$ ($p < 0.05$) siendo este último con mejor efecto y se muestra en Tabla N°30.

Finalmente se calculó el porcentaje de disminución de los niveles séricos de glicemia .

Tabla N°31: Porcentaje de disminución de los niveles séricos de glicemia en ratones albinos, en todos los grupos experimentales

Grupos experimentales	0.5 h %	1h %	1.5h%	2h%	24h%	48h%
Suero	-8.31	-17.20	1.16	12.98	-1.56	-2.46
30 mg/Kg	22.3	21.06	40.89	27.09	-4.74	22.56
50 mg/Kg	12.74	15.77	23.05	17.47	-8.73	-2.06
100 mg/Kg	-49	-54.93	-48.75	-52.37	-59.78	-56.89
glibenclamida	-1	3.97	6.36	-1.19	-41.51	1.19

En la Tabla N°31, se muestra el porcentaje de disminución de glicemia de cada tratamiento en todas las horas que fueron evaluadas. Se observa en 24 horas el grupo que utilizó “abuta” a dosis de 30 mg/Kg. Manifestó una disminución del 4.74% y a dosis de 50 mg/Kg presentó una disminución del 8.73%; en el grupo que fue tratado con Glibenclamida de 10 mg/Kg, produjo una disminución del 41.51% a las 24 horas de tratamiento; mientras el grupo tratado con “abuta” a dosis de 100 mg/Kg mostraron una disminución del 59.78% en los niveles de glicemia a las 24 horas, datos que fueron anteriormente corroborados con los análisis de ANOVA. También se observa que el tratamiento a dosis de 100 mg/Kg desde la primera medición presenta disminución de los niveles de glicemia continuamente siendo el de 24 horas el porcentaje mayor de disminución de nivel de glicemia.

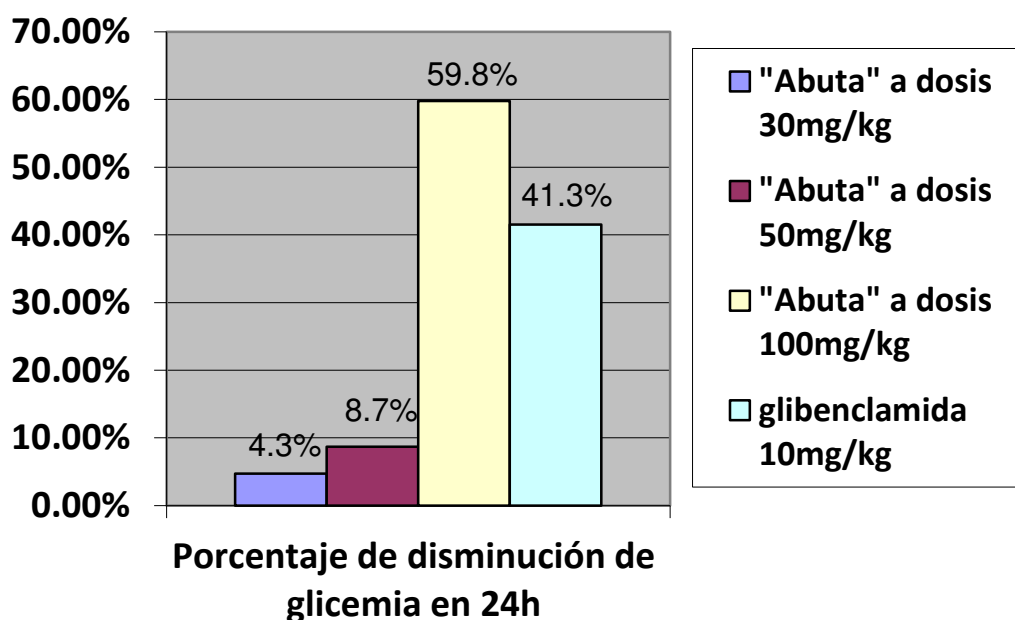


Gráfico N°9: Porcentajes mayores de disminución del nivel sérico de glicemia de todos los tratamientos en ratones diabéticos.

En el Gráfico N°9, se muestran los porcentajes mayores de disminución de glicemia en todos los tratamientos en 24 horas; en el grupo tratado con glibenclamida a dosis de 10 mg/Kg solo se obtuvo una disminución del 41.3%, así mismo en los grupos tratados con el extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarum* al 30 mg/Kg y 50 mg/Kg se obtuvo una disminución de los niveles de glicemia menos del 10%, en comparación al grupo que utilizó a dosis de 100 mg/Kg que obtuvo un mayor porcentaje con un 59.8%.

4.3 EXTRACCIÓN DE ÓRGANOS DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN Y OBSERVACIÓN DE LOS CORTES HISTOLÓGICOS.

Los resultados son evaluados por un especialista del Instituto de Investigación Patología del Hospital Nacional Arzobispo Loayza, concluyendo que no existe daño colateral ni toxicidad en los órganos principales por el uso del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium*.

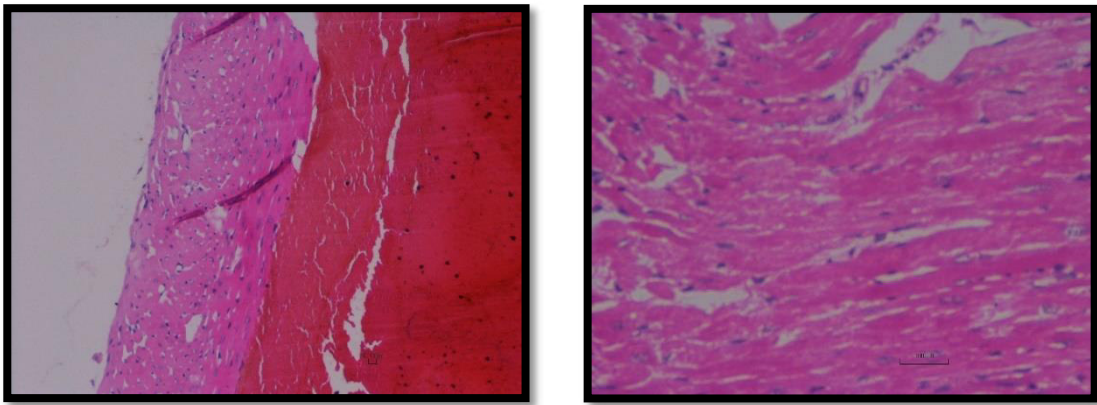


Fig. N°44: Fotografía del Corazón de ratón tratado con extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* 100 mg/Kg 400X.

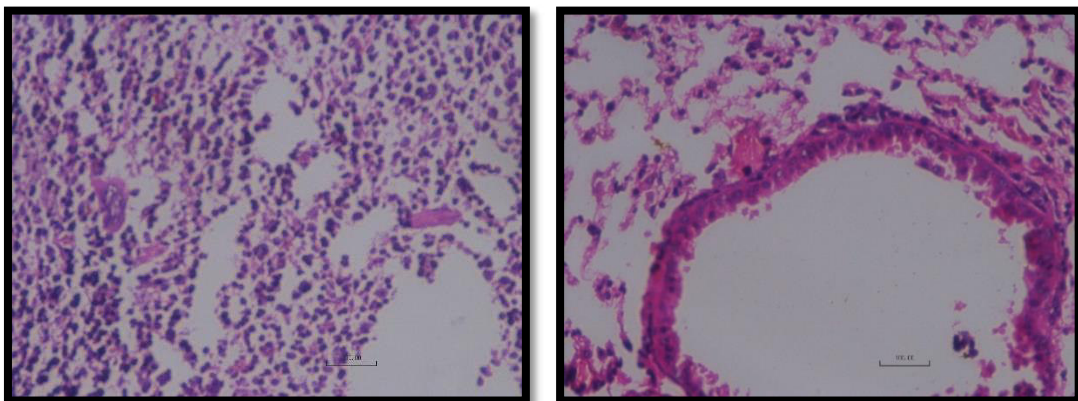


Fig. N°45: Fotografía del Pulmón de ratón tratado con extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* 100 mg/Kg 400X.

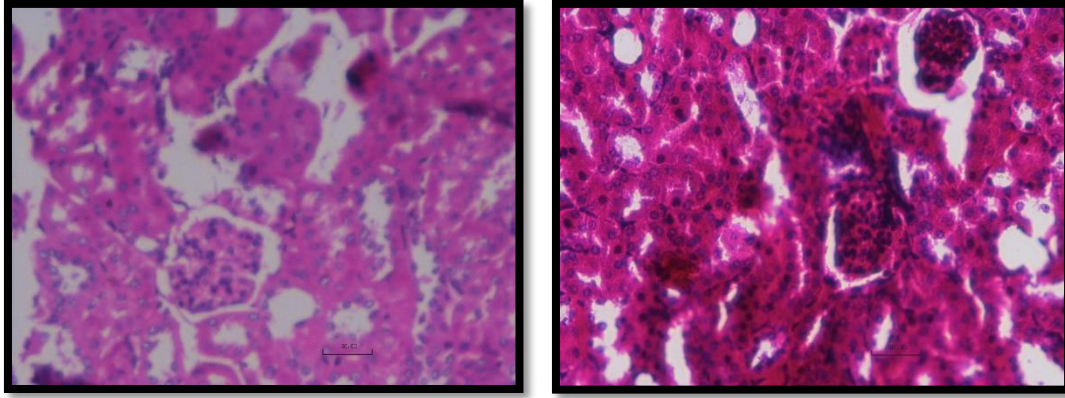


Fig. N°46: Fotografía del Riñón de ratón tratado con extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* 100 mg/Kg 400X.

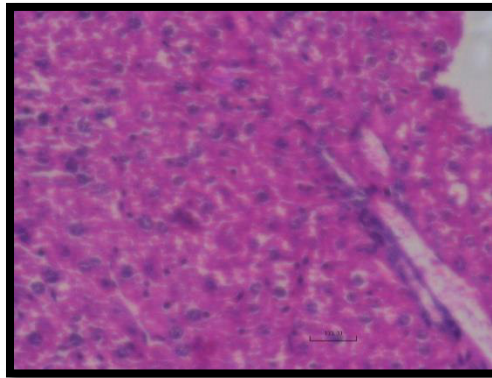


Fig. N°47: Fotografía del hígado de ratón tratado con extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* 100 mg/Kg 400X.

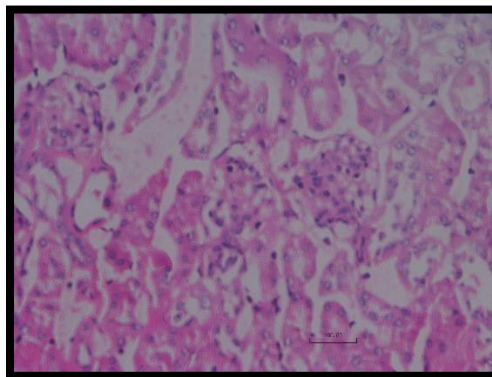


Fig. N°48: Fotografía del páncreas (Islotes de langerhans) de ratón tratado con extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* 100mg/Kg 400X.

V.- DISCUSIÓN

- Actualmente, a pesar del avance tecnológico existe una limitada acción de tratamientos para la cura a enfermedades crónicas como la diabetes, la medicina tradicional está siendo empleada como alternativa para la solución a estas enfermedades, que epidemiológicamente van en aumento, por el surgimiento de nuevos “estilos de vida” según Eduardo M.⁷⁷
- El presente estudio evidenció que el uso tradicional de la corteza de *Curarea tecunarium* utilizada para la diabetes por los pobladores de la Región Iquitos tiene un efecto hipoglicemiante y antioxidante calculándose la dosis efectiva para dicho efecto.
- En la preparación del extracto de *Curarea tecunarium* se utilizó solventes de polaridad creciente alcohol y agua (1:2) para lograr en la maceración un mayor agotamiento de la droga, extrayéndose compuestos polares y apolares, debido a que no se sabe la naturaleza de los compuestos responsables de la actividad farmacológica, este es el primer paso para la identificación fitoquímica.
- Medina D.⁷⁸ estudió métodos de extracción con eter dietílico, alcohol y agua obteniéndose un rendimiento de 36% si se utiliza etanol al 96°, siendo este el mejor solvente de extracción para un material vegetal triturado. Así mismo Llumiguano L.⁷⁹ obtuvo un rendimiento de 36% con alcohol de 96° y 32% en agua de la extracción de *Physalis peruviana* para evaluar el efecto hipoglicemiante.

- En la determinación fitoquímica realizada al extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium* se obtuvieron cualitativamente compuestos fenólicos y alcaloides en mayor proporción, siendo la base para realizar la cuantificación de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu. En el ensayo de fenoles totales, la curva de calibración obtenida para este ensayo se presenta en el Gráfico N°2 realizada con diferentes concentraciones de ácido gálico ($R^2 = 0.9995$). Los resultados (Tabla N° 17) muestran que 1mg de extracto seco de *Curarea tecunarium* presenta 292.594 ug de ácido gálico.
- Existe una correlación entre el contenido de fenoles totales, la capacidad antioxidante y el potencial reductor. Sin embargo, observamos que la capacidad antioxidante no solo depende del contenido de polifenoles. Según Ramírez P. y col.⁸⁰ y Molina Q. y col.⁸¹
- En nuestro estudio señalamos que el contenido fenólico total se relaciona directamente con la actividad antioxidante total al igual que indica Adom K. y col.⁸²
- Las concentraciones utilizadas para determinar el porcentaje de actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium* fueron de 300 ppm y 600 ppm, con un resultado de 93,26% y 86,37% respectivamente.
- Estos resultados afirman la relación entre la actividad antioxidante y los fenoles encontrados.⁸⁰ Atribuyendo la actividad antioxidante a los flavonoides, isoflavonas, taninos, alcaloides y compuestos fenólicos el cual está dado por metabolitos secundarios presentes en la corteza tan igual como demuestra Ruiz S y col. en su estudio.⁸³

- Se encontró por medio de la cromatografía de capa fina flavonoides como quercetina y hesperidina en el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium*, metabolitos secundarios, los que inhiben a la enzima digestiva α -glucosidasa, retardando la absorción de la glucosa en la sangre posprandial para la diabetes mellitus insulino no dependiente, encontrados también en el estudio de K Tadera y col.⁸⁴
- En la evaluación del efecto hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium* previamente se indujo a un modelo de aloxanización con 150 mg/Kg a 5 grupos (n=6) blanco, control con glibenclamida y los tratamientos a dosis de 30 mg/Kg, 50 mg/Kg y 100 mg/Kg. Se obtuvo un aumento de glicemia a las 48 horas mayor a 250 mg/dL en sangre, obteniéndose resultados similares en la inducción de aloxano en ratas por Justil C.⁸⁵ Asimismo la inducción de diabetes a los ratones produce un aumento en los niveles de peróxidos lipídicos confirmado por Ian Clark y col.⁸⁶
- Los resultados estadísticos encontrados en el presente trabajo, muestran que no existe una inter-relación entre el factor tiempo y tratamiento, es decir no son condicionales ya que presentó un diferencia significativa de $p= 0.098$ ($p >0.05$) sin embargo al evaluar solo el efecto hipoglicemiante entre los tratamientos se evidenció que al menos un tratamiento es diferente, según el ANOVA $p=0.00$ ($p<0.05$), seleccionamos el tratamiento en 24 horas, mostrando que el extracto de “abuta” a dosis de 30 mg/Kg, 50 mg/Kg y 100 mg/Kg presentó una disminución de 4.74%; 8.73% y 59.78% respectivamente y el grupo tratado con Glibenclamida 10 mg/kg,

produjo una disminución del 41.51%, siendo la dosis de 100 mg/Kg de extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* la que presentó mayor actividad hipoglicemiante. Lo que consideramos que se debe a la altas concentraciones de compuestos polifenólicos encontrados en nuestro estudio, en el estudio de Artemio Chang y col. se corroboraron los resultados obtenidos, ya que el extracto de “abuta”, *Curarea tecunarium* Bameby & Krukoff, al ser administrado a pacientes adultos diagnosticados como diabéticos insulino no dependiente, mostró un notable efecto hipoglicemiante al reducir los niveles de glucosa plasmática en 48% luego de 60 días de administración.⁸⁷

- La disminución de la glucosa se sustentan por la presencia de compuestos polifenólicos, evidenciados en la marcha fitoquímica (Tabla N°13) y las corridas cromatográficas (Tabla N°14). Estos metabolitos se encuentran dentro de la familia Menispermaceae según estudios previos de Victor M.¹⁰ y Cárdenas C.y col.⁸⁸
- Estos resultados se fundamentan por la presencia de quercetina y hesperidina, encontrados en la cromatografía de capa fina, e indirectamente en la cuantificación de Fenoles totales y DPPH, estos metabolitos son controles positivos en estudios antidiabéticos in vitro debido a su potente inhibición de la enzima α -glucosidasa y α -amilasa afirmado por N. F. Brás, y col.⁸⁹ y Adhikari A.y col.⁹⁰
- Dicho lo anterior, el mecanismo de acción posible para la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcoholico de la corteza de *Curarea*

tecunarium se le atribuye a la inhibición enzimática de α -amilasa que contribuye al tratamiento de la DM-II, estando de acuerdo con lo planteado por Ramírez O. y col.⁹¹

- Se alcanza a entender que el efecto hipoglicemiante de la planta en estudio se debió a los metabolitos bioactivos que se hallan en mayor cantidad en el extracto hidroalcohólico tales como: taninos, antraquinonas, saponinas, triterpenoides y/o esteroides, flavonoides, azúcares reductores y de manera muy particular compuestos químicos (Tabla N°13 y figura N°41) de naturaleza fenólica, también como ha demostrado Ibarra y col. atribuyendo la actividad hipoglicemiante al sinergismo de los metabolitos presentes.⁹²
- Nuestro estudio ha comprobado que el tratamiento a dosis de 100 mg de *Curarea tecunarium* por Kg de ratón presenta un efecto hipoglicemiante significativo $p < 0.05$ en 24 horas (Tabla N°30) frente a los tratamientos de 30 mg/Kg, 50mg/Kg, y superior a la glibenclamida utilizada como muestra patrón.
- Al evaluar los órganos involucrados como el páncreas y el hígado no se observaron daños tóxicos teniendo los mismo resultados que obtuvieron Zavaleta J y Gerstein W.¹⁷
- El mecanismo de acción propuesta luego de los resultados obtenidos sería por la influencia de los compuestos antioxidantes en la capacidad de eliminación de radicales libres por la facilidad en la donación de hidrógenos. De manera íntegra, el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium*, es una fuente natural de antioxidantes (compuestos fenólicos y/o flavonoides) que pueden conservar la función

de las células β previniendo la diabetes inducida por la formación de ROS.⁹³

- Nuestra investigación sugiere que la terapia antioxidante podría ser una estrategia útil en la diabetes mellitus insulino no dependiente y otros estados resistentes a la insulina al igual que Houstis, Rosen, y Lander.⁹⁴

VI.- CONCLUSIONES

- El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* presenta actividad hipoglucemiante en ratones con diabetes mellitus insulino no dependiente inducidas con aloxano, siendo 100 mg/Kg la dosis con mayor porcentaje de disminución de hiperglicemia al 59.78%, y con una actividad antioxidante de 93,26% a una concentración de 300 ppm.
- El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* mediante el ensayo fitoquímico se identificó azúcares totales, compuestos fenolicos, taninos, alcaloides, flavonoides/catequinas, saponinas, esteroides y carbohidratos.
- El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* contiene 292,59 ug de fenoles totales por 1 mg de extracto seco.
- El extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* no evidencia un efecto perjudicial sobre los diferentes órganos de los ratones aloxanizados.

VII.- RECOMENDACIONES

- ❖ Se recomienda que se realicen estudios acerca de los efectos de *Curarea tecunarium* a dosis superiores.
- ❖ Deben realizarse trabajos de investigación clínica a fin de comprobar la utilidad en el control de la diabetes del extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium*
- ❖ Deben realizarse trabajos de investigación para determinar si el extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* inhibe las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa.
- ❖ Continuar con las investigaciones para el desarrollo de un nuevo producto fitofármaco
- ❖ Realizar estudios comparativos entre otras especies con propiedades hipoglicemiantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ramos H, Domingo Mendez J; Diabetes Mellitus Experimental .Bioterio. división de estudios de post-grado e investigación. Universidad Nacional Autónoma de Mexico. Ed. 1994.
2. Ramos Gaibor LJ Tesis [Internet]. 2017 [citado el 24 de Marzo de 2018]. Recuperado a partir de: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/21902>
3. World Health Organization Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications: report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus [INTERNET] Acceso 05 agosto 2017. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/66040/1/WHO_NCD_NCS_99.2.pdf
4. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2017;40 (Suppl.1):S1–S2
5. Kenneth S, Polonsky. MD The Past 200 Years in Diabetes N Engl J Med. 2012;367:1332-40 Disponible: <http://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMra1110560>
6. Málaga G. Las enfermedades crónicas no transmisibles, un reto por enfrentar. Rev. Perú med. exp. salud publica [Internet]. 2014 [citado 2018 Ene 31]; 31(1): 06-08.
7. Ibáñez A, Alcalá M, García J, Puche E. Drug-drug interactions in patients from an internal medicine service. Farm Hosp. 2008;32(5):293-7
8. Kember M, Elsa R. Plantas medicinales de uso Popular en la amazonia peruana Lima, Agencia Española de Cooperación Internacional Segunda Edición 2000.

9. Rengifo E. Las Ramas Floridas del Bosque Experiencia en el Manejo de plantas medicinales Amazónicas. Iquitos: Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. 2007;1:14-16.
10. Macías V. Fitoquímica y etnomedicina de la familia menispermaceae. Rev Internacionaal de Ciencias de la Salud DUAZARY. 2006;3 (2):130-42.
11. Ministerio de Salud del Perú 2010 disponible en: <http://www.minsa.gob.pe/portada/Especiales/2010/diabetes/datos.asp>
12. Chang A, Klinar S, Malaspina H, Ramos B y Muller V. Evaluación de la actividad hipoglicemiante de *Curarea tecunarium Bameby & Krukoff* "Abuta". FITOICA Revista Científica del Laboratorio de Productos Naturales. 2007;5(2):13-17.
13. Muller V, Rojas E., Daniel S., Whole Word botanicals Royal Abata Plus cap. 350 mg. 2007. Disponible en: <http://www.healingwithin.com/product/593V.html>
14. Rengifo E. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana Iquitos, Las Ramas Floridas del Bosque "Experiencia en el Manejo de plantas medicinales Amazónicas" Iquitos, 2007;(2).
15. Leccca J, Vásquez J. tesis para optar el título de químico farmacéutico de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana "Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso liofilizado de *Abuta rufescens* A., en ratas con diabetes mellitus tipo 2, inducidas con estreptozotocina. IMET- ESSALUD, 2011"
16. Tuesta V, Rodriguez C. tesis para optar el título de químico farmacéutico de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana "Efecto del extracto acuoso liofilizado de *Abuta rufescens* y *Notholaena nivea* sobre la hiperglicemia inducida en ratas IMET –ESSALUD– 2010

17. Zavaleta J y Gerstein W. XII Congreso Internacional de Diabetes 2012 “Determinación del efecto antidiabético de la corteza de *Abuta Curarea tecunarium* en ratas” Disponible en: http://upla.edu.pe/web/index.php?option=com_content&view=article&id=958:felicitaciones-a-docentes-medicos&catid=63:noticias

18. Menachery MD. The Alkaloids of South American Menispermaceae. Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives. Pergamon 1996;11:269-202.

19. Kobori M, Masumoto S, Akimoto Y. and Takahashi Y. Dietary quercetin alleviates diabetic symptoms and reduces streptozotocin-induced disturbance of hepatic gene expression in mice. Mol. Nutr. Food Res. 2009;859– 68

20. Macías V. fitoquímica y etnomedicina de la familia menispermacea DUAZARY, 2do semestre de 2006,;3 (2):130-42.

21. Theakston RDG, Reid HA, Larrick J, Kaplan J and Yost JA. Snake venom antibodies in Ecuadorian Indians. Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 1981;84:199-202.

22. DAVIS EW and JAMES AY, The ethnomedicine of the waorani of amazonian ecuador. Journal of Ethnopharmacology. 1983;9:273-297.

23. Ortiz GR. Tesis Revisión sistemática de *Curarea* Barneby & Krukoff (Menispermaceae). Universidad de Missouri, Escuela de Posgrado EE.UU.: Editorial St. Louis. 1991;178.

24. NYBG.org [INTERNET]. EE.UU.:NYBG; 1984 [Citado 05/08/2017] Disponible en: http://sweetgum.nybg.org/science/vh/specimen_details.php?irn=342226

25. Flora do Brasil 2020, Algas, Hongos y Plantas *Curarea candicans* (Rich.) Barneby & Krukoff Published on the Internet; <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Curarea+candicans> (accessed 1st January).
26. The Plant List (2010). Version 1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> (accessed 1st January).
27. Baynest H. Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolism*. 2015;06(05):2-9.
28. World Health Organization. Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report of a WHO/IDF consultation. Ginebra: World Health Organization; 2006.
29. Cervantes R, Presno J. Fisiopatología de la diabetes y los mecanismos de muerte de las células β pancreáticas. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 2013;21(03):98-106.
30. Bertram G. Katzung, Farmacología básica y clínica Editor, McGraw-Hill Interamericana de España S.L., (11): 2010.
31. Guyton-Hall: Tratado de Fisiología Médica, Editor, Elsevier Barcelona España, (12):2011
32. Olivares R., Arellano P., Bases moleculares de las acciones de la insulina *Rev Educ Bioquímica* 2008; 27 (1)
33. Martínez Basila Azucena, Maldonado Hernández Jorge, López Alarcón Mardia. Métodos diagnósticos de la resistencia a la insulina en la población pediátrica. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex*. 2011; 68(5): 397-404.

34. Murray R., Bender D. Harper Bioquímica ilustrada, Editor Mc Graw Hill Interamericana, México, (28): 2003.
35. Maedler K. Beta cells in type 2 diabetes a crucial contribution to pathogenesis. *Diabetes Obes Metab.* 2008;10:408-420.
36. Rodríguez Lay, Insulinoterapia *Rev Med Hered* 14 (3), 2003
37. Delgado Roche Livan, Martínez Sánchez Gregorio. El estrés oxidativo en la enfermedad cardiovascular: evidencias para un tratamiento más integral. *Oxidative stress in cardiovascular disease: evidences for a more integral treatment. Rev Cubana Farm;* 43(1)
38. Carvajal Carlos. Productos finales de glicación (AGES) y la nefropatía diabética. *Med. leg. Costa Rica;* 32 (1): 154-160.
39. Brown M., Goldstein, J. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* ; 1983, 52 :223– 630
40. Jessup, W., Jürgens G., Lang, J., Esterbauer, H., Dean, R., *The interaction of 4-hydroxynonenal- modified low density lipoproteins with the fibroblast apo B/E receptor.* *J. Biochem;* 1986, 234: 245 – 248.
41. Carvajal Carvajal Carlos. LDL oxidada y la aterosclerosis. *Med. leg. Costa Rica.* 2015 Mar; 32(1): 161-169.
42. Baynest H. Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolism.* 2015;06(05):2-9.

43. Cervantes R, Presno J. Fisiopatología de la diabetes y los mecanismos de muerte de las células β pancreáticas. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 2013;21(03):98-106.
44. Achenbach P, Bonifacio E, Koczwara K, Ziegler AG: Natural history of type 1 diabetes. *Diabetes*. 2005; 54: S25-S31.
45. Ríos, M. S., & Grupo de Trabajo Resistencia a la insulina de la Sociedad Española de Diabetes. (2002). Resistencia a la insulina y su implicación en múltiples factores de riesgo asociados a diabetes tipo 2. *Medicina Clínica*, 119(12), 458-463.
46. Durruty P., García de los Ríos M., Glucotoxicidad y lipotoxicidad: factores en la patogénesis y evolución de la diabetes tipo 2. *Rev. méd. Chile*; 129(6): 671-679..
47. Maedler K. Beta cells in type 2 diabetes a crucial contribution to pathogenesis. *Diabetes Obes Metab*. 2008;10:408-420
48. Segarra E. Fisiología de los Aparatos y Sistemas. Universidad de Cuenca. Gráficas Hernandez. 2006;92-93.
49. Abanto L. Glibenclamida en diabetes mellitus. *Rev Farmacol Terap*. 1999;06(1-2):19.
50. Abbink EJ, Pickkers P, Van Rosendaal JL, Lutterman J. Vascular effects of glibenclamide vs glimepiride and metformin in type 2 diabetic patients. *Diabetic Medicine*. 2002;19(2): 136-143.
51. Lenzen, S. *Diabetologia* (2008) 51:216. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7>
52. Lenzen S., Tiedge M., Panten U. Glucokinase in pancreatic β -cells and its inhibition by alloxan. *Acta de endocrinología*. 1987;115:21-29

53. Lenzen S, Panten U. Alloxan: history and mechanism of action. *Diabetologia*. 1988;31: 337–342.
54. Cubillos, V, López, C, & Alberdi, A. (2008). Estudio histopatológico e inmunohistoquímico de páncreas en perros diabéticos inducidos con aloxano. *Archivos de medicina veterinaria*, 40(2), 169-177.
55. Robert Y. The antioxidant health plan, Editorial EDA, S. A. Madrid 1994.
56. Avello M. y Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepc.)*. 2006; 494: 161-172.
57. Halliwell B., Gutteridge J. Free radicals in biology and medicine, Oxford, London: Clarendon Press. 1989.
58. Carlos H. Oxidantes-Antioxidantes en Reumatología *Rev. Perú Reum.* 1997; 3(1): 35-40.
59. Rodríguez K., Céspedes E., Estrés oxidativo y envejecimiento. *Rev Cubana Invest Biomed.* 1999;18(2):67-76.
60. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol.* 1957; 2: 298-300.
61. María Gallego, Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles [Tesis]. [Barcelona]: Universitat Politècnica de Catalunya; 2016
62. Teresita C., Daniel S. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación, *Rev Cubana Cardiol.* 2000; 14 (1): 55-60.

63. Sahnoun Z., Jamoussi K., Zeghal K. Free radicals and antioxidants: human physiology, pathology and therapeutic aspects. *Thérapie*. 1997; 52: 251-70.
64. Janet S., Gregorio M., Roberto F. Efecto protector de los polifenoles de *Rhizophora mangle* L. sobre el daño oxidativo a proteínas y ADN. *Rev Cubana Plant Med [online]*. 2011; 16 (1).
65. Mesbah L., Souad A., Amar Z., Ahmed T., Salah R., Fadila B., et al. The Interaction of New Plant Flavonoids with Rat Liver Mitochondria: Relation between the Anti- and Pro-oxdyant Effect and Flavonoids Concentration, *Thérapie*. 2006; 61(4): 347-355.
66. Huang D., Ou B., Prior R. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005; 53: 1841-1856.
67. Kuskoski E., Asuero A., Troncoso A., Mancini-Filho J., Fett R., Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology (Campinas)*, 2005; 25(4), 726-732.
68. Brand-Williams, Cuvelier M, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol*. 1995; 22: 25-30.
69. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica el Perú. 1994;(2) 33-5.
70. Blois, M. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 1958;181: 1199-200.

71. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol. 2004; 26 (2): 211-19
72. Ramos E, Castañeda B, Ibáñez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas Rev acad. Perú salud. 2008; 15(1):42-46.
73. Cuentas R; De la Cruz L; Hernández G; Mateo I; Castañeda C; Ibáñez L; Ramos E. Evaluación del efecto antioxidante de hojas de *Lepidium peruvianum* Chacón, "Maca" Revista Horizonte Médico. 2008; 8(1): 45-55
74. Herrera O, Chinchay R, Palomino E, Arango E, Arroyo J. Efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de *Geranium ruizii* Hieron. (Pasuchaca) en la hiperglucemia inducida por aloxano en ratas. 2015; 76 (2).
75. Carlos G., Angulo P. Evaluación de la Actividad Hipoglicemiante del Extracto Acuoso de *Abuta grandifolia* (Mart.) en Ratas con Diabetes Inducida por Aloxano Rev Inv Vet Perú. 2015; 26 (2): 206-12
76. Bancroft, J., Gamble, M. Theory and Practice of Histological Techniques. 5th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone. 2002; 34: 384-385
77. Menéndez E.. La enfermedad y la curación ¿Qué es medicina tradicional?, ALTERIDADES. 1994; 4(7): 71-83.
78. Medina D. Implementación de una metodología para la obtención de marcadores de frutos de *Physalis peruviana* L., y evaluación de actividad hipoglicemiante. [Tesis]. [Bogotá-Colombia]: Universidad Nacional de Colombia; 2012.

79. Llumiguano L.. Evaluación del efecto hipoglicemiante del extracto de hojas de chapuca o uvilla silvestre (*Physalis peruviana*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con hiperglicemia inducida. [Tesis]. [Riobamba– Ecuador]: Escuela superior politécnica de Chimborazo Facultad de ciencias escuela de bioquímica y farmacia; 2014.
80. Ramírez M., Alvarado M., Rodríguez J. Correlación de polifenoles totales, actividad antioxidante y potencial reductor de plantas nativas del semidesierto de coahuila.2016; 1 (1): 151-156.
81. Molina Q., Medina J., González A., Robles S., Gámez M. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de cáscara de uva (*Vitis vinifera* L.) de mesa cultivada en el noroeste de México CyTA – Journal of Food. 2009; 00(0): 1–7.
82. Adom K., Liu R.. Antioxidant activity of grains. J Agr Food Chem. 2002; 50 (21): 6182–7
83. Ruiz S., Venegas E., Díaz H., Rodríguez I. Capacidad antioxidante in vitro de las isoflavonas totales obtenidas de semillas de *Glycine max* L. (Soya) provenientes de la provincia de Jaén-Cajamarca. Scientia. 2012; 4(1).
84. Tadera K., Minami Y., Takamatsu K., Matsuoka T., “Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids,” Journal of Nutritional Science and Vitaminology. 2006; 52 (2) : 149–153
85. Carlos G., Pedro H., Hugo G., Jorge A.. Evaluación de la Actividad Hipoglicemiante del Extracto Acuoso de *Abuta grandifolia* (Mart.) en Ratas con Diabetes Inducida por Alozano Rev Inv Vet Perú. 2015; 26 (2): 206-212
86. Ian A . Clark. William B . Cowden and Nicholas H . Hunt Free Radical-Induced Pathology Medicinal Research Reviews. 1985; 5(3): 297-332.

87. Chang A, Klinar S, Malaspina H, Ramos B y Muller V. Evaluación de la actividad hipoglicemiante de *Curarea tecunarium* Bameby & Krukoff "Abuta". FITOICA Revista Científica del Laboratorio de Productos Naturales. 2007;5(2):13-17.
88. Paola. C., "Evaluación de la actividad antimalárica de preparaciones tradicionales obtenidas de dos especies promisorias usadas por una comunidad en zona endémica y profundización en el estudio de su actividad farmacológica". [Tesis]. [Colombia]: 2011.
89. N. F. Brás, N. M. F. Cerqueira, M. J. Ramos, and P. A. Fernandes, "Glycosidase inhibitors: a patent review (2008–2013)," Expert Opinion on Therapeutic Patents. 2014; 24(8): 857–874.
90. Adhikari A, Elbashir S, Watanabe T, Devkota H,. Chemical constituents from the flowers of Satsuma mandarin and their free radical scavenging and α -glucosidase inhibitory activities. Nat Prod Res. 2018;15:1-4.
91. Ramírez-Ortiz, M.E., Rodríguez-Carmona, O.Y., Hernández-Rodríguez, O.S., Chel-Guerrero, L., & Aguilar-Méndez, M.A. Estudio de la actividad hipoglucemiante y antioxidante de tronadora, raíz de wereque y raíz de nopal. En M.E. Ramírez Ortiz (Ed.). Alimentos Funcionales de Hoy. Barcelona, España: OmniaScience. 2016;143-180.
92. Ibarra M., Pedro C., María J., Azucena O. Caracterización Fitoquímica y Efecto Hipoglucemiante de *Tecoma stans* y su Relación con la Presencia del Cromo como Factor de Tolerancia a la Glucosa. Información tecnológica. 2009;20(5), 55-64.
93. Adedayo, O., Ganiyu, O., Funmi, P., Tech, M., Sunday, I., & Opeyemi., B. Antioxidant properties of phenolics constituents from different varieties of Corchorus spp. Journal of Taibah University Medical Sciences, 2015; 10(3), 278-287. <https://doi.org/10.1016/j.jtummed.2014.11.005>

94. Houstis N., Rosen E., Lander E. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. 2006; 440.

ANEXOS

FLUJOGRAMA DE TRATAMIENTO DE LA MUESTRA



Fig. N°49: Reducción de tamaño para secado en estufa a 35°C



Fig. N°50: Reducción de tamaño de *Curarea tecunaru*



Fig. N°51: molienda de la corteza de *Curarea tecunaru* y su tamizado



Fig. N°52: Obtención de muestra en polvo de corteza de *Curarea tecunaru*.

Tabla N°32: Test de ratas aloxanizadas

Tratamiento	tiempo	Promedio	% efecto hipoglucémico	error estándar	intervalo de confianza para la media al 95%		p
					limite mínima	límite superior	
A+SUERO	basal	256.67	0	66.74	113	476	0.99
	0.5 h	235.33	-8.31168831	59.7	111	457	
	1 h	212.50	-17.2077922	47.67	122	425	
	1.5 h	259.67	1.16883117	53.05	130	423	
	2 h	290.00	12.987013	75.59	125	551	
	24h	252.67	-1.55844156	60.68	132	468	
	4d	250.33	-2.46753247	80.06	104	570	
A+30 mg/Kg	basal	298.33	0	43.28	169	471	0.11
	0.5 h	365.00	22.3463687	47.63	144	470	
	1 h	361.17	21.0614525	47.97	148	477	
	1.5 h	420.33	40.8938547	53.24	208	582	
	2 h	379.17	27.0949721	54.59	162	489	
	24h	284.17	-4.74860335	43.6	137	416	
	4d	365.67	22.5698324	82.85	129	583	
A+50 mg/Kg	basal	137.33	0	5.52	124	163	0.0007
	0.5 h	154.83	12.7427184	9.4	134	198	
	1 h	159.00	15.776699	7.64	122	172	
	1.5 h	169.00	23.0582524	8.25	144	201	
	2 h	161.33	17.4757282	10.3	120	189	
	24h	125.33	-8.73786408	7.9	92	152	
	4d	134.50	-2.0631068	9.28	91	152	
A+100 mg/Kg	basal	339.83	0	51.88	135	472	0.095
	0.5 h	171.50	-49.5340853	4.45	158	184	
	1 h	153.17	-54.9288867	14.12	123	218	
	1.5 h	174.17	-48.749387	8.51	146	196	
	2 h	161.83	-52.378617	4.77	149	173	
	24h	136.67	-59.7842079	12.14	87	162	
	4d	146.50	-56.8906327	2.26	141	156	
A+glibenclamida	basal	167.83	0	36.82	112	347	0.047
	0.5 h	166.17	-0.99304866	46.72	90	387	
	1 h	174.50	3.97219464	50.84	97	414	
	1.5 h	178.50	6.35551142	46.63	90	389	
	2 h	165.83	-1.19165839	41.94	99	358	
	24h	98.17	-41.509434	18.87	68	191	
	4d	169.83	1.19165839	65.58	90	496	

Evaluación de cada uno de los tratamientos respecto al tiempo.

Tabla N°33: ANOVA del tratamiento con suero vs tiempos

Effect	Univariate Results for Each DV (spreadsheet14) Over-parameterized model Type III decomposition			
	Variacion de glucosa SS	Variacion de glucosa MS	Variacion de glucosa F	Variacion de glucosa P
Intercept	1337.4	1337.357	0.134145	0.716378
Tiempo	20154.8	3359.135	0.336941	0.912657
Error	348932.8	9969.510		
Total	369087.6			

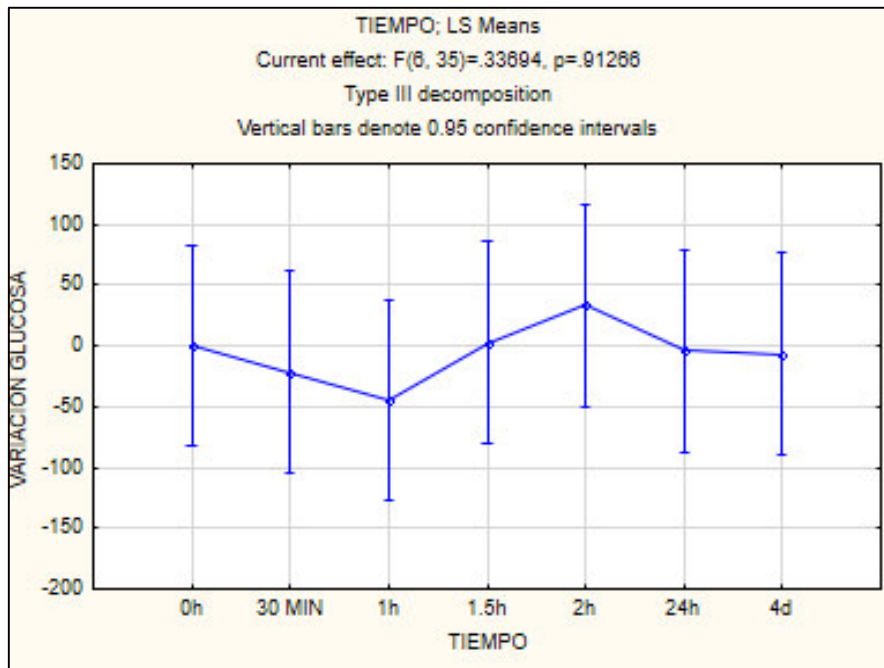


Gráfico N°10: Variación de glucosa frente al tiempo, no se evidencia variación significativa

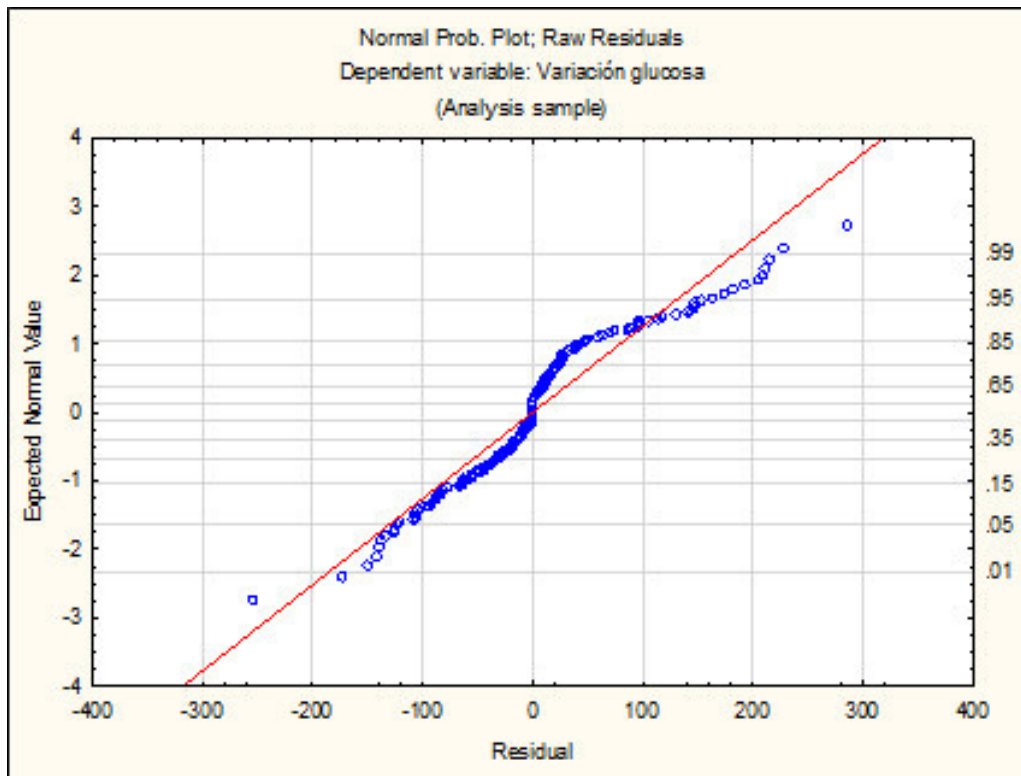


Gráfico N°11: Normalidad En 24 Horas

TABLAS

- Tabla N°1:** Clasificación taxonómica.
- Tabla N°2:** Usos tradicionales de *Curarea tecunarium*.
- Tabla N°3:** Células de los islotes pancreáticos y sus productos de secreción:
- Tabla N°4:** Regulación de la secreción de insulina
- Tabla N°5:** Transportadores de glucosa
- Tabla N°6:** Criterios para el diagnóstico de DM, utilizando diferentes muestras de sangre y diferentes unidades de medida (18mg/dL = 1mmol/L).
- Tabla N°7:** Nomenclatura de las principales especies reactivas de oxígeno
- Tabla N°8:** Estructuras químicas de flavonoides
- Tabla N°9:** Estructuras químicas flavonoides
- Tabla N°10:** Preparación de las diferentes concentraciones para la elaboración de la curva de calibración con ácido gálico.
- Tabla N°11:** Esquema de preparación de tubos para la medida de absorbancia
- Tabla N°12:** Resultado de la prueba de solubilidad de extracto de *Curarea tecunarium*
- Tabla N°13:** Resultado del tamizaje fitoquímico. Facultad de farmacia y bioquímica, cátedra de Farmacognosia.
- Tabla N°14:** Relación de frentes entre el extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium* y estándares.
- Tabla N°15** Resultados de la lectura de absorbancia de las diferentes concentraciones de ácido gálico para la curva de calibración.
- Tabla N°17:** Tabla de cálculo para hallar el contenido de ácido gálico por mg de extracto hidroalcohólico seco de *Curarea tecunarium*.
- Tabla 18:** Resultados de absorbancia de las concentraciones de 300 ppm y 600 ppm a 517 nm por el método de DPPH
- Tabla N°19:** Resultados estadísticos de las absorbancias medidas para la actividad antioxidante por DPPH

Tabla N°20: Resultados de la actividad antioxidante

Tabla N° 21: Cuadro de promedios de variación de glucosa para los diferentes tratamientos frente al parámetro de tiempo.

Tabla N°22: ANOVA del tratamiento a dosis de 30 mg/Kg de extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* vs factor tiempo.

Tabla N°23: ANOVA del tratamiento a dosis de 50 mg/Kg del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* vs factor tiempo.

Tabla N°24: ANOVA del tratamiento a dosis de 100 mg/Kg del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* vs tiempo

Tabla N°25: ANOVA del tratamiento con glibenclamida vs tiempos

Tabla N° 26: Análisis Factorial, tiempo y tratamiento.

Tabla N°27: Se muestra la diferencia entre los tratamientos en 24 horas

Tabla N°28: Test de Dunnett

Tabla N°29: Test de Tukey

Tabla N°30: Dunnett, evaluación del patrón glibenclamida frente a los demás tratamientos.

Tabla N°31: Porcentaje de disminución de los niveles séricos de glicemia en ratones albinos, en todos los grupos experimentales

Tabla N°32: Test de ratas aloxanizadas.

Tabla N°33: ANOVA del tratamiento con suero vs tiempos

FIGURAS

- Fig. N°1:** Corteza (izquierda) y hojas de *Curarea tecunarium* (derecha).
- Fig. N°2:** Hojas de *Curarea tecunarium*
- Fig. N°3:** Hojas de *Curarea tecunarium* y fruto
- Fig. N°4:** Corteza de *Curarea tecunarium*
- Fig. N°5:** Corteza de *Curarea tecunarium*
- Fig. N°6:** Hoja y fruto de *Curarea toxicofera*
- Fig. N°7:** Hoja de *Curarea toxicofera*
- Fig. N°8:** El páncreas endocrino y exocrino. (Guyton-Hall: Tratado de Fisiología Médica) (31)
- Fig. N°9:** Síntesis de insulina
- Fig. N°10:** Mecanismo de la secreción de insulina por estimulación de glucosa.
- Fig. N°11:** Acción de la insulina en el metabolismo de la glucosa
- Fig. N°12:** Metabolismo de los lípidos
- Fig. N°13:** Modelo que propone la secuencia que relaciona la generación de especies reactivas en la diabetes con los daños vasculares, renales y neurológicos.
- Fig. N°14:** Oxidación de lipoproteínas por la generación de radicales libres
- Fig. N°15:** Historia natural de la diabetes mellitus insulino dependiente
- Fig. N°16:** Octeto ominoso en hiperglicemia de diabetes mellitus insulino no dependiente
- Fig. N°17:** Mecanismo de acción de la glibenclamida
- Fig. N°18:** Fases de la glucosa en respuesta a la diabetes inducida por aloxano
- Fig. N°19:** (A) Modelo de glucoquinasa unido a la glucosa en el sitio activo por enlaces de hidrógeno, en ausencia del segundo Sustrato ATP. (B) Cuando la glucosa no está unida a la enzima, el aloxano se une e Inactiva la glucoquinasa por oxidación de los dos grupos SH en La profundidad del sitio activo bajo la formación de puente S-S. (54)
- Fig. N°20:** Corteza de *Curarea tecunarium*

- Fig. N°21:** Secado de la corteza de *Curarea tecunarium*
- Fig. N°22:** Molienda de la corteza de *Curarea tecunarium*
- Fig. N°23:** Molienda de la corteza de *Curarea tecunarium* y su tamizado
- Fig. N°24:** Pesada de Polvo seco de la corteza de *Curarea tecunarium*
- Fig. N°25:** Filtración del macerado de la corteza *Curarea tecunarium*
- Fig. N°26:** Extracto seco de la corteza de *Curarea tecunarium* en placa petri.
- Fig. N°27:** Sembrado de muestra en soporte de silica para cromatografía de capa fina con los estándares de, Quercetina, Hesperidina, ácido gálico.
- Fig. N°28:** Cromatografía de capa fina con los estándares de quercetina, hesperidina y ácido gálico.
- Fig. N°29:** Preparación de la solución madre de la muestra
- Fig. N°30:** Disolución de la muestra con sonicador
- Fig. N°31:** Preparación de la solución madre de la muestra.
- Fig. N°32:** Bateria de tubos con el reactivo DPPH.
- Fig. N°33:** Lectura en un espectrofotometro.
- Fig. N°34:** Administración intraperitoneal de aloxano en ratón.
- Fig. N°35:** Tiras reactivas de para medición de glucosa
- Fig. N°36:** Grupos de trabajos conformado por 6 ratones cada uno.
- Fig. N°37:** De izquierda a derecha 10 mg/mL de glibenclamida, 30 mg/mL, 50 mg/mL y 100 mg/mL de *Curarea tecunarium*
- Fig. N°38:** 01 ratón por cada grupo (30 mg/Kg, 50 mg/Kg, 100 mg/Kg extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium*, glibenclamida y suero).
- Fig. N°39:** Sacrificio y extracción de órganos páncreas, hígado corazón pulmón y riñón
- Fig. N°40:** Solubilidad de *Curarea tecunarium* extracto 10 mg/mL, metanol, agua, alcohol 96° y cloroformo de derecha a izquierda.
- Fig. N°41:** Bateria de tubos de ensayo del tamizaje fitoquímico de extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium* de izquierda a derecha: Molish, FeCl₃, Gelatina, Dragendorff, Mayer, Rossenger, Shinoda, Ninhidrin, Hidroxilamina 10%, Vainillin sulfúrico, Liebermann burchard, Índice Afrosimétrico, Antrona, Bortrager.

- Fig. N°42:** Cromatografía de capa fina de *Curarea tecunarium* frente a estándar de Ac Gálico y Ac Tánico, se aprecia las manchas con un Rf similar entre los estándares y el extracto hidroalcohólico de *Curarea tecunarium*.
- Fig. N°43:** Cromatografía de capa fina de los metabolitos de *Curarea tecunarium* frente a estándar de Quercetina, Hesperidina, los Rf corresponden entre el estándar y la muestra.
- Fig. N°44:** Fotografía del Corazón de ratón tratado con extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* 100 mg/Kg 400X.
- Fig. N°45:** Fotografía del Pulmón de ratón tratado con extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* 100 mg/Kg 400X.
- Fig. N°46:** Fotografía del Riñón de ratón tratado con extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* 100 mg/Kg 400X.
- Fig. N°47:** Fotografía del hígado de ratón tratado con extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* 100 mg/Kg 400X.
- Fig. N°48:** Fotografía de páncreas (Islotes de langerhans) de ratón tratado con extracto hidroalcohólico de la corteza de *Curarea tecunarium* 100mg/Kg 400X.
- Fig. N°49:** Reducción de tamaño para secado en estufa a 35°C
- Fig. N°50:** Reducción de tamaño de *Curarea tecunarium*
- Fig. N°51:** Molienda de la corteza de *Curarea tecunarium* y su tamizado.
- Fig. N°52:** Obtención de muestra en polvo de corteza de *Curarea tecunarium*.

GRÁFICOS

- Gráfico N°1:** Causas de la alteración de la secreción de la insulina.
- Gráfico N°2:** Curva de calibración del estándar de ácido Gálico según datos de la Tabla N° 16.
- Gráfico N°3:** Variación de glucosa frente al tiempo del tratamiento de 30 mg/Kg, teniendo el mismo comportamiento durante el tiempo.
- Gráfico N°4:** Variación de glucosa frente al tiempo del tratamiento a dosis de 50 mg/Kg del extracto, teniendo el mismo comportamiento durante el tiempo.
- Gráfico N°5:** Variación de glucosa frente al tiempo del tratamiento a dosis de 100 mg/Kg del extracto , teniendo el mismo comportamiento durante el tiempo
- Gráfico N°6:** Variación de glucosa frente al tiempo del tratamiento Control glibenclamida a dosis de 10 mg/kg
- Gráfico N°7:** Gráfico del comportamiento del tratamiento frente al tiempo.
- Gráfico N°8:** Gráfico de variación de glucosa vs tratamiento en el tiempo de 24h.
- Gráfico N°9:** Porcentajes mayores de disminución del nivel sérico de glicemia de todos los tratamientos en ratones diabéticos.
- Gráfico N°10:** Variación de glucosa frente al tiempo, no se evidencia variación significativa.
- Gráfico N°11:** Normalidad En 24 Horas.



"Año de la Consolidación del Mar de Grau"

CONSTANCIA N° 04-USM-2016

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (corteza, hojas y ramas) recibida de **Camila ESPÍNDOLA CÁCERES** y **Johanna Carolina CHAMBI CHOQUE**, alumnas de la UNMSM de la Fac. de Farmacia y Bioquímica, ha sido estudiada y clasificada como: ***Curarea tecunarum* Barneby & Krukoff** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: MAGNOLIIDAE

ORDEN: RANUNCULALES

FAMILIA: MENISPERMACEAE

GENERO: *Curarea*

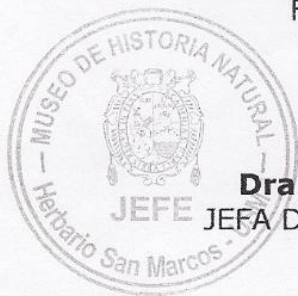
ESPECIE: *Curarea tecunarum* Barneby & Krukoff

Nombre vulgar: "abuta"

Determinado por Blog. Mario Benavente Palacios.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 27 de enero de 2016



Haydee Montoya Terreros
Dra. Haydee Montoya Terreros
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)