



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“ESTUDIO COMPARATIVO DE LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL
EXTRACTO DE ORTIGA (*Urtica dioica*), EXTRACTO BERRO (*Nasturtium
officinale*), Y EXTRACTO DE NOGAL (*Juglans regia*), EN RATAS (*Rattus
novergicus*), CON HIPERGLUCEMIA INDUCIDA”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACEÚTICO

PRESENTADO POR:

ROSA AURORA QUISI ARAGADOBAY

RIOBAMBA – ECUADOR

2012

DEDICATORIA

A Dios, por darme la vida, por darme la oportunidad de cumplir mis sueños, por ser luz que ilumina en el camino de la vida, por ser fuente de sabiduría.

A mis padres y hermana quienes de una u otra forma siempre estuvieron a mi lado, con quienes compartí horas y momentos inolvidables y que mucho me animaron en mis momentos de cansancio.

AGRADECIMIENTO

*A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia
por acogerme en sus prestigiosas aulas y por sus
conocimientos impartidos.*

*De manera muy especial Dr. Pablito Naveda, por su
valiosa colaboración y asesoramiento en este trabajo
investigativo.*

*Al BQF. Víctor Guangasig Miembro de Tribunal de Tesis
por el gran aporte brindado en la elaboración de trabajo.*

*A mi familia por haber brindado un ambiente de alegría,
amor, fuerza, en donde pude desarrollar las mejores
cualidades a las que aspira todo ser humano.*

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que El trabajo de investigación “ESTUDIO COMPARATIVO DE ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO DE ORTIGA (*Urtica dioica*), EXTRACTO BERRO (*Nasturtium officinale*), EXTRACTO DE NOGAL (*Juglans regia*), EN RATAS (*Rattus norvegicus*), CON HIPERGLUCEMIA INDUCIDA”, de responsabilidad de la señorita egresada Rosa Aurora Quisi Aragadobay, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

NOMBRE	FIRMA	FECHA
Dra. Yolanda Díaz DECANA FAC. CIENCIAS	-----	-----
Dr. Luis Guevara DIRECTOR ESCUELA BIOQUÍMICA Y FARMACIA	-----	-----
Dr. Pablo Naveda DIRECTOR DE TESIS	-----	-----
BQF. Víctor Guangasig MIEMBRO DEL TRIBUNAL	-----	-----
Tc. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	-----	-----
NOTA DE TESIS ESCRITA	-----	

Yo, Rosa Aurora Quisi Aragadobay, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

ROSA AURORA QUISI ARAGADOBAY

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADA	Asociación Americana de Diabetes
ANOVA	Análisis de Varianza
B ₁	Tiamina
B ₂	Riboflavina
B ₃	Niacina
°C	Grados Celsius
CNMB	Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos del País
cm	Centímetros
CONC.	Concentración
DG	Diabetes Gestacional
DM	Diabetes Mellitus
DM 1	Diabetes Mellitus Tipo 1
DM 2	Diabetes Mellitus Tipo 2
FID	Federación Internacional de Diabetes
g	Gramos
GAA	Glicemia en Ayunas Alterada
Glu	Glucosa
GLUT1	Transportador de Glucosa 1
GLUT2	Transportador de Glucosa 2
GLUT4	Transportador de Glucosa 4
GLUT5	Transportador de Glucosa 5
g/kg	Gramo por kilogramo

HCl	Ácido Clorhídrico
H	Horas
HBP	Hiperplasia benigna de próstata
HbA1C	Hemoglobina Glicosilada
ITG	Intolerancia a la Glucosa
IAA	Anti insulina
IA2	Anti tirosina fosfatasa
ICA	Anticuerpos antiislotes
kg	Kilogramo
L	Litro
LDL	Lipoproteínas de Baja Densidad
MAO	Monoaminoxidasa
m	Metro
mEq/L	Miliequivalente por litro
mg	Miligramos
mL	Mililitros
mL/min	Mililitro por minuto
mm	Milímetros
NMP	Número más probable
OGY	Oxitetraciclina -glucosa extracto de levadura
OMS	Organización Mundial de la Salud
pH	Potencial de hidrógeno
Rf	Factor de Retención
RI	Resistente insulínica

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

INDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

1.	MARCO TEÓRICO.....	1
1.1	Actividad hipoglucemiante.....	1
1.2	Diabetes Mellitus.....	1
1.2.1	Historia.....	1
1.2.2	Definición.....	2
1.2.3	Definiciones Generales.....	2
1.2.4	Clasificación.....	3
1.2.5	Criterio de Diagnostico.....	5
1.2.6	Síntomas y Signos.....	5
1.2.7	Valores de Referencia.....	5
1.2.8	Patologías Causadas por Diabetes	6
1.2.9	Tratamiento de la Diabetes Tipo II.....	7
1.2.9.1	Tratamiento Farmacológico.....	7
1.2.9.2	Tratamiento No Farmacológico.....	7
1.2.10	Formas de Consumo de Glucosa.....	8
1.2.11	Digestión.....	8
1.2.12	Absorción y Transporte de glucemia a la sangre.....	9
1.2.13	Biosíntesis, Regulación y Secreción de Insulina.....	9
1.2.14	Efecto de la Insulina sobre los Hidratos de Carbono.....	10
1.2.15	Efecto de la Insulina sobre el musculo.....	10
1.2.16	Efecto de la Insulina sobre hígado.....	10

1. 2.17	Insulinoresistencia.....	11
1. 2.18	Prueba de Sacarosa Oral o PTOG.....	11
1. 3	Sacarosa.....	12
1.3.1	Metabolismo de Sacarosa.....	12
1.4	Antidiabéticos Orales.....	13
1.4.1	Insulino Secretores.....	13
1.4.2	Insulino Sensibilizadores.....	13
1.4.3	Inhibidores de la Absorción Intestinal monosacáridos.....	13
1.5	Glibenclamida (Euglucón).....	14
1.5.1	Mecanismo de acción.....	14
1.5.2	Farmacocinética.....	15
1. 5.3	Composición.....	15
1. 5.4	Indicaciones.....	15
1. 5.5	Dosificación.....	15
1. 5.6	Contraindicaciones.....	16
1. 5.7	Interacciones Medicamentosas.....	16
1. 5.8	Reacciones Adversas.....	16
1.6	Importancia de las Plantas Medicinales	17
1.6.1	Ortiga (<i>Urtica dioica</i>).....	17
1.6.1.1	Historia.....	17
1. 6.1.2	Descripción Botánica.....	18
1.6.1.3	Principios activos.....	19
1.6.1.4	Propiedades medicinales.....	19
1.6.1.5	Acción Farmacológica.....	21
1.6.1.6	Indicaciones.....	21
1. 6.1.7	Contraindicaciones.....	22
1.6.1.8	Efecto secundario.....	22
1.6.1.9	Precaución.....	22
1.6.1.10	Posología.....	22
1.6.2	Berro (<i>Nasturtium officinale</i>).....	23
1.6.2.1	Descripción Botánica.....	23
1.6.2.2	Principios Activos.....	24
1.6.2.3	Composición Química.....	24

1.6.2.4	Propiedades Medicinales.....	25
1.6.3	Nogal (<i>Juglans regia</i>).....	26
1.6.3.1	Origen.....	26
1.6.3.2	Importancia.....	26
1.6.3.3	Indicaciones.....	26
1.6.3.4	Posología.....	27
1.6.3.5	Principios Activos.....	28
1.6.3.6	Parte Utilizada.....	28
1.6.3.7	Acción Farmacológica.....	28
1.6.3.8	Contraindicaciones.....	29
1.6.3.9	Precaución.....	29
1.7	Los extractos.....	29
1.7.1	Control de Calidad de Drogas Vegetales.....	29
1.7.2	Métodos de extracción.....	30
1.7.3	Tipos de extractos.....	31
1.8	Animales de Experimentación.....	31
1.8.1	Ratas Wistar.....	32
1.8.2	Valores de Referencia en Ratas Wistar.....	32
1.8.3	Vías de Administración.....	32
2.	PARTE EXPERIMENTAL.....	35
2.1.	Lugar de la investigación.....	35
2.2.	Materiales, Equipos y Reactivos.....	35
2.2.1.	Material Vegetal.....	35
2.2.2.	Material Biológico.....	35
2.2.3.	Materiales.....	35
2.2.4.	Equipos.....	37
2.2.5.	Reactivos.....	37
2.3.	Métodos.....	38
2.3.1.	Etapas Experimentales.....	38
2.3.1.1.	Obtención de los Extractos Fluidos de Ortiga, Berro, Nogal.....	38
2.3.2.	Tamizaje Fitoquímico.....	39
2.3.2.1.	Ensayo de Dragendorff.....	39

2.3.2.2	Ensayo de Mayer.....	39
2.3.2.3	Ensayo de Wagner.....	40
2.3.2.4	Ensayo de Baljet	40
2.3.2.5	Ensayo de Borntrager.....	40
2.3.2.6	Ensayo de Lieberman-Burchard.....	40
2.3.2.7	Ensayo de Sudan III.....	41
2.3.2.8	Ensayo de Resinas	41
2.3.2.9	Ensayo de la Espuma	41
2.3.2.10	Ensayo del Cloruro Férrico	42
2.3.2.11	Ensayo de la Ninhidrina	42
2.3.2.12	Ensayo Shinoda.....	42
2.3.2.13	Ensayo de Catequinas	43
2.3.2.14	Ensayo de Antocianidinas.....	43
2.3.2.15	Ensayo de Fehling.....	43
2.4	Control de Calidad de los Extractos Fluidos.....	44
2.4.1	Determinación de Olor.....	44
2.4.2	Determinación del Color.....	44
2.4.3	Determinación del pH.....	44
2.4.4	Determinación del Índice de Refracción.....	45
2.4.5	Determinación de Densidad Relativa.....	45
2.4.6	Determinación de Sólidos Totales.....	46
2.4.7	Determinación de Contenido De Humedad.....	46
2.4.8	Determinación de Cenizas Totales.....	47
2.4.9	Determinación de Cenizas Solubles en Agua.....	47
2.4.10	Determinación de Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico.....	48
2.5	Análisis Microbiológico.....	49
2.5.1	Método de Conteo de Aerobios Mesófilos Totales en Placa.....	49
2.5.2	Determinación de Coliformes Totales.....	49
2.5.3	Determinación de Coliformes Fecales.....	50
2.5.4	Método de Conteo de Mohos en Placa.....	51
2.6	Análisis Bromatológico de Berro.....	52
2.6.1	Determinación de Fibra.....	52
2.6.2	Determinación de proteína.....	54

2.7	Protocolo experimental.....	56
2.7.1	Muestra.....	56
2.7.2	Tratamiento.....	56
2.7.3	Periodo de aclimatación.....	57
2.7.4	Inducción de Hiperglucemia solución de sacarosa.....	58
2.7.5	Tratamiento a base de extracto de ortiga, berro, nogal.....	58
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	59
3.1.1	Tamizaje Fitoquímico del Extracto de Ortiga (<i>Urtica dioica</i>).....	59
3.1.2	Tamizaje Fitoquímico del Extracto de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>).....	60
3.1.3	Tamizaje Fitoquímico del Extracto de Nogal (<i>Juglans regia</i>).....	61
3.2	Análisis Bromatológico de Berro (<i>Nasturtium officinale</i>).....	62
3.3	Análisis Cromatográfico de los Flavonoides.....	62
3.3.1	Análisis Cromatográfico de Lactonas.....	64
3.4	Control de Calidad de los Extractos Ortiga (<i>Urtica dioica</i>), Berro (<i>Nasturtium officinale</i>), Nogal (<i>Juglans regia</i>).....	66
3.4.1	Aspecto Organolépticos de Ortiga, Berro, Nogal.....	66
3.4.2	Parámetros físicos de Ortiga, Berro, Nogal.....	67
3.4.3	Determinación de Humedad.....	67
3.4.4	Determinación de Cenizas Totales.....	68
3.4.5	Análisis Microbiológico.....	70
3.5.	Inducción de Hiperglucemia en Ratas (<i>Rattus norvegicus</i>).....	71
3.5.1	Datos durante el tratamiento con los Extractos ortiga (<i>Urtica dioica</i>), Extracto berro (<i>Nasturtium officinale</i>) Extracto nogal (<i>Juglans regia</i>).....	73
3.5.2	Análisis Estadístico.....	80
3.5.3	Hipótesis Estadístico.....	82
3.5.4	Medición de pesos (g) al inicio y final del trabajo experimental. Realizado en el bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia. Espoch. Febrero 2012.	82
3.5.5	Ensayo de Toxicidad Aguda.....	86
4.	CONCLUSIONES.....	91
5.	RECOMENDACIONES.....	93
6.	RESUMEN.....	94

	SUMMARY	95
7.	BIBLIOGRAFÍA	96
8.	ANEXOS	104

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No.1	Valores de Referencia en Pacientes Diabetes tipo II.....	7
TABLA No.2	Composición química del berro por 100 g por proporción comestible.....	25
TABLA No.3	Diseño experimental de inducción de diabetes tipo II.....	57

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No.1	Resultados del Tamizaje Fitoquímico del Extracto de ortiga (<i>Urtica dioica</i>).....	59
CUADRO No.2	Resultados del Tamizaje Fitoquímico del Extracto de berro (<i>Nasturtium officinale</i>).....	60
CUADRO No.3	Resultados del Tamizaje Fitoquímico del Extracto de nogal (<i>Juglans regia</i>).....	61
CUADRO No.4	Parámetro Bromatológico.....	62
CUADRO No.5	Resultados obtenidos en la Cromatografía en Capa Fina del Extracto fluido de nogal (<i>Juglans regia</i>).....	63
CUADRO No.6	Resultados obtenidos en la Cromatografía en Capa Fina del Extracto fluido de berro (<i>Nasturtium officinale</i>).....	63
CUADRO No.7	Resultados obtenidos en la cromatografía en capa fina del Extracto fluido de ortiga (<i>Urtica dioica</i>).....	63
CUADRO No.8	Resultados obtenidos en la Cromatografía en capa fina para Lactonas de nogal.....	65
CUADRO No.9	Resultados de los aspectos organolépticos del extracto de ortiga, berro, nogal.....	66
CUADRO No.10	Resultados de parámetros físicos del extracto fluido de Ortiga,berro,nogal.....	67
CUADRO No.11	Determinación de la Humedad de la Droga Fresca de ortiga (<i>Urtica dioica</i>), berro (<i>Nasturtium officinale</i>), y nogal (<i>Juglans regia</i>).....	67
CUADRO No.12	Determinación de la Humedad de la Droga Seca de Ortiga (<i>Urtica dioica</i>), berro (<i>Nasturtium officinale</i>), y nogal (<i>Juglans regia</i>).....	68
CUADRO No.13	determinación de cenizas totales, Solubles en Agua, e Insolubles en Ácido Clorhídrico, de la droga fresca ortiga (<i>Urtica dioica</i>), berro (<i>Nasturtium officinale</i>), y nogal (<i>Juglans regia</i>).....	68
CUADRO No.14	Determinación de cenizas totales, solubles en agua, e insolubles en ácido clorhídrico, de la droga seca ortiga (<i>Urtica dioica</i>), berro (<i>Nasturtium officinale</i>), y nogal (<i>Juglans regia</i>).....	69
CUADRO No.15	Determinación de microorganismos contaminantes en la Droga Seca ortiga (<i>Urtica dioica</i>).....	70
CUADRO No.16	Determinación de Microorganismos Contaminantes en la Droga Seca berro (<i>Nasturtium officinale</i>).....	70
CUADRO No.17	Determinación de Microorganismos Contaminantes en la Droga Seca nogal (<i>Juglans regia</i>).....	70
CUADRO No.18	Valores de Glucosa en mg/dL, Durante los 15 días de Producción de Patología De Hiperglucemia.....	71

CUADRO No.19	Valores de Glucosa mg/dL, del grupo blanco.....	73
CUADRO No.20	Valores de Glucosa mg/dL, en Ratas Control Negativo.....	74
CUADRO No.21	Valores de Glucosa mg/dL, en Ratas Durante el Administración de Glibenclamida.....	75
CUADRO No.22	Valores de Glucosa en mg/dL, en Ratas Grupo 1.....	76
CUADRO No.23	Valores de Glucosa mg/dL, en Ratas Grupo 2.....	77
CUADRO No.24	Valores de Glucosa mg/dL, en Ratas Grupo 3.....	78
CUADRO No.25	Medición de Peso de las Ratas durante el Proceso de Inducción de la Hiperglucemia Control Positivo.....	82
CUADRO No.26	Valores de Peso de las Ratas durante el Proceso de Inducción de la Hiperglucemia Control Negativo.....	83
CUADRO No.27	Valores de Peso de las Ratas durante el Proceso de Inducción de la Hiperglucemia Grupo 1.....	84
CUADRO No.28	Valores de Peso de las Ratas durante el Proceso de Inducción de la Hiperglucemia Grupo 2.....	84
CUADRO No.29	Valores de Peso de las Ratas durante el Proceso de Inducción de la Hiperglucemia Grupo 3.....	85
CUADRO No.30	Ensayo de Toxicidad.....	86
CUADRO No.31	Resultados de los Signos Clínicos Presentes en el Animal de Estudio.....	87

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No.1	Glucemia en mg/dL del Grupo Blanco.....	74
GRÁFICO No.2	Glucemia en mg/dL del Control Negativo.....	75
GRÁFICO No.3	Glucemia en mg/dL del Control Positivo.....	76
GRÁFICO No.4	Glucemia en mg/dL del Grupo 1.....	77
GRÁFICO No.5	Glucemia en mg/dL del Grupo 2.....	78
GRÁFICO No.6	Glucemia en mg/dL del Grupo 3.....	79
GRÁFICO No.7	Actividad Hipoglucemiante de Ortiga, Berro, Nogal.....	80
GRÁFICO No.8	Peso de las Ratas durante el proceso Experimental. Control Positivo.....	83
GRÁFICO No.9	Peso de las Ratas Durante El Proceso Experimental. Control Negativo.....	83
GRÁFICO No.10	Peso de las Ratas Durante el Proceso Experimental Grupo 1	84
GRÁFICO No.11	Peso de las Ratas Durante el Proceso Experimental Grupo 2	85
GRÁFICO No.12	Peso de las Ratas Durante el Proceso Experimental Grupo 3	85

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Cromatografía de Capa Fina para Flavonoides de Extracto Fluido de nogal, berro, ortiga.....	62
FOTOGRAFÍA No. 2	Cromatografía de Capa Fina para Lactonas de Extracto Fluido de nogal, berro, ortiga.....	64
FOTOGRAFÍA No.3	Corte Histológico de la Estructura del Estómago.....	89
FOTOGRAFÍA No. 4	Corte Histológico de la Estructura del Hígado.....	89
FOTOGRAFÍA No.5	Corte Histológico de la Estructura del Páncreas.....	90

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No.1	Determinación de Humedad y Ceniza ortiga (<i>Urtica dioica</i>), berro (<i>Nasturtium officinale</i>), nogal (<i>Juglans regia</i>).....	104
ANEXO No.2	Obtención de extractos de ortiga (<i>Urtica dioica</i>), berro (<i>Nasturtium officinale</i>), nogal (<i>Juglans regia</i>).....	105
ANEXO No.3	Tamizaje Fitoquímico extractos de ortiga (<i>Urtica dioica</i>), berro (<i>Nasturtium officinale</i>), nogal (<i>Juglans regia</i>)..... ensayo de Lieberman Burchard.....	106
ANEXO No.4	Animales de Experimentación.....	109
ANEXO No.5	Administración del Tratamiento.....	110
ANEXO No.6	Estudio Histopatológico.....	110

INTRODUCCIÓN

El Ministerio de Salud, ha establecido que el abordaje de las enfermedades crónicas no transmisibles (Diabetes Mellitus), constituye una alta prioridad política y estratégica, por ello de mayor carga de mortalidad, morbilidad y discapacidad en el Ecuador, en nuestra provincia de Chimborazo Cantón Riobamba según datos del Hospital del IESS se reporta un 60% de pacientes diabéticos, cantidades correspondientes a pacientes que se incluyen en el Club de Diabéticos de dicha entidad hasta el año 2009. (19)

Según datos de la organización mundial de la salud, durante los próximos cincuenta años, el número de personas mayores de 40 años con diabetes será más el triple, aumentando de 606 millones actuales a 2.000 millones para el año 2050.

En el boletín enviado por Merry Rivas González, de la Federación Internacional de Diabetes (FID), indicado en el “ Diabetes Atlas “, en su quinta edición del año 2011, confirma que la epidemia de la diabetes sigue empeorando.

Estos datos de nuevos estudios mundiales demuestran que el número de personas con diabetes en 2011 ha alcanzado la cifra de 366 millones. Las muertes a causa de esta enfermedad ascienden a 4.6 millones y el gasto de la atención sanitaria llegan a 465.000 millones USD.

En cada familia ecuatoriana hay por lo menos un paciente con diabetes, asegura Byron Cifuentes, presidente de la Federación Ecuatoriana de Diabetes, quien revela que la enfermedad crece de forma desmedida.

La Diabetes Mellitus es un conjunto de anormalidades bioquímicas, fisiológicas y anatómicas que integran un síndrome que corresponde a una alteración de la homeostasia de la glucosa, a una deficiencia en la secreción de la insulina por las células Beta del páncreas.

Uno de los principales peligros de la (DM), es su avance silencioso, ya que puede ser asintomática. En etapas iniciales aproximadamente 30-50% de los pacientes desconocen su enfermedad, porque se encuentra asintomático o porque sus signos y síntomas no han sido identificados como tales. Muchas veces cuando el paciente es diagnosticado con diabetes ya tiene una historia de 2-5 años de complicación.

El poder curativo de las plantas viene de la información del saber médico tradicional. Ha aportado como, una herramienta primordial para la elaboración de fitomedicamentos, para la investigación e identificación de ciertos principios activos con actividad farmacológica, desarrollando nuevas drogas para cualquier patología que padecen los pacientes.

Más de 300 plantas y extractos son considerados beneficiosos para el paciente diabético. El tratamiento a base de fitomedicamentos suplanta de alguna manera al tratamiento médico, ayudando a la solución de éste problema, y promoviendo la calidad de vida de las personas que padecen esta enfermedad incurable.

De aquí surge la importancia de investigar y desarrollar el estudio comparativo de la actividad hipoglucemiante de 3 plantas: ortiga (*Urtica dioica*), berro (*Nasturtium officinale*), nogal (*Juglans regia*).

Se procederá a la inducción de hiperglucemia en ratas (*Rattus norvegicus*), administrándose luego en proporciones iguales (50%) los tres extractos para comprobar la actividad hipoglucemiante. Se determinará el contenido de glucosa en sangre de los animales de experimentación mediante punción del extremo de la cola de la ratas utilizando el medidor de Glucemia Accu-Chek Active de Roche.

Hay estudios realizados sobre la actividad hipoglucemiante en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en la Facultad de Ciencias: Rosero, M.(2010), Efecto Hipoglucemiante del Extracto Acuoso de Canela (*Cinnamomum Zeylanicum*), en Ratras (*Rattus Norvegicus*) con Hiperglucemia Inducida.

Otro de los estudios sobre actividad Hipoglucemiante en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias: Carrillo, P. (2011), Comprobación del Efecto Hipoglucemiante del Zumo del Fruto de Noni (*Morinda citrifolia*) en Ratras (*Rattus norvegicus*) con Hiperglucemia Inducida

Los compuestos de la ortiga, una planta introducida en nuestro país, ayuda a mantener en equilibrio el contenido de glucosa en sangre, debido a su composición bioquímica en: mucilago (una sustancia gelatinosa), flavonoides, ácidos (ascórbico, caféico, ferúlico), taninos, minerales

El berro, por su capacidad antioxidante, anticarcinogénica, diurética, antiartrítica y depurativa, es aprovechado desde la antigüedad, para el tratamiento de las enfermedades metabólicas. Mejora la eliminación de los líquidos, depuración de la sangre y de los órganos de filtración de nuestro organismo.

En el berro la actividad farmacológica es por la fibra que constituye como un suplemento dietético que reduce las fluctuaciones de la glucosa en sangre, la fibra se no se puede digerir y retrasa la liberación de glucosa en el torrente sanguíneo

Dentro de los componentes de las hojas del árbol del nogal se encuentra los taninos que otorgan propiedades medicinales en una proporción del 4%. Son excelentes antioxidantes y ayudan a desintoxicar el organismo

Las hojas del nogal además son ricos en minerales como el: zinc, cobre y es la diferencia con las otras plantas. Es pobre en hidratos de carbono, lo que confiere la actividad hipoglucemiante y puede ser utilizada por pacientes diabéticos.

Estas tres plantas son muy difundidas y usadas desde la antigüedad y además ha sido reconocido por la organización mundial de la salud por su actividad hipoglucemiantes.

Los extractos son productos obtenidos por maceración o percolación de las plantas medicinales. Las decocciones, infusiones, extractos son una práctica rutinario en nuestro medio. Con el avance de la ciencia y la tecnología las técnica se van renovando y con la aparición de la Tecnología Farmacéutica se elaboran capsulas, comprimidos según las necesidades.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE

Es una actividad que se caracteriza por producir una disminución de los niveles de glicemia, luego de ser administrado sea por vía oral, intravenosa, a través de mecanismos pancreáticos y/o extrapancreáticos.

El descubrimiento por Janbon y col, en el año 1942, de hipoglicemiantes cambió radicalmente el tratamiento de la diabetes tipo II.

El estudio de la actividad hipoglicemiante es un beneficio para la población adulta para el control durante el tratamiento, y la aparición y progresión de las complicaciones. (28)

1.2 DIABETES MELLITUS

1.2.1 HISTORIA

La Diabetes Mellitus, era conocida antes de la era cristiana. Descubierta en Egipto en el siglo XV A.C. se describían señales que correspondían a la diabetes.

Fue Areteo de Capadocia quien, en el siglo II de la era cristiana, le dio a esta afección el nombre de diabetes, que significa en griego *correr a través*, relatándose el signo más llamativo que es la eliminación exagerada de agua por el riñón, expresando que el agua entraba y salía del organismo del diabético sin fijarse en él. (37) (46)

En siglo XI, Avicena confirma con exactitud de esa enfermedad no transmisible en su famoso Canon de medicina.

Tomas Willis quien en 1679, realizó una descripción magistral de la diabetes, quedando, por su sintomatología como entidad clínica. Fue él quien, refiriéndose al sabor dulce de la orina, le dio el nombre de Diabetes Mellitus es decir sabor a miel. (23) En el año de 1775 Dopson identifico la presencia de glucosa en la orina. Ya en ese tiempo Frank clasificó la diabetes en dos tipo: Diabetes Mellitus y diabetes insípida.(37) (46)

El primer experimento ejecutado fue el metabolismo de los glúcidos realizado por Claude Bernard quien también descubrió, en 1848 el glucógeno hepático y provoco la aparición de glucosa en la orina.

En la segunda mitad del siglo XIX, el clínico Bouchardat, señalo la importancia de la obesidad y de la vida sedentaria en el desarrollo de la diabetes.(37) (46)

1.2.2 DEFINICIÓN

La diabetes es un desorden del metabolismo, el proceso que convierte el alimento que ingerimos en energía. La insulina es el factor más importante en este proceso. Durante la digestión se descomponen los alimentos para crear glucosa, la mayor fuente de combustible para el cuerpo. Esta glucosa pasa a la sangre, donde la insulina le permite entrar en las células. (La insulina es una hormona segregada por el páncreas, una glándula grande que se encuentra detrás del estómago). (37) (38)

1.2.3 DEFINICIONES GENERALES

Glucosa: Es el azúcar contenido en la sangre. El principal origen de la glucosa está en la ingesta de los carbohidratos consumidos como alimentos, la mayoría de ellos terminan convirtiéndose en glucosa en sangre. (53)

Páncreas: Órgano esencial para el control de la glucosa, en su interior hay un grupo de células denominadas islotes de Langerhans está formado por dos tipos de células alfa y beta. Las células alfa secretan el glucagón y las células beta la insulina ambas hormonas tienen una influencia en el metabolismo de los azúcares con acciones contrarias.

Hipoglucemia: Baja presencia de azúcar en la sangre

Hiperglucemia: Nivel de glucosa superior al normal (53)

Insulina: Hormona que segregan células beta del páncreas su función es mantener los niveles de azúcares en el torrente sanguíneo (53)

Glucagón: Es una hormona secretada por el páncreas eleva los niveles de glucosa en sangre. Su efecto es lo contrario a la insulina, cuando el organismo necesita más azúcar las células alfa del páncreas lo elabora para movilizar las reservas de glucosa presentes en el hígado en forma de glucógeno.

1.2.4 CLASIFICACIÓN

En la actualidad existen dos clasificaciones principales. Según el OMS la primera clasificación, reconoce tres tipos de diabetes (tipo I, tipo II, y gestacional), la segunda es propuesta por la Asociación Améica de Diabetes (ADA) en 1997. De acuerdo a ADA se clasifican en:

- a. Diabetes Mellitus tipo I
- b. Diabetes Mellitus tipo II.
- c. Diabetes Gestacional
- d. Otros tipos de Diabetes Mellitus

La diabetes tipo 1 anteriormente denominada diabetes insulino dependiente o diabetes juvenil es generalmente resultado de la destrucción de las células β del páncreas por factores inmunológicos autoinmunes. (31) (37)

Diabetes Mellitus tipo I

La diabetes tipo I denominada insulino dependiente o diabetes juvenil, es resultado de la destrucción de las células beta del páncreas por factores inmunológicos autoinmunes. Se distinguen 2 subgrupos:

- a. Diabetes mediada por procesos autoinmunes:** Con marcadores positivos en 85-95% de los casos, anticuerpos antiisletos (ICA), anti insulina (IAA) y anti tirosina fosfatasa (IA2).
- b. Idiopática:** Con igual compartimiento metabólico, pero sin asociación con marcadores de autoinmunidad.

Diabetes Mellitus tipo II

Se la define como un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia, causada por defectos en la secreción o acción de insulina, denominada ésta última resistencia insulínica (RI). Está determinada genéticamente. Por lo general aparece en edad adulta, constituyendo aproximadamente alrededor de 90%, es frecuente la asociación con la obesidad. (31) (38)

Diabetes Mellitus Gestacional

Denominado diabetes de embarazo, aparece en la etapa gestacional aproximadamente de 1-14 % de las pacientes

Otros tipos de Diabetes Mellitus

Hay algunos tipos de diabetes Mellitus, presentan entre 2-5 % de todos los casos diagnosticados.

Tipo 3A: Defectos genético en las células beta, **Tipo 3B:** Resistencia a la insulina

Tipo 3C: Enfermedad de páncreas, **Tipo 3D:** Producido por defectos hormonales, **Tipo 3E:** Producido por fármacos. (31) (38)

1.2.5 CRITERIO DE DIAGNÓSTICO

- Glicemia en cualquier momento del día, sin relación con el tiempo transcurrido desde la última comida mayor o igual a 200 mg/dL
- Glicemia en ayunas mayor o igual a 126 mg/dL es decir sin ingesta calórica por lo menos 8 horas antes de la toma.
- Glicemia mayor o igual a 200 mg/ dL dos horas después de una carga de 75 g de glucosa. (31) (53)

1.2.6 SÍNTOMAS Y SIGNOS

- Polifagia: aumento de apetito
- Polidipsia: mucha sed
- Pérdida de peso
- Debilidad, fatiga
- Cansancio.
- Visión borrosa.(62)

1.2.7 VALORES DE REFERENCIA

Varía de acuerdo al método empleado:

- Sangre de cordón: 45-96 mg/dL
- Lactantes prematuros: 20-60 mg/dL
- Recién nacidos: 30-60 mg/dL
- Lactantes: 40-90 mg/dL
- Niños < 2 años: 60-100 mg/dL
- Adultos: 70-110 mg/dL(53)

1.2.8 PATOLOGÍAS CAUSADAS POR DIABETES

En los dos tipos de diabetes, niveles elevados de azúcar en la sangre durante años es responsable de lesiones en:

Retinopatía

Es una complicación ocular, especialmente el deterioro de los vasos sanguíneos que irrigan la retina del fondo del ojo, afecta al 40-50 % de los pacientes, el 10 % de estos pacientes presenta, retinopatía proliferativa. (37) (38)

Neuropatía

Lesión microvascular, que involucra los vasos sanguíneos menores, que suministra los nervios de los vasos. La neuropatía autonómica cardiovascular, afecta más de 40 % de la población de pacientes con diabetes con más de 10 años de evolución de la patología.

La neuropatía diabética, presenta una importante causa de impotencia sexual, el 40 % de pacientes lo padecen.(37) (38)

Nefropatía

Afección renal es 25 veces superior entre los pacientes que padecen diabetes, 30-50 % pacientes con una evolución de 10-20 años presenta el grado de afección renal. (30)

Embarazo

De madres con Diabetes Mellitus, los recién nacidos padecen malformaciones congénitas entre el 0-5%, en mujeres que realizan un control preconcepcional, 10% que no realizan dicho control, se presenta diabetes gestacional, entre 2-5 %. (37) (38)

1.2.9 TRATAMIENTO DE DIABETES TIPO II

1.2.9.1 Tratamiento farmacológico

El tratamiento con fármacos en la diabetes tipo 2, también incluye el tratamiento de hipertensión arterial, dislipidemia, alteraciones procoagulantes y otros. Las recomendaciones, han tomado en cuenta las guías actuales acopladas a la disponibilidad del Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos del país (CNMB). (63)

TABLA No. 1 VALORES DE REFERENCIA EN EL MANEJO DE LOS PACIENTES CON DIABETES TIPO II.

PARAMETROS	VALORES DE REFERENCIA
Glicemia en ayunas	70-120 mg/dL
Glicemia posprandial	< 140 mg/dL
HbA1c	< 7%
LDL	<100 mg/dL
HDL	>40 mg/dL
Triglicéridos	<150 mg/dL
Microalbuminuria	<30 mg/g creatinina
Microalbuminuria en orina 24 horas	<30 mg/dL
Presión arterial	<130/80 mm Hg

FUENTE: NORIEGA, MARCO. INCIDENCIA DE DIABETES MELLITUS TIPO II EN PACIENTES MAYORES DE 40 AÑOS, 2009

De acuerdo al estado clínico, y grado de control se clasifican dos tipos de pacientes.

Grupo 1: Pacientes con glicemia menor a 240 mg/dL, HbA1c menor a 9% y clínicamente estable.

Grupo 2: Paciente con glicemia > 240 mg/dLy/o HbA1c mayor a 9% (63)

1.2.9.2 Tratamiento no farmacológico

- Cambios en los estilos de vida

- Control de alcohol y tabaco
- Educación diabetológica
- A esto también se suma otros factores como es el estrés, enfermedades intercurrentes, emociones, etc. (63)

1.2.10 FORMAS DE CONSUMO DE LA GLUCEMIA

A la glucosa, también se la conoce como “azúcar sanguínea”, ya el 95% de hidratos de carbono consumidos son transformados, por el hígado en glucosa. La principal fuente de energía son los carbohidratos, en una dieta normal los principales son almidones consumidos son amilopectina, la amilosa, glucógeno, que varían según el individuo. (17)

1.2.11 DIGESTIÓN

Durante la masticación, los hidratos de carbono se mezclan con saliva, en la que se encuentra una enzima llamada “Ptialina”, donde esta enzima hidroliza al almidón en maltosa, maltotriosa, y dextrina límite.

La Ptialina, es inactivada por el pH ácido del estómago, pero antes que sucede 30%- 40% de los almidones han sido degradados. resto de almidones, moléculas de maltosa, maltotriosa, y dextrina límite, es degradado por otras alfa amilasa secretada por páncreas “Amilasa pancreática” más potente que la salival entre los 10-20 minutos luego del vaciamiento gástrico, los almidones son digeridos a pequeños polímeros de glucosa y maltosa(13) (17)

El último paso de la digestión de disacáridos, se lleva a cabo por enzimas ubicadas en la membrana de los enterocitos, las principales es lactosa, maltosa, sacarasa y α dextrinasa, de esta forma el producto final de carbohidratos después de la digestión son todos monosacáridos que son absorbidos por las células intestinales y transportados a la sangre.

1.2.12 ABSORCIÓN Y TRANSPORTE DE GLUCEMIA A LA SANGRE

El Yeyuno proximal, duodeno poseen la mayor capacidad para absorber los azúcares, la glucosa y galactosa compiten entre sí por un mecanismo de co-transporte acompañados con Na^+ , denominado SGLT₁, mientras que la fructosa tiene un transportador específico el GLUT₅, de la familia transportadores GLUT. Una vez dentro de las células estos tres monosacáridos son transportados al intestino por un transportador común el GLUT₂, ubicado en la membrana plasmática basal, luego difunden a los capilares sanguíneos.

1.2.13 BIOSÍNTESIS, REGULACIÓN Y SECRECIÓN DE INSULINA

Gen que codifica la insulina se encuentra en brazo corto del cromosoma 11, esta se sintetiza en el retículo endoplásmico de las células β como preprohormona, la preproinsulina contiene un péptido señal constituido por 23 aminoácido, el cual es retirado al ingresar al retículo endoplásmico, enseguida la molécula se pliega y se producen los enlaces bisulfuro para formar la proinsulina, esta es transportada al aparato de Golgi donde tiene lugar la proteólisis y el empaquetamiento en gránulos secretores.

La regulación de la secreción de la insulina está, controlada principalmente por una relación de retroalimentación con el aporte de nutrientes. Cuando la participación de los mismos es abundante se secreta insulina en respuesta a su llegada, y esto tiene como fin su utilización conservando los endógenos. (40)

La molécula reguladora fundamental es la glucosa. Con concentraciones plasmáticas de 50 mg/dL no se segrega nada de insulina, mientras que con una concentración de 250 mg/dL la degranulación es máxima. (40)

La secreción de insulina es pulsátil y bifásica. Ante una breve exposición de las células β a la glucosa se produce una liberación rápida pero sin embargo si la exposición es continua se produce una liberación de los gránulos prefabricados y posteriormente una síntesis “de novo”.

1.2.14 EFECTO DE LA INSULINA SOBRE LOS HIDRATOS DE CARBONO

Luego de una ingesta alimentaria rica en carbohidratos, se provoca una rápida secreción de insulina, que causa captación, utilización y almacenamiento de glucosa por casi todos los tejidos del cuerpo, especialmente el hígado, el músculo.(40)

1.2.15 EFECTO DE LA INSULINA EN EL MÚSCULO

El músculo en condiciones de reposo no depende de glucosa para obtener energía, sino de los ácidos grasos, pero sin embargo hay dos situaciones donde el músculo utiliza grandes cantidades de glucosa.

Una de ellas el ejercicio moderado, donde las fibras musculares se hacen naturalmente permeables a la glucosa incluso en ausencia de insulina. Otra es a las pocas horas de una gran ingesta de hidratos de carbono, donde la concentración de insulina es elevada para producir un rápido ingreso de glucosa al miocito.

Los efectos de la insulina sobre el músculo son la captación de glucosa en altas concentraciones y su almacenamiento como glucógeno. (40)

1.2.16 EFECTOS DE LA INSULINA EN EL HÍGADO

Los efectos de la insulina a nivel hepático es promover la captación de glucosa y su almacenamiento en forma de glucógeno. Esto comprende varias etapas.

- La insulina inactiva, a la fosforilasa hepática, enzima que degrada glucógeno a glucosa. (39)
- Facilita la entrada de glucosa a los hepatocitos por aumento de la actividad de la glucokinasa.
- Promueve la síntesis de glucógeno por inducción del glucógeno sintetasa
- Inhibición de la glucosa-6- fosfatasa.

Luego de concluir una ingesta alimentaria correspondiente, la glucosa comienza a disminuir, para lo cual se produce algunos acontecimientos.

- Activación de la fosforilasa hepática
- Activación de la glucosa-6- fosfatasa
- Inhibición del glucógeno sintetasa

El hígado capta la glucosa cuando se encuentra en grandes cantidades en la sangre, por efecto de la insulina, y esto lo devuelve cuando las concentraciones están en niveles bajas, el 60% de glucosa se almacena en este órgano como glucógeno formando el principal reservorio de este carbohidrato en el organismo (40)

Otros efectos de la insulina es promover el anabolismo proteico inhibiendo el catabolismo, regulación plasmática de cationes y aniones, inhibe la lipólisis de los triglicéridos almacenados al actuar sobre la lipasa una hormona sensible.

1.2.17 INSULINORESISTENCIA

- Ocurre cuando los tejidos no responden a la acción de la insulina y la glucosa no es captada por las células.
- Mayor dificultad de la glucosa para entrar a las células.
- Como compensación, inicialmente se produce más insulina
- Posteriormente se desarrolla hiperinsulinemia e hiperglucemia (13)

1.2.18 PRUEBA DE SOBRECARGA ORAL O PTOG

Esta prueba es para conocer el test, que trata de medir la capacidad de nuestro organismo para metabolizar la cantidad de glucosa, de esta manera nos permite diferenciar intolerancia a la glucosa y la diabetes. Se diagnostica con esta prueba en pacientes con prediabetes o glucemia basal alterada o sospecha de diabetes, en pacientes con cardiopatía isquémica o en pacientes que hayan tenido accidentes cerebrovasculares. Al menos 72 horas antes de la prueba se recomienda consumir una dieta rica en

carbohidratos por lo menos de 30g-50g al día y consiste en la medición de glucemia en ayunas de 10 a 16 horas.

Esto consiste en administrar 75 g de glucosa por vía oral, excepto a los niños, donde se extrae la muestra de sangre cada 30 minutos por 2 horas (esto varía de acuerdo al función del protocolo de cada laboratorio), este es la etapa donde se evalúa la cantidad de glucemia a lo largo del tiempo. (55)

1.3 SACAROSA

La sacarosa es un carbohidrato que sirve como fuente de energía para los tejidos corporales. La sacarosa es un disacárido formado por una molécula de glucosa y de fructosa su fórmula química es $C_{12}H_{22}O_{11}$ que se obtiene de caña de azúcar o de remolacha azucarera.

La sacarosa por su poder saborizante es utilizado en diferentes industrias alimenticias. Al llegar al estómago sufre una hidrólisis ácida y en parte se desdobra en sus componentes glucosa y fructosa tiene bajo índice glicémico es decir al consumir la sacarosa el nivel de glucosa sangre, sube lenta pero el consumo descontrolada produce un alto grado glicemia elevada. El exceso consume de sacarosa en la dieta ocasiona diabetes, obesidad, aterosclerosis etc. Durante su metabolismo no produce productos tóxicos, presenta gran facilidad para su digestión. (55)

1.3.1 METABOLISMO DE SACAROSA

En los humanos y mamíferos, la sacarosa se desdobra en monosacáridos como es la glucosa y fructosa, por la acción de las enzimas sacarasa las cuales se encuentra en la membrana celular de los microvilli del duodeno y como resultado de ello las moléculas de glucosa y fructosa son rápidamente absorbidas hacia el torrente sanguíneo.

La sacarosa por ser un nutriente fácilmente asimilable, tras su ingestión provoca un aumento rápido de glucosa en la sangre. (55)

Por su rapidez la sacarosa, puede causar problemas para las personas que sufren de problema de metabolismo de glucosa como en las personas con diabetes Mellitus. En un experimento con ratas que fueron alimentadas una dieta rica en sacarosa mostró niveles elevados de triglicéridos, seguido de resistencia a la insulina. Otro estudio de igual manera realizada con ratas indicó hiperglucemia y resistencia a la insulina. (55)

1.4 ANTIDIABETICOS ORALES

1.4.1 INSULINO SECRETORES

Sulfonilureas

Presenta un efecto hipoglicemiante agudo, por su acción sobre los canales de potasio dependientes de ATP de la célula beta pancreática para la secreción de insulina y en consecuencia produce un efecto hipoglucemiante, al potenciar la acción de la insulina, por aumento en el número de receptores insulínicos así mejorando su unión a estos receptores en los tejidos sensibles.(47)

Las Sulfonilureas están clasificadas en generales distintas, conforme a las características farmacodinámicas estas son:

Primera generación: clorpropamida, tulbotamida, tolazolamida, acetohexamida

Segunda generación: glicacida, glipizida, glibenclamida, gliquidona, glisentida

Tercera generación: glimepirida.(47)

1.4.2 INSULINO SENSIBILIZADORES

- Biguanidas
- Tiazoldinedionas

1.4.3 INHIBIDORES DE LA ABSORCIÓN INTESTINAL DE MONOSACÁRIDOS.

- Inhibidores alfa glucosidasas intestinal (acarbossa-miglitol)

1.5 GLIBENCLAMIDA EUGLUCÓN

En el país tenemos a GLIBENCLAMIDA, en el Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos.

Hipoglucemiante oral que se emplea en la DM estable sin tendencia a la cetosis, administrada por vía oral es casi total su absorción a nivel intestinal, a nivel pancreático en presencia de actividad funcional del tejido insulínico que posee efecto betacito que favorece la síntesis y liberación de la insulina endógena lo que favorece la reducción de la hiperglucemia.(13) (47)

1.5.1 MECANISMO DE ACCIÓN

La glibenclamida es un antidiabético oral su efecto está ligado a la capacidad del organismo de producir insulina. Estimula la secreción de insulina por células beta del páncreas, reduce la producción hepática de glucosa y aumenta la capacidad de unión y de respuesta de la insulina en tejidos periféricos.

Los efectos extrapancreáticos se producen sobre todo con la administración prolongada, en la sensibilidad a la insulina de los tejidos periféricos, estos efectos conducen a un aumento de la unión y de la sensibilidad a la insulina.

El efecto hipoglucemiante se produce rápidamente y puede durar hasta 24 horas, así como acontece con otras Sulfonilureas la acción de la glibenclamida es activada in vitro por el cierre de canales potásicos dependientes de ATP dentro de las células beta pancreática.

La estabilidad de la corriente saliente de potasio provoca una despolarización de la membrana de la célula beta y la activación de los canales de calcio tipo L, se produce una corriente entrante de calcio en las células del páncreas, que estimula la secreción de insulina. (47)

1.5.2 FARMACOCINÉTICA

- Administrada por vía oral se absorbe rápidamente en un 70-90% las concentraciones plasmáticas máximas se obtienen a las 2-4 horas.
- La administración con los alimentos no influyen significativamente la absorción
- Su vida media es de aproximadamente 5 horas, luego de la administración oral.
- Su pico máximo alcanza a las 2-4 horas posteriores a su administración
- La glibenclamida se une a las proteínas plasmáticas en 98%.
- La concentración hipoglucemiante límite es de 30-50 ng/ml, pero no existe una relación directa entre la tasa plasmática y el efecto hipoglucemiante
- Se excreta por la orina, siendo la mitad excretada dentro de las primeras 6 horas y resto dentro de las siguientes 24 horas
- También se excreta por heces y bilis
- La glibenclamida no se acumula en concentraciones importantes en ningún órgano, tampoco en la sangre luego de administrar el fármaco repetidamente en pacientes con función normal
- Atraviesa la barrera placentaria en proporciones mínimas.(13) (46)

1.5.3 COMPOSICIÓN

Cada comprimido de euglucón contiene 5 mg de glibenclamida y excipientes: dióxido de silicio, almidón de maíz, estearato de magnesio, lactosa, talco.

1.5.4 INDICACIONES

Esta indicado precisamente para Diabetes del adulto (diabetes tipo 2)

1.5.5 DOSIFICACIÓN

El tratamiento debe ser iniciado y monitoreado por médico tratante, el paciente debe tomar euglucón en las dosis y horarios que el médico le indique. Se comienza con 2.5 mg comprimido de euglucón, al día antes del desayuno, si los resultados no son satisfactorios

se aumenta la dosificación de 2.5 mg en 2.5 mg hasta 10 mg como dosis única diaria. El olvido de la toma de euglucón no debe corregirse ingiriendo posteriormente una dosis mayor, los comprimidos se debe ingerir con suficiente cantidad de líquido. (47)

1.5.6 CONTRAINDICACIONES

Se limita en pacientes diabéticos tipo I, con descompensación metabólica grave especialmente en coma diabético, insuficiencia hepática, hipersensibilidad a euglucón, en pacientes embarazadas, trastornos graves de la función (renal, hepática) y no ingerir bebidas alcohólicas. (47)

1.5.7 INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS

La acción hipoglucemiante de las Sulfonilureas puede potenciar con fármacos de alta unión a proteínas plasmáticas, tales como: Bloqueadores de receptores beta, fibratos, biguanidas, cloranfenicol, inhibidores de la MAO, sulfonamidas, los antagonistas de los receptores H₂, la clonidina, insulina, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina. Algunos fármacos que pueden disminuir el efecto hipoglucemiante son los siguientes: los barbitúricos, adrenalina, agentes simpaticomiméticos, diuréticos glucagón, corticoesteroides, estrógenos. (47)

1.5.8 REACCIONES ADVERSAS

Metabólicas: En caso de sobredosificación, puede presentarse hipoglucemia.

Gastrointestinal: Se manifiesta por náuseas, vómito, dolor abdominal, diarrea.

Hepatobiliares: Ictericia colestásica, hepatitis. En casos aislados se ha registrado aumento de enzimas hepáticas.

Hematológicas: Trombocitopenia, anemia hemolítica, anemia aplásica, leucopenia, granulocitopenia, agranulocitos y pancitopenia.

Cutáneas: Urticaria, exantema

Oculares: Trastornos visuales pasajeros al comienzo del tratamiento. (13) (47)

1.6 IMPORTANCIA DE LA PLANTAS MEDICINALES

Las plantas medicinales son aquellos que son utilizadas para aliviar, calmar, curar los males de la humanidad, desde los tiempos remotos, acumulando práctica ancestral de selección, manejo y conservación de conocimientos, que transmitida de una generación a otra, es aceptado por la ciencia médica. Hoy en día se reportan numerosos descubrimientos científicos que confirman el enorme potencial curativo que posee el mundo vegetal por sus principios activos con acción farmacológica, ya sea beneficiosa o dañino, para el organismo vivo siendo su acción aliviar o remediar el dolor. A partir de estos avances hoy encontramos extractos de plantas medicinales en forma cápsula, tabletas y otras más formas. (1) (2)

Planta medicinal: Todo aquello vegetal que contiene en uno o más de sus órganos principios activos, sustancia que es usada con finalidad terapéutica, ya sea para curar, aliviar la salud de las personas.

Principio activo: Son sustancias que por ella misma posee propiedades farmacodinámicas responsables de la acción farmacológica. (1) (2)

1.6.1 ORTIGA (*U. dioica*)

1.6.1.1 Historia

Desde hace veinte años sus partes subterráneas (raíces y rizomas) son objeto de interés en el tratamiento de la hiperplasia benigna de próstata (HBP), tal y como han puesto de manifiesto los numerosos trabajos de investigación realizados sobre ellas. Dichas investigaciones han permitido acceder al conocimiento de sus más importantes principios activos y a su actuación sobre algunos de los factores implicados en la aparición de la HBP. Por otra parte, los más recientes ensayos clínicos realizados con extractos normalizados de ortiga indican un efecto positivo sobre los síntomas urinarios asociados a la HBP. (5) (6)

Su nomenclatura Botánica es:

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Rosales*

Familia: *Urticaceae*

Género: *Urtica*

Especie: *U. dioica*

Nombre binomial: *Urtica dioica* (33) (51)

1.6.1.2 Descripción Botánica

La ortiga, es una planta arbustiva perenne, dioica, de aspecto tosco y que puede alcanzar hasta 1,5 m de altura.

Característica de esta planta es poseer unos pelos urticantes. Tienen la forma de pequeñísimas ampollas de un líquido irritante, que al contacto con la piel producen una lesión y vierten su contenido sobre ella provocando ronchas, escozor, prurito.

Estos pelos son duros, frágiles en la punta, por lo que es suficiente el roce para provocar su rotura. Posee un tallo ramificado ahuecado en los entrenudos, está recubierto de pelos urticantes. (1)(2)

Las hojas son de figura ovalada, rugosas, aserradas, puntiagudas, y de hasta 15 cm, son color verde oscuras y con pétalos de color amarillo suave, se encuentran opuestas y también están provistas, al igual que el tallo de los pelos que la caracterizan.

Florece del mes de julio en adelante, las flores son verde amarillosas, con estambres amarillos, reunidas en panículas pendulares, asilares y terminales, normalmente son unisexuales, pequeñas y dispuestas en racimos colgantes de hasta 10 cm, y las femeninas se encuentran en largos amentos colgantes y las masculinas en inflorescencias más cortas, sus frutos son aquenios y secos.(2) (5)

1.6.1.3 Principios Activos

Hojas: planta fresca

- **Carotenoides:** beta caroteno
- **Flavonoides:** derivados del quercetol, kenferol.
- **Minerales:** hierro, calcio, azufre, potasio, manganeso
- **Ácidos orgánicos:** caféico, clorogénico, gálico, fórmico
- **Mucilagos**

Raíces

- Taninos, Polifenoles, Polisacáridos: glucanas, glucogalactoturonas

Semillas:

- Mucilagos, proteínas, tocoferoles. (8)

1.6.1.4 Propiedades Medicinales

Hemostática:

Detiene las hemorragias y previene el flujo descontrolado de la sangre, muy adecuada para tratar las hemorragias nasales, la hemofilia y los trastornos de la menopausia.(58)

Anti-arteriosclerótica:

Su riqueza en clorofila le confiere propiedades circulatorias en el tratamiento de la arteriosclerosis y en la mejora de la circulación sanguínea.(58) (59)

Antidiabética:

Disminuye el nivel de azúcar en la sangre y previene la diabetes

Antianémica:

Por su alto contenido en hierro se hace ideal en la curación de la anemia, se puede utilizar como una verdura más, para realizar caldos vegetales, combinada con otras verduras o preparar infusiones..(58) (59)

Galactógena:

Incrementa el caudal de leche en las lactantes, realizado con ortigas y otras verduras.

Anti-prostática:

Las infusiones de hojas de ortiga seca son un diurético muy importante, los esteroides del extracto de la raíz actúan directamente sobre la hipertrofia prostática benigna al aumentar la cantidad de micción diaria, relajar la vejiga urinaria e inhibir el crecimiento de esta glándula. (58) (59)

Alzheimer:

Favorece la formación de estrógenos que mejoran el estado mental de los enfermos de alzheimer, la ingestión de estas hierbas en forma de verdura puede beneficiar el comportamiento y reducir los episodios depresivos de estos enfermos.

Diurético:

Favorece la eliminación de líquido en el cuerpo, por lo que resulta interesante no solamente en caso de obesidad, sino también en aquel conjunto de dolencias que mejoran con la eliminación de agua y la consiguiente eliminación de toxinas y especialmente el ácido úrico.

En enfermedades circulatorias, hepáticas, piedras en el riñón, gota, artritis, artrosis, reumatismo, etc.(58)

Impotencia:

Aumenta la potencia sexual, siendo muy útil en los casos de impotencia.(58)

1.6.1.5 Acción Farmacológica

Hojas:

Reconstituyente, remineralizante, diurética, hemostática, hipoglucemiante, hipotensora. En uso externo, es rubefaciente, analgésica, empleándose también, por su poder astringente, en afecciones cutáneas y mucosas.(6) (8)

Raíces:

Tiene una acción antiinflamatoria, antiadenomatosa, astringente

Semillas:

Usadas tradicionalmente, como galactagogo, astringente y el aceite de esta planta, se utiliza como emoliente. (6) (8)

1.6.1.6 Indicaciones

Hojas:

Aumenta la diuresis: afecciones genitourinarias (cistitis, uretritis, pielonefritis, oliguria), prostatitis, adenoma benigno de próstata, hiperazotemia, hipertensión arterial, edemas, sobrepeso acompañado de retención de líquidos, edemas por insuficiencias de retorno venoso. Diabetes, anemia por déficit vitamínico, o minerales. En uso tópico, inflamaciones, dermatitis, faringitis (44)

Raíz:

Indicado para, disuria, polaquiuria, trastornos miccionales asociados con el edema benigno de próstata. (44)

1.6.1.7 Contraindicaciones

No prescribir, formas de dosificación orales con contenido alcohólico a niños, menores de dos años, de igual forma a pacientes etílicos.

1.6.1.8 Efecto Secundario

Decocción de la raíz de la ortiga irrita la mucosa gástrica. Una ingesta de 20-30 semillas produce una acción purgante.(44)

1.6.1.9 Precaución

Planta fresca, tiene un efecto altamente irritante sobre la piel, con producción de una pápula urente.

Su empleo, como diurético en presencia de hipertensión, insuficiencia renal, cardiopatías, se debe realizar por prescripción y bajo control médico, ante el peligro que puede suponer el aporte incontrolado de líquidos, la posibilidad de que se produzca una descompensación tensional. (44)

1.6.1.10 Posología

Uso interno

Hojas:

Extracto fluido: (1:1) 50 gotas 3-6 veces al día

Tintura: (1:10) 50 a 100 gotas 3 veces al día

Extracto seco: (5:1) 0,5- 1 g al día.

Jarabe (10% de extracto fluido) recomendado aproximadamente 1-3-cucharadas al día.

Jugo de planta fresca: Indicado de 10-15 mL 3-6 veces al día.(42) (43)

Uso tópico

Hojas:

Extracto seco: (5:1)0,5-1 g al día

Extracto fluido: (1:1) 50 gotas 1-3 veces al día

Tintura: (1:5)50-100 gotas, recomendado 1-3 al día. (43) (49)

1.6.2 BERRO (*Nasturtium officinale*)

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Brassicales*

Familia: *Brassicaceae*

Género: *Nasturtium*

Especie: *N. officinale* (8) (32)

1.6.2.1 Descripción Botánica

Es una planta Herbácea, perenne, perteneciente a la familia de las crucíferas, es conocido ya desde la antigüedad, creciendo en las cercanías de casi todos los cursos de agua.(2)

Entre 10-50 cm de altura que se agrupa en grandes colonias, los tallos ascendentes son huecos. Sus hojas son alargadas de forma oval, con nervaduras muy marcadas. Sus flores, blancas, tienen cuatro sépalos, cuatro pétalos, un único pistilo, agrupadas en inflorescencia axilar y terminales. (2) (5)

Cuando se abren los capullos florales, las hojas que son pinnadas adquieren un sabor muy pungente, y ya no pueden ser utilizadas como alimentos.(2) (5)

1.6.2.2 Principios Activos

Glucosinolatos, Vitaminas A, C, B₂ y E, minerales como sodio, yodo, hierro, fósforo y manganeso.

Los glucosilatos contribuyen al aroma y sabor de la planta tiene un efecto potencial como anticarcinogénicos, la hidrólisis de estos compuestos origina productos con actividad biológica con potencial antioxidante.(2) (35)

Estas sustancias presentan una amplia escala de aplicaciones como por ejemplo va desde la industria del plástico, hasta la ciencia médica y alimentos. (2) (35)

Los antioxidantes son aquellas sustancias, en bajas concentraciones, tienen la capacidad de retardar significativamente el proceso de oxidación molecular mediante su propia oxidación. (2) (35)

El daño más importante que producen los oxidantes acumulados es la modificación química de las estructuras del núcleo celular, siendo que en ésta se encuentran funciones de reproducción y crecimiento, y el origen de los trastornos propios de envejecimiento.

1.6.2.3 Composición Química

Posee dentro de sus componentes una gran cantidad de vitaminas, entre las cuales se destacan las vitaminasC.(5) (35)

Además se encuentran presenten la tiamina (B₁), riboflavina (B₂), niacina (B₃), gran variedad de sales minerales, destacando entre ellas el potasio y el hierro, un excelente antioxidante.(5) (35)

Esto se debe a que presenta una gran cantidad de betacarotenos dentro de sus componentes, estas sustancias además son muy buenas para prevenir la aparición de cáncer, principalmente el de pulmón y estómago.(5) (35)

TABLA No. 2 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL BERRO POR 100 g POR PORCIÓN COMESTIBLE.

COMPONENTES	COMPOSICIÓN	Ingesta recomendada
Cantidad por 100 g por porción comestible		
Agua (g)	89.3	-
Energía (kcal)	17	3000-2300
Proteína (g)	1.6	54-41
Hidratos de carbono (g)	2	450-350
Lípidos (g)	0.3	90-80
Fibra		
Fibra total (g)	1.60	> 30
Insoluble (g)	660	12
Soluble (g)	810	18
Vitaminas		
		1000-800
Vitamina A (µg)	823	-
Beta caroteno (µg)	400	1.2-1.1
Vitamina B ₁ (mg)	0.09	1.3-1.2
Vitamina C (mg)	0.65	60
Minerales		
Calcio	180	700
Hierro	31	10-15
Sodio	12	-

FUENTE: http://WWW.tabla_nutricional.com/del_berro

1.6.2.4 Propiedades Medicinales

Sus efectos actúa en el organismo por su composición en minerales, vitaminas, es tónico, refrescante, antiescorbútico, aperitivo, estimulante depurativo. Su acción en los infartos de hígado, antidiabéticas. La fibra ya sea como constituyente o suplemento de un alimento reduce los niveles de la glucosa, ya que no se puede digerir por lo tanto se

retrasa la liberación de glucosa en la sangre. Estudio realizado en año 2000 de 13 pacientes mostró que los pacientes con diabetes que consumían 50 g de fibra al día redujeron sus niveles de glucosa al 10% y los niveles de insulina un 12% más que los que consumía 24 g de fibra al día. El hierro le confiere una acción sobre la regeneración de la hemoglobina, sus aceites esenciales sulfurados explican sus propiedades antitusígenas y su acción sobre las secreciones de las mucosas del aparato respiratorio. (41)

1.6.3 NOGAL (*Juglans regia*)

1.6.3.1 Origen

El Nogal es nativo de la Región que incluye Turquía, Irán, Iraq, Afganistán. El género *Juglans* se considera originario de Asia, de Persia pasó a Grecia, donde se le conoció como nuez persa o real (dado que fueron los reyes los que la introdujeron al Imperio), de estos hechos la especie toma su nombre científico. (2) (6)

Su cultivo se remonta aproximadamente al año 1000 antes de Cristo, siendo una especie apreciada no solo por sus frutos sino también por las propiedades medicinales. El nogal introducida en Sudamérica, ahora distribuida en los Andes Sudamericanos especialmente en Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia. En el Ecuador se halla en la región interandina, en los valles y en la cordillera de los Andes. (2) (6)

1.6.3.2 Importancia

EL nogal es una especie de mayor interés económica, en el Ecuador por su madera ya que con ellas elaboran muebles de calidad, con sus nueces se elaboran exitosos pasteles y también es utilizado en varias áreas de la medicina. (57)

1.6.3.3 Indicaciones

Aceite

Es utilizado para pieles secas, ictiosis, psoriasis, quemaduras, eczemas seco.

Uso Interno

Diabetes: Las hojas de nogal, poseen un alto contenido en taninos, razón por lo cual es considerado un excelente depurativo en problemas de azúcar en la sangre, dificultades circulatorias, como antidiabético se usan las decocciones de hojas de nogal 30 g/ L de agua. (61)

En Guatemala, es utilizada la hoja para el control de la diabetes, con resultados excelentes.(61)

Diarrea: Las hojas, por su contenido en taninos, son astringentes y pueden utilizarse para combatir la diarrea.

Hipotiroidismo: Las nueces, especialmente las nueces verdes, contienen componentes que estimulan la producción de las hormonas tiroideas. (61)

Uso externo

Tratamiento para la piel:

Se efectúan, utilizarse para tratar problemas de la piel como eccemas, psoriasis, dermatitis, granos, prurito, etc. Infusión al 10% de hojas en un litro de agua, emplear compresas mojadas sobre la zona afectada. (58) (61)

En cuanto al uso tópico se utilizan para las heridas, ulceraciones dérmicas, blefaritis, abscesos, conjuntivitis, estomatitis, faringitis, prurito, vulvovaginitis etc. (58) (61)

1.6.3.4 Posología

Extracto fluido: (1:1) de hojas 30-50 gotas, una a tres veces al día.

Tintura de hojas (1:10) 50-100 gotas, tres veces al día

Decocción: 50 g / L tres veces al día.

1.6.3.5 Principios Activos

Hojas:

- **Naftoquinonas:** beta hidroplumbanina, juglona, plumbagina.
- **Taninos:** 3-4 % catequinas.
- **Trazas** de aceite esencial con germacraneno –D
- **Flavonoides:** quercitina, hiperósido
- **Ácidos fenol carboxílicos:** gálico, caféico

Pericarpio:

- Ácidos orgánicos
- Naftoquinonas: hidrojuglona(8) (18)

Cotiledones:

- Ácidos grasos insaturados: (linoléico, linolénico)
- Tegumento: Polifenoles: ácido gálico y elágico. (57)

1.6.3.6 Parte utilizada

- El aceite (cotiledones)
- Hojas
- Pericarpio de los frutos. (57) (61)

1.6.3.7 Acción Farmacológica

La presencia de los taninos otorga propiedades astringente, cicatrizante, antiséptico, hemostático local antisudoral, eupéptico colagogo hipoglucemiante, antihelmíntico.

La acción de los flavonoides, producen un efecto protector capilar, diurético, el aceite de nogal es emoliente e hipolipemiente.(57)

1.6.3.8 Contraindicaciones

Los alcaloides en tratamientos con sales de hierro, los taninos en patología como gastritis, úlcera gastroduodenal, pueden irritar la mucosa gástrica, se muestra este efecto secundario, se puede paliar asociando a drogas con mucílagos. Se recomienda no administrar con otras drogas, ante la ausencia de datos con respecto a la posible interacción, con otras medicaciones.

No prescribir, formas de dosificación con contenido alcohólico por vía oral en niños menores de dos años y a los pacientes etílicos. (54) (57)

1.6.3.9 Precaución

Al prescribir a pacientes diabéticos, médico deberá controlar la glucemia para ajustar si es necesario, las dosis de insulina o de los antidiabéticos orales.

Tener en cuenta el contenido alcohólico del extracto fluido y de la tintura. (57)

1.7 LOS EXTRACTOS

Extractos vegetales, es el producto líquido obtenido a partir de plantas por diferentes métodos y con diferentes tipos de solventes. Desde punto de vista farmacéutico se refiere a la separación de las proporciones medicinales a través de solventes apropiados a partir de los tejidos vegetales secos o frescos, utilizando procesos estandarizados. (42) (54)

17.1 CONTROL DE CALIDAD DE DROGAS VEGETALES

Los requisitos necesarios para que una droga tenga estabilidad de vida útil larga son las siguientes:

- Ser libre de microorganismo como son hongos, bacterias, micotoxinas, excreta de los animales.
- Libre de contaminantes herbarios como son metales pesados plomo, arsénico, mercurio, magnesio.
- Valoración de cenizas es muy importante porque nos indica, el grado de limpieza de la materia prima de partida, es decir nos indica el porcentaje de los minerales presente en la muestra de estudio, de estos datos se basa calidad del extracto.
- Valoración de cenizas totales, se dice que es igual a la suma de cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en agua.
- Valoración de cenizas solubles e insolubles en agua, este dato nos sirve para evaluar adulteraciones en materia vegetal.
- Tamizaje fitoquímico con simple y sencilla pruebas determina metabolitos secundario con acción farmacológica. (42) (54)

1.7.2 METODOS DE EXTRACCIÓN

Los extractos se preparan por dos métodos principales maceración y percolación, también por otros métodos validados que utilizan para su extracción etanol u otros disolventes adecuados

Maceración

La materia prima vegetal que se va extraer es triturado, se pone en contacto con una cantidad suficiente se solvente, en un recipiente cerrado a temperatura ambiente durante 2 -14 días agitándose hasta que el material soluble se disuelva. Luego la mezcla es filtrado, el material insolubles es lavado con el mismo solvente utilizado para la maceración y los filtrados se mezclan para concentrar la consistencia deseada a un temperatura controlada.(42) (54)

Percolación

El material vegetal se pone en contacto con cantidad suficiente de solvente de forma que el solvente cubra el material triturado en el percolador, el solvente se remueve de modo continuo manteniéndose un gradiente de concentración, el disolvente puro desplaza al

que contiene la sustancia extraída. La droga residual es prensada y el fluido obtenido es combinado con el percolador para concentrar el extracto. (42)

1.7.3 TIPOS DE EXTRACTOS

Extracto fluido

Los extractos son preparaciones líquidas, en las que una parte por masa o volumen es equivalente a una parte por masa de la droga original desecada. Los extractos fluidos pueden prepararse etanol de concentración adecuada o agua o por disolución de un extracto seco o blando en uno de estos disolventes. En reposo, pueden formar un ligero sedimento, siendo aceptable siempre que su composición no varíe significativamente.

Extractos seco

Son preparaciones de consistencia sólida, obtenidos por evaporación del disolvente utilizado para su elaboración. Los extractos secos tienen un residuo seco no inferior a 95% en masa pueden añadir sustancias inertes. Los extractos secos valorados se ajustan al contenido definido en constituyentes, utilizando sustancias inertes adecuados o por medio de otros extractos secos de la materia vegetal o animal utilizada para preparación

Extractos blandos

Son preparaciones de consistencia intermedia que tiene contiene entre extracto fluido y extracto pulverizado que se obtienen por extracción de droga por evaporación de líquido (agua-alcohol), generalmente, los extractos blandos presentan un residuo seco no inferior al 70% en masa, pueden contener conservantes antimicrobianos adecuados (42)

1.8 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Desde los principios de la Biología, la utilización de animales como reactivos biológicos en el ámbito de la investigación científica ha sido fundamental para el establecimiento de nuevos postulados y la constante validación de los mismos. Es así, como el desarrollo

científico en las áreas biomédicas, está directamente relacionado con el nivel de desarrollo de la tecnología y experimentación animal. El animal de laboratorio es cualquier tipo de ser vivo con independencia de su categoría filogenética o taxonómica utilizado en experimentación animal o con otros fines científicos. El objetivo final de la ciencia del animal de laboratorio es la obtención de animales biológicamente estandarizados, es decir, genéticamente uniformes, mediante selección colectiva en relación con determinadas características anatómicas, fisiológicas y sanitarias.(45) (52)

1.8.1 RATAS WISTAR

Orden: *Rodentia*

Suborden: *Myomorpha*

Superfamilia: *Muroidea*

Familia: *Muridae*

Subfamilia: *Murinea*

Género: *Rattus*

Especie: *norvegicus*.

Subespecies: *R. n. albinicus*, *R.n. albus*, *R .n. novergicus*

1.8.2 VALORES DE REFERENCIA DE GLUCEMIA EN RATAS WISTAR

Según la revisión bibliográfica nos indican en Suero y/o plasma en ayunas para ratas de 60-90 mg/dL.

1.8.3 VÍAS DE ADMINISTRACIÓN DE FLUIDOS Y DROGAS

Vía Subcutánea:

El medicamento se introduce a través de una aguja fina, preferentemente bajo la piel del abdomen o del dorso, allí se va liberando lentamente al torrente sanguíneo no existe en esta zona muchas terminaciones nerviosas una vez inyectado la sustancia, luego realizar

suavemente masajes en el sitio de la inyección, para prevenir el escape del fluido inyectado. Su volumen de administración es de 5-10 mL.

Vía intraperitoneal:

Esta vía es la más utilizada así como la intramuscular y la subcutánea, las sustancias a administrar son pequeñas y la absorción por esta vía es más rápida. Se realiza usando una aguja corta y fina.

El sitio para introducir la aguja es el cuadrante inferior izquierdo, con la aguja levemente inclinado, la misma se sentirá flotar libremente en la cavidad peritoneal, de no ser así, no inyecte el líquido por esta vía, ya que va hacia el interior de las vísceras o en un músculo de la pared abdominal. Su volumen de administración es de 5-10 mL.(42)

Vía oral:

Por esta vía se administra por medio de una sonda pequeña, soluciones y suspensiones, se introduce la sonda por el interdental verificando que la sonda este en el estomago no en los pulmones, se sujeta por la piel del cuello y la espalda asegurándose que la cabeza y el cuello quede extendido formando una línea con la espalda.(42) (52)

A si mismo se puede utilizar la técnica de la cánula, se coloca una jeringuilla en el extremo de la cánula, sumergiendo en la vaselina alrededor de la cánula como lubricante para no causar daños en el tracto digestivo del animal.

Manipulando por el dorso del animal en posición recta para que facilite el ingreso de la cánula así evitar el contacto a las vías respiratorias. Su volumen de administración es hasta 10 mL en dosis repetida

Vía intramuscular:

El medicamento es administrado por debajo de la piel es decir se introduce dentro de músculo por medio de una aguja de 25 G.

La administración por esta vía, el medicamento pasa rápidamente a la sangre por estar muy irrigado por sus vasos sanguíneos. El volumen administrado es entre 0.3 mL. (42)

Vía intravenosa:

Por esta vía se utiliza las venas laterales de la cola, el medicamento se introduce directamente en el torrente sanguíneo, es la vía mucho más rápido en la aparición de la actividad farmacológica de cierta sustancia, su volumen de administración de es de 0.5 mL

Vía intradérmica:

Para administrar por esta vía, se manipula en una zona de piel que, sea el tejido dérmico densopara su mejor administración se depila la zona, se utiliza agujas de 25 G, su volumen de administración es de 100 uL. (42) (52)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE EXPERIMENTACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en:

- Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.
- Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.
- Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

2.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 MATERIAL VEGETAL

Como materia prima, se utilizó planta completa de ortiga, berro y las hojas de nogal, todas ellas secas y trituradas. Las materias primas, fueron adquiridas en el mercado de la Ciudad de Riobamba Provincia de Chimborazo bajo un ambiente estéril, y libre de contaminación.

2.2.2 MATERIAL BIOLÓGICO

Ratas Wistar pertenecientes al Bioterio de la Facultad de Ciencia Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2.3 MATERIALES

- Pinza para Tubos
- Trípodes

- Vasos de precipitación 100 mL, 250 mL
- Embudo 250 mL
- Gradilla para tubos
- Varilla
- Balón de destilación, Balón esmerilado de 250 mL
- Soporte universal
- Pinzas universales
- Mangueras
- Reverbero
- Tubos de ensayo
- Pipetas volumétricas de 1 mL, 5 mL, 10 mL y 15 mL
- Papel Filtro
- Pizeta
- Gasa
- Papel aluminio
- Embudos de Separación de 250 mL
- Cámara Cromatográfico
- Aspersor (atomizador)
- Picnómetros
- Caja de polipropileno
- Espátula
- Mortero con Pistilo
- Mascarilla, Mandil
- Calculadora
- Cuaderno de Apuntes
- Balones de aforo de 10 mL y 150 mL.
- Jeringuillas de 5 y 10 mL.
- Cánula para Administración Oral
- Vaselina Pura
- Algodón
- Guantes de manejo
- Esferos, lápices y borrador

- Jaulas para Ratas, Bebederos, Aserrín

2.2.4 EQUIPOS

- Balanza Analítica Adam
- pH metro Jenway
- Refractómetro Pzo-Warsawa RL
- Bomba de vacío Medi-Pump
- Rotavapor (HEIDOLPH TYPE HEIZBAD HEI-VAP)
- Equipo de Destilación
- Estufa (MEMMERT)
- Mufla(OPTIC IVYMEN SYSTEM)
- Medidor de Glucosa ACCU-CHEK Active de Roche
- Computadora HP
- Microscopio Boeco

2.2.5 REACTIVOS

- Agua Destilada
- Alcohol Potable
- Alcohol Amílico
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Lieberman – Buchard
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Sudan III
- Reactivo de Börntrager
- Reactivo de Baljet
- Solución de Ninhidrina al 5%
- Solución de Fehling A y B
- Solución de Cloruro Férrico al 5%
- Solución de Carbonato de Sodio

- Cloroformo
- Tolueno
- Ácido Fórmico
- Granallas de Magnesio
- Placa de Sílica Gel
- Ácido Clorhídrico concentrado
- Ácido nítrico
- Acetato de Etilo
- Ácido Acético Glacial
- Euglucón
- Sacarosa
- Alcohol Antiséptico
- Tiras Reactivas de Glucosa

2.3. MÉTODOS

2.3.1 ETAPA EXPERIMENTAL

2.3.1.1 Obtención de los Extractos Fluidos de Ortiga (*Urtica dioica*), Berro (*Nasturtium officinale*), Nogal (*Juglans regia*)

Método por percolación:

Se prepara con 100g de planta seca (Ortiga) y molido se coloca en un vaso de precipitación de 500 mL, se añade 100 mL de alcohol potable para humectar la planta molida, dejando la mezcla humectada en reposo durante 4 horas, después de los cual se carga esta masa en el percolador (recipiente cónico abierto en ambos extremos). Se agrega suficiente alcohol para saturar la masa y se cubre con papel filtro el tope del percolador. Cuando el líquido esta por gotear del cuello del percolador, se cierra la salida.

Posteriormente se agrega suficiente menstuo adicional como para que haya una capa profunda sobre la masa, se deja que la mezcla se macere cerrado aproximadamente las 24

horas. Se abre la salida del percolador, el líquido que contiene gotee con lentitud, a continuación se agrega suficiente menstruado para obtener el volumen requerido y el líquido mezclado se clarifica mediante la filtración. De la misma manera se obtiene extracto fluido para Berro, Nogal.

2.3.2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Se aplicó procedimientos cualitativos Tamizaje Fitoquímico, para determinar mediante reacciones de precipitación, colorimétricas o de otro cambio físico-químico que expongan la presencia de grupos funcionales característicos de metabolitos secundarios.

2.3.2.1 Ensayo de Dragendorff

Admite reconocer la presencia de alcaloides en un extracto, si la alícuota de la muestra está disuelta en un solvente orgánico, éste debe evaporarse en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1% en agua.

Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado. Se calentó suavemente y se dejó enfriar hasta acidez.

Con la solución acuosa ácida se realizó el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff, y valorando de acuerdo a: opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++).

2.3.2.2 Ensayo de Mayer

Se debe proceder de igual manera explicada anteriormente, hasta lograr la solución ácida. Se añadió una pizca de cloruro de sodio en polvo, se agitó y filtró. Al filtrado se agregó de 2 a 3 gotas de la solución reactiva de Mayer. Se reporta de la siguiente manera: si se observa opalescencia (+), turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++).

2.3.2.3 Ensayo de Wagner

Se parte de igual manera que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo de Wagner, clasificando los resultados de la misma forma.

2.3.2.4 Ensayo de Baljet

Permite conocer la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo, para ello, si alícuota se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1 mL).

En estas condiciones se adicionó 1 mL del reactivo de Baljet. Se reporta positivo a la presencia de coloración o precipitado rojo (++ y +++).

2.3.2.5 Ensayo de Borntrager

Permite reconocer en un extracto vegetal la presencia de quinonas. Si la alícuota de la solución no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo.

Se adicionó 1 mL de hidróxido de sodio al 5% en agua. Se agitó mezclando las fases y se dejó en reposo hasta su ulterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++).

2.3.2.6 Ensayo de Lieberman-Burchard

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, ambos tipos de productos deben poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo 8 y la posición 5-6. Si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adicionó 1 mL de anhídrido acético y se mezcló bien.

Por la pared del tubo de ensayo se dejó resbalar 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Ensayo positivo si hay un cambio rápido de coloración

- 1) Rosado-azul muy rápido.
- 2) Verde intenso-visible aunque rápido.
- 3) Verde oscuro-negro-final de la reacción.

A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos.

2.3.2.7 Ensayo de Sudan III

Permite reconocer la presencia de compuestos grasos, para lo cual, a la alícuota de la fracción en el solvente de extracción, se le añadió 1 mL de una solución diluida en agua del colorante Sudan III y se calentó en baño de agua hasta evaporación del solvente.

La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos respectivamente.

2.3.2.8 Ensayo de Resinas

Para detectar este tipo de compuestos se adicionó a 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo.

2.3.2.9 Ensayo de la Espuma

Permite reconocer en una muestra la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. Para ello que si la alícuota se encuentra en alcohol, se debe diluir la muestra con 5 veces su volumen en agua y agitar la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.

2.3.2.10 Ensayo del Cloruro Férrico

Permite determinar la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionó 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9% en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

2.3.2.11 Ensayo de la Ninhidrina

Permite reconocer en un extracto la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general. Para ello, toma una alícuota del extracto en alcohol, o el residuo de la concentración en baño de agua, si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, se mezcla con 2 mL de solución al 2% de Ninhidrina en agua. La mezcla se calienta 5-10 minutos en baño de agua. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color azul violáceo.

2.3.2.12 Ensayo de Shinoda

Permite determinar la presencia de flavonoides en una muestra. La alícuota de la muestra alcohólica (extracto alcohólico) se diluyó con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Luego de la reacción se espera 5 minutos para añadir 1 mL de alcohol amílico, se mezclaron las fases y se deja reposar hasta que su

separación. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado.

2.3.2.13 Ensayo de Catequinas

Se tomó de la solución alcohólica obtenida una gota, con la ayuda de un capilar y se aplicó la solución sobre papel filtro. Sobre la mancha se aplicó solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica un ensayo positivo.

2.3.2.14 Ensayo de Antocianidinas

Admite reconocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C₆-C₃-C₆ del grupo de los flavonoides. Se calentó 2 mL del extracto etanólico durante 10 minutos con 1 mL de HCl concentrado. Se dejó enfriar y se adicionó 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agitó y se dejó separar las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, es indicativa de un ensayo positivo.

2.3.2.15 Ensayo de Fehling

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 mL de agua.

A este residuo se adicionó 2 mL del reactivo y se calentó en baño de agua durante 5 a 10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo.

El reactivo se preparó de la siguiente forma:

- **Solución A:** Se pesaron 35 g de sulfato cúprico penta hidratado cristalizado y se disolvió con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

- **Solución B:** Se pesaron 150 g de tartrato de sodio y potasio y 40 g de hidróxido de sodio y se disolvieron con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar.

2.4 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE ORTIGA (*Urtica dioica*), BERRO (*Nasturtium officinale*), NOGAL (*Juglans regia*).

Permite determinar la calidad de los extractos obtenidos a partir de drogas seca, así como también controlar su estabilidad de vida.

2.4.1 DETERMINACIÓN DE OLOR

Se toma una tira de papel secante de 1 cm de ancho por 10 cm de largo, se introdujo un extremo en la muestra problema. Se sintió el olor y se determinó si corresponde con la característica del producto.

2.4.2 DETERMINACIÓN DEL COLOR

En un tubo de ensayo previo limpio y seco, se llena hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observó el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación en capas.

2.4.3 DETERMINACIÓN DEL pH

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno, pH.

El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógeno. Ajuste el equipo con la

solución reguladora de pH adecuada al rango en que realizará la determinación. Posteriormente determinese el valor de pH de la muestra problema.

2.4.4 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

El índice de refracción es una constante característica de cada sustancia, la cual representa la relación entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio.

Se colocó sobre el prisma de medición una gota de agua destilada, se ajustó el equipo seleccionando la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro. Después de haber realizado el ajuste del refractómetro, se colocó una gota del extracto sobre el prisma de medición, se cierra el termoprisma.

Se enfoca la luz por medio del espejo, de modo tal que la misma incida sobre la apertura de entrada del prisma de medición y se procedió de la misma forma que con el agua.

2.4.5 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA

Se define por densidad relativa a la relación entre la masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25 °C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico. Se pesa el picnómetro vacío seco a 2 °C, se llena con el extracto hasta ajustar al nivel indicado en el picnómetro, a la temperatura de 25 °C (± 1 °C) Inmediatamente se pesa, el picnómetro con la muestra problema de ensayo, se repitió la operación con el agua destilada a 25 °C, después de limpiar y secar el picnómetro.

Expresión de los resultados:

La densidad relativa a 25°C se calcula por la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Donde:

M₁: peso del picnómetro con la muestra (g)

M₂: peso del picnómetro con el agua (g)

M: peso el picnómetro vacío (g).

2.4.6 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES

La determinación se valida en la variación de la masa, con la pérdida de las sustancias volátiles, por acción del calor, por medio de evaporación de la porción del ensayo. Secado del residuo en la estufa, hasta peso constante, a esto se le asigna como sólidos totales.

2.4.7 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

Se pesa 2 g más /menos 0-5 mg de droga seca, se transfiere a la capsula previo tarado, se seca a 105°C durante 3 horas. El peso filtro se coloca en un desecador donde se enfría, luego se valora el peso, colocándose nuevamente en la estufa durante 1 hora, se repite el procedimiento hasta obtener constante. El ensayo se realizó por duplicado en planta fresca y seca.

Cálculos:

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

Donde:

H= Porcentaje de humedad

M= masa de muestra de ensayo (g)

M₁= masa del peso filtro con la muestra desecada (g)

M₂= masa del peso filtro con la muestra de ensayo (g)

100= factor matemático para los cálculos

2.4.8 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

En un crisol de porcelana previo tarado se pesa $2 \text{ g} \pm 0.5 \text{ mg}$ de droga seca pulverizada, se calienta levemente la muestra aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente incinerar llevando a una mufla a una temperatura de $700\text{-}750 \text{ }^\circ\text{C}$ durante por 2 horas. Luego enfriar las muestras en el desecador, tomar los pesos correspondientes. El proceso se repite, hasta obtener la casa constante, a partir de incineración, si el residuo presenta tipo carbón, se añade ácido nítrico o solución de de nitrato de amonio 10 mg en 100 mL , se calienta hasta evaporar los solventes, al enfriar el crisol muestra es de color blanco. El ensayo se realiza por duplicado.

Cálculos:

$$\%C_t = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100 \qquad \%C_t = \frac{C_t}{100 - H} * 100$$

Donde:

$\%C_t$ = Porcentaje de ceniza en base hidratada (g)

M_1 = masa del cápsula con la muestra de ensayo (g)

M = masa del cápsula vacío (g)

M_2 = masa del cápsula con la ceniza (g)

H = porcentaje de humedad

100 = factor matemático para los cálculos

2.4.9 DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA

A las cenizas totales se añade 15 mL de agua. La cápsula se tapa, se hace hervir lentamente directamente a la llama durante 5 minutos. La solución se filtra utilizando el papel filtro libre de cenizas, con cenizas determinadas. El papel filtro con el residuo se transfiere a la capsula inicial, se carboniza en el reverbero y posteriormente se incinera por completo en mufla a $750 \text{ }^\circ\text{C}$ por 2 horas. Luego se enfría en desecador hasta alcanzar temperatura ambiente y tomar su peso final. El ensayo se realizó por duplicado.

Cálculos:

$$\%C_1 = \frac{M_2 - M_4}{M_1 - M} * 100 \qquad \%C_1 = \frac{C_1}{100 - H} * 100$$

Donde:

$\%C_1$ = Porcentaje de ceniza solubles en agua en base hidratada (g)

M_1 = masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

M = masa de la cápsula vacío (g)

M_2 = masa de la cápsula con la ceniza (g)

M_4 = masa de la cápsula con las cenizas insolubles en agua (g)

C_a = cenizas solubles en agua en base anhidra.

H = porcentaje de humedad

100 = factor matemático para los cálculos

2.4.10 DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ACIDO CLORHÍDRICO

A las cenizas totales se añade 15 mL de ácido clorhídrico al 10%, hacer hervir por 5 minutos.

La solución se filtra a través de papel filtro libre de cenizas, con cenizas determinadas, se lava el residuo con agua caliente hasta que al añadir al filtrado acidulado con ácido nítrico: 2 gotas de nitrato de plata 0.1 M, no muestre la presencia de cloruros.

El papel filtro con el residuo se transfiere a la cápsula inicial. Se carboniza en un reverbero y luego se incinera en mufla a 750 °C durante 2 horas.

Como en los anteriores procedimientos se determina su peso final. El ensayo se realizó por duplicado.

Calculo:

$$\%C_1 = \frac{M_2 - M_4}{M_1 - M} * 100 \qquad \%C_1 = \frac{C_1}{100 - H} * 100$$

$\%C_1$ = Porcentaje de ceniza insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada (g)

M_1 = masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

M = masa de la cápsula vacío (g)

M_2 = masa de la cápsula con la ceniza ácido clorhídrico (g)

C_i = cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base anhidra.

H = porcentaje de humedad

100 = factor matemático para los cálculos

2.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

2.5.1 METODO DE CONTEO DE AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES EN PLACA

- Se pesa 25 g de droga seca en un erlenmeyer previo esterilizado
- Se añadió 250 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar, de esta forma se obtiene una dilución de 10^{-1}
- Se dejó en reposo 1 hora
- De esta dilución se tomó 1 mL, se mezcla con 9 mL de agua peptonada 0.1% y se obtiene una dilución 10^{-2}
- Así sucesivamente se realiza otras diluciones hasta 10^{-4}
- En los tubos de tapa rosca se preparó 15 mL de cultivo PCA (Platel Cont. Agar)
- A cada tubo con agar se adicionó 1 mL de la dilución preparada, el agua peptona al 0.1%.
- Se homogeniza el contenido de cada tubo en cajas petri
- Se incubó a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 48 horas
- Luego de este tiempo se toma la lectura correspondiente, contando las colonias que se desarrollan en placas con mayor número. El número máximo por caja para una mejor evaluación no debe exceder de 300 colonias/ caja.

2.5.2 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES

Prueba presuntiva

- Se pesa 25 g de droga seca en un erlenmeyer previo esterilizado

- Se añadió 250 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar, de esta forma se obtiene una dilución de 10^{-1}
- Se dejó en reposo 1 hora
- De esta dilución se tomó 1 mL, se mezcla con 9 mL de agua peptonada 0.1% y se obtiene una dilución 10^{-2}
- Así sucesivamente se realiza otros diluciones hasta 10^{-4}
- En los tubos de tapa rosca se preparó 15 mL de cultivo PCA (Plate Count Agar)
- A cada tubo con agar se adicionó 1 mL de la dilución preparad, el agua peptona al 0.1%.
- Se homogeniza el contenido de cada tubo en cajas petri
- Se incubó a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24- 48 horas
- Verificar si existe turbidez en el caldo lactosado o presencia de burbujas en la campana de Durham

Prueba confirmatoria

- De los tubos positivos en caldo lactosado se tomó 2 – 3 asada, se siembra en tubos de 10 mL de caldo Brilla.
- Se incubó por 24- 48 horas $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Verificar si existe turbidez en el caldo lactosado o presencia de burbujas en la campana de Durham.
- Los resultados se interpretan según la tabla de NMP

2.5.3 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES FECALES

Prueba presuntiva

- Se pesa 25 g de droga seca en un erlenmeyer previo esterilizado
- Se añadió 250 mL de agua pepetonada al 0.1% estéril y homogenizar, de esta forma se obtiene una dilución de 10^{-1}
- Se dejó en reposo 1 hora

- De esta dilución se tomó 1 mL, se mezcla con 9 mL de agua peptonada 0.1% y se obtiene una dilución 10^{-2}
- Así sucesivamente se realiza otras diluciones hasta 10^{-4}
- En los tubos de tapa rosca se preparó 15 mL de cultivo PCA (Plate Count Agar)
- A cada tubo con agar se adicionó 1 mL de la dilución preparada, el agua peptonada al 0.1%.
- Se homogeniza el contenido de cada tubo en cajas petri
- Se incubó a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24- 48 horas
- Verificar si existe turbidez en el caldo lactosado o presencia de burbujas en la campana de Durham

Prueba confirmatoria

- De los tubos positivos en caldo lactosado se tomó 2-3 asada, se siembra en tubos de 10 mL de caldo EC.
- Se incubó por 24- 48 horas $35 \pm 2^\circ\text{C}$.
- Verificar si existe turbidez en el caldo lactosado o presencia de burbujas en la campana de Durham
- Los resultados se interpretan según la tabla de NMP.

2.5.4 METODO DE CONTEO DE MOHOS EN PLACA

- Se pesa 25 g de droga seca en un erlenmeyer previo esterilizado
- Se añadió 250 mL de agua peptonada al 0.1% estéril y homogenizar, de esta forma se obtiene una dilución de 10^{-1}
- Se dejó en reposo 1 hora. De esta dilución se tomó 1 mL, se mezcla con 9 mL de agua peptonada 0.1% y se obtiene una dilución 10^{-2}
- Así sucesivamente se realiza otras diluciones hasta 10^{-4} .
- Se preparó cajas petri con medio de cultivo OGY.
- Sobre las cajas petri se coloca 0.1 mL de las diluciones respectivas, se extendió mediante un extensor de vidrio. Se incubó a temperatura ambiente por 5-7 días
- El recuento de colonias formadoras no debe exceder mayor de 100 colonias / cajas.

2.6 ANÁLISIS BROMATÓLOGICO DE BERRO

2.6.1 DETERMINACIÓN DE FIBRA

Fundamento

Se fundamenta en las separaciones sucesivas de la ceniza, proteína, grasa y sustancia extraída libre de nitrógeno, el tratamiento más habitual es con ácido sulfúrico diluido hirviendo, hidróxido de sodio diluido hirviendo, ácido clorhídrico diluido, alcohol y éter. Este tratamiento proporciona la fibra cruda que consiste principalmente de celulosa además de la lignina y hemicelulosa contenidas en la muestra.

Procedimiento

- Se pesó 1 g de la muestra seca y desengrasada por adición en un papel aluminio, se registra su peso. (W_1)
- Se colocó la muestra en el vaso se pesa con papel con el sobrante, se anota este peso. (W_2)
- Se adiciona a cada vaso con muestra 200 mL de ácido sulfúrico al 7% más 2 mL de alcohol n-amílico, estos vasos colocamos en la hornillas del digestor
- Se deja por el tiempo de 25 minutos, regulando la temperatura de la perilla en 7, controlando que el relajo de agua se encuentre funcionando adecuadamente esto es la etapa de digestión ácida.
- A los 25 minutos, se baja la temperatura de la posición 7- 2.5 se añade 20 mL de NaOH al 22% se deja por unos 30 minutos exactos, los tiempos se toman desde que empieza la ebullición.
- Una vez terminada la digestión alcalina se arma el equipo de bomba de vacío, preparando además los crisoles de Gooch con su respectiva lana de vidrio para facilitar la filtración correspondiente.
- Colocamos los crisoles en la bomba.
- Así filtrando el contenido de los vasos continuamente lavando con agua caliente.
- El filtrado se realiza, con 200 mL de agua.

- Posteriormente se coloca, los crisoles en una caja petri y sobre la sustancia retenida en la lana de vidrio, se adiciona acetona hasta cubrir el contenido en el crisol para eliminar agua, pigmentos y materia orgánica.
- Posteriormente se pasa los crisoles con toda la caja petri a la estufa por el lapso de 8 horas para secar a una temperatura de 105 °C.
- Se saca al desecador y se realiza el primer peso registrando en primera instancia. (W₃)
- Una vez pesados son llevados hasta la mufla a una temperatura de 600 ° C por un tiempo de 4 horas como mínimo una vez que la mufla ha alcanzado la temperatura indicada.
- Terminado este tiempo los crisoles son sacados de la mufla al desecador por un tiempo de 30 minutos.
- Para finalmente realizar el segundo peso del crisol más las cenizas. (W₄)
- Finalmente por diferencia de pesos se realiza el cálculo de la fibra bruta.

Cálculo:

$$\% F = \frac{W_3 - W_4}{W_2 - W_1} * 100$$

Donde:

F= fibra

W₁= peso del papel solo

W₂= peso del papel más muestra húmeda

W₃= peso del crisol más muestra seca

W₄= peso del crisol más cenizas

Fibra bruta en base seca

$$\% F.B.S = \frac{100 * \% FB}{\% MS.}$$

Donde:

% F.B.S = % Fibra en base seca

% F = % F bruta

% M.S = % materia seca

2.6.2 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA (Técnica AOAC 2049)

Fundamento

Sometiendo a calentamiento y digestión muestra problema con ácido sulfúrico concentrado, los hidratos de carbono y las grasas se destruyen hasta formar CO₂ y agua, la proteína se descompone con la formación de amoníaco, este sulfato en medio ácido es resistente su destrucción con desprendimiento de amoníaco actúa una base fuerte al 50%, y se desprende el nitrógeno en forma de amoníaco, este amoníaco es retenido en una solución de ácido bórico al 2.5% y titulado con HCl al 0.1 N.

Procedimiento

- Se pesó el papel bond, (W₁) luego por adición se pesó 1 g de muestra y se registra el peso del papel solo y del papel más la muestra. (W₂)
- En el contenido del papel más la muestra, se añade 8 g de sulfato de sodio más 0.1 g de sulfato cúprico. Todo este contenido se coloca, en cada balón, al cual se añade 25 mL de ácido sulfúrico concentrado.
- Cada balón con todo este contenido, es llevado hasta las hornillas del macro Kjeldahl para su digestión, a una temperatura graduada en 2.9 por un tiempo de 45 minutos a partir del momento, se clarifica la digestión.
- Luego de este tiempo son enfriados hasta que se cristalice el contenido de los balones.
- Una vez terminada la fase de digestión, se procede a preparar la etapa de destilación, para ello colocamos en los erlenmeyer de 50 mL de ácido bórico al 2.5 % y los colocamos en las terminales del equipo de destilación.
- En cada balón con la muestra problema cristalizado se coloca 250 mL se adiciona 250 mL de agua destilada más 80 mL de hidróxido de sodio al 50%, adicionando tres

lentejas de zinc, con todo este contenido son llevados a las hornillas para dar comienzo a la fase de destilación.

- El amoniaco como producto de destilación es receptado hasta un volumen de 200 mL en cada matraz.
- Se retira los matraces con su contenido, mientras que el residuo se encuentra en el balón es desechado y se recupera las lentejas de zinc.
- Para la fase de titulación se arma el soporte universal con la bureta y el agitador magnético
- .En cada matraz se coloca tres gotas del indicador macro Kjeldahl.
- Las barras de agitación magnética son colocados en el interior de cada matraz y llevados sobre el agitador, se carga la bureta con HCl 0.1 N.
- Se prende el agitador, se deja caer gota a gota el ácido clorhídrico hasta obtener un color grisáceo transparente que es punto final de titulación. El número de mL de HCl al 0.1 N gastado se registra para el cálculo respectivo.

Cálculos:

Porcentaje de Proteínas:

$$\%P = \frac{N_{HCl} * 0.014 * 100 * 6.25 * mL}{W_2 - W_1}$$

Donde:

% PB = % Proteína Bruta

W₁ = Peso del papel solo

W₂ = Peso del papel más muestra

0.014 = Constante

6.25 = Constante

mL HCl = mL de Ácido Clorhídrico utilizados al titular

Proteína en base Seca:

$$\%P.B.S = \frac{100 * \%PB}{\%MS}$$

Donde:

%P.B.S =% Proteína en Base Seca

%FB = % Proteína Bruta

%M.S =% Materia

2.7 PROTOCOLO EXPERIMENTAL

2.7.1 MUESTRA

Se empleó 14 ratas(9 hembras5 machos), peso promedio entre 204-302.7g, edad de 7 semanas,al comienzo del examen y sanas, habiendo superado satisfactoriamente todos los controles necesarios, lugar de nacimiento en el Bioterio de la Escuela Bioquímica y Farmacia Facultad de Ciencias de la Espoch.Fueron agrupados de la siguiente manera 6 lotes dos para control positivo (glibenclamida), dos para control negativo (solución de azúcar 150 g/mL), tres para grupo 1(ortiga al 50%), tres para grupo 2 (berro al 50%), tres para grupo 3 (nogal al 50%) y uno denominados blancos.

2.7.2 TRATAMIENTO

Lote 1: blanco (no se induce ninguna patología).

Lote 2: control positivo (se le induce la patología y se les administra el fármaco glibenclamida de 1.2 mg).

Lote 3: control negativo (se induce la patología pero no recibe ningún tratamiento)

(Lote 4: grupo 1 (Se les administra el extracto fluido de ortiga al 0.67 g

Lote 5: grupo 2(Se les administra el extracto fluido de berro al 0.67 g

Lote 6: grupo 3 (Se les administra el extracto fluido de nogal al 0.67 g

TABLA No. 3 DISEÑO EXPERIMENTAL DE INDUCCIÓN DE DIABETES TIPO II

LOTE	PLANTAS			MEDICAMENTO	
	ORTIGA	BERRO	NOGAL	GLIBENCLAMIDA	SACAROSA 150
	50% V.O*	50% V.O*	50% V.O*	1.2 mg/kg V.O*	g/mL V.O**
B	-	-	-	-	-
C(+)				5 mL	
C(-)					5 mL
G 1	5 mL				
G 2		5 mL			
G 3			5 mL		

FUENTE: QUISI, R, 2012

LOTE 1 = blanco

LOTE 2 C (+)= Control positivo

LOTE 3 C (-)= Control negativo

LOTE 4 Grupo 1= Ortiga

LOTE 5 Grupo 2= Berro

LOTE 6 Grupo 3 = Nogal

*= primera administración

** = segunda administración

2.7.3 PERIODO DE ACLIMATACIÓN.

Se mantuvieron un periodo de 7 días, para su aclimatación según las condiciones de nuestro laboratorio, durante esta fase se permanecieron bajo observación para detectar la posible aparición de cualquier patología o su cambio de comportamiento. Los animales de disponían de agua y comida “*ad libitum*” durante todo el periodo de aclimatación. Durante la fase experimental los comederos fueron retirados durante la noche, así permaneciendo en ayunas hasta 1 hora después de la administración de la sustancia a ensayar con el objetivo de facilitar una mejor asimilación de la dicha sustancia.

2.7.4 INDUCCION DE HIPERGLUCEMIA SOLUCIÓN DE SACAROSA 150 g/mL

Se suministra por vía oral utilizando cánula orogástrica, la dosis de sacarosa utilizada es 150 g diluido en 150 mL de agua durante 15 días, se administra a temperatura ambiente, en un periodo no mayor a cinco minutos, a los lotes control positivo, control negativo, grupo 1, grupo 2, grupo 3, excepto grupo blanco, donde alcanzaron los niveles superiores al valor normal de 60- 90 mg/dL glucemia de las ratas.

2.7.5 TRATAMIENTO A BASE DE EXTRACTO FLUIDO DE ORTIGA (*Urtica dioica*), BERRO (*Nasturtium officinale*), NOGAL (*Juglans regia*).

Una vez inducida la patología por 15 días en todos los grupos de estudio excepto el blanco se procedió a tratar al control positivo con el fármaco glibenclamida, a los tres grupos 1,2,3, con los tres extractos correspondientes para cada uno de ellos, se realizó un tratamiento durante 15 días donde se toma 8 mediciones durante el ensayo.

Para lo cual los animales son sometidos a un ayuno previo de 12- 16 horas, se administró al grupo (2) Glibenclamida 5 mL el extracto fluido de ortiga 5mL por vía oral al grupo (4), 5 mL de extracto fluido de berro al grupo (5) 5 mL de extracto fluido de nogal al grupo (6), evaluó el efecto hiperglucémico, según el protocolo experimental indicado.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO FLUIDO DE ORTIGA (*Urtica dioica*).

CUADRO No.1 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE ORTIGA (*Urtica dioica*).FACULTAD DE CIENCIAS ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA.ESPOCH. LABORATORIO DEPRODUCTOS NATURALES. RIOBAMBA. AGOSTO DE 2011.

TIPO DE COMPUESTO	PRUEBAS	RESULTADOS
		EXTRACTO DE ORTIGA
	Dragendorff	(-)
Alcaloides	Mayer	(-)
	Wagner	(-)
Triterpenosy/o esteroides	Lieberman-Buchard	(-)
Quinonas	Börntrager	(++)
Cumarinas	Baljet	(+)
Compuestos Grasos	Sudan III	(++)
Catequinas	Catequinas	(-)
Resinas	Resinas	(++)
Saponinas	Espuma	(-)
Taninos	Cloruro Férrico	(+++)
Aminoácidos Libres	Ninhidrina	(+)
Flavonoides	Shinoda	(+++)
Azucares reductores	Fehling	(-)
Antocianidinas	Antocianidinas	(-)
Mucilago		(+)

El signo + significa que se obtuvo una respuesta positiva para ese metabolito secundario en el extracto.

El signo - significa que se obtuvo una respuesta negativa para ese metabolito secundario en el extracto. El Tamizaje Fitoquímico se realizó con el objetivo, de determinar la presencia de determinados metabolitos secundarios en dependencia de sus características estructurales y solubilidad de cada uno de ellos, que permitan su identificación en el alcohol. En el Cuadro No.1 se indica los resultados del Tamizaje Fitoquímico realizado al extracto fluido de la ortiga, los ensayos positivos fueron: cumarinas, quinonas, compuesto graso, resinas, taninos, aminoácidos libres, flavonoides y mucilagos. Así confirmando la presencia de ciertos principios activos, al cual se le atribuye la propiedad hipoglucemiante. (34)

3.2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO FLUIDO DE BERRO (*Nasturtium officinale*)

CUADRO No.2 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE BERRO (*Nasturtium officinale*). FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES RIOBAMBA. AGOSTO DE 2011.

RESULTADOS		
TIPO DE COMPUESTO	PRUEBAS	EXTRACTO DE BERRO
	Dragendorff	(-)
Alcaloides	Mayer	(-)
	Wagner	(-)
Triterpenosy/o esteroides	Lieberman-Buchard	(-)
Cumarinas	Baljet	(+)
Compuestos Grasos	Sudan III	(+)
Catequinas	Catequinas	(-)
Resinas	Resinas	(++)
Saponinas	Espuma	(+)
Taninos	Cloruro Férrico	(+++)
Aminoácidos Libres	Ninhidrina	(-)
Flavonoides	Shinoda	(++)
Antocianidinas	Antocianidinas	(++)
Azúcares Reductores	Fehling	(-)
Mucilagos		(+)

Mediante el Tamizaje Fitoquímico del extracto fluido del Berro se pudo conocer los metabolitos secundarios, que son los siguientes: resinas, flavonoides, taninos, antocianidinas, cumarinas, compuestos grasos, saponinas, mucílagos. (35)

3.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO FLUIDO DE NOGAL (*Juglans regia*)

CUADRO No. 3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO DE NOGAL (*Juglans regia*). FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. RIOBAMBA. AGOSTO DE 2011.

TIPO DE COMPUESTO	RESULTADOS	
	PRUEBAS	EXTRACTO DE NOGAL
Alcaloides	Dragendorff	(-)
	Mayer	(-)
	Wagner	(-)
Triterpenosy/o esteroides	Lieberman-Buchard	(+)
Quinonas	Börntrager	(-)
Cumarinas	Baljet	(+)
Compuestos Grasos	Sudan III	(+)
Catequinas	Catequinas	(-)
Resinas	Resinas	(++)
Saponinas	Espuma	(-)
Taninos	Cloruro Férrico	(++)
Aminoácidos Libres	Ninhidrina	(-)
Flavonoides	Shinoda	(++)
Antocianidinas	Antocianidinas	(++)
Azúcares Reductores	Fehling	(-)
Mucilago		(+)

Empleando pruebas o técnicas simples, rápidas y selectivas hemos determinado los diferentes metabolitos secundarios presentes en el extracto fluido de Nogal, entre ellos son los siguientes: Triterpenos, antocianidinas, taninos, resinas, cumarinas, compuestos grasos, y mucílagos lo que indica que la especie vegetal tiene flavonoides. Las pruebas

para alcaloides fueron negativas para ortiga, berro, y nogal indicando ausencia de estos metabolitos secundario para los extractos fluidos indicados.

3.2 ANÁLISIS BROMATOLÓGICO DE BERRO (*Nasturtium officinale*)

CUADRO No. 4 PARÁMETRO BROMATOLÓGICO.DE BERRO FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA.ESPOCH.RIOBAMBA.ENERO-FEBRERO DEL 2012.

PARÁMETRO	UNIDAD (%)
Fibra (en Base Seca)	24.72
Proteína (en Base Seca)	13.01

FUENTE: ALVAREZ, G, ESPOCH. 2012

3.3 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LOS FLAVONOIDES



FOTOGRAFÍA No.1 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA PARA FLAVONOIDES DEL EXTRACTOFLUIDO DE NOGAL, BERRO, ORTIGA.

En la fotografía se puede observar claramente la presencia de zonas de color amarillo verdoso, amarillo tanto del extracto de nogal, berro, ortiga. Según la revisión bibliográfica de los compuestos identificados es la quercetina, quercetina -3-O-rhamside

similar a los datos del estándar de quercetina. Se utilizaron como fase móvil: tolueno: acetato de etilo (90: 10, v/v), fase estacionaria: Sílica gel 60 F₂₅₄, revelador: vapores de amoníaco. El revelado manifestó la presencia de compuestos mediante la siguiente fórmula y los R_f que se indica en los cuadros 5, 6, 7

$$R_f = \frac{\text{Distancia Recorrida de la Muestra}}{\text{Distancia recorrida del solvente}}$$

CUADRO No.5 RESULTADOS OBTENIDOS EN LA CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DEL EXTRACTO FLUIDO DE NOGAL (*Juglans regia*). FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. RIOBAMBA. AGOSTO DE 2011.

Manchas	R _f	Compuesto	Color
	0.70		Amarillo
1		Quercetin -3-O-rhamside	verdoso
2	0.93	Quercetina	amarillo

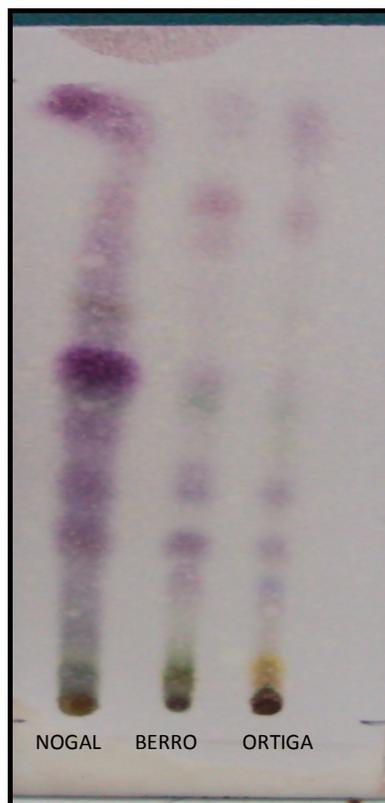
CUADRO No.6 RESULTADOS OBTENIDOS EN LA CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DEL EXTRACTO FLUIDO DE BERRO (*Nasturtium officinale*). FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. RIOBAMBA. AGOSTO DE 2011.

Manchas	R _f	Compuesto	Color
			Amarillo-
1	0.70	Quercetin -3-O-rhamside	verdoso

CUADRO No.7 RESULTADOS OBTENIDOS EN LA CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA DEL EXTRACTO FLUIDO DE ORTIGA (*Urtica dioica*). FACULTAD DE CIENCIAS. BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. RIOBAMBA. AGOSTO DE 2011.

Manchas	R _f	Compuesto	Color
			Amarillo
1	0.70	Quercetin -3-O-rhamside	verdoso
2	0.93	Quercetina	amarillo

3.3.1 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DE LACTONAS



FOTOGRAFÍA No. 2 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA PARA LACTONAS DEL EXTRACTO FLUIDO DE ORTIGA, BERRO Y NOGAL.

Podemos observar claramente en la fotografía de la cromatografía de lactonas para extractos de nogal, berro, ortiga manchas de color violeta, violeta intensa, verde agua.

Con el sistema de solventes utilizados hay la presencia de eficacia, eficiencia y resolución de las manchas así dando una buena aceptación de la cromatografía. Se utilizaron como fase móvil: tolueno: Cloroformo: Acetato: Ácido fórmico (75:16.5:8.5, v/v), fase estacionaria: sobre Sílica gel 60 F₂₅₄ como adsorbente, y revelador: Ácido sulfúrico vainillina.

El revelado manifestó la presencia de varios compuestos mediante el cálculo del Factor de Retención tenemos en el cuadro No. 8.

$$R_f = \frac{\text{Distancia Recorrida de la Muestra}}{\text{Distancia recorrida del solvente}}$$

CUADRO No.8 RESULTADOS OBTENIDOS EN LA CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA PARA LACTONAS DE NOGAL (*Juglans regia*), ORTIGA (*Urtica dioica*) Y BERRO (*Nasturtium officinale*). FACULTAD DE CIENCIAS. BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. RIOBAMBA. AGOSTO DE 2011.

Muestra	Color	Rf
Extracto fluido de nogal	Lila	0.23
	Lila	0.32
	Verde agua	0.37
	Lila	0.39
	Lila	0.75
Extracto fluido de Berro	Lila	0.22
	Verde agua	0.30
	Verde agua	0.41
Extracto fluido de Ortiga	Lila	0.66
	Lila	0.16
	Lila	0.22
	Verde	0.36
	Lila	0.49
Extracto fluido de Ortiga	Lila	0.75

3.4 CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS FLUIDOS DE ORTIGA (*Urtica dioica*), BERRO (*Nasturtium officinale*), NOGAL (*Juglans regia*).

3.4.1 ASPECTOS ORGANOLÉPTICOS

CUADRO No.9 RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LOS ASPECTOS ORGANOLÉPTICOS DEL EXTRACTO DE ORTIGA (*Urtica dioica*), BERRO (*Nasturtium officinale*), NOGAL (*Juglans regia*). FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. LABORATORIO PRODUCTOS NATURALES. RIOBAMBA. AGOSTO DE 2011.

PARÁMETROS	ORTIGA	BERRO	NOGAL
Olor	Picante	Característico de la planta	Característico de la planta
Color	Verde	Verde oscuro	Café
Aspecto	Acuoso	Ligeramente turbio	Ligeramente turbio
Sabor	Amargo	Amargo	Amargo

El análisis organoléptico del extracto de ortiga, indica un olor picante, de aspecto acuoso, de color verde, su densidad es inferior al del agua es decir es un líquido menos denso que el agua.

El análisis organoléptico del extracto de berro, indica un olor característico de la planta, de aspecto Ligeramente turbio, un color verde oscuro, de sabor amargo.

Los aspectos organolépticos del extracto de nogal indican un olor característico de la planta, de aspecto Ligeramente turbio.

Toda estas varían debido a que se trata de diferentes plantas, no tienen valores de referencia con las cuales se pueda comparar, simplemente utilizamos los órganos de sentido para poder indicar las características de cada uno de los extractos analizadas.

3.4.2 PARÁMETROS FÍSICOS

CUADRO No.10 RESULTADOS DE PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO FLUIDO DE ORTIGA (*Urtica dioica*), BERRO (*Nasturtium officinale*), NOGAL (*Juglans regia*). FACULTAD DE CIENCIAS. BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. RIOBAMBA. AGOSTO DE 2011.

PARÁMETROS	ORTIGA	BERRO	NOGAL
Densidad	0.87	0.88	0.85
Índice de Refracción	1.375	1.379	1.378
pH	6.3	4.65	4.54

En el cuadro No.10 se encuentran los parámetros físicos de los extractos de ortiga, berro, nogal son parámetros básicos que ayudan en cuanto a la estabilidad, ya que es una de las propiedades valiosas, para realizar investigación farmacológicas posteriores.

La cantidad de extracto seco en sólidos totales, el índice de refracción indicativo para la determinación de sólidos solubles.

3.4.3 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

CUADRO No.11 DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD DE LA DROGA FRESCA DE ORTIGA (*Urtica dioica*), BERRO (*Nasturtium officinale*), Y NOGAL (*Juglans regia*). FACULTAD DE CIENCIA. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. RIOBAMBA. AGOSTO DE 2011.

PLANTAS	HUMEDAD (%)
ORTIGA	88.94
BERRO	89.41
NOGAL	86.58

El análisis de control de calidad, el contenido de humedad de la droga fresca de ortiga, berro y nogal, es relativamente alto porque estas plantas, no se sometieron previamente a ningún proceso de desecación.

CUADRO No.12 DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD DE LA DROGA SECA DE ORTIGA (*Urtica dioica*), BERRO (*Nasturtium officinale*), Y NOGAL (*Juglans regia*). OCTUBRE 2011.ESPOCH. RIOBAMBA. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES.AGOSTO DE 2011.

PLANTAS	HUMEDAD%	ESPECIFICACIÓN
ORTIGA	8.15	
BERRO	9.59	8-10%
NOGAL	8.81	

Pues en base a estos datos del Cuadro No 12 podemos indicar, se realizó un correcto secado de los vegetales, ya que un exceso de agua en drogas vegetales puede provocar crecimiento microbiano que provocan la descomposición del material de partida, con su consecuente modificación química y bioquímica, lo que podría influir la calidad del producto final, seguido de la hidrólisis de los principios activos.

Los límites establecidos en la Farmacopea Española de 2002 para drogas vegetales, oscila entre 8 y un 14%.Estos datos nosfacilitaron realizar los trabajos al momento de preparación de los tres extractos, y su aplicación durante el tratamiento en los animales experimentación (Ratas Wistar).

3.4.4 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

CUADRO No.13 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES, SOLUBLES EN AGUA, E INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO, DE LA DROGA FRESCA ORTIGA (*Urtica dioica*), BERRO (*Nasturtium officinale*), Y NOGAL (*Juglans regia*).LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. AGOSTO DE 2011.

PLANTAS	% CENIZAS TOTALES (mg)	% CENIZAS SOLUBLES EN AGUA (mg)	% CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO(mg)
ORTIGA	3.23	1.12	0.62
BERRO	2.34	1.78	0.78
NOGAL	2.89	1.32	0.68

CUADRO No.14 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES, SOLUBLES EN AGUA, E INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO, DE LA DROGA SECA ORTIGA (*Urtica dioica*), BERRO (*Nasturtium officinale*), Y NOGAL(*Juglans regia*).ACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FRAMACIA. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES.AGOSTO DE 2011.

PLANTA S	% CENIZAS TOTALES(mg)	% CENIZAS SOLUBLES EN AGUA (mg)	% CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO(mg)
ORTIGA	4.15	3.19	0.98
BERRO	3.98	3.93	0.90
NOGAL	4.98	4.15	0.98

En el Cuadros N° 13,14 se expresan los resultados de cenizas totales, donde permite determinar la cantidad de material remanente después de la ignición entonces para vegetal fresco ortiga fue 3.23%, para berro 2.34%, para nogal 2.89% y para droga seca ortiga fue 4.15%, 3.98% para berro y 4.98% para nogal, estos datos obtenidos indica la presencia de sustancias en los extractos fluidos.

Cenizas solubles en agua, son calculados por diferencia en peso entre las cenizas totales y el residuo luego de tratamiento de las cenizas totales con agua, los datos obtenidos para vegetal fresco ortiga fue de 1.12% , para berro 1.78%, para nogal 1.32% y para vegetal seco ortiga fue 3.19%, para berro 3.93%, para nogal 4.15%.

Estos valores, lo que permitió deducir la identidad y la pureza del material vegetal utilizados para preparar los extractos.

Cenizas insolubles en ácido esta determinación mide la presencia de arena, tierra silícea, los datos obtenidos para vegetal fresco ortiga fue de 0.62 % , para berro fue 0.78%, para nogal fue 0.68% y para vegetal seco ortiga fue 0.98%, para berro fue 0.90% y para nogal fue de 0.98%, en base a estos valores obtenidos para cada uno de los vegetales se dice que los extractos preparados es libre sustancias extrañas.

3.4.5 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CUADRO No.15 DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES EN LA DROGA SECA ORTIGA (*Urtica dioica*). FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. OCTUBRE 2011.

Microorganismo	Resultado	Límites máximos aceptados
Aerobios mesófilos UFC/g	Ausencia	10 000
Coliformes totales UFC/g	Ausencia	Menos de 10 a 100
Coliformes fecales UFC/g	Ausencia	Ausencia
Mohos y levaduras UFC/g	Ausencia	< 100

LÍMITES MICROBIOLÓGICOS PARA HIERBAS WHO/PHARMA (1998)

CUADRO No.16 DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES EN LA DROGA SECA BERRO (*Nasturtium officinale*). FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. OCTUBRE 2011.

Microorganismo	Resultado	Límites máximos aceptados
Aerobios mesófilos UFC/g	Ausencia	10 000
Coliformes totales UFC/g	Ausencia	Menos de 10 a 100
Coliformes fecales UFC/g	Ausencia	Ausencia
Mohos y levaduras UFC/g	Ausencia	< 100

LÍMITES MICROBIOLÓGICOS PARA HIERBAS WHO/PHARMA (1998)

CUADRO No.17 DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS CONTAMINANTES EN LA DROGA SECA NOGAL (*Juglans regia*). FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUIMICA Y FARMACIA. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. AGOSTO DE 2011.

Microorganismo	Resultado	Límites máximos aceptados
Aerobios mesófilos UFC/g	Ausencia	10 000
Coliformes totales UFC/g	Ausencia	Menos de 10 a 100
Coliformes fecales UFC/g	Ausencia	Ausencia
Mohos y levaduras UFC/g	Ausencia	< 100

LÍMITES MICROBIOLÓGICOS PARA HIERBAS WHO/PHARMA (1998)

Resultados expresados en el Cuadro No. 15,16 17, acerca de gérmenes contaminantes, como indicador potente en la calidad de la materia prima, los resultados obtenidos se

indican ausencia para cada prueba determinado tanto para la droga fresca y seca, por lo tanto la limpieza, desinfección de los vegetales en estudio fue de manera correcta, así durante su elaboración de extracto y mantenimiento del mismo no produce ninguna alteración microbiana.

3.5 INDUCCIÓN DE HIPERGLUCEMIA EN RATAS

CUADRO No. 18 VALORES DE GLUCOSA EN mg/dL, DURANTE LOS 15 DÍAS DE PRODUCCIÓN DE PATOLOGÍA DE HIPERGLUCEMIA.

	LOTE 1		LOTE 2	
Días	R1	R1	R2	
	GLUCOSA mg/dL			
INICIAL	64	65	67	
1	65	150	151	
2	60	166	165	
3	63	168	159	
4	70	158	156	
5	*	*	*	
6	63	165	168	
7	65	157	166	
8	67	167	168	
9	63	168	170	
10	*	*	*	
11	65	167	169	
12	66	170	168	
13	64	169	169	
14	68	170	170	
15	*	*	*	
16	65	169	168	
17	68	170	170	
18	67	171	169	

Días	LOTE 3		LOTE 4			LOTE 5			LOTE 6		
	R1	R2	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
	GLUCOSA mg/dL										
INICIAL	65	68	68	66	67	64	68	65	66	69	65
1	150	153	151	155	156	155	160	159	161	157	159
2	160	165	155	161	160	159	158	158	159	160	161
3	165	160	160	165	158	161	165	164	165	161	164
4	168	159	157	166	158	159	166	167	168	167	168
5	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
6	169	167	158	159	167	166	167	168	165	166	167
7	165	169	166	167	166	163	165	167	168	167	166
8	168	167	169	166	163	169	166	163	169	169	165
9	164	166	167	165	167	167	167	168	166	163	162
10	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
11	167	160	170	169	165	166	167	168	165	169	170
12	168	170	168	167	169	169	167	165	169	166	169
13	170	169	169	166	165	165	170	168	169	168	170
14	171	168	168	170	167	168	167	167	167	170	167
15	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
16	170	169	170	168	167	169	170	169	170	170	170
17	171	170	169	168	170	169	170	170	168	169	171
18	170	169	170	169	167	169	171	169	171	170	171

(*) = Día que no se administra la Sacarosa

En el cuadro No 18 se indica los valores de glucemia en la inducción de la patología, se observa claramente el día quinto, décimo y quinceavo no se administra por razones de técnica y protocolo utilizado para este experimento, entonces se administró solución de sacarosa hasta el 14 días, el día 16 la glucemia mostro un valor muy similar al día 14 por lo tanto se culmina con el periodo de inducción de patología.

Los días 17, 18, que no se administraron sacarosa pero determinamos los valores de glucosas estas fueron similares y se mantuvo un valor de 171 mg/dL lo que demuestra

que ya se ha desarrollado la patología, durante este periodo hemos obtenido llegar a un valor mínimo de 64 mg/dL hasta un valor máximo de 171 mg/dL.

En base a estos datos obtenidos empezamos a trabajar en el periodo del tratamiento con el extracto de ortiga, extracto berro, extracto nogal y un control positivo.

3.5.1 DATOS DURANTE EL TRATAMIENTO CON LOS EXTRACTOS ORTIGA (*Urtica dioica*), EXTRACTO BERRO (*Nasturtium officinale*), EXTRACTO DE NOGAL (*Juglans regia*). BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH. ENERO-FEBRERO 2012.

CUADRO No. 19 VALORES DE GLUCOSA EN mg/dL, DE GRUPO BLANCO

GRUPO BLANCO	
MEDICIONES REALIZADAS	GLUCOSA mg/dL
Días	
1	63
2	66
3	65
4	66
5	64
6	65
7	67
8	65

El Cuadro No 19 se indicalos valores glucemia del Grupo blanco donde se realiza 8 mediciones este grupo usado como blanco no se induce la Hiperglucemia, por lo que resulta incorrecto llamar glucosa patológica pero debido a razones técnicas de comparación con los demás grupos de estudio se utiliza la misma denominación.



GRÁFICO No 1 GLUCEMIA EN mg/dL DEL GRUPO BLANCO

En la grafica No 1 podemos apreciar los valores de glucemia del grupo blanco los datos se presentan dentro de valores normales, existiendo una mínima variación de datos entre el grupo durante los días de toma de la muestra.

CUADRO No. 20 VALORES DE GLUCOSA mg/dL, EN RATAS CONTROL NEGATIVO

MEDICIONES REALIZADAS	CONTROL NEGATIVO	
	R1	R2
Días	GLUCOSA mg/ dL	
1	150	151
2	168	159
3	169	169
4	157	166
5	168	170
6	167	169
7	171	169
8	169	171

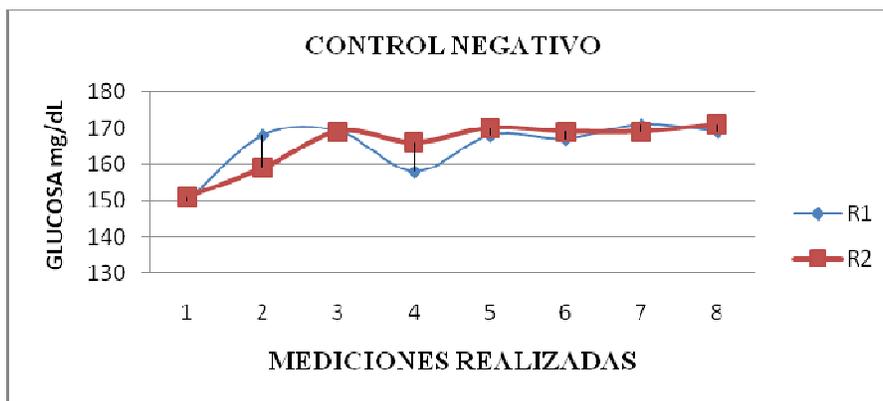


GRÁFICO No. 2 GLUCEMIA EN mg/dL DEL CONTROL NEGATIVO

En el grafico No 2 se nota claramente los valores de glucosa de control negativo, los datos se mantienen debido a que no recibieron ningún tipo de tratamiento, de igual manera se observa una mínima variación entre las mediciones realizadas dentro del grupo.

CUADRO No.21 VALORES DE GLUCOSA mg/dL, EN RATAS DURANTE LA ADMINISTRACIÓN CON GLIBENCLAMIDA.

MEDICIONES REALIZADAS Días	CONTROL POSITIVO	
	R1	R2
	GLUCOSA mg/ dL	
1	171	165
2	158	150
3	148	135
4	130	125
5	118	109
6	93	95
7	89	90
8	87	88

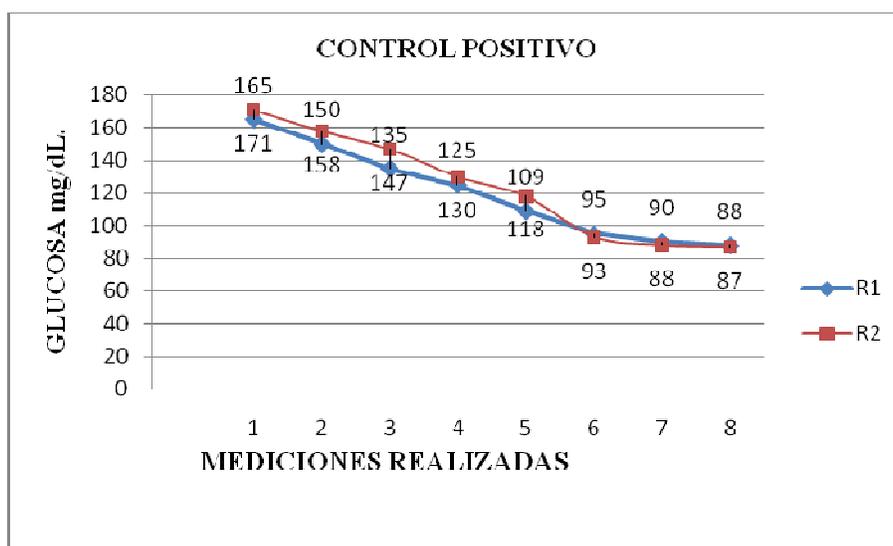


GRÁFICO No. 3 GLUCEMIA EN mg/dL DEL CONTROL POSITIVO

La gráfica No 3 podemos observar una reducción de la Hiperglucemia debido a que este grupo recibió el tratamiento fármaco glibenclamida. Fármaco que en la segunda toma de glucosa redujo los valores de glucosa, y se administra hasta estabilizar la situación metabólica los valores de glucosa se obtiene casi cercano a los datos iniciales, el efecto hipoglucemiante de glibenclamida, se produce rápidamente la acción del fármaco es activada in vitro por el cierre de los canales de potásicos dependientes de ATP

CUADRO No. 22 VALORES DE GLUCOSA EN mg/dL, EN RATAS GRUPO 1

LOTE 4 GRUPO 1			
Días	R 1	R 2	R 3
GLUCOSA mg/dL			
1	169	170	168
2	160	156	157
3	146	140	145
4	125	125	130
5	110	115	120
6	101	105	107
7	96	96	98
8	93	94	96

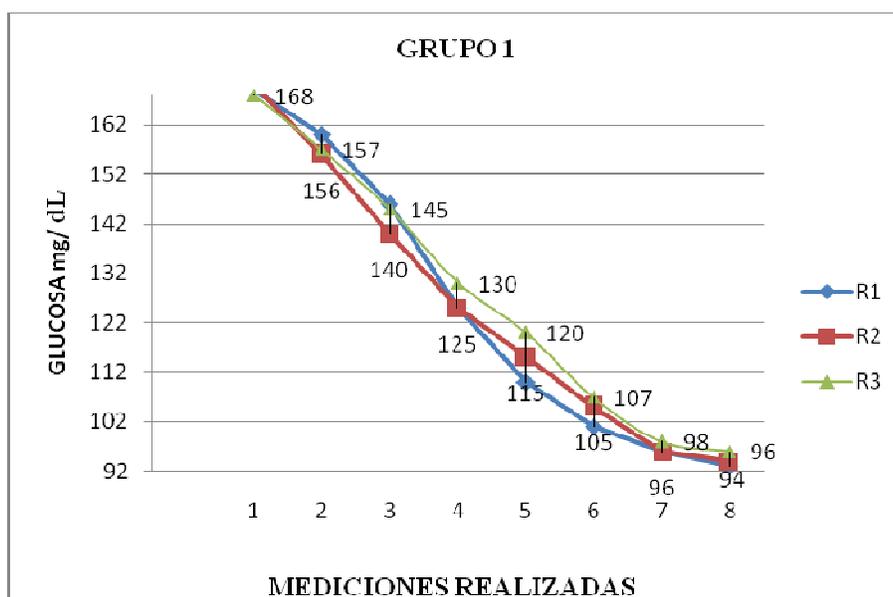


GRÁFICO No. 4 GLUCEMIA EN mg/dL DEL GRUPO 1

La gráfica señala que a este grupo se le administra el extracto fluido de ortiga en una concentración al 50 % (0.67 g/kg) donde en la primera toma de glucosa se mantuvo el valor, luego en la segunda toma de muestra se vio una disminución de glucosa, en las siguientes tomas de muestra se muestra una tendencia a reducir la glucemia llegando hasta 94 mg/dL, cabe indicar que, con este extracto hay una disminución de la glucemia pero no llega dentro de los valores de referencia que es entre 60-90 mg/dL

CUADRO No. 23 VALORES DE GLUCOSA mg/dL, EN RATAS GRUPO2

LOTE 5 GRUPO 2			
MEDICIONES REALIZADAS	R 1	R 2	R 3
Días	GLUCOSA mg/dL		
1	158	168	169
2	155	155	156
3	140	134	135
4	135	123	127
5	120	115	115
6	105	103	106
7	95	95	95
8	91	90	91

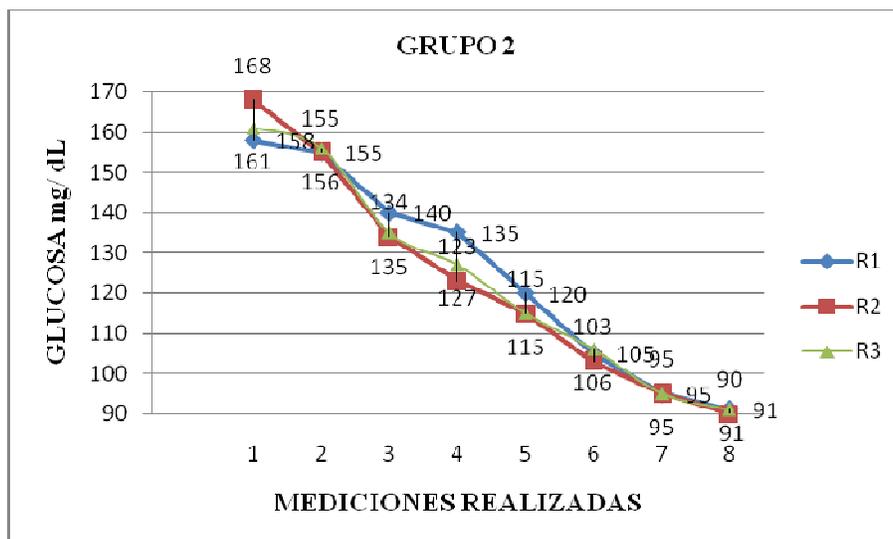


GRÁFICO No. 5 GLUCEMIA EN mg/dL DEL GRUPO 2

La grafica expresó que el extracto fluido de berro en la misma concentración que el extracto fluido de ortiga 50%, en la primera toma de muestra se mantuvo los valores en los tres animales de experimentación, en las tomas posteriores se nota que va disminuyendo la glucemia con una diferencia mínima entre los tres animales, al final llegando casi cercanos a los valores iniciales, donde se ve una favorable disminución para este extracto.

CUADRO No. 24 VALORES DE GLUCOSA mg/dL, EN RATAS GRUPO 3

LOTE 6 GRUPO 3			
MEDICIONES REALIZADAS	R 1	R 2	R 3
Días	GLUCOSA mg/dL		
1	169	170	168
2	158	157	149
3	145	149	140
4	125	122	128
5	90	95	93
6	80	88	86
7	77	82	79
8	70	70	71

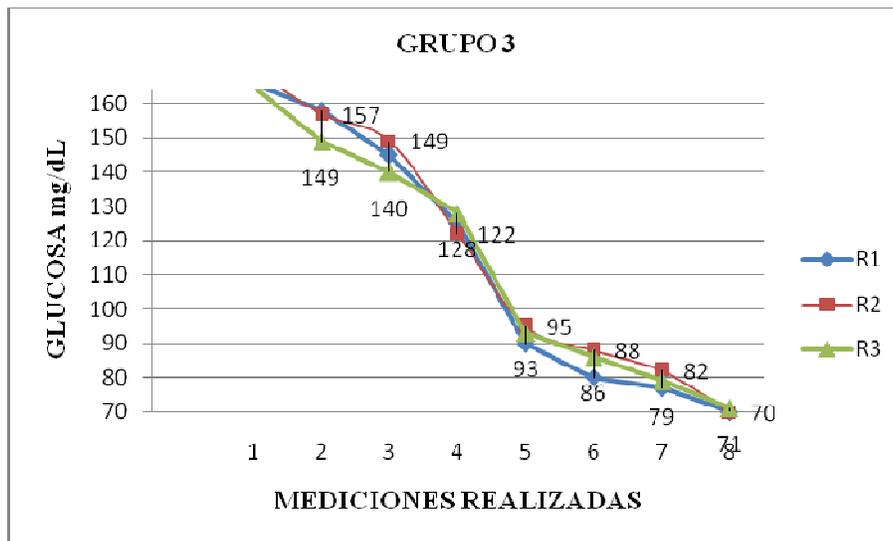


GRÁFICO No. 6 GLUCEMIA EN mg/dL DEL GRUPO 3

La grafica No 6 expresó que el extracto fluido de nogal en la misma concentración que los otros extractos al 50%, hay una reducción notoria los valores de glucosa similares a los valores iniciales lo cual están dentro de los valores de referencia indicado para las ratas. Con estos resultados obtenidos entre los tres grupos 1, 2,3, y el control positivo podemos decir el extracto de nogal tiene mayor actividad hipoglucemiante debido a su composición química que presenta el vegetal, de acuerdo a este trabajo realizado podemos decir el nogal sirve para el tratamiento de diabetes tipo II

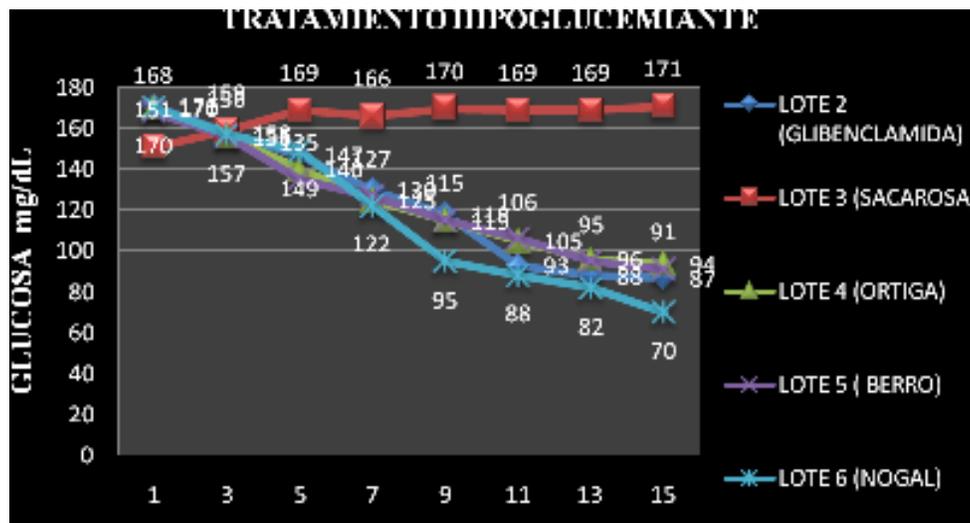


GRÁFICO No. 7 ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DE ORTIGA, BERRO, NOGAL Y GLIBENCLAMIDA, CON HIPERGLUCEMIA INDUCIDO EN RATAS

Este Gráfico expresa la comparación de los valores de glucosa de los tres extractos frente a un control positivo (glibenclamida), y el control negativo como se incrementó y mantiene la glucemia durante el proceso investigado.

3.5.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para analizar el efecto Hipoglucemiante de los tres extractos y el control positivo se realizó comparando las medias de cada uno de los grupos frente a control positivo utilizando la prueba t studens y para elaborar gráficas se utilizó Microsoft office Excel 2007.

Datos estadísticos comparando medias entre los tres tratamientos y el control positivo

CONTROL POSITIVO	ORTIGA	BERRO	NOGAL
165	169	158	166
162	160	155	158
149	146	140	145
146	125	135	125
125	110	120	90
95	101	105	80
87	96	95	77
85	93	90	70
161	161	168	164
158	156	155	157
147	140	134	149
130	125	123	122
118	87	115	95
93	105	103	88
88	96	95	82
87	94	89	70
	168	161	165
	157	159	149
	145	135	140
	130	127	128
	120	115	93
	107	106	86
	98	95	79
	94	91	70
MEDIANA:127,5	122,5	121,5	108,5
DESVEST: 31,3145334	27,8551832	26,0245146	35,743019

Podemos observar la variación que existe en cada uno de los tratamientos con respecto al control positivo, y podemos indicar entre el extracto fluido de ortiga, berro y nogal son muy diferentes mencionando un valor menor para el nogal.

Prueba t para dos muestras varianzas desiguales

	Variable 1	Variable 2
Media	124,75	125,375
Varianza	980,6	717,983696
Observaciones	16	24
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	29	
Estadístico t	-0,065444672	
P(T<=t) una cola	0,474134517	
Valor crítico de t (una cola)	1,699127027	
P(T<=t) dos colas	0,948269035	
Valor crítico de t (dos colas)	2,045229642	

3.5.3 HIPÓTESIS ESTADÍSTICA

Ho: La media estadística del extracto de ortiga, berro, extracto de nogal y glibenclamida son similares entre ellas, al administrar a las ratas con Hiperglucemia durante los quince días de tratamiento.

Ha: La media estadística del extracto de ortiga, berro, extracto de nogal y glibenclamida son diferentes entre ellas, al administrar a las ratas con Hiperglucemia durante los quince días de tratamiento.

3.5.4 MEDICION DE PESOS (g) AL INICIO Y FINAL DEL TRABAJO EXPERIMENTAL. REALIZADO EN EL BIOTERIO DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. ESPOCH.FEBRERO 2012.

CUADRO No.25 VALORES DE PESO DE LAS RATAS DURANTE EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE LA HIPERGLUCEMIA.

GRUPO CONTROL POSITIVO			
Lote	Peso.i	Peso.f	DIFERENCIA DE PESO (g)
R1	212.5	224.6	12.1
R2	204.6	220.8	8.1
PROMEDIO	226.6	222.7	10.1

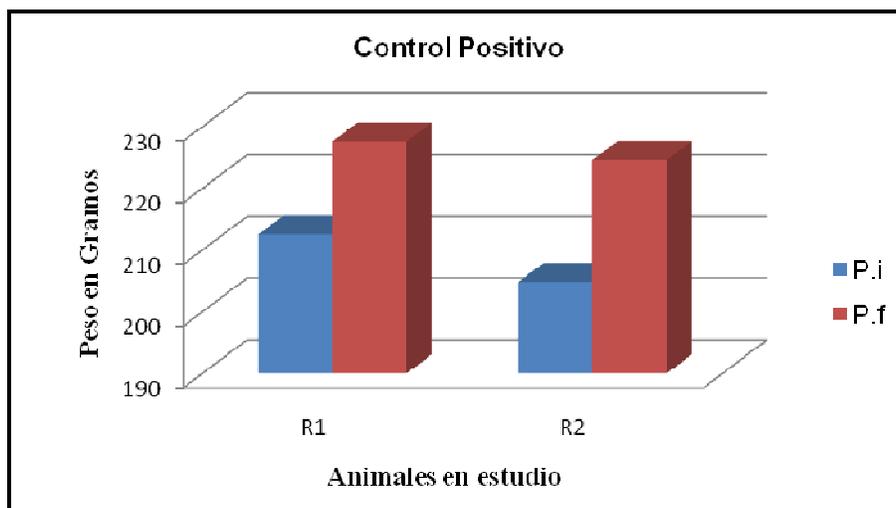


GRÁFICO No.8 AUMENTO DE PESO DE LAS RATAS DURANTE EL PROCESO EXPERIMENTAL.

CUADRO No.26 VALORES DE PESO DE LAS RATAS DURANTE EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE LA HIPERGLUCEMIA.

GRUPO CONTROL NEGATIVO			
Lote	Peso.i	Peso.f	DIFERENCIA DE PESO (g)
R1	302.7	350.8	48.1
R2	202.5	269.1	66.6
PROMEDIO	252.6	309.9	57.35

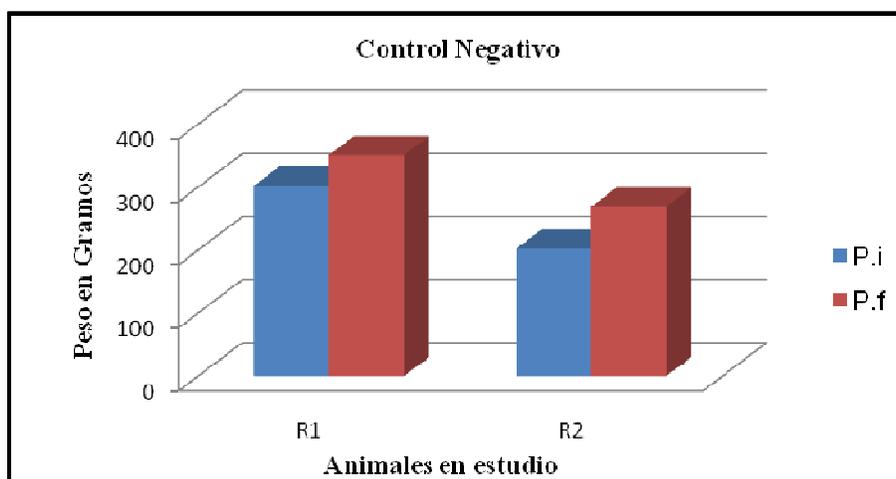


GRÁFICO No.9 AUMENTO DE PESO DE LAS RATAS DURANTE EL PROCESO EXPERIMENTAL

CUADRO No.27 VALORES DE PESO DE LAS RATAS DURANTE EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE LA HIPERGLUCEMIA.

GRUPO 1			
Lote	Peso.i	Peso.f	DIFERENCIA DE PESO (g)
R1	235.6	250.7	15.1
R2	229.9	238.9	4.5
R3	240.4	245.6	5.2
PROMEDIO	235.3	245.1	8.27

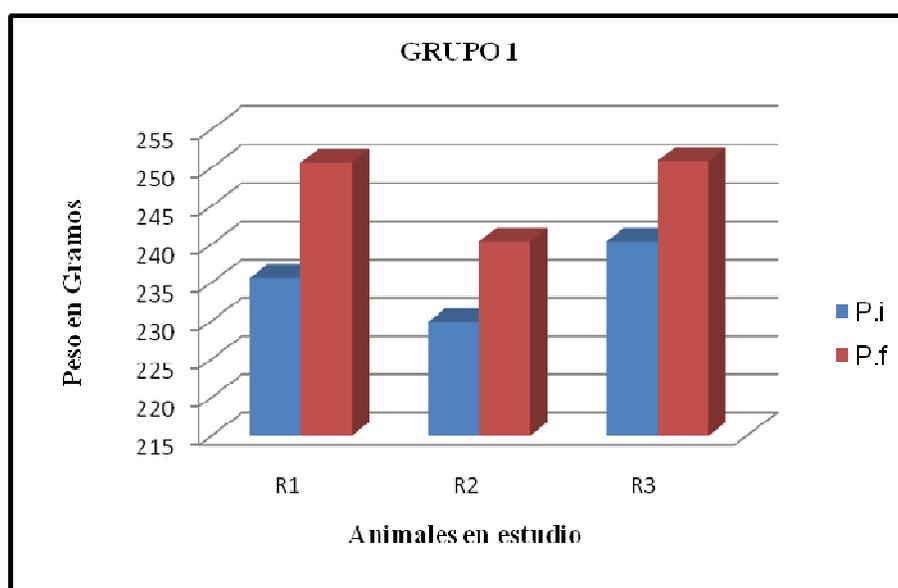


GRÁFICO No.10 AUMENTO DE PESO DE LAS RATAS DURANTE EL PROCESO EXPERIMENTAL.

CUADRO No.28 VALORES DE PESO DE LAS RATAS DURANTE EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE LA HIPERGLUCEMIA.

GRUPO 2			
Lote	Peso.i	Peso.f	DIFERENCIA DE PESO (g)
R1	250.2	268.5	18.3
R2	290.4	312.5	22.1
R3	298.6	315.8	17.5
PROMEDIO	235.3	298.9	19.9

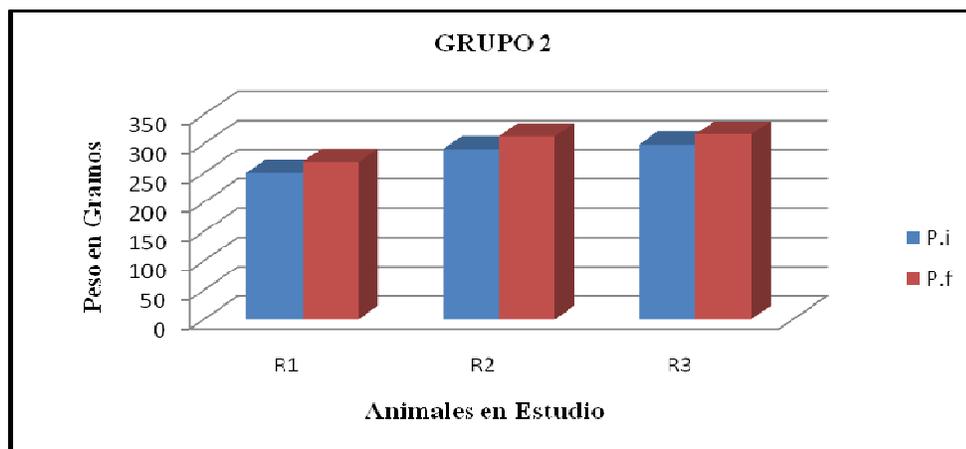


GRÁFICO No.11 AUMENTO DE PESO DE LAS RATAS DURANTE EL PROCESO EXPERIMENTAL.

CUADRO No.29 VALORES DE PESO DE LAS RATAS DURANTE EL PROCESO DE INDUCCIÓN DE LA HIPERGLUCEMIA.

GRUPO 3			
Lote	Peso.i	Peso.f	DIFERENCIA DE PESO (g)
R1	286.6	298.7	12.1
R2	264.1	280.2	16.1
R3	258.4	272.1	13.7
PROMEDIO	263.7	287.1	13.97

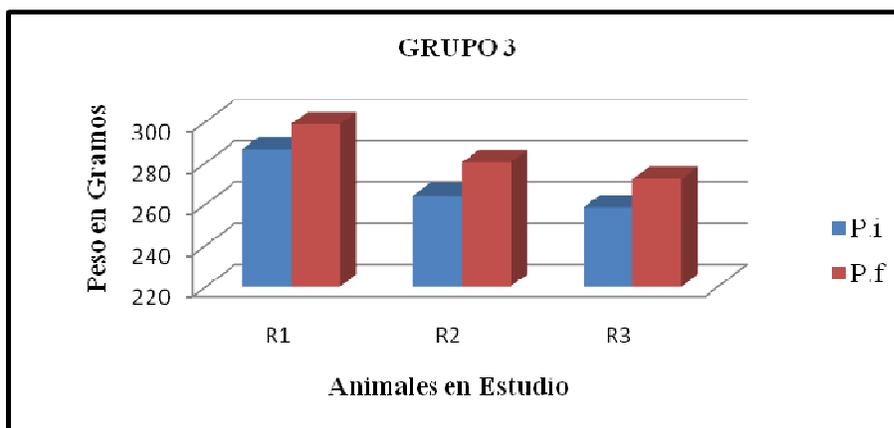


GRÁFICO No.12 AUMENTO DE PESO DE LAS RATAS DURANTE EL PROCESO EXPERIMENTAL.

En los gráficos No. 4,5, 6, 7, 8, nos indican el promedio de pesos corporales, en fase inicial y final del experimente, durante la administración de solución de sacarosa 150 g/mL, signo que se considera como aumento de la glucosa por la producción de energía a partir de carbohidratos.

Existe un incremento de peso mayor en el gráfico No.7 correspondiente al control negativo esto es debido a que se indujo la hiperglucemia y no recibió ningún tratamiento.

3.5.5 ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA

CUADRO No. 30 ENSAYO DE TOXICIDAD

ENSAYO			
GRUPO	DOSIS g/kg	PESO (g)	PESO (g)DESPUÉS DE 7 DÍAS
BLANCO	Agua 10mL/kg	250.6	251.1
GRUPO 1	1.5	248.0	248.6
GRUPO 2	1.5	248.2	248.6
GRUPO 3	1.5	263.0	263.9

En el cuadro No 31 se indica el ensayo a realizar donde se agrupa en grupos, la dosificación, el peso inicial y peso corporal final.

Se agruparon en cuatro grupos experimentales, tres grupos tratados con los extractos correspondientes cada grupo conformados por dos ratas respectivamente y uno como testigo conformado por una sola rata, fue administrado en ayunas de 12 horas por vía oral un volumen de 10 mL/kg de masa corporal de la sustancia de ensayo por medio de cánula orogástrica una dosis única de 1.500 mg/kg de masa corporal.

CUADRO No.31 RESULTADOS DE LOS SIGNOS CLÍNICOS PRESENTES EN EL ANIMAL DE ESTUDIO.

	ANIMALES EN ESTUDIO						
	BLANCO	GRUPO 1		GRUPO 2		GRUPO 3	
	B1	R1	R2	R1	R2	R1	R2
CARACTERÍSTICA							
Actividad General	4	4	4	4	4	4	4
Grito	0	0	0	0	0	0	0
Irritabilidad	0	0	0	0	0	0	0
Huida	0	0	0	0	0	1	1
Patas Posteriores	0	0	0	0	0	0	0
Apetito	0	0	0	0	0	0	0
Enderezamiento	4	4	4	4	4	4	4
Actividad Prensil	0	0	0	0	0	0	0
Convulsiones	0	0	0	0	0	0	0
Temblores	0	0	0	0	0	0	0
Salivación	0	0	0	0	0	0	0
Sueño	0	0	0	0	0	0	0
Coma	0	0	0	0	0	0	0
Tono Corporal	0	0	0	0	0	0	0
Lagrimación	0	0	1	0	0	0	0
Micción	0	1	1	0	0	1	1
Defecación	0	1	1	0	0	1	0
Respiración	0	0	1	0	0	0	0
Nº de Muertos	0	0	0	0	0	0	0

Las respuestas con una anotación normal 0 solo podrá haber un aumento del efecto analizado, que puede tener máximo 4.

Los animales fueron observados constantemente las 24 horas y diariamente hasta los 14 días del experimento, anotando signos y síntomas de toxicidad.

En el Cuadro No 32 se los obtienen los resultados de las observaciones realizadas durante la primera hora, las 24 horas, el séptimo día, y 14 días entonces a la primera hora fue de observación se pudo determinar las siguientes características, presenta un ligero lagrimeo en R2 y ligero aparecimiento de micción en los grupos 3.

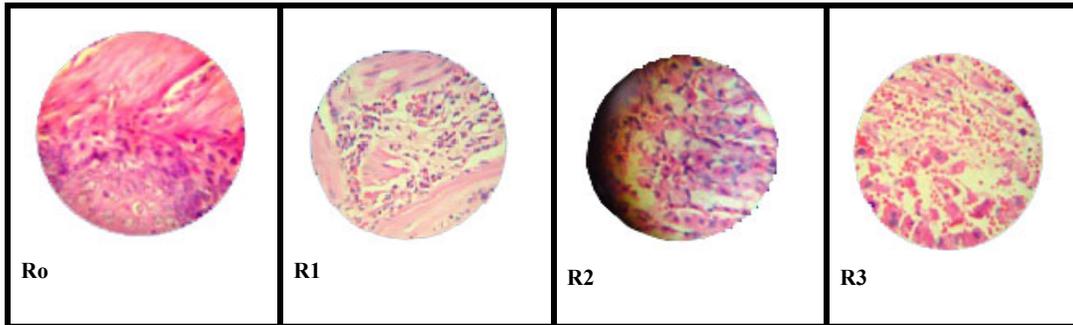
A las 12 horas observación, continua la micción en el mismo grupo y una ligera aparecimiento de defecación en el grupo 1, grupo 3.

A las 24 horas de observación aparece una disminución de respiración en grupo 1, huida en grupo 3, y normaliza ligeramente, no se presenta convulsiones, en ninguno de los grupos estudiados, se sigue observando los mismos signos clínicos en las mismas horas, que el día primero pero normalizando a su estado inicial.

En el séptimo día de administración, no se evidenció temblores, salivación, sueño y coma, todas las particularidades se observó en cada uno de los grupos hasta culminar los 14 días de experimentación, los animales no experimentaron retardo del crecimiento y los pesos corporales se comportaron de manera normal entre el primer día, séptimo día y el último día del estudio.

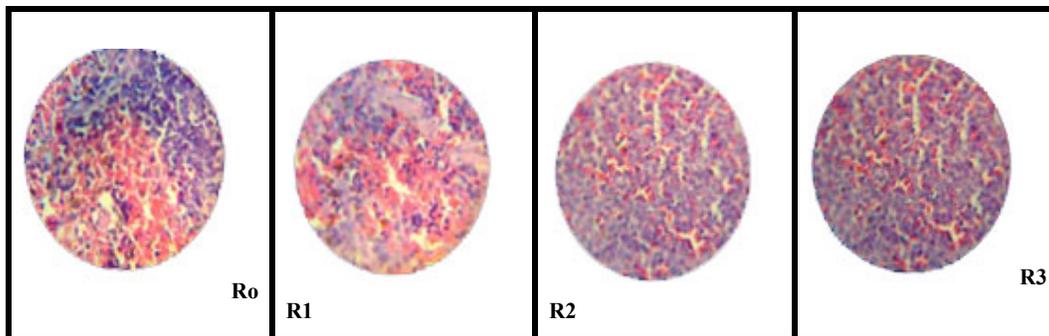
La administración de 1.500 mg /kg de cada extracto a cada uno de los grupos no presentaron ningún signo de toxicidad en los tres grupos y los pesos corporales fue una mínima variación de peso corporal, durante los 14 días de experimentación así culminando que el tratamiento no interfiere en la variación de los pesos corporales. Finalmente se procedió a sacrificarlos y realizar el análisis macroscópico, microscópico de los siguientes órganos: estómago, hígado, páncreas.

En las siguientes fotografías de cortes histológicos de estómago, hígado, páncreas el R0 pertenece al grupo blanco, R1 pertenece al grupo 1, R2 pertenece al grupo 2, R3 pertenece al grupo 3.



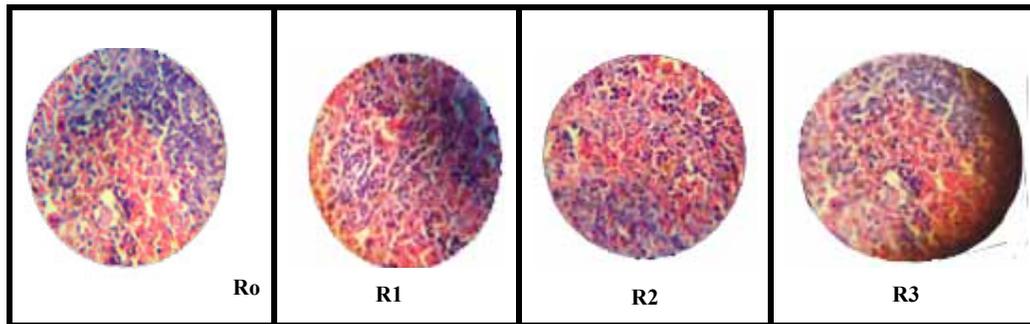
FOTOGRAFÍA No. 3 CORTE HISTOLÓGICO DE LA ESTRUCTURA DEL ESTÓMAGO

Es estas fotografías, se hace una breve descripción de cada uno de los cortes del estómago donde los cortes muestran pared de antro y cuerpos gástricos constituidos por mucosa, submucosa, muscular y de igual forma detallando en cada uno de los tejidos.



FOTOGRAFÍA No.4 CORTE HISTOLÓGICO DE LA ESTRUCTURA DEL HIGADO

Los cortes muestran parénquima hepático constituido por triadas portales que cuentan con una arteria hepática, una vena porta, sistema de conductos biliares, se indican además lobulillos hepáticos y hepatocitos de características habituales.



FOTOGRAFÍA No.5 CORTE HISTOLÓGICO DE LA ESTRUCTURA DEL PÁNCREAS

Los cortes muestran parénquima pancreático constituido por glándulas tubuloacinares así como conductos de aspecto interlobular y tejido conectivo de características habituales.

FUENTE Dr. MÓNICA YAMBAY Anatomía Patológica

Los resultados obtenidos nos permiten concluir que la DL_{50} se ubicó por encima de 1500 mg/Kg, no provocó mortalidad y así clasificándose a la sustancia en estudio como no tóxica.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

El Tamizaje Fitoquímico se realizó con el objeto de determinar la presencia de determinados metabolitos secundarios, en dependencia de sus características estructurales y solubilidad de cada uno de ellos, para extracto fluido de ortiga se destacan metabolitos secundarios como quinonas, cumarinas, compuestos grasos, resinas, taninos, flavonoides, mucílagos, aminoácidos libre. Para el extracto berro se menciona de igual manera cumarinas, compuestos grasos, resinas, antocianidinas, mucílagos, flavonoides, taninos, quienes son los responsables de la actividad hipoglucemiante. En el nogal hay la presencia de Triterpenos, cumarinas, compuestos grasos, resinas flavonoides, taninos, mucílagos y antocianidinas.

Con la determinación de los parámetros físicas, químicas, de la materia prima de partida, se establece las condiciones óptimas para los tres extractos fluidos, donde se indican el % de humedad para ortiga 8.15%, para berro 9.59%, para nogal 8.81 % así garantizando la calidad de la materia prima, también por la presencia de un pH ácido no hay degradación de los compuestos fenólicos, la densidad resultó ser menos denso que el agua para los tres extractos, y las cenizas insolubles fue para ortiga 0.98%, para berro 0.90%, para nogal 0.98% estos valores es menor a 5% lo cual indica que el material vegetal no está contaminada con productos térreos.

En base al análisis microbiológico, realizado para las tres plantas, se comprobó ausencia de gérmenes aerobios mesófilos, Coliformes totales, Coliformes fecales y hongos estos microorganismos son como indicador microbiano más común de la calidad de las drogas vegetales, lo cual justifica la eficacia de una excelente desinfección, limpieza y secado de la materia prima.

Se comprobó la actividad hipoglucemiante de los extractos fluidos de ortiga, extracto berro y extracto nogal en dosis iguales de (0.67 g/kg) se comparó frente a un control positivo (Glibenclamida) ya que se estabilizó la glucemia a valores cercanos a los normales, la mayor actividad farmacológica presentada fue para el extracto de nogal donde llega a disminuir la glucemia a 70 mg/dL en comparación con glibenclamida que de 87 mg/dL, con respecto con los, extracto de ortiga, extracto de berro disminuye el nivel de glucemia pero no llega a concluir dentro de los valores de referencia citada para ratas de experimentación de 60-90 mg/dL, pues quedando así el nogal como una planta que posee actividad hipoglucemiante.

Se comprobó la hipótesis planteada, ya que los extractos fluidos de ortiga, berro, nogal presentaron la actividad hipoglucemiante, especificándose la mayor actividad farmacológica para el nogal por disminuir la glucosa hasta los valores normales o similares a los iniciales.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Fomentar la investigación de extractos vegetales con valor medicinal, por ser fuente importante de metabolitos activos para el alivio de enfermedades, impulsando su utilización.
2. Continuar con el estudio farmanognóstico y farmacológico de las especie *Nasturtium officinale* y *Juglans regia*, para otorgarle base científica a otras propiedades medicinales.
3. Elaborar un fitofármaco con los tres extractos en estudio potenciando la actividad hipoglucemiante.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

En el presente trabajo de investigación, se realizó el estudio comparativo de la actividad hipoglucemiante del extracto de ortiga (*Urtica dioica*), extracto berro (*Nasturtium officinale*), extracto de nogal (*Juglans regia*), en ratas (*Rattus norvegicus*), con hiperglicemia inducida. Determinando los niveles de glucemia mediante el Medidor de Glucosa ACCU-CHEK Active de Roche, para lo cual se realizó tomas de muestra de sangre por la técnica punción en la vena de cola de rata. Se empleó 14 ratas (9 hembras 5 machos) de peso entre 204-298g de 7 semanas normoglucemiantes, produciendo hiperglicemia por la administración de sacarosa 150 g/mL en solución por vía oral en ayunas de 12-16 horas durante 15 días, que permitió incrementar la glucemia según el método de sobrecarga de glucosa, los grupos de estudio se agruparon en 6 lotes dos para control positivo (glibenclamida 1.2 mg), dos para control negativo (solución de azúcar 150 g/mL), tres para grupo 1 (ortiga al 50%), tres para grupo 2 (berro al 50%), tres para grupo 3 (nogal al 50%) y uno denominados blancos. Se realizó en el Bioterio de Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Espoch, para análisis de datos se aplicó t de students.

Luego de haber aplicado el tratamiento durante 15 días podemos establecer que el extracto de NOGAL es el mejor que el glibenclamida en el quinceavo día de tratamiento bajo los niveles de glucemia a 70 mg/dL mientras que el extracto de ortiga y berro disminuye la glucemia pero no llega a valores normales que es entre 60-90 mg/dL para las ratas. Se realizó toxicidad aguda para lo cual se trabajó con la dosis de 1.500 mg/kg de ortiga, berro, nogal. El tratamiento duro por 14 días, dosis administrados, no produce muerte de los animales, así comprobando que nuestros extractos investigados no son tóxicos, no hemos observado reacciones adversas durante el ensayo. Con estos datos obtenidos del trabajo investigativo se recomienda utilizar fitofármacos para control y/o tratamiento de DM, con principio activo de origen vegetal.

SUMMARY

In the present investigation work, the comparative study was done of hypoglucaemic activity of nettle extract (*Urtica dioica*), watercress extract (*Nasturtium officinale*), walnut extract (*Juglans regia*), in rats (*Rattus norvegicus*), with induced hyperglucaemia. Determining the glucaemia levels through the glucose measurer ACCU-CHEK Active de Roche, for what blood sample were done by the puncture technic in the vein of rat. 14rats were used (9 females 5 males) of weight between 248g of 7 normogluceimants weeks, producing hyperglucaemia because of the saccharose administration 150g/mL in solution by oral way on an empty stomach from 12 to 16 hours, that allowed to increase the glucaemia according to the method of glucose overload; the training groups were grouped in 6 lots: two for positive control (glibenclamida 1.2 mg), two for negative control (saccharose 150 g/mL), three for group 1 (nettle to 50%), three for group 2 (watercress to 50%), three for group 3 (walnut to 50%) and one denominated white. It was done in the Bioterio of the Biochemistry and Pharmacy School of the Epoch, to analyze t the studens.

After applying the treatment during 15 days we can establish that the Walnut extract is better than the glibenclamida in the fifteenth day of treatment under the glycaemia levels at 70 mg/dL whereas the nettle and watercress extract decrease the glycaemia but does not arrive at normal values that are between 60-90 mg/dL for rats. Severe toxicity was done with the dose of 1.500 mg/kg of nettle, watercress and walnut. The treatment was for 14 days, administered doses do not produce animal death, verifying in this way that our investigated extracts are not toxic, adverse reaction have not been observed during the test. With these collected data of the research word it is recommend to use herbal Medicinal for control and/or DM treatment, with active principle of vegetal origin.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **ALONSO., P.,** Uso Racional de las Plantas Medicinales., 2ª ed. Bogotá-Colombia., Ed. Ronald., 1992., p.410-420.
2. **ARROYO., J.,** Fitoquímica y Farmacognosia., 5^{ta} ed., Lima-Perú., Ed. Corpus., 2000., Pp. 175-178.
3. **BEVAN., J.,** Fundamentos de la Dialectología., 4ª ed., México Vera Cruz., Ed.Mc Graw-Hill Interamericana., 1996., p.450-457
4. **BOELCKE., O.,** Plantas Nativas Diabéticas., 5ª ed., Argentina-Rosario., Ed. Hemisferio Sur., 1992.pp. 255.
5. **BRUNETON., J.,** Farmacognosia.Plantas medicinales. 2ª ed. Zaragoza., Madrid-España., Ed. Manuel Moderno., 2001. p. 56-60.
6. **CALDERON., J.,** CaracterizaciónFitoquímica, Actividad Antibacteriana, Antioxidante de Extractos de Plantas Medicinales., Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Exactas., Córdoba., Tesis., 2011., p. 20-22
7. **CARPENTER, P.,** Microbiología, 1era edí., Vera Cruz-México., Edi. Interamericana S.A., 1999., Pp. 450-455.

8. **MARTINEZ, M.**, Catálogo de nombres vulgares y científicos de las plantas Ecuatorianas de la casa de la Cultura del Ecuador., 3^{era} ed., Quito-Ecuador., Edi. Casa de Cultura., 1978., Pp., 78-90
9. **NARVAEZ, R.**, Efecto hipoglucemiante de la Administración oral de Insulina interiorizada en Liposomas zonificados Avance en Dialectología., 2^a.ed., Quito-Ecuador., Edi. Médicas Internacionales.,2004., Pp. 250-300
10. **ORRELLANA, C.**, Tratamiento Combinado con nateglinida más metformina en Pacientes con Diabetes tipo II., 3^a.ed., Quito-Ecuador.,Ed. Universidad Nacional., 2004., Pp.149.165.
11. **PALACIOS, J.**, Plantas medicinales nativas del Ecuador. 2^a ed., Perú-Lima., Edi. Concytec., 1997., Pp. 197-169.
12. **RANG, H.**, Bases de Farmacología., 6^a.ed., Barcelona-España., Ed. Elsevier., 2008., Pp.550-580,590.
13. **SAMAGIENO, E.**, Fundamento de Farmacología medica., 6^a.ed., Quito-Ecuador., Edi. Casa de la Cultura Ecuatoriana.,2005.,Pp.734-750
14. **VANACLOCHA, B.**, Fitoterapia Vademécum de prescripción., 4^a.ed., España-Madrid., Edi. Masson S.A.,2003., Pp.30-45,67,89
15. **VILLASEÑOR, J.**, Catálogo de plantas medicinales de México. Universidad Nacional Autónoma de México., 6^{ta} ed., México.,Ed. Iberoamericano., Fondo de Cultura Económica., 1998., Pp.578-580
16. **VÉLEZ, G.**, Plantas alimenticias de Venezuela., 3^{era} ed., Caracas-Venezuela., Edi. Iberoamérica., 1990., Pp. 277-289
17. **MINISTERIO DE SALUD.**, Programa de Adulto Enfermedades Crónicas no Transmisibles (Diabetes tipo I,II, Hipertensión Arterial), Quito- Ecuador., 2011., Pp. 10-15

- 18. CYTED.** Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo Manual de Técnicas de Investigación., 1995., Pp. 34-56,67-70.
- 19. CARRILLO., P.** Comprobación del Efecto Hipoglucemiante del Zumos del Fruto de Noni (*Morindacitrifolia*) en Ratas (*Rattus norvegicus*) con Hiperglucemia Inducida., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela Bioquímica y Farmacia., Riobamba., TESIS., 2011., Pp.9
- 20. HIGALGO, J.,** 2010. El efecto hipoglucemiante del Extracto Hidroalcohólico de Guayusa en Ratas de Experimentación con Hiperglicemia Inducida., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., TESIS., 2010., Pp. 25-30.
- 21. MARTINEZ., L.,** Extracción y Caracterización de aceite de nuez (*Juglans regia*): influencia de cultivar y de Factores Tecnológicos sobre su Composición y estabilidad oxidativa., Universidad Nacional de Córdoba, Facultad de Ciencias Exactas., Córdoba-Argentina., Tesis., 2010., Pp. 10-15
- 22. NESQUEN., J.,** Actividad Hipoglucemiante del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (Yacón) en Ratas con Diabetes Tipo I,II., Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica., Lima- Perú., Tesis., 2007., Pp., 1-6
- 23. OROZCO., F.,** Evaluación Farmacológica de la actividad hipoglucemiante Universidad Nacional San Antonio Abad del Cuzco, Facultad de Medicina., Cuzco-Perú., TESIS., 2004., pp. 45-50.
- 24. LEÓN., J.,** Efecto Hipoglucemiante del Extracto de las Hojas del frutipan (*Artocarpus altii*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con Hiperglucemia Inducida., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias, Escuela Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., TESIS., 2011., Pp. 15-20

- 25. PLANTER**, Obtención y Aprovechamiento de Extractos Vegetales de la Flora Salvadoreña., Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias., San Salvador., 1989., Pp.34-43.
- 26. POLO., L.**, Determinación de la actividad hipoglucemiante de la raíz de la jicama, en Ratas Wistar con hipoglucemiante Inducida., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., TESIS., 2008., Pp. 30-35
- 27. PASSE**, Medicina Tradicional Andina y Plantas Curativas. Ministerio de Salud - Programa de Apoyo al Sector Salud en el Ecuador - Gobierno del Ecuador., 2008., Pp. 55-64.
- 28. ROMERO.,M.**, Efecto Hipoglucemiante de Extracto acuoso de Canela (*Cinnamomunzeylanicum*), en Ratas (*Rattus novergicus*) con Hiperglicemia Inducida., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Bioquímica Farmacia., Riobamba-Ecuador., TESIS., 2010., Pp.20-28

REFERENCIAS DE INTERNET

29. ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE

<http://www.hipoglucemiante orales>

2012/01/10

30. ANIMALES DE EXPERIMENTACION

<http://www.harlan.com>

2012/01/10

31. CLASIFICACIÓN DE DIABETES

[http://www.com/es/medico.Diabetes.](http://www.com/es/medico.Diabetes)

2012/01/10

32. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LA BERRO

<http://espanol.answers.yahoo.com/>

2011/05/26

33. CLASIFICACIÓN TAXONOMICA DEL ORTIGA

<http://www.infoagro.clasificaciòn taxonómica.>

2011/02/14

34. COMPOSICIÓN QUIMICA DE LA ORTIGA

<http://herramientas.educa.madrid.>

2011/04/15

35. COMPOSICIÓN QUIMICA DEL BERRO

<http://www.univalle.edu/publicaciones/brujula/brujula16/pagina07.htm>

2010/11/12

36. COMPOSICIÓN DE NOGAL

<http://www.composicion quí mica nogal.gov.ar/0-3/>

2010/02/17

37. DIABETES MELLITUS

<http://www.estudiabetes.org/group/diabeticosdeecuador>

2011/05/14

38. DIABETES TIPO II

http://www.net/inediasp/respuestas/enero_08/01141_diabetes.shtml

2011/05/14

39. DROGAS VEGETALES

<http://www.todoplantas.net/>

2011/05/02

40. EFECTO DE LA INSULINA

http://www.efecto_sobre_el_higado/med_7d/

2011/01/10

41. EL BERRO

http://www.hipernatural.com/es/plt_berro.html

2011/02/19

42. EXTRACCION DE DROGAS VEGETALES

http://www.todo_panta.com

2012/02/04

43. FITOTERAPIA.

<http://www.elergonomista.com/fitoterapia/>

2011/05/01

44. GRAN ENCICLOPEDIA DE LAS PLANTAS MEDICINALES

<http://www.uv.es/~mbermejo/Freeze-Drying.pdf>

2010/06/15

45. GRUPO DE MODELO EXPERIMENTAL PARA CIENCIAS HUMANAS

<http://www.neurocienciaut.jimbo./com/bioterio>

2011/09/23

46. HISTORIA DE LA DIABETES

http://www.medicina-diabetesy_historia/com/es

2010/06/15

47. GLIBENCLAMIDA

<http://www.Clibenclamida>

2011/09/14

48. FORMAS DE PREPARACION DE LAS PLANTAS

<http://www.informaciones/plantas%20que%20curan.htm>

2011/04/12

49. HIERVAS MEDICINALES

http://www.supernatural.cl/hiervas_medicinales.asp

2011/05/16

50. HIERVA MEDICINAL PLANTA ACUATICA BERRO.

<http://www.prensalatinalasvegas.com/2011-06/20-17407.htm>

2011/05/20

51. HORTICULTURA.

http://www.uc.cl/sw_educ/hort0498/HTML/p006.html

2011/05/19

52. LABORATORIO DE ENSAYOS BIOLÓGICOS

http://www.elsevier.es/revista/atencion_primaria_diabetes_tipo_II/

2010/06/17

53. LA DIABETES

<http://www.diabetes.org/español/todo-sobre-la-diabetes/>

2010/06/23

54. MEDICINA NATURAL

<http://www.Net/las-personas-con-diabetes/1237>

2010/05/09

55. METABOLISMO DE SACAROSA

[http://mtabolismo de sacarosa](http://mtabolismo_de_sacarosa)

2010/05/09

56. ORIGEN DE LA DIABETES

<http://www. /saludnatural/medicina- -diabetes-y-su-origen>

2011/05/13

57. PLANTAS MEDICINALES

<http://www.plantas quecuran.com/documentos/diabetes-y-plantas.>

2011/04/18

58. PROPIEDADES DE LAS PLANTAS MEDICINALES

<http://www .botanocal-online.com/propiedades.htm>

2010/05/09

59. PROPIEDADES MEDICINALES DE LA ORTIGA

<http://www. hoy.com/propiedades-medicinales-de-la-ortiga.html/>

2011/11/25

60. PROPIEDADES DEL BERRO

<http://www.eflora.org/florataxon>

2011/08/23

61. PROPIEDADES MEDICINAL DE NOGAL

<http://www. Ecoaldea.com/plmd/nogal.htm>

2011/03/24

62. SINTOMAS Y SIGNOS DE DIABETES

<http://www. Family doctor.org/online/fandoces/diabetes>

2011/07/12

63. TRATAMIENTO DE DIATETES

<http://www.tratamiento para adulto mayor/com/es>

2011/10/0

CAPÍTULO VIII

8. ANEXO

ANEXO No.1 DETERMINACIÓN DE PARAMETROS FÍSICOS



a) HUMEDAD

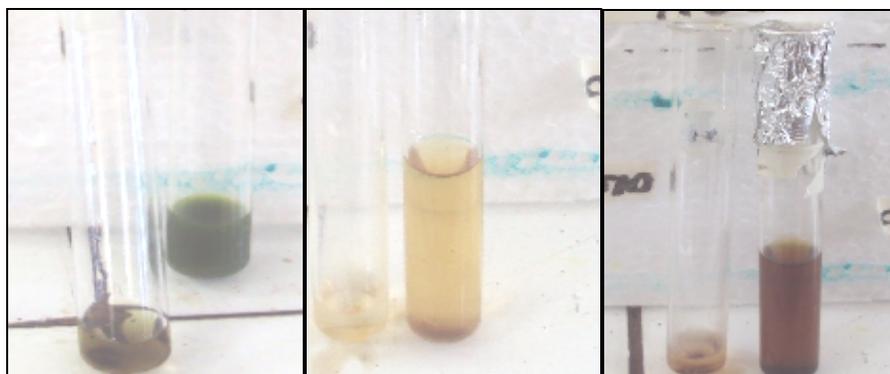


b) CENIZA

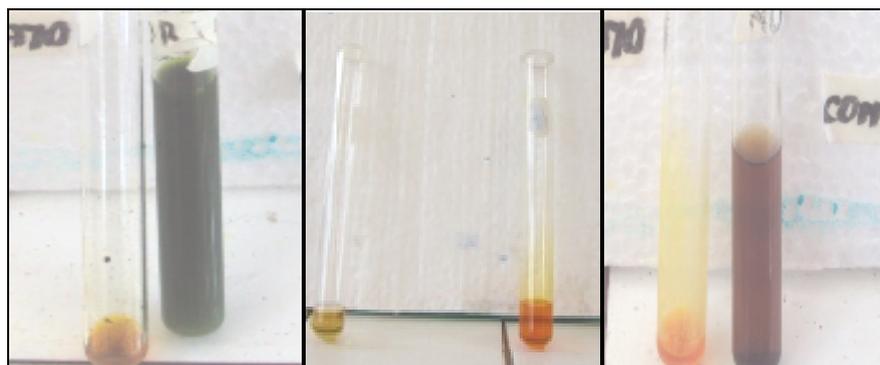
**ANEXO No.2 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS DE ORTIGA (*Urtica dioica*), BERRO
(*Nasturtium officinale*), NOGAL (*Juglans regia*)**



ANEXO No.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO



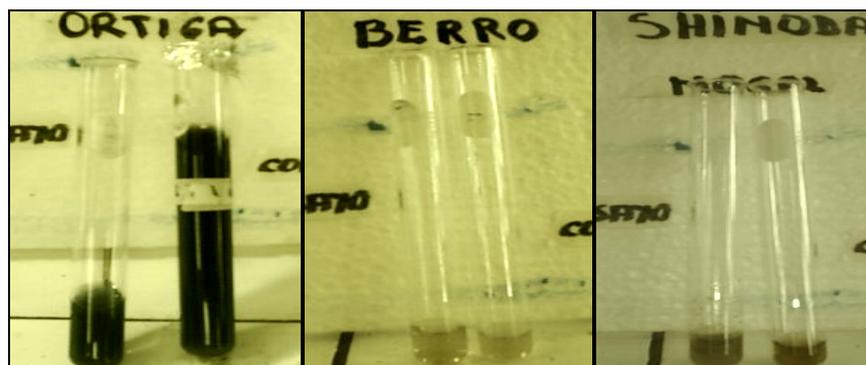
a) ENSAYO DE LIBERMAN BURCHARD



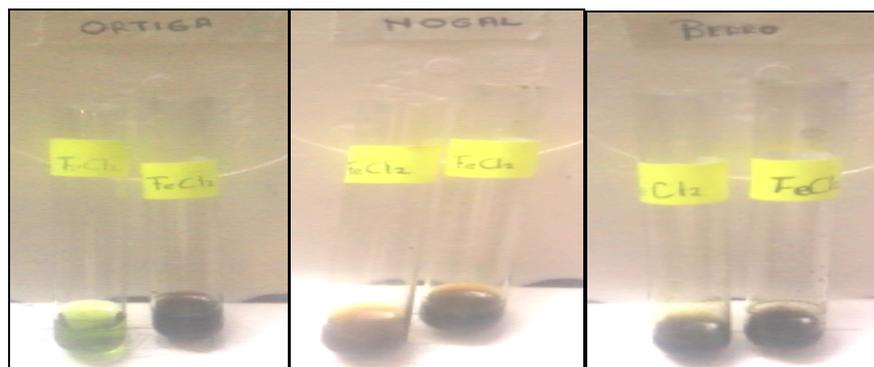
b) ENSAYO DE DRAGENDORFF



c) ENSAYO DE SUDAN III



d) ENSAYO DE SHINODA



e) ENSAYO DE CLORURO FÉRRICO



f) ENSAYO DE BALJET

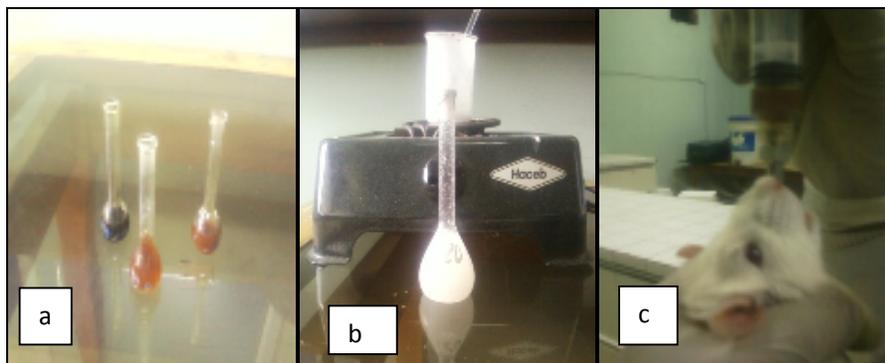


g) ENSAYO DE TRITERPENOS

ANEXO No. 4 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

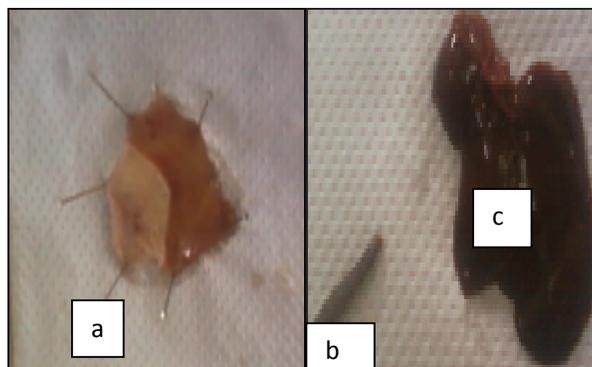


ANEXO No.5 ADMINISTRACIÓN POR VIA ORAL EN LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN



a) EXTRACTOS b) SOLUCIÓN DE SACAROSA c) ADMINISTRACIÓN

ANEXO No .6 ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO



a. ESTÓMAGO b) PÁNCREAS c) HÍGADO

