



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO DE
HOJAS DE CHAPUCA O UVILLA SILVESTRE (*Physalis peruviana*). EN
RATAS (*Rattus norvegicus*) CON HIPERGLICEMIA INDUCIDA”.**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Luis Franklin Llumiguano Taris

RIOBAMBA – ECUADOR

2014

DEDICATORIA

A Dios quien ha sido fuente de inspiración, guía y fortaleza para llevar a cabo este proyecto y culminar con éxito esta etapa de mi vida. A mi padres Manuel y a la memoria de mi madre María y Rosa, quienes han sido pilar fundamental en mi vida, a mis hermanos quienes con sus apoyo y consejos me han brindado la tenacidad para continuar todos mis proyectos de vida.

AGRADECIMIENTO

A Dios y Mama Nati, por ser el pilar fundamental de mi vida.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia y al cuerpo de docentes por impartirme sus conocimientos, orientación, formación humanística, académica y profesional.

A la Dra. Susana Abdo, por su valiosa dirección durante el desarrollo y culminación de la presente investigación.

Al B.Q.F. German Toapanta miembro del tribunal, por su apreciable colaboración y guía académica para el desarrollo de la investigación.

A toda mi familia por su apoyo incondicional.

A todos mis amigos que he conocido durante toda mi carrera, por su incondicional apoyo y amistad. Y a todas las personas que con su apoyo hicieron posible la culminación de este trabajo de investigación.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“EVALUACIÓN DEL EFECTO HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO DE HOJAS DE CHAPUCA O UVILLA SILVESTRE (*Physalis peruviana*). EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON HIPERGLICEMIA INDUCIDA”**, de responsabilidad del señor egresado Luis Franklin Llumiguano Taris, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

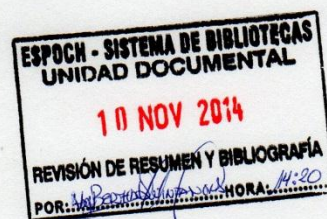
	FIRMA	FECHA
Ing César Avalos. DECANO FAC. CIENCIAS	_____	_____
Dr. Francisco Portero. DIRECTOR DE ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA	_____	_____
Dra. Susana Abdo. DIRECTORA DE TESIS	_____	_____
Bqf. German Toapanta. MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
COORDINADOR ENCARGADO DE SISTEMA DE BIBLIOTECA.	_____	_____
NOTA DE TESIS ESCRITA	_____	

Yo, **Luis Franklin Llumiguano Taris**, 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

Luis Franklin Llumiguano Taris

RESUMEN

Se desarrolló un estudio Farmacognóstico y farmacológico de *Physalis peruviana* (Uvilla silvestre) para evaluar su efecto hipoglicemiente cuando es administrado en ratas albinas (*Rattus norvegicus*), después de la inducción de hiperglicemia con 2 g/Kg de peso de almidón soluble. Para el desarrollo de la investigación se utilizó 3 extractos de *Physalis peruviana*, hechos con disolventes de polaridad creciente (éter di-etílico, alcohol 70% y agua), mismos que fueron administrados en veinticuatro ratas albinas de 290±50 g y distribuidos aleatoriamente en 8 lotes de 3 ratas por grupo, representados como lotes: blanco, problema, positivo y 5 tratamientos; administrando a: lote blanco únicamente el vehículo (Agua: Tween 80 (1%)); lote problema, almidón 2 g/Kg; lote positivo, almidón 2 g/Kg y Glibenclamida 0.2 mg/Kg; mientras que el lote con hiperglicemia bajo tratamiento fue administrado con 0.86 (30%), 1.85 (60%) y 2.46 (90%) mg/Kg de peso corporal de extracto de *Physalis peruviana*. La glicemia fue evaluada al minuto 0, 30, 90, 150, 210 y 270, después de la administración de la sustancia inductora. Estadísticamente *Physalis peruviana* no presentó acción farmacológica evidente al utilizar Glibenclamida 5mg como fármaco referencial. Además el estudio toxicológico demostró niveles de toxicidad aguda ausente. En conclusión las dosis administradas no mostraron ningún efecto hipoglicémico al ser administrado en ratas con hiperglicemia transitoria. Se recomienda probar el mismo estudio en patologías relacionadas, pero con otros modelos experimentales ya que especialmente la familia Solanaceae reportan actividad farmacológica.



SUMARY

An pharmacognostic and pharmacological study of wild Uvilla (*Physalis peruviana*) was developed to evaluate the hypoglycemic effect when administered to albino rats (*Rattus norvegicus*), after induction of hyperglycemia with 2 weight g/Kg soluble starch. To develop the research 3 extracts of *Physalis peruviana*, were used, made with solvents of increasing polarity (diethyl-ether, 70% alcohol and water), they were give in twenty-four albino rats weighing 290 ± 50 g and randomized and distributed into 8 lots of 3 rats by group, represented as lots: white, problem, positive and 5 treatments; giving to white lot only the vehicle (wáter: Tween 80 (1%)); batch problema, starch 2 g/Kg and Glibenclamida 0.2 mg/Kg . while; While the batch with hyperglycemia under treatment was administered with 0.86 (30%), 1.85 (60%) and 2.46 (90%) mg/Kg body weight of extract *Physalis peruviana* . The glucose was assessed at 0 minute, 30, 90, 150, 210 and 270, after administration of the inducing substance. Statistically *Peruviana Physalis* did not show obvious pharmacological action to use as a reference drug when using glibenclamide 5mg, Further toxicological study showed absent levels of acute toxicity. In conclusión the doses administered showed no hypoglycemic when administered in rats with transient hyperglycemia effect. It is recommended to do the same test study in related pathologies, but with other experimental models especially since the family Solanaceae reported pharmacological activity.



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO	- 1 -
1.1. aspectos de la salud: Diabetes Mellitus (DM).....	- 1 -
1.1.1. Introducción sobre la diabetes	- 1 -
1.1.2. Definición	- 2 -
1.1.3. Clasificación de la diabetes mellitus.....	- 2 -
1.1.3.1. Diabetes mellitus tipo 1 (DM1)	- 3 -
1.1.3.2. Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)	- 3 -
1.1.3.3. Diabetes gestacional	- 4 -
1.1.4. Factores de riesgo de la DM	- 4 -
1.1.5. Presentaciones clínicas en hiperglucemia.....	- 5 -
1.1.6. Complicaciones de la DM.....	- 6 -
1.1.6.1. Complicaciones metabólicas agudas	- 6 -
1.1.6.2. Complicaciones crónicas	- 7 -
1.1.7. Diagnóstico	- 8 -
1.1.8. Epidemia	- 9 -
1.1.9. Estrategias de prevención	- 10 -
1.1.10. Tratamiento.....	- 11 -
1.1.10.1. Antidiabéticos orales.....	- 11 -
1.1.11. Vías del metabolismo energético.....	- 15 -
1.1.11.1. Metabolismo glucolítico	- 16 -

1.1.11.2. Homeostasis metabólica de la glucosa.....	- 24 -
1.1.12. Modelos biológicos para estudios de actividad antidiabética/hipoglicemiante de productos y extractos naturales.....	- 26 -
1.1.12.1. Modelos animales in vivo para la diabetes mellitus	- 26 -
1.1.12.2. Estudios in vitro	- 29 -
1.2. Aspectos Botánicos	- 29 -
1.2.1. Familia <i>Solanaceae</i>	- 29 -
1.2.2. Genero <i>Physalis</i>	- 29 -
1.2.3. <i>Physalis peruviana</i> (chapuca)	- 30 -
1.2.3.1. Clasificación científica	- 30 -
1.2.3.2. Nombres comunes.....	- 31 -
1.2.3.3. Descripción morfológica y características botánicas.....	- 31 -
1.2.3.4. Hábitat.....	- 32 -
1.2.3.5. Uso etnobotánico y ancestral	- 32 -
1.2.3.6. Composición química y actividad farmacológica del genero <i>Physalis</i>	- 33 -
1.3. Análisis químico y control de calidad de plantas medicinales (droga vegetal)..	- 35 -
1.3.1. Obtención de drogas y principios activos	- 35 -
1.3.1.1. Métodos extractivos a partir de la droga.....	- 36 -

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL	- 38 -
2.1. Lugar de la investigación	- 38 -
2.2. Materiales, equipos y reactivos.....	- 38 -
2.2.1. Recursos humanos	- 38 -
2.2.2. Recursos materiales	- 39 -
2.2.2.1. Materiales de laboratorio químico y farmacológico	- 39 -
2.2.2.2. Equipos	- 40 -
2.2.2.3. Reactivos.....	- 40 -
2.3. Manejo específico del experimento	- 43 -
2.3.1. Estudio farmacognóstico general	- 43 -
2.3.1.1. Obtención e identificación taxonómica del material botánico.....	- 43 -
2.3.1.2. Limpieza, desinfección y secado del material botánico	- 43 -

2.3.1.3. Determinación de los parámetros de calidad, método físico-químico de análisis de droga cruda.....	- 44 -
2.3.2. Análisis químico cualitativo.	- 45 -
2.3.2.1. Preparación del extracto.....	- 45 -
2.3.2.2. Tamizaje fitoquímico.....	- 46 -
2.3.2.3. Determinación de los parámetros físicos, físico-químicos de calidad del extracto.....	- 46 -
2.3.3. Detección de compuestos por cromatografía en capa fina.	- 47 -
2.3.4. Estudio toxicológico.	- 50 -
2.3.4.1. Toxicidad oral aguda del extracto etanólico de <i>Physalis peruviana</i>	- 50 -
2.3.4.1.1. Diseño experimental.	- 50 -
2.3.4.1.2. Estudio anatomo e histopatológico.....	- 51 -
2.3.5. Estudio farmacológico.	- 51 -
2.3.5.1. Evaluación del efecto hipoglicemiante del extracto etanólico de <i>Physalis peruviana</i>	- 51 -

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES	- 57 -
3.1. Estudio farmacognóstico.....	- 57 -
3.1.1. Determinación de los parámetros físicos, físico-químicos de calidad de la droga cruda.....	- 57 -
3.1.2. Preparación del extracto.....	- 58 -
3.1.2.1. Determinación de los parámetros físicos, físico-químicos de calidad del extracto etanólico de <i>physalis peruviana</i>	- 59 -
3.1.2.2. Ensayos de identificación fitoquímica de <i>Physalis peruviana</i>	- 60 -
3.1.3. Estudio cromatográfico de metabolitos de <i>Physalis peruviana</i>	- 63 -
3.1.3.1. Detección de flavonoides por cromatografía en capa fina.....	- 63 -
3.1.3.2. Detección de alcaloides por cromatografía en capa fina.	- 64 -
3.1.4. Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales	- 66 -
3.2. Estudio farmacológico.....	- 68 -
3.2.1. Actividad hipoglicemiante del extracto de hojas de uvilla silvestre (<i>Physalis peruviana</i>) en <i>Rattus norvegicus</i>	- 68 -

3.2.1.1. Efecto de los tratamientos sobre los ngs en los RB.....	- 68 -
3.2.1.2. Efecto del tiempo de análisis sobre los ngs en los RB.....	- 72 -
3.3. Estudio toxicológico.....	- 76 -
3.3.1. Toxicidad aguda.....	- 76 -
 CAPÍTULO IV	
4. CONCLUSIONES	- 81 -
 CAPÍTULO V	
5. RECOMENDACIONES	- 83 -
BIBLIOGRAFÍA	- 84 -
 CAPÍTULO VI	
6. ANEXOS.....	- 95 -

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADA	Asociación americana de diabetes
ADOE	Antidiabéticos orales esenciales
ADP	Adenosín difosfato
ANOVA	Análisis de la varianza
ATP	Adenosín trifosfato
Acetil-CoA	Acetil coenzima A
BG	Biguanidas
CO ₂	Dióxido de carbono
Ca ⁺⁺	Calcio
cAMP	Adenosín monofosfato cíclico
DM	Diabetes mellitus
DMID	Diabetes mellitus insulino dependientes
DMINP	Diabetes mellitus no insulino dependientes
dL	Desilitro
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ECF	Líquido extracelular.
Ex.	Extracto
FFA	Ácidos grasos libres
FID	Federación internacional de diabetes.
GLUT	Transportador de glucosa
HgA1c	Hemoglobina glicosilada
INEC	Instituto nacional de estadísticas y censo
ip	Intraperitoneal
iv	Intravenosa
IAG	Inhibidores de la alfa glucosidasa
Kg	Kilogramos
K ⁺	Potasio
LCKD	Carbohidratos cetogénicos
LDH	Lactato deshidrogenasa
mg	Miligramos
Mg	Magnesio
MG	Meglitinidas

Mn	Manganeso
m.s.n.m	Metros sobre el nivel del mar
NDDG	National Diabetes Data Group
NGS	Niveles de glucosa en sangre
NADH	Nicotidamina Adenina Dinucleótido reducido
OGTT	Prueba oral de tolerancia a la glucosa
OMS	Organización mundial de la salud
PUFA	Ácidos grasos poliinsaturados
Pi	Fosforo inorgánico
P.p	<i>Physalis peruviana</i>
Rf	Factor de Retención
Rib	Ribosoma
RB	Reactivo biológico
SU	Sulfonilureas
SNC	Sistema nerviosos central
SOA	Sobrecarga oral de almidon
SOG	Sobrecarga oral de glucosa
STZ	Estreptozotocina
s.c	Subcutánea
TCA	Ácido tricarboxílico
TZ	Tiazolidindionas

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No 1.	Control de calidad de droga cruda (<i>Physalis peruviana</i>). Laboratorio de fitoquímica y productos naturales. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Septiembre del 2013.....	57
CUADRO No 2.	Rendimiento de extractos de <i>Physalis peruviana</i> extraídos con solventes de polaridad creciente. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Septiembre del 2013.....	59
CUADRO No 3.	Control de calidad del extracto etanólico de <i>Physalis peruviana</i> . Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013.....	60
CUADRO No 4.	Resultado del tamizaje fitoquímico. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013.....	61
CUADRO No 5.	Concentración de la solución madre: 100µg/ml. datos detallados de la rutina para obtener la ecuación de la recta. Laboratorio de química instrumental. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013.....	66
CUADRO No 6.	Datos detallados para la cuantificación de flavonoides totales de <i>Physalis peruviana</i> , a la longitud de onda de 510 nm. Laboratorio de análisis químico instrumental. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013.....	68
CUADRO No 7.	Efecto de <i>Physalis peruviana</i> sobre los NGS en ratas con hiperglucemia inducida, escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Diciembre 2013.....	69
CUADRO No 8.	Estadística descriptiva de los NGS (mg/dl) a diferentes tiempos en los lotes bajo tratamiento. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Diciembre 2013.....	72
CUADRO No 9.	Evaluación de los signos en los primeros 7 días del estudio de toxicidad aguda, a una dosis única, 2.35 mg/kg, v.o. Del extracto etanólico de <i>Physalis peruviana</i> . Bioterio de la facultad de ciencias. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Diciembre 2013.....	77
CUADRO No 10.	Masa corporal de los reactivos biológicos macho. Grupo control y en tratamiento, en la prueba de toxicidad aguda a una dosis única, 2.35 mg/kg, v.o. De extracto etanólico de <i>Physalis peruviana</i> . Bioterio de la facultad de ciencias. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH.	

	Riobamba. Diciembre 2013.....	78
CUADRO No 11.	Estudio macroscópica de órganos farmacocinéticos. En la prueba de toxicidad aguda a una dosis única, 2.35 mg/kg, v.o de extracto etanólico de <i>Physalis peruviana</i> . Bioterio de la facultad de ciencias. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Diciembre 2013.....	79

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No 1.	Criterios de diagnóstico de la diabetes mellitus.....	9
TABLA No 2.	Hipoglicemiantes orales (ADOE).....	13
TABLA No 3.	Farmacocinética de las Sulfonilureas de primera y segunda generación.....	15
TABLA No 4.	Compuestos químicos identificados en <i>P. peruviana</i> desde 1930 hasta el 2010.....	34
TABLA No 5.	Actividad farmacológica reportada para <i>Physalis peruviana</i>	35
TABLA No 6.	Disolventes utilizados para la extracción del componente activo....	37
TABLA No 7.	Condiciones de alojamiento y ambientación físico para el reactivo biológico previo al estudio.....	42
TABLA No 8.	Distribución de RB y lotes para cada estudio.....	54

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO No 1.	Curva de calibración para la rutina. Cada punto representa la concentración en ppm vs la absorbancia en nm de cada medición. Laboratorio de análisis instrumental. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013.....	67
GRÁFICO No 2.	Concentración de glucosa sanguínea en ratas con hiperglucemia inducida después de 30 minutos de aplicar los diferentes tratamientos. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Abril del 2014.....	70
GRÁFICO No 3.	Concentración de glucosa sanguínea en ratas con hiperglucemia inducida después de 150 minutos de aplicar los diferentes tratamientos. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Abril del 2014.....	71
GRÁFICO No 4.	Concentración de glucosa sanguínea en ratas con hiperglucemia inducida después de 270 minutos de aplicar los diferentes tratamientos. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Abril del 2014.....	72
GRÁFICO No 5.	Comportamiento metabólico de los niveles de glucosa en sangre (mg/dl) en el lote blanco. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Abril del 2014.....	73
GRÁFICO No 6.	Comportamiento glicémico (mg/dl) de la sobrecarga oral de almidón durante el tiempo de evaluación al lote problema. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Abril del 2014.....	74
GRÁFICO No 7.	Comportamiento de los NGS (mg/dl) en el metabolismo del almidón cuando es tratado con Glibenclamida como fármaco referencial en el estudio. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Abril del 2014.....	75
GRÁFICO No 8.	Curva de tolerancia oral a la glucosa de ratas albinas macho a intervalos de tiempo diferentes. Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Abril del 2014.....	76

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No 1.	Alteraciones metabólicas en la diabetes mellitus (DM).....	2
FIGURA No 2.	Influencia de la insulina en el metabolismo de los glúcidos en los tejidos hepático, adiposo y muscular.....	4
FIGURA No 3.	Hipótesis etiológica de la diabetes tipo II.....	5
FIGURA No 4.	Mecanismo de acción de la Glibenclamida y otros agentes en la liberación de insulina desde las células β pancreáticas.....	14
FIGURA No 5.	Mecanismos de transporte de glucosa a través de una membrana.....	18
FIGURA No 6.	Esquema general de las reacciones involucradas en la glucólisis.....	23
FIGURA No 7.	Mecanismo de control de glucosa en sangre.....	24
FIGURA No 8.	Secreción de insulina por células β pancreáticas en respuesta a un desequilibrio glucémico.....	25
FIGURA No 9.	Estructura química del ergostano.....	33
FIGURA No 10.	Extracción sucesiva de <i>Physalis peruviana</i> para la aplicación de técnicas del tamizaje fitoquímico.....	98
FIGURA No 11.	Esquema de reacciones a realizar al extracto de eter dietílico de <i>Physalis peruviana</i>	98
FIGURA No 12.	Esquema de reacciones realizadas al extracto alcohólico de <i>Physalis peuviana</i>	99
FIGURA No 13.	Esquema de reacciones para el extracto acuoso de <i>Physalis peruviana</i>	99

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No 1.	<i>Physalis peruviana</i>	30
FOTOGRAFÍA No 2.	Perfil cromatográfico. Se aprecian manchas de dos compuestos flavonoides del extracto etanólico de hojas de <i>Physalis peruviana</i> . Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013.....	64
FOTOGRAFÍA No 3.	Análisis cromatográfico. Se aprecian dos manchas de alcaloides de tipo tropano del extracto etanólico de hojas de <i>physalis peruviana</i> . Escuela de bioquímica y farmacia. Facultad de ciencias. ESPOCH. Riobamba. Octubre del 2013.....	65
FOTOGRAFÍA No 4.	Habita natural y recolección del material botánico.....	95
FOTOGRAFÍA No 5.	Habita natural y recolección del material botánico.....	95
FOTOGRAFÍA No 6.	Lavado de <i>Physalis peruviana</i>	95
FOTOGRAFÍA No 7.	Maceración y concentrado del material botánico.....	96
FOTOGRAFÍA No 8.	Maceración y concentrado del material botánico.....	96
FOTOGRAFÍA No 9.	Determinación gravimétrica de humedad y ceniza.....	96
FOTOGRAFÍA No 10.	Determinación gravimétrica de humedad y ceniza.....	96
FOTOGRAFÍA No 11.	Control de calidad físico-químico para <i>Physalis peruviana</i> : densidad, ph y solidos totales.....	96
FOTOGRAFÍA No 12.	Tamizaje químico cualitativo de <i>Physalis peruviana</i>	97
FOTOGRAFÍA No 13.	Disección de rata albina (<i>Rattus norvegicus</i>).....	100
FOTOGRAFÍA No 14.	Estudio anatomo e histopatológico de <i>Rattus norvegicus</i>	100
FOTOGRAFÍA No 15.	Preparación de droga y sustancias químicas; ambientación y distribución aleatoria de reactivos biológicos.....	101
FOTOGRAFÍA No 16.	Administración de extracto, Glibenclamida y almidón.....	101
FOTOGRAFÍA No 17.	Toma de muestra y medición de niveles de glucosa en sangre.....	101

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No 1.	Estudio farmacognóstico general de <i>Physalis peruviana</i>	95
ANEXO No 2.	Diseño experimental para el estudio toxicológico de <i>Physalis peruviana</i> en <i>Rattus norvegicus</i>	100
ANEXO No 3.	Diseño experimental para el estudio farmacológico de <i>Physalis peruviana</i> en <i>Ratuss norvegicus</i>	101

INTRODUCCIÓN

La OMS define la medicina tradicional como prácticas, enfoques, conocimientos y creencias que incorporan medicinas basadas en plantas medicinales, minerales y materia orgánica, para mantener el bienestar y mejorar la calidad de vida de la población. Para lo cual el uso de extractos vegetales ha venido empleándose desde la antigüedad. La herboristería, la medicina popular antigua y moderna, han sido la fuente de mucha terapia útil. (ADEWOLE, S. & otros. 2006; HASANAT, A., SIDDIQUA, M. 2011; ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, 2002)

Se estima que el 80% de las personas en los países en vías de desarrollo confían en la medicina tradicional para su atención primaria de salud y el 85% de la medicina tradicional implica el uso de extractos a base de plantas. En el Ecuador el uso de plantas medicinales está inmerso en la cotidianidad de sus habitantes debido, principalmente, a que el conocimiento médico ancestral es inmenso. (ERHSSIEDIRIWEERA., RATNASOORIYA, W. 2008)

La diabetes mellitus es un heterogéneo grupo de síndromes metabólicos, caracterizada por hiperglucemia y el metabolismo defectuoso de lípidos y proteínas, como resultado de la interacción de múltiples factores, entre hereditarios y ambientales. Es considerada como una de las patologías más recurrentes entre la población de los países desarrollados y en vías de desarrollo. (OYEDEPO, T. & otros. 2013; RAWI, S. & otros. 2011)

Según la OMS la prevalencia mundial de la diabetes se estima en 333 millones de personas en el 2025 y se proyecta que el número de pacientes se levantará hasta el 7,8% (438 millones de personas) al 2030. (KHAN, V. & otros. 2012; SHAO, J., LIN, M. 2012)

A nivel nacional según datos del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC) la diabetes constituye la primera causa de muerte y cerca de los 800 000 diabéticos diagnosticados, 100 000 reciben terapia farmacológica y 200 000 prefieren el uso de la medicina tradicional basadas en extractos de plantas hipoglucemiante. Del total de diabéticos tratantes el 95 % de la población padece de diabetes mellitus tipo 2 y solo un 5 % padece de diabetes tipo 1. (EL COMERCIO, 2011)

Se conoce más de 400 plantas hipoglucemiantes, destacándose la *Artemisia absinthium* (ajenjo), *Artocarpus altilis* (frutepan), *Cynara cardunculus* (alacachofa), *Foeniculum vulgare* (Eneldo), *Piper carpunya* (Guabiduca), *Verbena litoralis* Kunth (Verbena) que además de la corrección de los niveles de glucosa permiten el mejoramiento de otras complicaciones secundarias de la diabetes como; anomalías del metabolismo lipídico, daño del riñón, hígado graso y el estrés oxidativos. (DALLAK, M. & otros. 2010; JUÁREZ-ROJOP, I. & otros. 2012)

Debido a que los antidiabéticos convencionales producen efectos secundarios entre los que se destaca la hipoglucemia, malestar gastrointestinal, lo cual radica la importancia del estudio farmacológico de las hojas de *Physalis peruviana*, que muestra una alternativa en el tratamiento de la diabetes y que en la medicina tradicional ha venido utilizándose para otros fines terapéuticos entre los que destaca diurético, expectorante, contusiones, torceduras y dislocaciones. (JIMOH, A. & otros. 2013; KHAN, V. & otros. 2012)

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto de hojas de *Physalis peruviana* (Chapuca) en ratas (*Rattus norvegicus*) con hiperglicemia inducida, mediante la prueba oral de tolerancia a la glucosa (OGTT) en modelos experimentales, y también se investigó la toxicidad oral aguda del extracto etanólico de hojas de *Physalis peruviana* (chapuca).

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. ASPECTOS DE LA SALUD: DIABETES MELLITUS

1.1.1. INTRODUCCIÓN SOBRE LA DIABETES

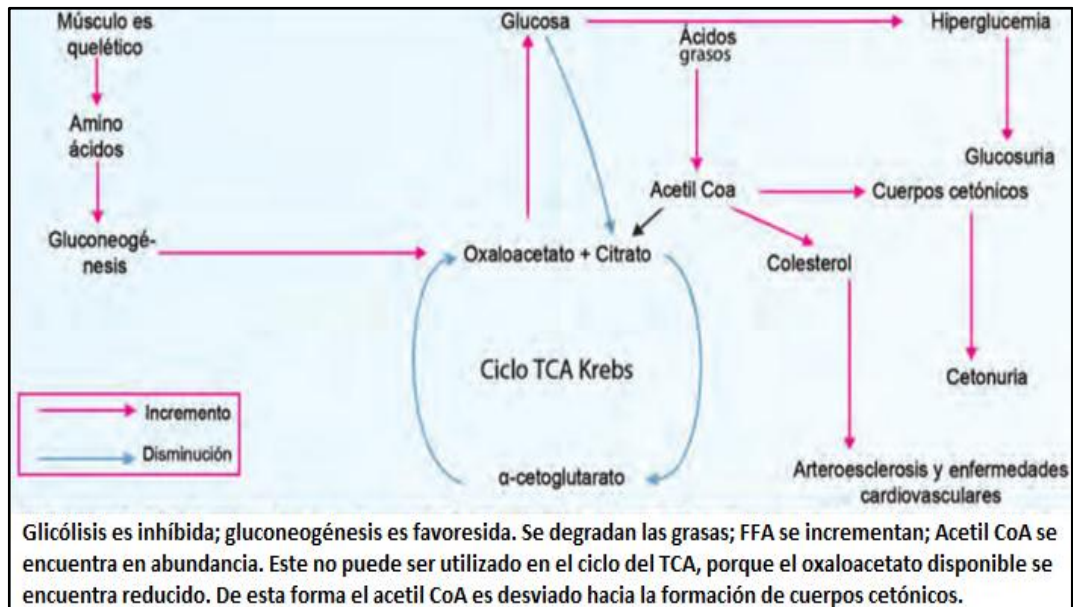
La diabetes es un desorden metabólico caracterizado por la presencia de hiperglucemia, relacionada con alteraciones del metabolismo graso y proteico, y condicionado por factores (genéticos y/o ambientales) cuya causa última es un defecto en la secreción y/o en la actividad insulínica, y que da complicaciones de tipo cardiovascular y neuropático. (CALVO, S. & otros. 2011)

La diabetes mellitus (DM), y especialmente la denominada «diabetes de tipo 2» (DM2) en la civilización occidental, se ha convertido en una de las enfermedades crónicas más prevalentes, en paralelo a la epidemia de obesidad. Se estima que la DM2 para el 2020 superara los 250 millones entre el número de incidencia y de supervivencia de pacientes diabéticos. Además de los factores antes mencionados se suma la edad, sexo, hábitos alimenticios entre otras hacen que su relacionar con las enfermedades cardiovasculares sea mayor. (CALVO, S. & otros. 2011; PAZMIÑO, C. 2011)

El impacto de un buen control glucémico para el desarrollo de complicaciones está bien reconocido tanto para la DM1 como para la DM2, como un marcador independiente de mortalidad en pacientes hospitalizados con diabetes no diagnosticado previamente. (CALVO, S. & otros. 2011)

1.1.2. DEFINICIÓN

Decir que la diabetes es un trastorno metabólico de la utilización de la glucosa, por un falta o deficiencia de insulina, no globaliza el problema metabólico real que lo causa, por ello es conveniente armonizarlo como “*un grupo de enfermedades o síndromes metabólicos caracterizados por la aparición de hiperglucemia secundaria a defectos de la secreción de insulina, de la acción de la insulina o de ambas*”. Definición que incluye múltiples procesos metabólicos como el proteico y lipídico, los cuales también se ven afectados por la diabetes. (ESCOBAR, J., TÉBAR, M. 2009)



FUENTE: (VASUDEVAN, D.& otros. 2011)

FIGURA No 1. ALTERACIONES METABÓLICAS EN LA DIABETES MELLITUS (DM)

1.1.3. CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES MELLITUS.

En 1975 National Diabetes Data Group (NDDG) mediante consenso estableció una clasificación y diagnóstico de diabetes mellitus y otras categorías de intolerancia a la glucosa, documento aceptado y publicado por la OMS. En la actualidad la clasificación y denominación de los dos principales grupos de diabetes mellitus (DM) ha sido cambiada a: (ESCOBAR, J., TÉBAR, M. 2009)

- Diabetes mellitus insulino dependientes (DMID) o diabetes tipo 1.
- Diabetes mellitus no insulino dependientes (DMNID) o diabetes tipo 2

Incorporando de forma separada:

- Diabetes gestacional
- Intolerancia a la glucosa
- Otros tipos de diabetes

1.1.3.1. DIABETES MELLITUS TIPO 1 (DM1)

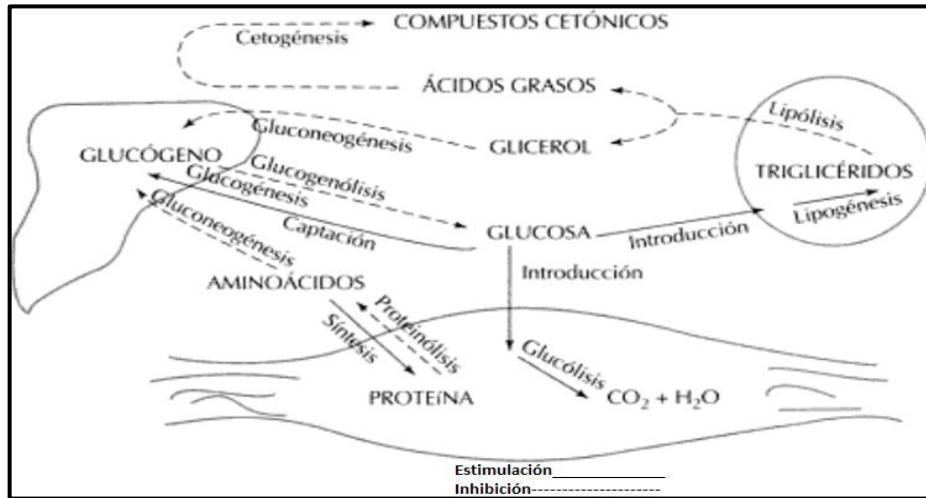
Originada por la destrucción autoinmune de las células β pancreáticas, su velocidad de destrucción varía en gran medida en la edad, siendo rápida en niños y lenta en los adultos, los niños o adultos jóvenes son los primeros en padecer esta enfermedad. (JOVER, A., GARCÍA M. 2003)

1.1.3.2. DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2)

La diabetes mellitus tipo 2 es un desorden metabólico caracterizado por la presencia de hiperglucemia debida a una defectuosa secreción o acción de insulina, por lo menos en los primeros estadios de la enfermedad. También se ha definido la diabetes mellitus como un estado de absoluta o relativa deficiencia de insulina, caracterizada por hiperglucemia y el riesgo de complicaciones micro y macro vasculares. (ENRIQUE, B., AMADOR, S. 2002)

La insulina es una hormona endocrina producida por las células β del páncreas, en forma antagónica con el glucagón controlan el cambio entre hipoglucemia e hiperglicemia en ayuno o en ingestión de alimentos. Su función es multifactorial y afecta a numerosos órganos y tejidos, aunque sus acciones más características se manifiestan en los tejidos muscular, adiposo y hepático, donde controla diferentes procesos metabólicos que conduce a la disminución de la cantidad de glucosa en sangre, a la reposición de la reserva metabólica y a la estimulación del crecimiento (en edad

infantil). La insulina, es pues, una señal para la situación de exceso de metabolismo. (FUENTES, A. & otros. 1998; MÜLLER-ESTERL, W. 2008)



FUENTE: (FUENTES, A. & otros. 1998)

FIGURA No 2. INFLUENCIA DE LA INSULINA EN EL METABOLISMO DE LOS GLÚCIDOS EN LOS TEJIDOS HEPÁTICO, ADIPOSO Y MUSCULAR.

1.1.3.3. DIABETES GESTACIONAL

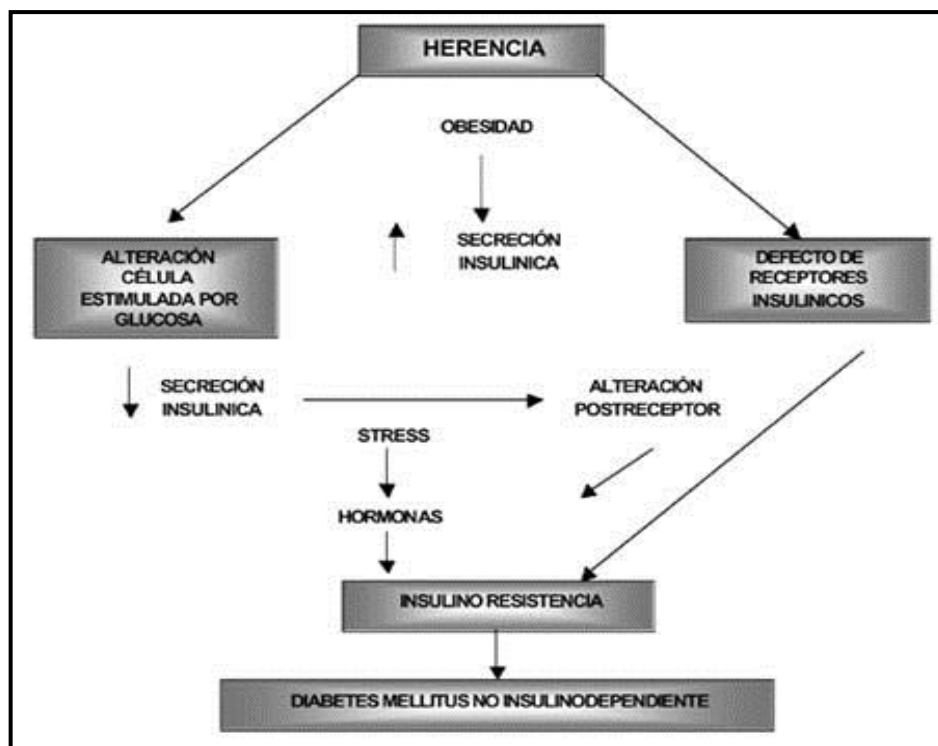
Es el grado de intolerancia a los hidratos de carbono que aparecen o se identifica por primera vez durante la gestación, habitualmente en el segundo trimestre de gestación en donde la insulina es incapaz de contrarrestar la insulino-resistencia causada por las hormonas placentarias (estrógenos, progesterona y gonadotrofina coriónica). (FIGUEROLA, D. 2011)

1.1.4. FACTORES DE RIESGO DE LA DM

A continuación se describen algunos factores de riesgo que predisponen a un individuo a desarrollar la diabetes mellitus tipo 2. (HERNÁNDEZ, M., SASTRE, A. 1999)

- Genotipo
- Factores ambientales

- Patrón de secreción de insulina
- Solapamiento con diabetes tipo 1 autoinmune
- Obesidad
- Diferencias en la clínica
- Diferencia étnicas
- Diferencias geográficas
- Diabetes asociada al embarazo
- Diabetes asociada a factores de riesgo vasculares (síndrome metabólico)



FUENTE: (SOLGORRÉ, E. 2005)

FIGURA No 3. HIPÓTESIS ETIOLÓGICA DE LA DIABETES TIPO II.

1.1.5. PRESENTACIONES CLÍNICAS EN HIPERGLUCEMIA

- **Glucosuria.-** Excreción de glucosa por la orina, originada principalmente cuando el nivel de glucosa excede el umbral renal
- **Poliuria.-** Constante deshidratación, causada por el desequilibrio osmótico.
- **Polidipsia.-** Hidratación frecuente y constante, por activación del centro de la sed.

- **Polifagia.-** Ingestión excesiva de alimentos, para suplir la pérdida de glucosa y de proteína
- **Pérdida de peso.-** Ocasionado por la degradación de grasa y proteínas, mismas que son causadas por la mala utilización metabólica de la glucosa así como su pérdida excesiva por las distintas vías de excreción.
- **Infecciones recurrentes crónicas.-** Frecuentemente abscesos de piel (Furunculosis). En donde el exceso de glucosa extracelular aumenta la proliferación bacteriana, por encontrarse en un medio nutritivo y a su vez la función de los macrófagos del huésped disminuye por déficit eficiente de glucosa. (VASUDEVAN, D. & otros. 2011)

1.1.6. COMPLICACIONES DE LA DM

1.1.6.1. COMPLICACIONES METABÓLICAS AGUDAS

a. Cetoacidosis diabética.

Una complicación común en la diabetes mellitus del tipo 1. Normalmente, el nivel de cuerpos cetónicos en sangre es menos de 1 mg/dl y solamente rastros se excretan en la orina (no perceptibles por las pruebas comunes). Pero cuando el índice de síntesis excede la capacidad de tejidos extrahepáticos de utilizarlos, habrá acumulación de cuerpos cetónicos en sangre. Esto lleva a la cetonemia, a la excreción en la orina (Cetonuria) y al olor de la acetona en la respiración. Todos estos tres juntos constituyen la condición conocida como cetosis. (ARAGÓN, S. & otros. 2002; VASUDEVAN, D. & otros. 2011)

b. Coma Hiperosmolar No Cetónico

Provocado por la elevación de glucosa a niveles muy altos (900 mg/dl o más), con lo cual aumenta la osmolaridad del líquido extracelular (ECF). La diuresis osmótica lleva a la depleción y agotamiento de los electrolitos. El coma resulta de la deshidratación de

las células cerebrales debido a la hipertonicidad del ECF. (ARAGÓN, S. & otros. 2002; VASUDEVAN, D. & otros. 2011)

c. Acidosis Láctica

Ocurre debido a la producción excesiva y/o baja utilización del ácido láctico, esta superproducción está asociada al índice creciente de glucólisis anaerobia debido a la hipoxia. La baja utilización puede ser debido a la debilitación del TCA. Se considera acidosis láctica (más de 5 mMol/L) cuando el tratamiento farmacológico está basado en biguanidas, las que inhibe el ciclo del TCA y la gluconeogénesis. (ARAGÓN, S. & otros. 2002; VASUDEVAN, D. & otros. 2011)

1.1.6.2. COMPLICACIONES CRÓNICAS

a. Enfermedades Vasculares

La aterosclerosis en vasos sanguíneos, la formación de placas y la trombosis intravascular consiguiente puede ocurrir. Si ocurre en vasos cerebrales, el resultado es la parálisis. Si está en la arteria coronaria, puede resultar en un infarto al miocardio. En el caso de los pequeños vasos, el proceso se llama microangiopatía, donde se dañan células endoteliales y murales (cemento). Amiloglucanos se depositan en células murales, para perder la capacidad de cementación. Esto lleva al microangiopatía, que puede llevar a la retinopatía y a la nefropatía diabética. (ARAGÓN, S. & otros. 2002; VASUDEVAN, D. & otros. 2011)

b. Complicaciones En Los Ojos

Por el desarrollo temprano de la catarata del cristalino ocasionada por el índice creciente de formación de sorbitol, causado por la hiperglucemia. Las anomalías microvasculares retinianas llevan a la retinopatía y a la ceguera. (ARAGÓN, S. & otros. 2002; VASUDEVAN, D. & otros. 2011)

c. Neuropatía

La neuropatía periférica con parestesia es muy común. La utilización disminuida de la glucosa y su conversión a sorbitol en las células de Schwann puede causar la neuropatía. La neuropatía puede llevar al riesgo de úlceras y de gangrena del pie. (ARAGÓN, S. & otros. 2002; VASUDEVAN, D. & otros. 2011)

d. Síndrome De Kimmelstiel-Wilson

Es una nefrosclerosis, caracterizado por la proteinuria y la falla renal. La hiperglucemia persistente que lleva a glicación de las proteínas base de la membrana puede ser la causa de la nefropatía. (ARAGÓN, S. & otros. 2002; VASUDEVAN, D. & otros. 2011)

e. Embarazo

Las madres diabéticas tienden a tener bebés grandes, porque la insulina es una hormona anabólica. (VASUDEVAN, D. & otros. 2011)

1.1.7. DIAGNÓSTICO

1.1.7.1. DIAGNÓSTICO EN HUMANOS.

Hasta el año 2010 el diagnóstico de la diabetes estaba basado solo en la determinación de glucemia en ayunas, dos horas después de una sobrecarga de glucosa, síntomas cardinales (poliuria, polidipsia, polifagia, pérdida de peso, etc). Desde entonces la American Diabetes Association (ADA) planteó utilizar también la hemoglobina glicosilada (H_{gA1c}) para el diagnóstico de la diabetes. Se considera que las personas con un H_{gA1c} \geq 6,5 % pueden ser consideradas diabéticas sin necesidad de otra prueba confirmatoria, y personas con valores entre 5,7-6,5 % deben ser consideradas de alto riesgo para desarrollar diabetes. (CALVO, S. & otros. 2011)

El diagnóstico de la diabetes con HgA1c ofrece varias ventajas en comparación con los métodos basados en la determinación de glucosa:

- a. No necesita de ayuno nocturno.
- b. En caso de glicemia < 200 mg/dl no es necesario repetir una nueva muestra.
- c. Omite el test de sobrecarga oral de glucosa.

TABLA No 1. CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO DE LA DIABETES MELLITUS.

	Glucemia en ayunas	Glucemia tras 2h de glucosa
Normalidad	<110 mg/dl (<6.1 mmol/L)	<140 mg/dl 7.8 mmol/L
Intolerancia a la glucosa	110 y <126 mg/dl 6.1 y <7 mmol/L	140 y <200 mg/dl (7.8 y <11.1 mmol/L)
Diabetes mellitus	>126 mg/dl (>7 mmol/L)	>200 mg/dl (>11.1 mmol/L)

FUENTE: (CALVO, S. & otros. 2011)

1.1.8. EPIDEMIA

Muchos métodos han sido propuestos para establecer la prevalencia de la diabetes: registro médico, estimación de consumo de fármacos, entrevista aleatoria en muestras de la población y pruebas analíticas como la glucemia en ayunas y/o prueba oral de tolerancia a la glucosa (OGTT). La mayoría de los estudios epidemiológicos utiliza la información obtenida de la OGTT para establecer la prevalencia total de la diabetes. (ESCOBAR, J., TÉBAR, M. 2009)

La diabetes mellitus una epidemia en curso, la OMS estima que personas adultas (de más de 20 años) con diabetes es de 171 millones y para el 2031 está proyectado que esta cifra incremente a 366 millones de personas. Aumentos drásticos se esperan en paises como la india, que pasaría de 31 a 79 millones, China (de 20 a 42 millones), otros países

de Asia (de 22 a 58 millones), África sub-sahariana (de 7 a 18 millones) y Latinoamérica (de 13 a 32 millones). (ESCOBAR, J., TÉBAR, M. 2009)

Debido al crecimiento y al envejecimiento poblacional, la mayor urbanización, la creciente prevalencia de obesidad y sedentarismo o bien por la mayor supervivencia de pacientes con DM. Cuantificar la prevalencia de personas diabéticas se presenta en un futuro, marcada importancia pues permitirá planear y asignar recursos de forma racional. Otros aspectos a destacar son los cambios en los estilos de vida de la población menos industrializada, cambios dietéticos y de actividad física, sobre la base de un genotipo predisponente, lo que hace que incremente exponencialmente el número de diabéticos en países hasta ahora considerados en vías de desarrollo. (ESCOBAR, J., TÉBAR, M. 2009; SOCIEDAD BRASILEIRA DE DIABETES, 2009)

1.1.9. ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN

El incremento de la DM2 es consecuencia del aumento de la obesidad sedentarismo y cambios en los hábitos dietéticos, factores modificables que permitirían prevenir la DM2. Ensayos clínicos han demostrado que una dieta equilibrada y la actividad física moderada ayudan a la prevención de la diabetes. (ESCOBAR, J., TÉBAR, M. 2009)

Según la Federación Internacional de Diabetes (FID), la evaluación general de los costos para la prevención y el tratamiento de la diabetes mundial se ejecutarán hasta EE.UU. \$ 490 mil millones en 2030. (KHAN, V. & otros. 2012)

Políticas educativas en la edad escolar, incentivación de la actividad física, implicando a la industria alimentaria e incluso estrategias urbanísticas, pueden ayudar a detener una de las epidemias del siglo XXI. (ESCOBAR, J., TÉBAR, M. 2009)

1.1.10. TRATAMIENTO

La diabetes por ser un trastorno multidimensional, el tratamiento prescrito requiere la firme adhesión al plan de tratamiento prescrito. El tratamiento actual de la diabetes se centra en: (VASUDEVAN, D. & otros. 2011)

- **Dieta y ejercicio:** primera línea de tratamiento que orienta al paciente diabético tomar una dieta equilibrada con contenido de alto valor proteico, bajas calorías, desprovistas de azúcares refinados y baja grasa saturada (<7%), adecuados ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), colesterol bajo y suficientes cantidades de fibra (14 g/1.000 Kcal). Los vegetales son las fuentes principales de minerales, de vitaminas y de fibras. La dieta baja en carbohidratos cetogénicos (LCKD) mejora el estado diabético y ayuda a estabilizar la hiperglucemia. (VASUDEVAN, D. & otros. 2011)
- **Agentes hipoglucemiantes orales:** se necesitan antidiabéticos cuando la dieta y el ejercicio no proporcionan resultados satisfactorios. Son principalmente sulfonilurea y biguanidas. Utilizados principalmente en la DM2. (VASUDEVAN, D. & otros. 2011)
- **Inyección de insulina:** droga de opción para la DM1 y en la DM2 donde las drogas orales no son suficientes. (VASUDEVAN, D. & otros. 2011)

Estos fármacos actúan por diferentes mecanismos para controlar el nivel de glucosa en la sangre. (KHAN, V. & otros. 2012)

1.1.10.1. Antidiabéticos Orales

La diabetes mellitus tipo 2 (o no insulino dependiente) se caracteriza por una escasa producción de insulina o por la resistencia a la misma, y por ser más frecuente en personas mayores. Se ha clasificado como una diabetes leve, por lo que se ha tratado menos agresivamente que la de tipo 1, pero debe ser considerada una enfermedad seria

debido a las complicaciones macro- y microvasculares que pueden desarrollarse. (AGENCIA PARA LA INVESTIGACIÓN Y CALIDAD, 2011)

Las claves del tratamiento son la dieta, evitar el sobrepeso, el ejercicio físico y otros cambios en el estilo de vida, aunque cuando no es suficiente con ello es necesario recurrir a medidas farmacológicas. Actualmente, disponemos de 5 grupos de fármacos antidiabéticos que pueden utilizarse solos o asociados a otros antidiabéticos orales o la insulina. (MANZELLA, D. 2008)

- Del grupo de las biguanidas (BG) se encuentra comercializada metformina. Su mecanismo de acción principal consiste en el aumento de la captación periférica de la glucosa.
- Las sulfonilureas (SU) (clorpropamida, glibenclamida, gliclazida, glimepirida, glipizida, gliquidona y glisentida) actúan estimulando la secreción de insulina y, a largo plazo, aumentan la respuesta metabólica a la insulina circulante.
- Las meglitinidas (MG) (nateglinida y repaglinida) actúan estimulando la secreción de insulina de la célula pancreática de modo similar a las SU, aunque producen menos desensibilización de las células betapancreáticas.
- Los inhibidores de la alfa-glucosidasa (IAG) (miglitol y acarbosa) controlan el proceso de absorción de los hidratos de carbono de la dieta, al impedir el catabolismo de los disacáridos y glúcidos complejos. También tiene este mecanismo de interferencia en la absorción la goma guar, que actúa aumentando la viscosidad del bolo intestinal, con la consiguiente disminución de la absorción de los glúcidos.
- Las tiazolidindionas (TZ) (pioglitazona y rosiglitazona) producen un aumento de la sensibilidad a la insulina de las células del hígado, del tejido adiposo y del músculo esquelético, con lo que aumentan el transporte de glucosa al interior de las células de estos tejidos y disminuyen la producción hepática de glucosa. (MANZELLA, D. 2008)

a. ANTIDIABÉTICOS ORALES ESENCIALES (ADOE) DISPONIBLES EN EL ECUADOR.

TABLA No 2. HIPOGLICEMIANTES ORALES (ADOE).

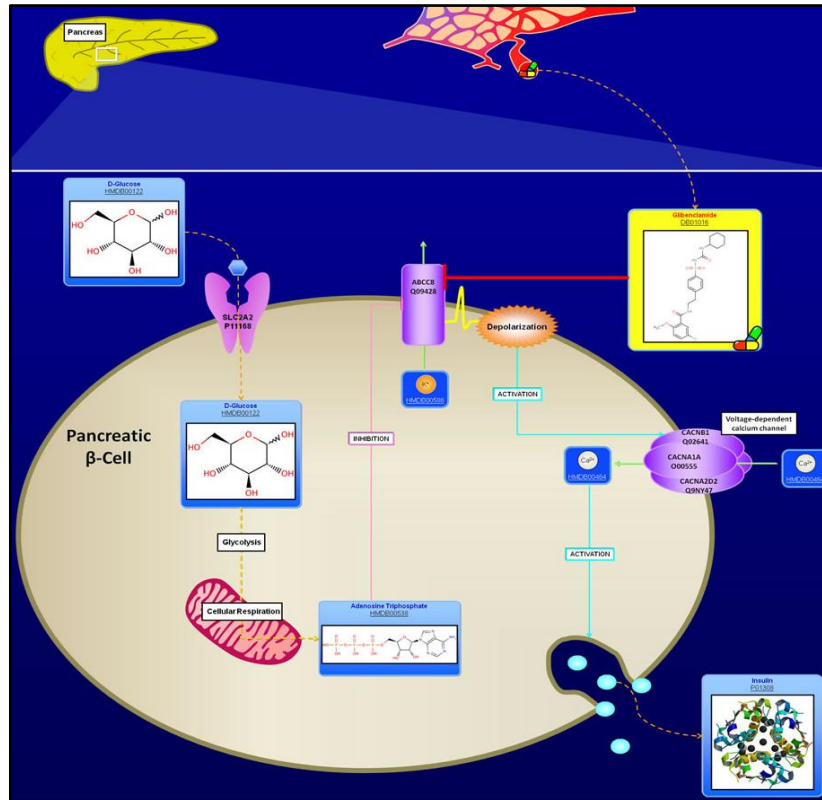
GRUPO	ADOE	FORMA		VÍA DE ADMINISTRACIÓN
		FARMACÉUTICA	CONCENTRACIÓN	
Biguanidas	Metformina	Sólido oral	500 mg – 1000 mg	Oral
Sulfonilureas	Glibenclamida	Sólido oral	5 mg	Oral
Combinaciones de ADOE	Metformina + Glibenclamida	Sólido oral	(250 mg – 500 mg) + (1.25 mg – 5 mg)	Oral

FUENTE: Cuadro Nacional de medicamentos Básicos 9na. Edición

1.1.10.1.1. SULFONILUREAS (SU)

MECANISMO DE ACCIÓN

Las SU estimulan la liberación de insulina de las células β del páncreas al disminuir el flujo de ion potasio y produciendo una despolarización de la membrana, con lo cual aumenta la concentración del calcio citosólico y por consiguiente la liberación de gránulos de insulina. Esta clase de fármacos reducen la hemoglobina glicosilada (HgA1c) en un 0.8 - 2.0% y los NGS después de las comidas. Se recomiendan no utilizarlos en caso de problemas renales y sobrepeso, pueden ser utilizados en monoterapia o en combinación excepto con las meglitinidas que también son secretoras de insulina. (GRUPO DE ESTUDIO DE EDUCACIÓN SOBRE LA DIABETES, 2007)



FUENTE: (BANCO DE MEDICAMENTOS. 2013)

FIGURA No 4. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA GLIBENCLAMIDA Y OTROS AGENTES EN LA LIBERACIÓN DE INSULINA DESDE LAS CÉLULAS β PANCREÁTICAS

FARMACOCINÉTICA

Las SU se absorben bien por vía oral, alcanzando concentraciones plasmáticas máximas en 2-4 horas, la albumina es la proteína plasmática con la se unen la mayoría de las SU (90-99 %) lo que implica generar interacciones con otros fármacos, exceptuando a los de segunda generación como la Glibenclamida que implican menos riesgo de interacciones por su unión en lugares no iónicos de las proteínas plasmáticas. Por su corta semivida y un efecto hipoglucemiante largo (12-24 horas), permiten una sola administración al día, a continuación se indica la dosis, vía de eliminación de las SU. (LORENZO, P. & otros. 2008; BANCO DE MEDICAMENTOS. 2013)

TABLA No 3. FARMACOCINÉTICA DE LAS SULFONILUREAS DE PRIMERA Y SEGUNDA GENERACIÓN.

Sulfonilureas	Dosis diaria (mg)	Duración de la acción^a	Actividad de los metabolitos	Vía de eliminación
Primera generación				
Clorpropamida	100-500	Largo	Activo	Orina > 90 %
Talbutamida ^b	500-2000	Corto	Inactivo	Orina ≈100 %
Segunda generación				
Glibenclamida	2.5-15	Intermedio a largo	Activo	Bilis ≈50 %
Glimepirida	1-6	Intermedio	Activo	Orina ≈80 %
Glipizida	2.5-20	Corto a intermedio	Inactivo	Orina ≈70 %
Gliquidona	15-180	Corto a intermedio	Inactivo	Bilis ≈95 %
Gliclazida	40-320	Intermedio	Inactivo	Orina ≈65 %

a largo > 24h; intermedio 12-24h; corto <12 h.

b debe tomarse inmediatamente antes de las comidas.

FUENTE: (KRENTZ, A., BAILEY, C.2005)

EFFECTOS SECUNDARIOS

La hipoglicemia es el efecto adverso más común y grave de las SU (2-5 %), estos eventos son más probables en aquellos que presentan acciones prolongadas tales como la glibenclamida y la talbutamida. Otras afecciones pueden acompañar a la hipoglucemia como dermatitis exfoliativa, erupción cutánea, eritema nodoso, náuseas vómitos y epigastralgia. (CENTRO MÉDICO DE BOULDER. 2010)

1.1.11. VÍAS DEL METABOLISMO ENERGÉTICO.

Los hidratos de carbono al igual que los lípidos constituyen la principal fuente y reserva de energía en los seres vivos, se absorben en forma de azúcares simples (como la glucosa) en el aparato digestivo. Productos como el dióxido de carbono y agua se

excretan, el ATP formado cumple papel fundamental en la respiración celular, como fuente de energía. (YEONG, M. 2010)

La glucosa se mantiene a concentraciones aproximadamente constantes en la sangre, pero cuando las necesidades energéticas varían siguen dos procesos diferentes: ruta anabólica, cuando los requerimientos energéticos no son muy necesarios la glucosa se almacena en forma de glucógeno principalmente en el hígado y músculos, proceso diferente sigue cuando requiere mayor aporte de energía, entonces la glucosa sigue un proceso catabólico para proporcionar energía necesaria para la respiración celular. (BOUCHÉ, C. & otros. 2004; TEIJÓN, J. & otros. 2006)

Entre las trascendentales y más importantes se encuentran:

- **Glucólisis O Via De Embden - Meyerhof:** Oxidación de la glucosa o glucógeno hasta ácido pirúvico o láctico
- **Glucogénesis:** Síntesis del glucógeno a partir de la glucosa
- **Glucogenólisis:** Desdoblamiento del glucógeno hasta glucosa en el hígado y en el músculo, los ácidos pirúvico y láctico respectivamente.
- **Ciclo De Krebs:** Vía final de oxidación de los hidratos de carbono, grasas y proteínas hasta obtener CO₂ y H₂O.
- **Uso De Las Hexosas Monofosfatos (Shunt):** Oxidación directa de la glucosa, formación de una serie de azúcares intermediarios especialmente pentosas.
- **Gluconeogénesis:** Es la formación de glucosa o glucógeno a partir de fuentes que no son carbohidratos. (YEONG, M. 2010)

1.1.11.1. Metabolismo Glucolítico

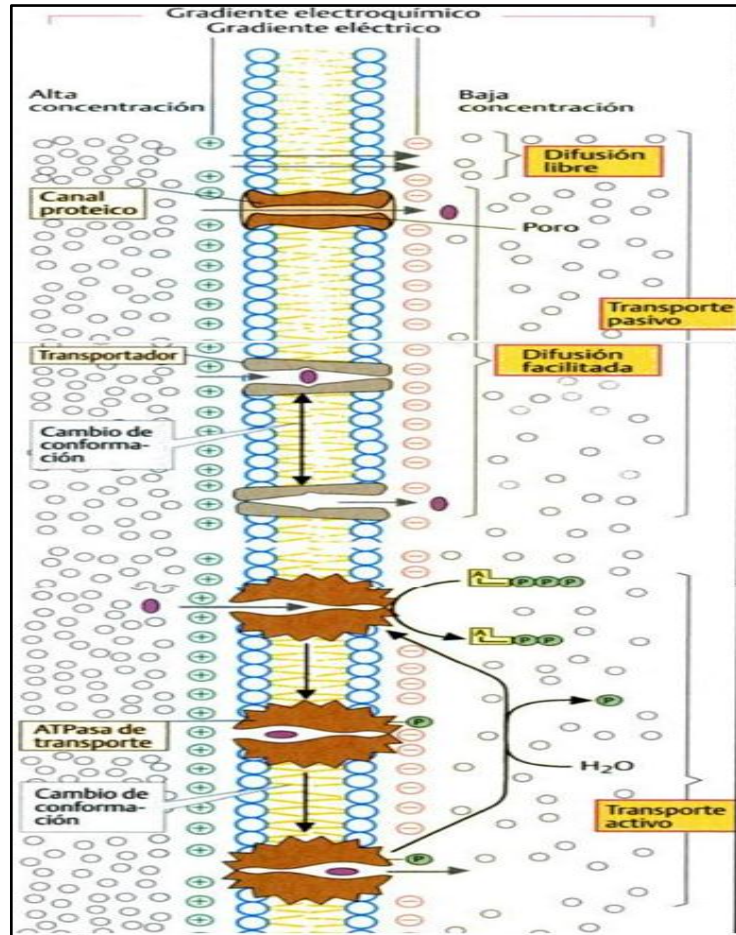
La glucólisis es una serie de procesos y reacciones metabólicas que ocurren en el citosol de todas las células de nuestro organismo, degrada en condiciones aerobia o anaerobia oxidativa la glucosa hasta piruvato y/o lactato, en los eritrocitos, SNC, en la medula

renal, en el musculo esquelético y cardíaco. (SILBERNAGL, S., DESPOPOULOS, A. 2009; YEONG, M. 2010)

INGRESO DE LA GLUCOSA A LA CÉLULA.

La glucosa para difundir directamente en la célula hace uso de dos mecanismos específicos de transporte: Difusión facilitada, mediado por transportadores denominados GLUT-1 hasta la GLUT-5 a favor de una gradiente de concentración, el segundo mecanismo cotransportador de sodio-glucosa implica gasto energético pues la difusión de la glucosa se da en contra de una gradiente de concentración (propio de las células epiteliales del intestino, túbulos renales y en el plexo coroideo). (YEONG, M. 2010)

Una vez dentro la glucosa sufre un fosforilación irreversible, para mantener la gradiente de concentración y para que la glucosa no atraviese la membrana celular. (BOUCHÉ, C. & otros. 2004)



FUENTE: (KOOLMAN, J., RÖHM, K. 2004)

FIGURA No 5. MECANISMOS DE TRANSPORTE DE GLUCOSA A TRAVÉS DE UNA MEMBRANA

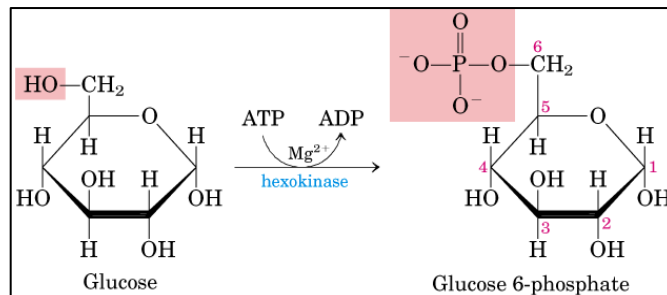
GLUCÓLISIS

La glucólisis es el primer paso por el cual la glucosa inicia su descomposición en componentes más simples previo a la generación de energía. Es un proceso donde se desmiembran átomos de carbono y organizativo acoplado, cada reacción es catalizada por una enzima específica, que persigue transformar la glucosa en piruvato y la producción conjunta de ATP, NADH y productos intermedios para otras vías. (YEONG, M. 2010)

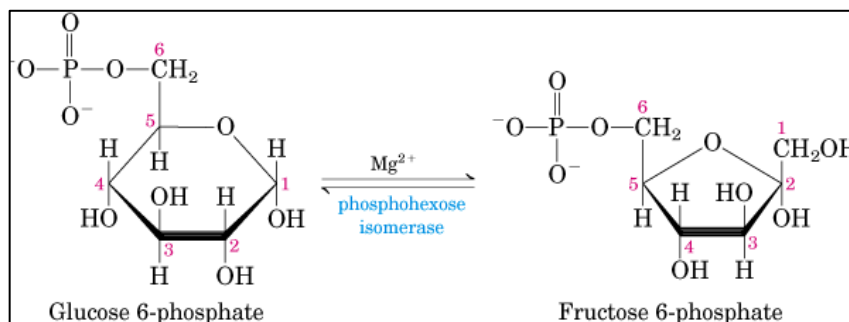
ETAPAS DE LA GLUCÓLISIS

FASE I: ACÚMULO DE ENERGÍA

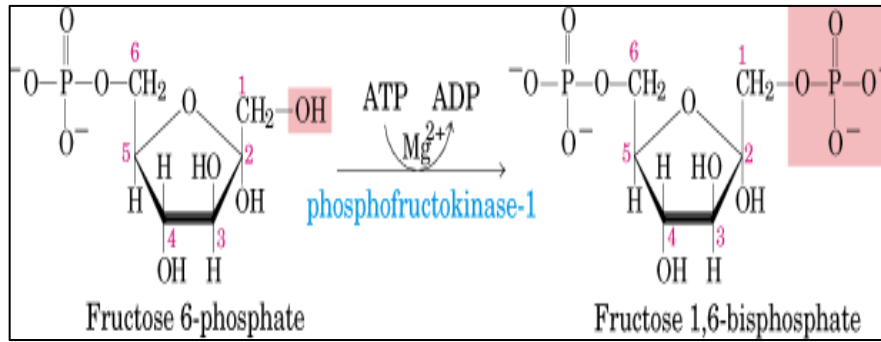
PRIMERA REACCIÓN Fosforilación de la glucosa: reacción irreversible en la que interviene una molécula de ATP y un catalizador hexoquinasa o glucoquinasa, esta última cuando hay exceso de glucosa en sangre. (VASUDEVAN, D. & otros. 2011)



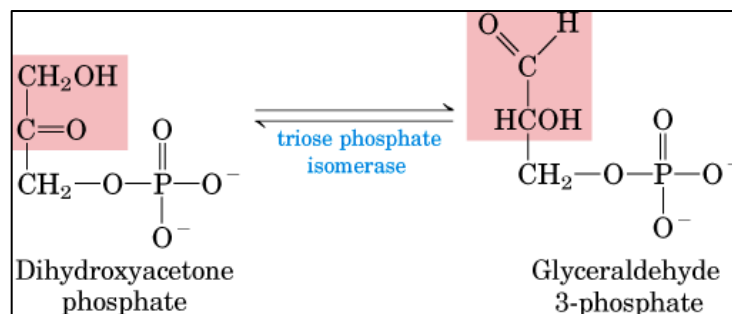
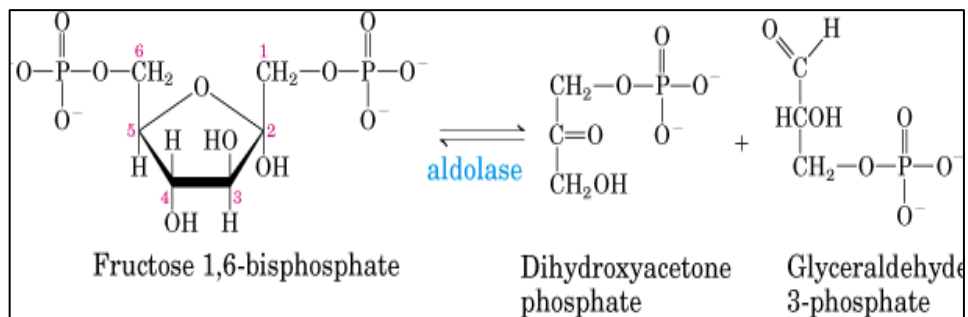
SEGUNDA REACCIÓN Conversión de la glucosa-6-fosfato a fructosa-6-fosfato: reacción de isomerización reversible, catalizada por la Fosfohexosaisomerasa e iones Mn^{+2} y Mg^{+2} . (WILEY, J., SONS. 2006)



TERCERA REACCIÓN Fosforilación de la fructosa-6-fosfato a fructosa-1,6-difosfato: reacción irreversible con intervención de una segunda molécula de ATP y la enzima fosfofructoquinasa, esta reacción es importante para el control de la secuencia glucolítica puesto que la fosfofructoquinasa es una enzima alostérica o regulador. (TEIJÓN, J. & otros. 2006)



CUARTA Y QUINTA REACCIÓN Escisión de la fructosa-1,6-difostato: es una reacción reversible y catalizada por la enzima aldosa, con producción de dos triosas de fofato: el gliceralhído-3-fosfato y la dihidroxiacetona-3-fosfato que convierte reversiblemente en gliceralhído-3-fosfato por la acción de la enzima triosafosfatoisomerasa. Esta reacción tiende hacia la derecha puesto que el gliceralhído-3-fosfato forma parte de la secuencia glucolítica, de aquí en adelante se tienen las moléculas de gliceralhído-3-fosfato por duplicado y todas las reacciones en adelante también por duplicado. (VASUDEVAN, D. & otros. 2011)

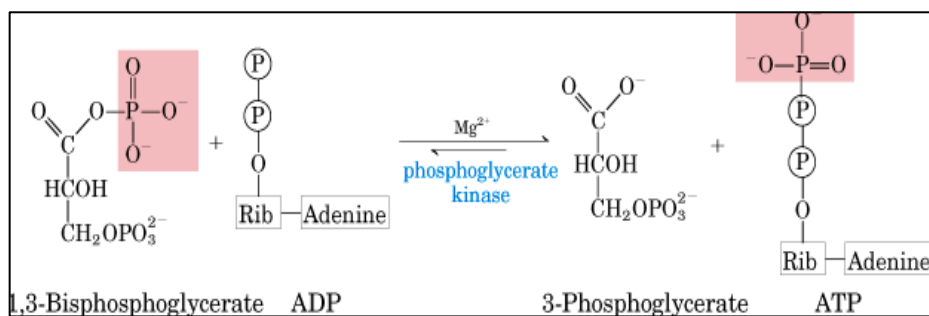


FASE II: GENERACIÓN DE ENERGÍA

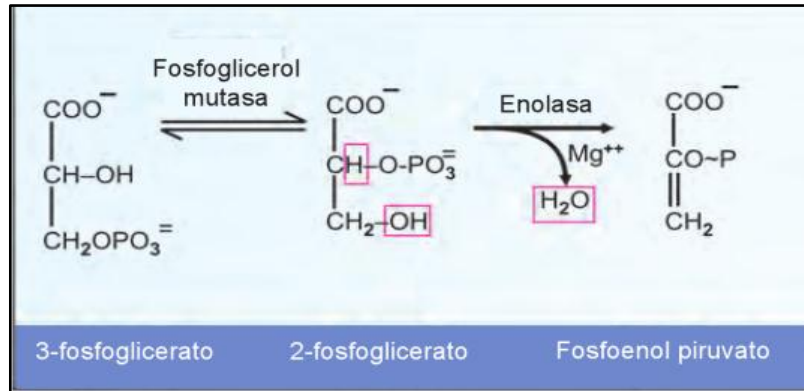
SEXTA REACCIÓN Fosforilación oxidativa del gliceraldehído-3-fosfato: Reacción de tipo inorgánico y catalizada por la gliceraldehído-3-fosfato-deshidrogenasa, para producir 1,3-difosfoglicerato. (VASUDEVAN, D. & otros. 2011)



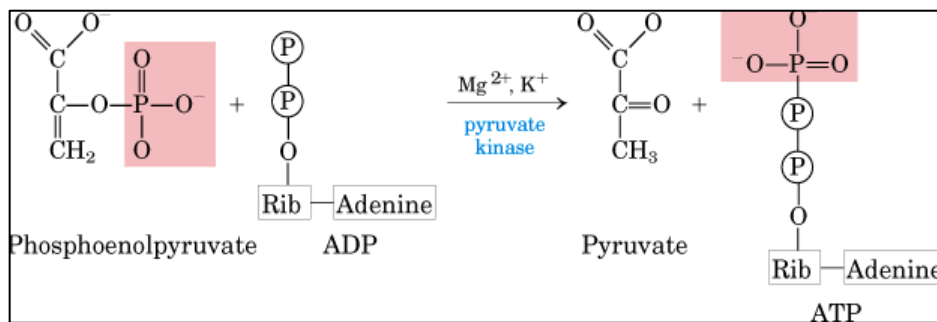
SÉPTIMA REACCIÓN Transferencia del fosforilo desde el 1,3 difosfoglicerato al ADP: Esta reacción es catalizada por la fosfoglicerato-quinasa, que desfosforalisa y forma un grupo carboxilo con formación acoplada de ATP. (WILEY, J., SONS. 2006)



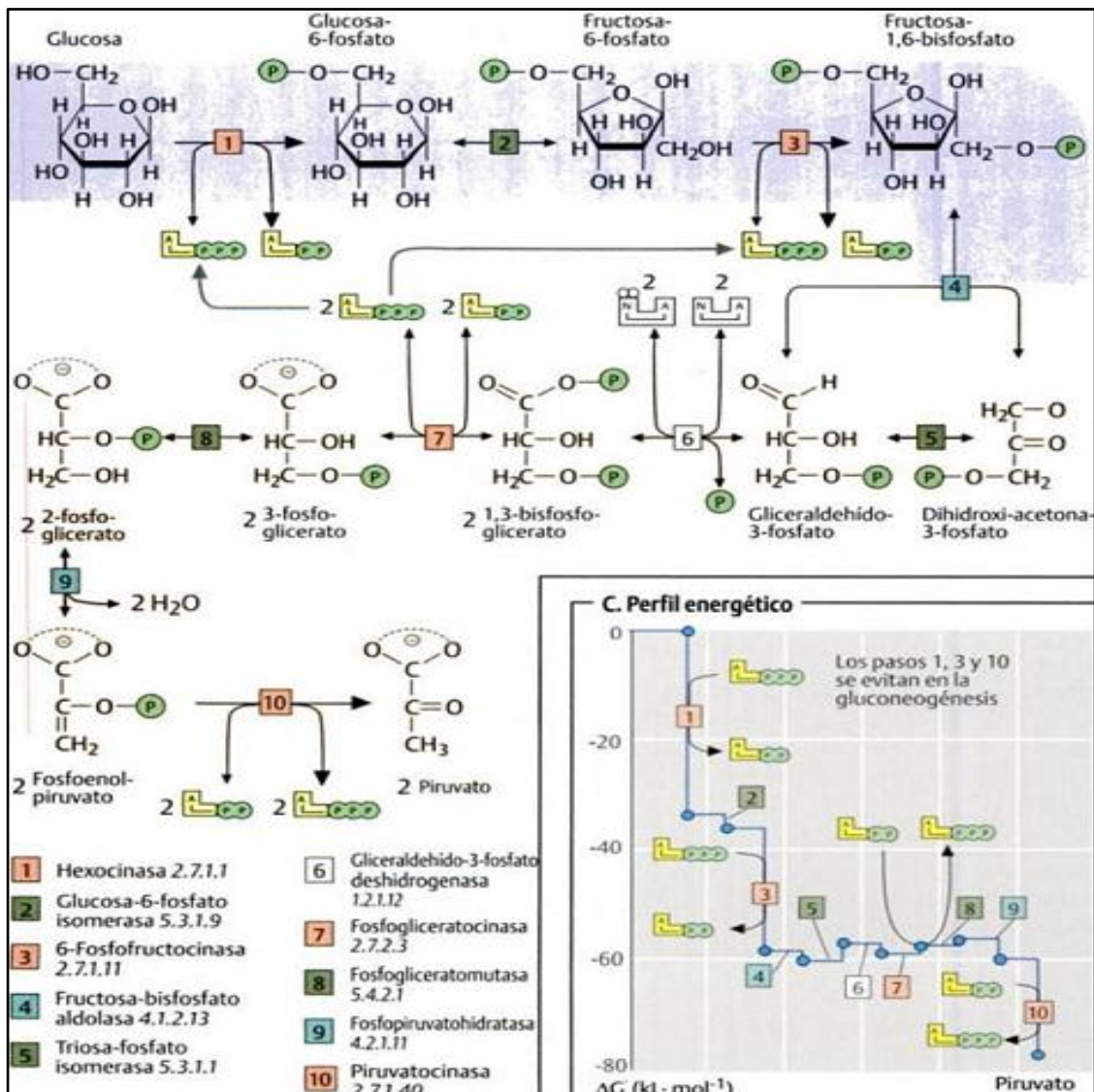
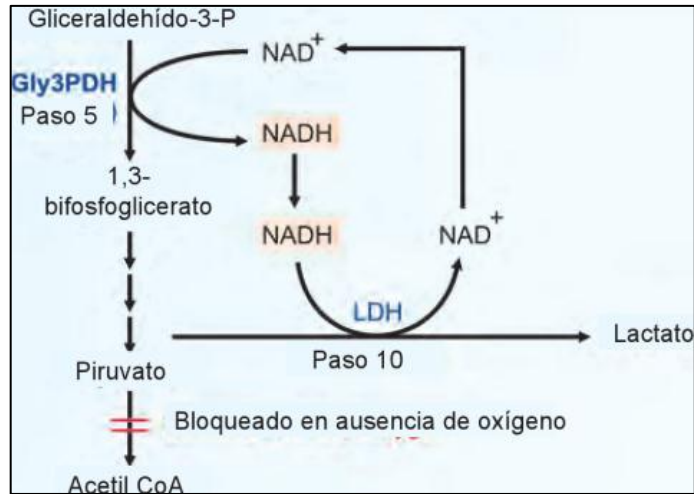
OCTAVA REACCIÓN Conversión del 3-fosfoglicerato en 2-fosfoglicerato: La reacción está catalizada por la fosfogliceromutasa que transfiere el grupo fosfato, seguida de una reacción de deshidratación para finalmente formar fosfoenol piruvato. (WILEY, J., SONS. 2006)



NOVENA REACCIÓN Transferencia del fosfato del fosfoenolpiruvato para el ADP: Esta reacción promueve la formación del piruvato libre, es catalizada por la enzima piruvato-cinasa (enzima reguladora). La reacción es altamente exergónica y se muestra irreversible sobre condiciones intracelulares. (TEIJÓN, J. & otros. 2006)



DECIMA REACCIÓN Reducción del piruvato a lactato: En esta etapa el piruvato es reducido hasta lactato por los electrones generados en la fosforilación oxidativa del gliceraldehído-3-fosfato, mismo que son transportados por el NADH. Esta reacción es catalizada por la enzima lactato-deshidrogenasa. El lactato generado puede seguir dos vías; difundirse hasta el medio circundante como excreción o ser recuperado por el hígado para ser convertido a la forma de glucosa sanguínea, cuando la actividad física es vigorosa. (VASUDEVAN, D. & otros. 2011)



FUENTE: (KOOLMAN, J., RÖHM, K. 2004)

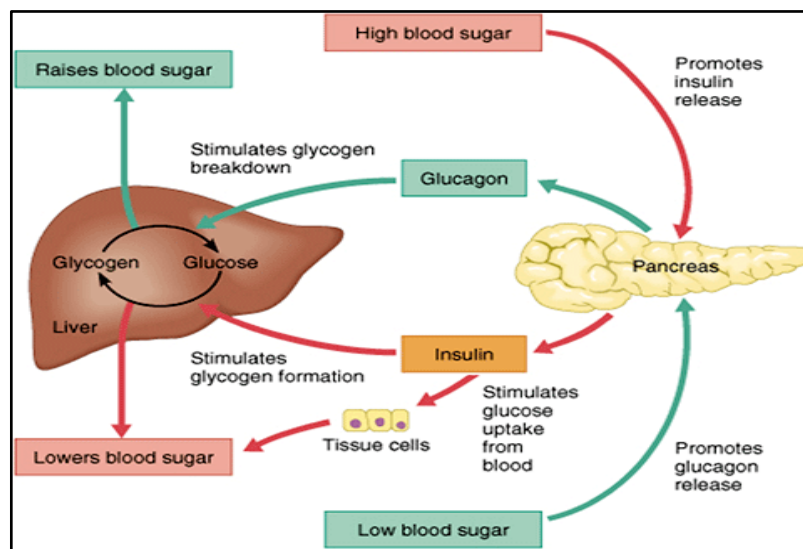
FIGURA No. 6. ESQUEMA GENERAL DE LAS REACCIONES INVOLUCRADAS EN LA GLUCÓLISIS

BALANCE ENERGÉTICO GLOBAL:



1.1.11.2. HOMEOSTASIS METABÓLICA DE LA GLUCOSA

El control hemostático de los NGS (niveles de glucosa sanguínea) depende en gran medida de dos hormonas peptídicas la insulina y el glucagón, dos hormonas no peptídicas adrenalina y el cortisol. Los antagonistas insulina y glucagón son producidas en los islotes de Langerhans de las células pancreáticas, la insulina disminuye el nivel glucémico y el glucagón la incrementa. Estas dos hormonas ajustan sus concentraciones para regular la disponibilidad de glucosa en periodos de ayuno y/o ingestión de alimentos. (FREEMAN, W. & otros. 2005; VASUDEVAN, D. & otros. 2011)



FUENTE: (FISIOLOGIA-11-EDICION, 2011)

FIGURA No 7. MECANISMO DE CONTROL DE GLUCOSA EN SANGRE

Cuando la glucosa está en exceso las células β pancreáticas estimulan la liberación de insulina, misma que estimula el transporte activo de la glucosa, diversos procesos bioquímicos suceden antes de la activación de la vesícula intracelular para liberan múltiples transportadores de glucosa GLUT4 en la superficie celular e incremente el ingreso de la glucosa hasta las células, en consecuencia disminuye la glucemia. Sin

embargo durante este proceso también se ve favorecida la glucogénesis, glucolisis. (FREEMAN, W. & otros. 2005; KOOLMAN, J., RÖHM, K. 2004)

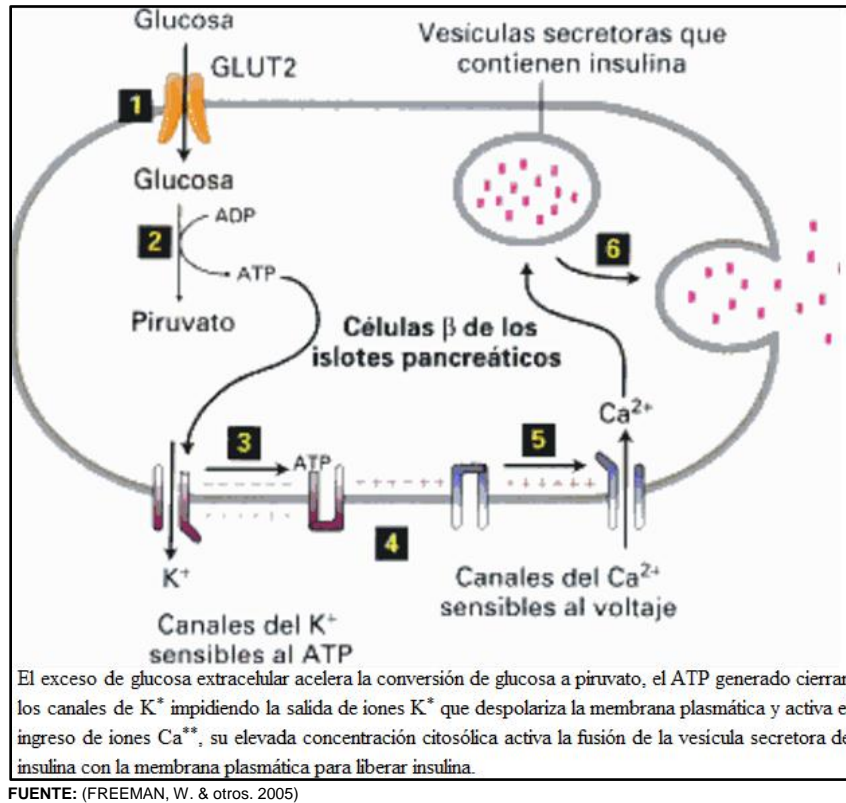


FIGURA No 8. SECRECIÓN DE INSULINA POR CÉLULAS B PANCREÁTICAS EN RESPUESTA A UN DESEQUILIBRIO GLUCÉMICO

En periodos de ayuno las células α pancreáticas segregan glucagón que activan las quinasas intracelulares dependientes de cAMP para inhibir la síntesis de glucógeno y promover la glucogenólisis mediante la formación de glucosa-1-fosfato, que es convertida hasta glucosa por los hepatocitos, elevando así la glucemia. (FREEMAN, W. & otros. 2005; TEIJÓN, J. & otros. 2006)

La adrenalina al igual que el glucagón cubre las necesidades energéticas pero a corto plazo, mientras que el cortisol aumenta la concentración de sustratos energéticos a nivel sanguíneo (glucosa), hepático (Glucógeno) y muscular (proteína). El cortisol se podría decir que actúa como un estimulante de la adrenalina para que realice una acción máxima. (MÜLLER-ESTERL, W. 2008)

1.1.12. MODELOS BIOLÓGICOS PARA ESTUDIOS DE ACTIVIDAD ANTIDIABÉTICA/HIPOGLICEMIANTE DE PRODUCTOS Y EXTRACTOS NATURALES.

Por las semejanzas metabólicas que presentan muchos animales (rata, ratón, primates, perros, conejos, etc.) respecto a las del ser humano, son ampliamente utilizados en el desarrollo de fármacos y productos naturales para tratar esta enfermedad. (URZÚA, Z. 2011)

Para el estudio de la DM muestran marcada importancia por presentar síndromes metabólicos similares a la del ser humano o por la facilidad con la que se les induce la patología, por destrucción de las células β del páncreas (fármacos o agentes químicos) y mediante la dieta (SOA, SOG). Nuevas investigaciones están orientadas a utilizar animales que genéticamente la padecen, con el objetivo de comprender mejor la patogénesis de la DM. (URZÚA, Z. 2011)

La diabetes es estudiada utilizando modelos *in vivo* inicialmente e *in vitro* como complemento para avanzar en el mecanismo de acción de un producto natural. (FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008; MEDINA, D. 2012)

1.1.12.1. MODELOS ANIMALES IN VIVO PARA LA DIABETES MELLITUS

La diabetes puede ser inducida farmacológica, quirúrgica o genéticamente en modelos murinos debido a la disponibilidad de más de 200 cepas puras y a la capacidad de expresar genes específicos de la enfermedad. Los agentes químicos utilizados en estos modelos son el Aloxano (31%) y Estreptozotocina (STZ, 69%); La acción citotóxica de estos agentes diabetogénicos es mediada por especies reactivas al oxígeno, pero sin embargo difieren en su mecanismo de acción. Los agentes químicos más utilizados en la inducción farmacológica son: (MEDINA, D. 2012)

ENSAYO CON ALOXANO

El Aloxano un derivado de la pirimidina en presencia de tilos intracelulares produce especies reactivas al oxígeno dando como producto ácido hialurónico que destruye selectivamente los islotes β del páncreas, por generación de radicales superóxidos que generan de una serie de cambios estructurales en las células pancreáticas lo que conlleva a la muerte celular y la consecuente hiperglicemia. La dosis diabetogénica de aloxano en ratas es de 65 mg / kg, pero cuando se administra por vía intraperitoneal (ip), o subcutánea (sc) su dosis efectiva debe ser mayor, por ejemplo, una dosis intraperitoneal por debajo de 150 mg / kg puede ser insuficiente para la inducción de la diabetes en esta especie animal. En ratones, las dosis varían entre 100-200 mg / kg por vía intravenosa (iv). (FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008; JARA, K. 2009; MEDINA, D. 2012)

Otros modelos in vivo menos utilizados comprenden intervenciones quirúrgicas del páncreas, por lo complejo del método y el alto conocimiento, vuelve a este ensayo poco rentable. La ingeniería genética también se muestra como una alternativa para el desarrollo de modelos animales transgénicos (*Knock-out*), que desarrollan diabetes por manipulación genética como el ratón ob/ob. (FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008; URZÚA, Z. 2011)

ENSAYO CON ESTREPTOZOTOCINA (STZ)

La estreptozocina (STZ) es un compuesto nitrosurea-glucosado natural aislado de *Streptomyces achromogenes*, utilizado como un potente agente diabetogénico que causa DM en animales de laboratorio, mediante la producción estimulada de óxido nítrico. La STZ destruye de forma selectiva las células productoras de insulina por medio de inducción de necrosis. (FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008; JARA, K. 2009)

Su toxicidad se relaciona con a la similitud de su estructura química (STZ) con la glucosa. Esto permite que la STZ entre a la célula pancreática vía transportadores de glucosa de baja afinidad GLUT2 presentes en la membrana plasmática, causando alquilación del DNA lo que conduce a la destrucción de las células β de los islotes de

Langerhans del páncreas. La dosis más común para inducir la DM1 en ratas es 60mg/kg; como única dosis puede producir en las ratas un modelo experimental de la DM2. Sin embargo la STZ puede resultar toxico no solo para el páncreas sino que además puede causar daño renal, estrés oxidativo, inflamación y disfunción endotelial. (FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008; JARA, K. 2009; MEDINA, D. 2012)

SOBRECARGA ORAL DE CARBOHIDRATOS

Con el fin de evaluar el efecto hipoglicemiante de extractos, productos naturales, fracciones o compuestos puros obtenidos del material vegetal o botánico en animales normoglicémicos. La sobrecarga oral de carbohidratos (glucosa, sacarosa, almidón y maltosa) permite la inducción transitoria de la hiperglicemia (2 g/Kg) y evaluar los efectos o modificaciones que producen la administración oral de productos y/o extractos naturales a la prueba oral de tolerancia a la glucosa (OGTT). Los niveles de glucosa en sangre (NGS) son evaluados con respecto a la administración del carbohidrato, a las horas 0 (antes de inducir la hiperglicemia transitoria.), 1, 2, y 4. (FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008)

DIAGNÓSTICO EN RATAS

Estudios previos, se ha reportado que niveles de glucosa en sangre (NGS) ≥ 250 mg/dL sugieren la presencia de hiperglucemia severa, al no existir una cifra certera es oportuno establecer parámetros que permitan determinar la normalidad y la existencia de hiperglucemia (diabetes experimental). (BERNAL, C. 2012; MEDINA, D. 2012)

En el modelo de sobrecarga oral de carbohidratos se evalúa el posible efecto hipoglicemiante por la administración oral de los extractos, fracciones o compuestos puros obtenidos del material vegetal en animales normoglicémicos; a los cuales se les ha inducido una hiperglicemia transitoria mediante una sobrecarga oral de carbohidratos como glucosa, sacarosa, maltosa y almidón (2000 mg/kg). (BERNAL, C. 2012)

El modelo busca evaluar la modificación causada por la administración oral de productos naturales, a los resultados típicos que se obtienen mediante una prueba oral de tolerancia a la glucosa (OGTT). Los niveles de glucosa en sangre son evaluados con respecto a la administración del carbohidrato, a las horas 0 (antes de inducir la hiperglicemia transitoria.), 1, 2, 3 y 4. (MEDINA, D. 2012)

1.1.12.2. ESTUDIOS IN VITRO

Los estudios *in vitro*, es utilizada como complemento de los hallazgos obtenidos en los modelos *in vivo*, de tal forma de profundizar y explicar el mecanismo de acción de un producto natural; secreción de insulina, captación de glucosa por los órganos diana, y la absorción de nutrientes. (FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008)

Estudios *in vitro* son utilizados para evaluar la secreción de insulina (células pancreáticas y secretoras de insulina), captación de glucosa y retardar la hiperglicemia postprandial por inhibición de enzimas como la α -amilasa y la α -glucosidasa. (FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008)

1.2. ASPECTOS BOTÁNICOS

1.2.1. FAMILIA SOLANACEAE

Dentro de las angiospermas las solanaceae es una de las familias ampliamente distribuidas con cerca de 4000 especies, las regiones tropicales son las que presentan mayor riqueza taxonómica, encontrándose cerca de cuarenta a cincuenta géneros que son edénicos propios de la zona. (DOUGLAS, A. 2011)

1.2.2. GENERO *Physalis*

En en las zonas tropicales y subtropicales de América latina al género *Physalis* se la incluyen cerca de 120 especies. El nombre *Physalis* viene del griego "Physsa" que

significa burbuja o vejiga y tiene relación directa con la forma en que los cálices rodean o envuelven al fruto. (DOUGLAS, A. 2011)

Se conoce cerca de 12 especies para el género *Physalis* con valor etnobotánico, nutracéutico y medicinal. Como fuente alimentaria destaca los frutos de *P. philadelphica*, *P. peruviana*, *P. grisea*, *P. chenopodifolia*, *P. coztomatl* y *P. angulata*. Con interés farmacológico y terapéutico destaca *P. alkekengi*, *P. alkekengi* var. *franchetii*, *P. angulata*, *P. ixocarpa*, *P. lanifolia*, *P. mínima*, *P. peruviana*, *P. phyladelphia*, *P. pubescens* y *P. viscosa*, por su alto contenido en esteroides denominados vitaesteróides de tipo vitanólidos, vitafisalininas, acnistinas, ixocarbalactonas, perulactonas y fisalininas. (DOUGLAS, A. 2011)

1.2.3. *Physalis peruviana* (Chapuca)



FOTOGRAFÍA No 1: *PHYSALIS PERUVIANA*

1.2.3.1. Clasificación Científica

REINO: Plantae

SUBREINO: Traqueobionta (plantas vasculares)

DIVISIÓN: Embriophyta

CLASE: Dicotyledoneae

SUBCLASE: Methachlamydeae

ORDEN: Tubiflorales

FAMILIA: Solanales

GÉNERO: *Physalis*

ESPECIE: *peruviana*

NOMBRE BINOMIAL: *Physalis peruviana*

1.2.3.2. Nombres Comunes

Sudamérica: Uvilla, Chapuca, Awei llamantu, Capulí, Motojobobo embolsado, Ruru chinchi chinchi, Uchuva, Alquenque, Buchuvba, Guachuvo vejigón, Guchuba, Guchero, Tomate, Vegigón, Aguaymanto, Copa capolí, Agua y mate, Bolsa de amor, Cereza del Perú, Cuchuva, Miltomate, Motobobo, Embolsado, Sacabuche, Cereza de judas, Yuyo de hojas, Cereza de invierno, Cereza de la tierra, Tomate de cáscara, Aguaymato, Tomate de bolsa, Huevo de sapo, Topotopo. (FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008)

Inglés: Golden berry, Cape gooseberry (grosella del Cabo), peruvian grandcherry (cereza del Perú), grauncherry. (TOAPANTA, S. 2011)

1.2.3.3. Descripción morfológica y características botánicas.

Es una planta herbácea que puede llegar a medir hasta un metro de alto, pubescentes, que prefiere los rastrojos y lugares más o menos sombreados. Sus hojas son alternas, pecioladas, pubescentes y cilíndricas, que van desde la base del tallo hasta el ápice. Tiene flores acampanadas de color amarillo, pequeñas, axilares y hermafroditas. Sus frutos son globosos u ovoides, que miden hasta 3 cm de diámetro y un peso de 4-10 gramos cubiertos por un cáliz que los protege de insectos, aves, patógenos y condiciones climáticas extremas. La raíz puede llegar hasta los 80 cm de profundidad, pero frecuentemente por sus características fibrosas se desarrollan de 10-15 cm de

profundidad encontrarse de forma superficial al no soportar cambios climáticos extremos. (BERNAL, C. 2012; FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008; ARAUJO, G. 2009; YERBERITO, 2009)

1.2.3.4. Hábitat

P. peruviana es originaria de los andes Sudamericanos, se encuentra en estado silvestre o asilvestrado en los pisos altitudinales intermedios en zonas tropicales y subtropicales entre los 1500 y 3000 m.s.n.m. En Ecuador prefieren zonas con alturas entre 1800 y 2800 m.s.n.m., en la región interandina, aunque también se desarrollan bien a nivel del mar 72 m.s.n.m. (TOAPANTA, S. 201; DOSTER, N. & otros. 2011)

1.2.3.5. Uso Etnobotánico Y Ancestral

Popularmente los frutos han sido utilizados en el tratamiento y prevención de pterigios, expectorante, diurético y vermífugo, hipoglucemiante, albuminuria, dolor de amígdalas y de oído, y para tratar la tosferina. En infusión las flores han sido utilizadas para el tratamiento de la tos rebelde. A las hojas se les atribuyen propiedades diuréticas, antiséptico, cicatrizante de heridas, antiespasmódicas, antiasmáticas y se emplean solas en el tratamiento de la litiasis renal, la gota, la tuberculosis y la depresión. (BERNAL, C. 2012; FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008)

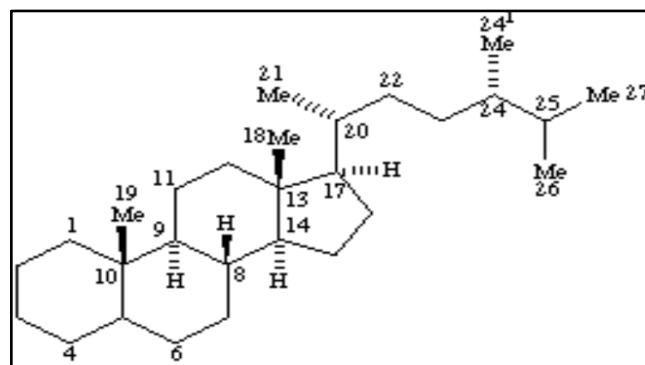
Frescos o secos, como pomadas o cataplasma las hojas y tallo en combinación son usados para el alivio de contusiones, torceduras y dislocaciones óseas. Además las hojas y frutos son utilizadas para tratar las afecciones digestivas, bilis, inflamación del estómago, calvicie, caspa, presión arterial alta, diabetes y vista. (FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008; YERBERITO, 2009)

Maceraciones alcohólicas de la planta entera se les atribuye las propiedades diuréticas, antilitiásico y antipirético.

1.2.3.6. Composición Química Y Actividad Farmacológica Del Genero *Physalis*

Estudios fitoquímicos realizados al género *physalis* reportan la existencia de varios compuestos activos con actividad farmacológica: flavonoides, alcaloides, triterpenos, ceramidas, fenilpropanoides, glicosidos, vitaminas (α , β y δ -tocoferol, vitamina K1, β -Caroteno y calisteginas), ácidos grasos y diferentes esteroides. (DOUGLAS, A. 2011)

Múltiples investigaciones realizadas desde 1930 hasta el 2010, identifican a los compuestos citados anteriormente, pero los que despiertan mayor interés son los witaesteroides, un grupo de lactonas esteroidales productoras de ergostano. (FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008)



FUENTE: FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008

FIGURA No 9. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL ERGOSTANO

En el ergostano el carbono 26 se encuentra oxidado formando una δ lactona, razón por la cual los witaesteroides tienen la capacidad de generar múltiples compuestos entre los que destacan los witanólidos, vitafisalinas, acnistinas, ixocarpalactonas, perulactonas e fisalinas. La mayoría de estos compuestos se encuentran en forma más explícita en especies de la familia solanaceae, en la siguiente tabla se exponen algunos compuestos identificados en cada parte de la planta. (DOUGLAS, A. 2011)

TABLA No 4. COMPUESTOS QUÍMICOS IDENTIFICADOS EN *P. PERUVIANA* DESDE 1930 HASTA EL 2010

PARTE DE LA PLANTA	TIPO DE COMPUESTO
Hojas	Alcaloides
	Witanólidos
	Flavonoides
Cálices	Witanólidos
	Vitaminas
	Glúcidos
Fruto	Witanólidos
	Alcaloides
	Esteres
Raíz	Alcaloides
	Witanólidos
	Alcaloides
Planta entera	Witanólidos
	Flavonoides

FUENTE: (FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008)

Diversos estudios reportados demuestran que la *P. peruviana* presenta principalmente actividad antiinflamatoria, diurética, antioxidante, antidiabética/hipoglicemiante y anticáncer/citotóxica. Esta última asociada directamente a witanólidos, compuestos muy comunes en esta planta, a continuación se presentan algunos estudios de actividad farmacológica evidenciada. (FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008)

TABLA No 5. ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA REPORTADA PARA *Physalis peruviana*

PARTE DE LA PLANTA	ACTIVIDAD REPORTADA	EXTRACTO, FRACCIÓN O METABOLITO
Planta entera	Antihepatoma	Ex. Etanólico
	Inducción de apoptosis en células humanas, antitumoral	Ex. Etanólico
	Antioxidante	Ex. Etanólico
Hojas	Antiinflamatoria y antioxidante	Ex. Etanólico
	Antihepatotóxica	Ex. Acuoso
	Apoptosis en células cancerígenas	Ex. No reportado
Partes aéreas	Citotóxica contra células cancerígenas (pulmón, mama e hígado)	Ex. Etanólico (witanólidos)
Cálices	Antiinflamatoria	Fracción no reportada
Frutos	Atimicrobiana	Jugo de pulpa de frutos
	Hipoglicemiante, antioxidante	Fruto entero, Ex. Hidroalcoholico
	Antidiabética	Extracto
	Antiinflamatoria	Jugo de frutos

FUENTE: (FRODE, T., MEDEIROS, Y. 2008)

1.3. ANÁLISIS QUÍMICO Y CONTROL DE CALIDAD DE PLANTAS MEDICINALES (DROGA VEGETAL)

1.3.1. OBTENCIÓN DE DROGAS Y PRINCIPIOS ACTIVOS

La droga vegetal es considerada como un sistema complejo en el que se puede encontrar múltiples compuestos de mayor o menor relevancia farmacológica, para lo cual es

imprescindible el uso de técnicas extractivas para la obtención de extractos o principios activos de una droga o de un precursor de origen natural. (OSORIO, E. 2009)

1.3.1.1. MÉTODOS EXTRACTIVOS A PARTIR DE LA DROGA

PROCESO DE EXTRACCIÓN

La extracción es el primer paso para el análisis de plantas es necesario extraer los componentes químicos deseados para su posterior separación y caracterización, el funcionamiento básico para un proceso extractivo en plantas incluye los siguientes pasos. (ESCALONA, J. 2011)

- Pre-lavado
- Secado y molienda para obtener una muestra homogénea.
- Selección del solvente: apolares (n-hexano, cloroformo etc.), medianamente polares (alcoholes, acetato de etilo, diclorometano etc.) y polares (agua).
- Elección del método de extracción: Maceración, percolación, extractor Soxhlet, sublimación, extracción asistida por microondas o por ultrasonido, por destilación a vapor, entre otros. (ESCALONA, J. 2011; SASIDHARAN, S. & otros. 2011)

TABLA No 6. DISOLVENTES UTILIZADOS PARA LA EXTRACCIÓN DEL COMPONENTE ACTIVO.

SOLVENTE	COMPUESTO QUÍMICO AISLADO O EXTRAÍDO
Agua	Antocianinas, almidón, taninos, saponinas, terpenoides, polipeptidos y lectinas
Etanol	Taninos, polifenoles, poliacetilenos, flavonoles, terpenoides, esterolems y alcaloides
Metanol	Antocianinas, terpenoides, saponinas, taninos, xantoxilina, totarol, quasinoideos, lactonas, flavonas, fenoles y polifenoles.
Cloroformo	Terpenos y flavonoides
Éter	Alcaloides, terpenos, cumarinas y ácidos grasos
Acetona	Fenoles y flavonoles.

FUENTE: (TIWARI, P. & otros. 2011)

Para lograr un buen proceso extractivo y mediante el cual nos permita obtener extractos de calidad y garantizar que en ellos se encuentren uniformemente aislados todos los principios activos de drogas vegetales. La elección del solvente apropiado es importante para solubilizar los principios activos, el solvente permitirá la transferencia de principios activos presentes en la droga. Una vez obtenido el extracto líquido se puede concentrar para eliminar la mayor o menor cantidad de disolvente. Para que la extracción se lleve a cabo correctamente hay que tener en cuenta diversos factores. (OSORIO, E. 2009)

- Características de la droga
- Finalidad del extracto.
- Naturaleza del solvente
- El aumento de temperatura aumenta la solubilidad de principios activos favoreciendo la extracción y/o degradación de los mismos.
- Tiempo de contacto entre la droga y el disolvente: característica de la droga vegetal (dureza, grado de división) y de la naturaleza de los principios activos (volátiles, hidrolizables, oxidables, entre otros). (OSORIO, E. 2009)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en:

- Herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador (PUCE)
- Laboratorio de Fitoquímica y Análisis Instrumental de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Laboratorio de patología SOLCA Riobamba.

2.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1. RECURSOS HUMANOS

El presente trabajo fue llevado a cabo por Luis Franklin Llumiguano Taris, estudiante de la carrera de Bioquímica y Farmacia contando con la asesoría de la Doctora Susana Abdo y el diseño farmacológico Bqf. German Toapanta.

2.2.2. RECURSOS MATERIALES

2.2.2.1. Materiales De Laboratorio Químico Y Farmacológico

- Vasos de precipitación de 50, 250 y 1000 ml
- Trípodes
- Capsula de porcelana
- Crisoles
- Embudos
- Mortero con pistilo
- Probetas de 100 ml y 500 ml
- Balones esmerilados de 250, 1000 ml
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Pipetas de 1, 5, 10 ml
- Papel filtro
- Termómetro 360 °C
- Reverbero
- Malla
- Frascos ámbar de 30, 50 y 500 ml
- Paquete de adhesivos
- Jeringuillas de insulina
- Pera de succión
- Picnómetros
- Picetas
- Cámara para éter
- Cánula
- Balones aforados de 10, 25, 100 y 250 ml
- Varilla de agitación
- Funda de algodón
- Vaselina pura
- Caja de polipropileno pequeña para el atrapamiento de la cola de la rata (cepo).
- Cuaderno de apuntes
- Esferos, lápices
- Testigo (envase para cortos punzantes)
- Jaulas para ratas.
- Cámara cromatografía
- Capilares
- Placas de Sílice Gel 60F254
- Pipetas Pasteur.

2.2.2.2. Equipos

- Rotavapor Heidolphhei-VAP advantage.
- Bomba de vacío
- Refractómetro
- pH-metro Hanna referencia HI 2221.
- Refrigeradora
- Sorbona
- Mufla SNOL 8.2/1100.
- Estufa
- Balanza analítica BOECO de procedencia Alemana.
- Revelador luz U.V
- Medidor de glucemia
- Cámara fotográfica
- Calculadora
- Computador HP TrueVision HD

2.2.2.3. Reactivos

a. REACTIVOS QUÍMICOS

Alcohol potable (96°), Almidón soluble, Hipoclorito de Sodio a 5 ppm de concentración, Ácido clorhídrico concentrado, Reactivo de Wagner, Solución de tricloruro férrico al 5%, Ácido sulfúrico concentrado, Alcohol amílico, Cloroformo, Hidróxido de sodio, Reactivo de Baljet, Anhídrido acético, Solución de Sudan III al 0.6%, Glibenclamida 5 mg, Reactivo de Dragendorff, Reactivo de Mayer, Reactivo de Wagner, Reactivo de Borntrager, Solución de Fehling A y B, Cloruro de Sodio, Ácido Clorhídrico 1%, Granallas de Magnesio Metálico, Acetato de Etilo, Metanol, Anhídrido acético, Vainillina, Éter di etílico, Suero fisiológico.

b. REACTIVO BIOLÓGICO (RB)

POBLACIÓN:

Ratas albinas (*Rattus norvegicus*), machos de cuatro a cinco meses de edad con un peso corporal de 290-340 g procedentes del Bioterio de la Universidad Estatal de Guayaquil.

MUESTRA: 9 (experimentos netos), 3 (grupo patrón), 3 (grupo control positivo), 3 (grupo control negativo).

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Clase: Mammalia

Orden: Rodentia

Suborden: Myomorpha

Familia: Muridae

Género: Rattus

Especie: norvegicus

DESCRIPCIÓN ANATÓMICA

Peso Promedio: 235 g

Edad: 4-5 meses.

Sexo: Machos.

Lugar de Nacimiento: Bioterio de la Universidad Estatal de Guayaquil

CONDICIONES AMBIENTALES Y DE ALOJAMIENTO

TABLA No 7. CONDICIONES DE ALOJAMIENTO Y AMBIENTACIÓN FÍSICO PARA EL REACTIVO BIOLÓGICO PREVIO AL ESTUDIO.

FACTORES	CONSIDERACIONES	
Especie	<i>Rattus norvegicus</i>	
Edad	4-5 meses	
Genero	Macho	
Peso	290-340 g	
	5 a 6 g por cada 100 gramos de peso corporal diariamente	
Dieta/Alimentación	Agua <i>Ad libitum</i>	
<i>Mantenimiento/Físico</i>		
	Tipo (dimensiones)	Caja de plástico. Area 450 cm, altura 36 cm
Macroambiente (Alojamiento/Jaula)	Ropa de cama	Viruta de madera para mantener animales limpios y secos
	Número de animales por jaula	2-3 ratas (<i>Rattus norvegicus</i>)
	Humedad	40-70 %
Microambiente	Temperatura	22 °C ±2
	Fotoluminiscencia	12 h luz y 12 h de oscuridad
	Ruido	Ausente
Parámetro Bioquímico	Glucosa	60-90 mg/dL (Charles River, 1984)

FUENTE: (GUÍA PARA EL CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO, 2002)

2.3. MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO

2.3.1. ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO GENERAL

2.3.1.1. Obtención E Identificación Taxonómica Del Material Botánico

Las partes aéreas de *Physalis peruviana* adultas y/o en flor empleadas en la tesis fueron recogidas en su hábitat natural, de forma manual y en horas de la mañana, tomando únicamente las partes aéreas de la planta (hojas) el 25 de Agosto de 2013 en el cantón Montalvo a 35 km de Babahoyo en la provincia de los Ríos, a los 72 metros sobre el nivel del mar y a una temperatura media de 23-24°C.

Posteriormente y para asegurar la identidad de la droga vegetal y que éste estudio Farmacognóstico y Farmacológico sea aplicado a la planta medicinal, el material botánico se llevó al herbario de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la PUCE para su correcta identificación taxonómica y marcaje y el resto de la planta se llevó al laboratorio de fitoquímica e instrumental de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH para su preparación y uso posterior.

2.3.1.2. LIMPIEZA, DESINFECCIÓN Y SECADO DEL MATERIAL BOTÁNICO

Luego de ser colectadas, las muestras vegetales fueron trasladadas de inmediato al laboratorio en bolsas plásticas, donde las partes aéreas son seleccionadas de acuerdo al color y estado físico de la planta, luego son sumergidas con abundante agua y luego con un solvente orgánico (Kilol DF 100), por 5 minutos aproximadamente, para eliminar sustancias extrañas que puedan contener en su superficie. Posteriormente fueron secados en estufa de aire caliente a una temperatura de 32 ± 2 °C, por un periodo de 5 días para obtener un secado uniforme.

Las muestras secas fueron trituradas en fragmentos de 1 cm aproximadamente y luego almacenadas en bolsas plásticas ámbar evitando el contacto con la luz y humedad para su posterior uso.

2.3.1.3. Determinación De Los Parámetros De Calidad, Método Físico-Químico De Análisis De Droga Cruda.

El control de calidad de la droga cruda se llevó a cabo bajo las metodologías y ensayos establecidos por la Farmacopea Española, Monografías de la OMS y ESCOP (European Scientific Cooperative for Phytotherapy), encargados de asegurar que la droga vegetal y sus productos elaborados reúnan información válida y elaborada sobre métodos analíticos y especificaciones de calidad, indicaciones aceptadas y riesgos conocidos. Para el control de calidad de la droga cruda se realizó las siguientes pruebas. (SALVADOR, C. 2006)

- Determinación de la humedad residual
- Determinación de cenizas totales
- Determinación de cenizas solubles en agua
- Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

HUMEDAD RESIDUAL.

Para su determinación, se empleó el método Gravimétrico de desecación en estufa según Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) No. 309 del MINSAP. 1992.

CENIZAS TOTALES

Para esta prueba se empleó el método gravimétrico, por incineración según Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) No. 309 del MINSAP. 1992.

CENIZAS SOLUBLES EN AGUA

La determinación de cenizas solubles en agua se llevó a cabo según Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) No. 309 del MINSAP. 1992

CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO

Para la determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico se llevó a cabo según Norma Ramal de Salud Pública (NRSP) No. 309 del MINSAP. 1992. Todas las determinaciones se llevaron a cabo por duplicado.

2.3.2. ANÁLISIS QUÍMICO CUALITATIVO.

2.3.2.1. Preparación Del Extracto.

La elaboración de los extractos se llevó a cabo mediante la metodología descrita por Enríquez F. (2008) y la norma ramal de salud pública (NRSP) 311, con ligeras modificaciones, para lo cual en frascos ámbar se colocó 50 g de *P. peruviana* seca y triturada, para la extracción de los diferentes compuestos químicos presentes, se realizaron extracciones sucesivas con disolventes de polaridad creciente (éter di-etílico, alcohol 96 % y agua). En primera instancia la droga fue sumergida en 325 ml de éter di-etílico y se dejó macerar por 48 horas a temperatura ambiente ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$) con agitación frecuente. Posteriormente fue filtrado, se midió el volumen, se calculó la concentración y el residuo fue secado en un extractor de gases (Sorbona) hasta la evaporación completa del éter. A este residuo se sometió a una segunda extracción con alcohol 96 %, hasta que el solvente cubra la totalidad del residuo (360 ml), se dejó macerar por 48 horas a temperatura ambiente y agitación frecuente. Luego se procedió a filtrar, se midió el volumen final y el residuo fue secado primero a temperatura ambiente luego a 105°C hasta la evaporación completa del alcohol, se pesó y determinó la concentración final. Finalmente para la extracción acuosa el residuo fue sumergido en 380 ml de agua destilada, se dejó macerar por 48 horas a temperatura ambiente y con agitación

frecuente, se midió el volumen, el peso del residuo seco y se realizó los respectivos cálculos (**ANEXO I: FIGURA 10**). (ENRÍQUEZ, A. & otros. 2008)

Al final de la extracción, los extractos estéreo, alcohólico y acuoso, fueron concentrados hasta las $\frac{3}{4}$ partes del volumen total.

2.3.2.2. Tamizaje Fitoquímico

Con el fin de investigar la presencia de los principales compuestos químicos de los extractos obtenidos en el apartado 2.3.2.1 se aplicaron técnicas simples, rápidas y selectivas, haciendo uso de reacciones cualitativas de coloración y/o precipitación, siguiendo los métodos reportados por Enríquez F. (2008). (**ANEXO I: FIGURA 11 Y 12**). (ENRÍQUEZ, A. & otros. 2008)

2.3.2.3. Determinación De Los Parámetros Físicos, Físico-Químicos De Calidad Del Extracto.

Para determinar la calidad del extracto obtenido, se procedió a determinar algunos parámetros de calidad físico y físico-químicos cualitativos tales como características organolépticas, pH, densidad relativa, sólidos totales, índice de refracción y el cribado fitoquímico, a través del procedimiento descrito en la Norma Ramal De Salud Pública (NRSP) para extractos y tinturas N° 312:1992 y la farmacopea Británica 2012

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

Para la determinación de este parámetro, se establecieron diferentes características organolépticas, como el aspecto (color y apariencia), olor y sabor.

DENSIDAD

Su determinación se llevó a cabo empleando el método picnométrico de 5 mL, a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$).

ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Para su determinación se empleó el método Refractométrico a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$).

SOLIDOS TOTALES

Determinado por el método de evaporación del solvente, en capsula de porcelana sin tapa, hasta peso constante, en una estufa a 105°C .

pH

Determinado con un pH-metro Hanna referencia HI 211, a temperatura ambiente ($20 \pm 2^\circ\text{C}$).

2.3.3. DETECCIÓN DE COMPUESTOS POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.

A la fracción concentrada de *Physalis peruviana* obtenida por maceración, se adiciono 15 ml de hexano, se agito en vortéx enérgicamente y se dejó en reposo hasta la separación de las dos fases. A la fracción etanólica separada se repitió el mismo procedimiento hasta la completa eliminación de clorofilas. Al final de la separación la muestra fue separada en dos fracciones, para la detección de flavonoides y alcaloides.

FLAVONOIDES TOTALES

Para verificar la presencia o ausencia de flavonoides totales investigados en el tamizaje fitoquímico, a la fracción obtenida anteriormente se llevó a cabo la detección cromatografía. Para llevar a cabo su desarrollo se utilizaron placas de sílica gel 60 F 254 (Merck). La muestra y el estándar fueron aplicadas a 1 cm desde la base y a 1.5 cm de distancia entre una y otra muestra, con capilares de 10 μl . Como fase móvil se utilizó

una mezcla de cloroformo-acetato de etilo-ácido fórmico en proporciones 75:16.5:8.5 (v/v/v (ml)) respectivamente. (WAGNE, H., BLAD, S. 1996)

El desarrollo de las placas se llevó a cabo hasta las $\frac{3}{4}$ partes de la placa. Posteriormente se dejó secar a temperatura ambiente, se visualiza a la luz UV (366nm), para su detección final se utilizó como revelador sulfato de cerio, sustancias que hacen más evidente y brillantes las manchas de los flavonoides, por segunda vez se observa la fluorescencia coloreada a la luz UV (366nm), se anotó la distancia recorrida del solvente y las manchas, para calcular los Rf respectivos mediante la siguiente ecuación.

$$Rf = \frac{\text{Recorrido de la muestra (cm)}}{\text{Recorrido del solvente (cm)}}$$

ALCALOIDES.

Para verificar la presencia o ausencia de alcaloides investigados en el tamizaje fitoquímico, la detección cromatografía de alcaloides se llevó a cabo empleando la metodología descrita por Wagne & Blad (1996) con ligeras modificaciones. Una fracción etanólica de *Physalis peruviana* fue aplicada con capilares de 10 µl en placas de sílica gel 60 F, a 1 cm desde la base y 2 cm de distancia entre una y otra muestra. Como fase móvil se utilizó tolueno-cloroformo-trietilamina en proporciones 70:20:10 (v/v/v (ml)) respectivamente. (WAGNE, H., BLAD, S. 1996)

El desarrollo de las placas se llevó a cabo hasta las $\frac{3}{4}$ partes de la placa. Posteriormente se dejó secar a temperatura ambiente. Para su detección final se utilizó como revelador el reactivo de Wagner, sustancia que hace más claro las manchas. Posteriormente fueron detectadas en la luz visible, con la distancia recorrida del solvente y las manchas, se calcularon los Rf respectivos.

CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADOS COMO % DE RUTINA.

CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES EN DROGA SECA.

PREPARACIÓN DEL EXTRACTO.

Para la cuantificación de flavonoides totales por espectrofotometría, se basó en reacciones colorimétricas, en la cual los flavonoides forman un complejo coloreado en presencia de un metal como el Fe^{3+} o el Al^{3+} . Mediante el cual se determina la concentración de flavonoides presentes. Para lo cual se empleó la metodología descrita por Pilar (2005), con ligeras modificaciones. A un balón esmerilado de 250 ml se colocó 2 g de la droga seca y molida, luego se añadió 25 ml de etanol, homogenizado completamente la mezcla se sometió a reflujo por un lapso no menor a 30 minutos. Posteriormente la mezcla se enfrió, filtro y se aforo hasta obtener un volumen total de 50 ml. A la solución obtenida se agregó hexano en proporciones iguales, se homogenizo y se dejó en reposo hasta la completa separación de las dos fases, el proceso se repitió hasta la completa eliminación de las clorofilas. (LUEGAS-CAICEDO, P. 2005)

REACCIONES DE COLORACIÓN

Para la detección espectrofotométrica de flavonoides en extractos, fue considerado la metodología descrita por Toapanta (2011). (TOAPANTA, S. 2011)

- En tubo que contenía 500 μl del extracto fue transferido 400 μl de agua destilada, se homogenizo y se agregó 38 μL de NaNO_2 al 5% p/v, la mezcla homogenizada se tapó y se dejó en reposo a temperatura ambiente por 5 min.
- Posteriormente se agregaron 38 μL de AlCl_3 al 10% p/v, la mezcla agitada y homogenizada se dejó en reposo a temperatura ambiente por 6 min.
- Luego se adicionó 250 μL de NaOH 1M y se completó a un volumen final de 1250 μL con agua destilada.

- La detección en el espectrofotómetro, fue medida a 510 nm. (LUEGAS-CAICEDO, P. 2005; TOAPANTA, S. 2011)

Para la cuantificación de flavonoides totales se utilizó una curva de calibración con Rutina de 100 ppm ($\mu\text{g/ml}$). Los resultados se expresaron como % de rutina. Las medidas se realizaron por duplicado. (LUEGAS-CAICEDO, P. 2005)

2.3.4. ESTUDIO TOXICOLÓGICO.

2.3.4.1. Toxicidad Oral Aguda Del Extracto Etanólico De *Physalis peruviana*.

La toxicidad aguda, tiene como principio utilizar el menor número de animales y proporcionar información suficiente sobre la toxicidad aguda de una sustancia o compuesto administrado a una dosis definida. La ausencia o presencia de mortalidad en el 50 % de la población, permite clasificar como toxica o no una sustancia, cuando se administran mediante cánula intragástrica dosis definidas en un cierto periodo de tiempo (normalmente 15 días). (ORGANIZACIÓN PARA LA COOPERACIÓN Y EL DESARROLLO ECONÓMICO, 2001)

2.3.4.1.1. *Diseño experimental.*

El estudio de toxicidad oral aguda del extracto etanólico de *Physalis peruviana* se realizó en un lote aleatorio de 4 ratas, con peso promedio de 290 ± 50 g y de un solo sexo, mantenidos bajo condiciones ambientales descritas en la tabla 6. Antes de iniciar el estudio toxicológico los reactivos biológicos se mantuvieron en ayuno nocturno. Los extractos etanólicos de *Physalis peruviana* se administraron oralmente mediante cánula intragástrica la dosis (2.46 mg/Kg). Después de la administración e individualmente se observaron sistemáticamente el comportamiento durante los primeros 30 minutos, periódicamente durante las primeras 24 horas y diariamente hasta los 14 días que dura el estudio. (SARIVIA, A. 2005)

Los principios y criterios de la Humane Document Endpoints Guidance fueron tomados en cuenta para evaluar los siguientes signos clínicos: Grito, Irritabilidad, Respuesta al toque, Huida, Contorsiones, Patas posteriores, Enderezamiento, Tono corporal, Convulsiones, Lagrimación, Micción, Defecación, Piloerección y Número de muertos. Con una ponderación 0-4, fueron calificados cada uno de los signos clínicos para analizar la desaparición o el aumento de los signos. La variable peso corporal fue controlado antes de la primera administración, a los siete días y al final del experimento, antes del sacrificio. (SARIVIA, A. 2005; ORGANIZACIÓN PARA LA COOPERACIÓN Y EL DESARROLLO ECONÓMICO. 2000)

La administración y las pesadas fueron realizadas siempre a la misma hora de la mañana (11:00 AM).

2.3.4.1.2. Estudio Anatómico e Histopatológico

Al término del estudio a los animales se les practicó la eutanasia con inhalación de CO₂. Después del sacrificio se les practicó necropsias macroscópicas y patológicas de órganos farmacocinéticos: estómago, hígado y riñón. En el análisis macroscópico se evaluó el color, peso y tamaño (largo, ancho y profundidad). Para el estudio histopatológico el estómago, hígado y riñón fueron sumergidas en formol al 10 % buferado. El análisis histopatológico consistió en determinar el daño tisular que ocasiona, la administración del extracto y en un periodo de tiempo establecido.

2.3.5. ESTUDIO FARMACOLÓGICO.

2.3.5.1. EVALUACIÓN DEL EFECTO HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Physalis peruviana*.

El efecto hipoglicemiante fue realizado utilizando el modelo de sobrecarga oral (SO), para evaluar el posible efecto hipoglicemiante del extracto o fracción de una planta, cuando son administrados en animales con hiperglicemia transitoria, inducida con una

SO de carbohidratos (glucosa, almidón o sacarosa). Este modelo se fundamenta básicamente en la prueba oral de tolerancia a la glucosa (OGTT), utilizada para el diagnóstico de la diabetes, midiendo los NGS 2 horas después de una ingesta excesiva de glucosa (75 g) tras una noche de ayuno. (FRÖDE, T., MEDEIROS, Y. 2008)

La evaluación farmacológica del extracto de *Physalis peruviana*, se desarrolló bajo el siguiente protocolo farmacológico.

FASE I: PREPARACIÓN DE LA DROGA Y PRODUCTOS QUÍMICOS (PATRÓN, VEHÍCULO Y SUSTANCIA INDUCTORA)

Extracto etéreo.

Para la extracción de metabolitos, en frascos ámbar se colocó 50 g de *P. peruviana* seca y triturada, posteriormente la droga fue sumergida en 400 ml de éter di-etílico y se dejó macerar por 48 horas a temperatura ambiente ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$) y con agitación frecuente. Posteriormente el filtrado fue concentrado.

Extracto alcohólico.

Para la extracción de metabolitos, en frascos ámbar se colocó 50 g de *P. peruviana* seca y triturada, posteriormente la droga fue sumergida en 400 ml de alcohol 70 % y se dejó macerar por 48 horas a temperatura ambiente ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$) y con agitación frecuente. Posteriormente el filtrado fue concentrado.

Infusión acuosa.

Para la extracción de metabolitos, en frascos ámbar se colocó de 50 g de *P. peruviana* seca y triturada, posteriormente la droga fue sumergida en 400 ml de agua a punto de ebullición y con agitación constante de 5 a 10 minutos. Posteriormente el extracto se dejó enfriar a temperatura ambiente ($20\pm 2^{\circ}\text{C}$) y finalmente se filtró.

Para obtener la muestra al 30, 60 y 90 % (0.86, 1.85 y 2.46 mg/Kg respectivamente), los extractos etéreo, etanólico y acuoso fueron reconstituidos o preparados con agua-tween 80 (1%) en proporción 9:1 (v/v (ml)), mismo que fue utilizado como vehículo general para la administración oral y con cánula intragástrica de las muestras, el patrón y la sustancia inductora (almidón soluble, 2 g/Kg). Como patrón se utilizó un hipoglicemiante oral (Glibenclamida 5 mg) a una dosis de 0.2 mg/Kg (dosis efectiva). Todas las soluciones fueron administradas a un volumen no menor a 1 ml (1 ml/100g de peso corporal).

FASE II: REACTIVO BIOLÓGICO (RB).

Antes de iniciar el estudio los animales fueron sometidos a una alimentación equilibrada, con el fin de mantenerlos fisiológicamente y con peso, ideal y homogéneo requeridos para el bioensayo; Con la finalidad de reducir al mínimo el estrés, los RB fueron acostumbrados al investigador y a la técnica que se va a realizar (TABLA 6), mediante manipulación y adaptación. Para su desarrollo se utilizaron 24 ratas albinas (*Rattus norvegicus*).

FASE III: INDUCCIÓN DE LA PATOLOGÍA.

La hiperglicemia transitoria fue inducida después de un ayuno de 12 horas, por sobrecarga oral de almidón soluble a una dosis de 2 g/kg, con el fin de realizar la prueba de tolerancia a la glucosa (OGTT). La hiperglicemia se confirmó 2 horas después de la administración, mediante la medición de la glucosa en sangre de la vena de la cola. Sólo los reactivos biológicos en ayunas y con niveles de glucosa en sangre ≥ 100 mg/dl son considerados hiperglicemicos y utilizados para el estudio.

FASE IV: DISEÑO EXPERIMENTAL.

Todos los RB fueron divididos aleatoriamente en 8 lotes de 3 cada uno, las condiciones de alimentación y ayuno fueron fijadas a una hora específica, para la ejecución de los ensayos.

TABLA No 8. DISTRIBUCIÓN DE RB Y LOTES PARA CADA ESTUDIO.

CÓDIGO	LOTE	NUMERO DE RB	DOSIS
LAB	Agua: Tween 80 (1%)	3	1ml
LAP	Almidón 2 g/Kg	3	1ml
LAC+	Glibenclamida 5 mg	3	0.2 mg/Kg
LAT1	Extracto etéreo de P.p 60 %	3	1.85 mg/Kg
LAT2	Extracto etanólico de P.p 60 %	3	1.85 mg/Kg
LAT3	Extracto acuoso de P.p al 60 %	3	1.85 mg/Kg
LAT4	Extracto etanólico de P.p 30 %	3	0.86 mg/Kg
LAT5	Extracto etanólico de P.p 90 %	3	2.46 mg/Kg
TOTAL	8	24	

FUENTE: Llumiguano L. (2014)

CONDICIONES DEL ESTUDIO PARA CADA LOTE

Antes de iniciar el estudio los lotes fueron sometidos a un ayuno de 12 horas. Posteriormente en la hora cero se les determinaron los NGS de la vena de la cola con un medidor de glucosa en mg/dL. A continuación fueron administradas la solución patrón, la muestra a evaluar y quince minutos después fueron administrados la sustancia inductora y/o el vehículo según corresponda el caso. Después de la última administración la medición de los NGS se llevó a cabo a la hora 0.5, uno, dos, tres y cuatro. Las muestras de sangre fueron tomadas mediante la técnica de punción venosa a nivel de la vena de la cola con Jeringuillas de 1 ml, para ser analizadas inmediatamente.

Lote aleatorio blanco (LAB)

Estuvo constituido por 3 ratas macho, a los cuales se les administro el vehículo, con el fin de observar si existe algún efecto sobre los NGS, al inicio y al final del estudio.

Lote aleatorio problema (LAP)

Estuvo constituido por 3 ratas macho, a los cuales se les indujo la hiperglicemia transitoria con 2 g/Kg de almidón y no reciben ningún tratamiento. Posteriormente fueron medidos los NGS.

Lote aleatorio control positivo (LAC+)

Este lote estuvo constituido por 3 ratas macho con hiperglicemia transitoria y bajo tratamiento con Glibenclamida (0.2 mg/Kg). Posteriormente fueron medidos los NGS.

Lote aleatorio para el tratamiento 1 (LAT1)

Estuvo constituido por 3 ratas macho con hiperglucemia transitoria y bajo tratamiento con extracto etéreo de *Physalis peruviana* (1.85 mg/Kg). Posteriormente fueron medidos los NGS.

Lote aleatorio para el tratamiento 2 (LAT2)

Estuvo constituido por 3 ratas macho con hiperglucemia transitoria y bajo tratamiento con extracto etanólico de *Physalis peruviana* (1.85 mg/Kg). Posteriormente fueron medidos los NGS.

Lote aleatorio para el tratamiento 3 (LAT3)

Estuvo constituido por 3 ratas macho con hiperglucemia transitoria y bajo tratamiento con infusión acuosa de *Physalis peruviana* (1.85 mg/Kg). Posteriormente fueron medidos los NGS.

Lote aleatorio para el tratamiento 4 (LAT4)

Estuvo constituido por 3 ratas macho con hiperglucemia transitoria y bajo tratamiento con la dosis mínima de *Physalis peruviana* (0.86 mg/Kg). Posteriormente fueron medidos los NGS.

Lote aleatorio para el tratamiento 5 (LAT5)

Este lote estuvo constituido por 3 ratas macho con hiperglucemia transitoria y bajo tratamiento con la dosis máxima *Physalis peruviana* (2.46 mg/Kg). Posteriormente fueron medidos los NGS.

FASE V: EVALUACIÓN.

Los NGS fueron evaluados mediante el método de enzimático amperométrico (Glucómetro). Posteriormente los valores de glicemia fueron evaluados, elaborando una curva de tolerancia oral a la glucosa (OGTT) y para evaluar la actividad Hipoglicemiente los resultados fueron expresados, como la media aritmética de los valores \pm desviación estándar de la media y utilizando un análisis estadístico de una vía (ANOVA), seguido de un test de rangos múltiples (Tukey). La significancia estadística fue considerada de 0.05 (5%).

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO

Para cada uno de los ensayos realizados en el control de calidad de droga cruda y extractos, los resultados se comparan con norma ramal NRM, farmacopea británica y brasileña, para obtener un valor referencial.

3.1.1. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS, FÍSICO-QUÍMICOS DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA

En el cuadro 1 se observa la calidad de la droga cruda de *Physalis peruviana*, para lo cual el resultado de cada uno de los parámetros evaluados, fueron expresados en porcentaje.

CUADRO No 1. CONTROL DE CALIDAD DE DROGA CRUDA (*Physalis peruviana*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA Y PRODUCTOS NATURALES. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. SEPTIEMBRE DEL 2013.

NOMBRE DEL ENSAYO	RESULTADO %	ESPECIFICACIONES
Humedad residual	7.56	≤ 10
Cenizas totales	13.57	5-15
Cenizas solubles en agua	11.68	7
Cenizas insolubles en ácido clorhídrico	3	2-6

El control de materia extraña orgánica e inorgánica se encuentra dentro de los rangos permisibles. Proporciones de agua menor o iguales al 10 % permiten una mayor estabilidad de la droga, de lo contrario el exceso permitiría la proliferación de hongos y bacterias, y consiguientemente se produciría la hidrólisis. (VIDAURRE, M., QUEREVALÚ, L. 2007)

En relación a las cenizas totales permite tener una idea más clara sobre el cuidado que se tuvo al momento de la preparación del material vegetal, los resultados expresan el contenido de sales minerales presentes en la planta, provenientes de forma fisiológica (propios de la planta) o de materia extraña (propios del suelo, aire, etc.) que se adhieren a la superficie de la droga. La determinación de cenizas totales, en un 13.57 % se encontraron valores altos que podrían corresponder a metales pesados provenientes de la combustión o del ambiente, aspecto que se justifica con el valor obtenido para las cenizas insolubles en ácido (3%), pese al esfuerzo realizado para obtener la droga vegetal en condiciones de completa pureza, a pesar de esto se encuentran dentro de los rangos estipulados por normas internacionales. (LUEGAS-CAICEDO, P. 2005; VIDAURRE, M., QUEREVALÚ, L. 2007)

3.1.2. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO

Para la preparación de los extractos de *Physalis peruviana* se utilizó solventes de polaridad creciente con la finalidad de lograr el mayor agotamiento de la droga durante la maceración. En el cuadro 2 se observa la cantidad de extracto obtenido en ml y el porcentaje de rendimiento obtenido para cada uno de los solventes utilizados. El extracto etanólico obtuvo un mejor porcentaje de rendimiento.

CUADRO No 2. RENDIMIENTO DE EXTRACTOS DE *Physalis peruviana* EXTRAÍDOS CON SOLVENTES DE POLARIDAD CRECIENTE. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. SEPTIEMBRE DEL 2013.

SOLVENTE	PESO (g)	EXTRACTO (ml)	PORCENTAJE DE RENDIMIENTO.
Éter di-etílico	50	260	19
Alcohol 96%	49	218	36
Agua	42	230	32

FUENTE: Laboratorio De Fitoquímica Y Productos Naturales

Para la preparación de los extractos por agotamiento de la droga se utilizó éter di-etílico, alcohol y agua, determinando que el mejor solvente es etanol al 96 % con un rendimiento del 36 %, con relación al material vegetal triturado. De acuerdo con Medina D. (2012) estos porcentajes se relacionan con el solvente utilizado, puesto que el solvente alcohólico ofrece un gran espectro de extracción de compuestos polares y apolares que un solvente de baja polaridad, debido a que en este último se extraen la mayoría de compuestos lipófilos. Este procedimiento es válido cuando no se sabe la naturaleza de los compuestos responsables de la actividad farmacológica, el solvente que garantice un alto porcentaje de concentración de metabolitos es el óptimo para el estudio farmacológico, puesto que en ellos están concentrados la mayoría de compuestos químicos de la planta. (LUEGAS-CAICEDO, P. 2005; MEDINA, D. 2012)

3.1.2.1. Determinación De Los Parámetros Físicos, Físico-Químicos De Calidad Del Extracto Etanólico De *Physalis peruviana*

Luego de obtener el extracto etanólico descritos en el inciso 2.3.1.4 se procedió a realizar el control de calidad, de los parámetros establecidos en el inciso 2.3.1.5. Cada ensayo fue llevado a cabo por duplicado, obteniéndose los siguientes resultados.

CUADRO No 3. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Physalis peruviana*. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

NOMBRE DEL ENSAYO		RESULTADO
	Aspecto	Líquido y turbio
Características organolépticas	Olor	Característico de las hojas de la planta.
	Color	Verde marrón-intenso
	Sabor	Amargo, ácido y astringente
	pH	5.86
Ensayos físico-químico	Densidad relativa	0.898 g/mL
	Índice de refracción	1.371
	Sólidos totales	7.270 g/100 ml

FUENTE: Laboratorio de análisis químico instrumental

En las características organolépticas declaradas, relaciona la época en la que el material botánico fue recolectado, meses correspondientes al estado vegetativo de la planta, donde las hojas frescas, tiernas y ricas en clorofila transmiten el color característico del vegetal a los extractos formulados.

Respecto a los demás parámetros, el valor de pH confirma la sensación de acidez detectada en el estudio organoléptico, mismo que no resulta irritante a la mucosa gástrica, según los resultados obtenidos del estudio toxicológico. El índice de refracción es ligeramente superior a la del agua (1,333) y la densidad relativa cumple las especificaciones y es ligeramente menor a la del agua (1 g/mL). El resultado de los sólidos (7.270 g/100 ml) indica una buena concentración de metabolitos secundarios.

3.1.2.2. Ensayos De Identificación Fitoquímica De *Physalis peruviana*.

Es el primer paso para la identificación fitoquímica y determinar la presencia de metabolitos secundarios, se usó tres solventes de polaridad ascendente: éter di-etílico,

etanol 96% y agua, estos solventes modifican el pH del medio, penetran en la droga cruda y disuelven los compuestos químicos con el fin de extraer los principios activos de acuerdo a su solubilidad. (ENRÍQUEZ, A. & otros. 2008)

CUADRO No 4. RESULTADO DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

METABOLITO	ENSAYO	EXTRACTO		
		ETÉREO	ETANÓLICO	ACUOSO
Alcaloides	Draggendorff	+	++	+
	Mayer	+	+++	++
	Wagner	+	+++	++
Lactonas y coumarinas	Baljet	-	-	
Ácidos grasos	Sudan III	-		
triterpenos y/o esteroides	Liebermann-Burchard	+	++	
Resinas	Resina		-	
Catequinas	Catequinas		+	
Saponinas	Espuma		-	-
Azúcares reductores	Fehling		+	+
Fenoles y/o taninos	Cloruro férrico		++	++
Quinonas	Borntrager		-	
Flavonoides	Shinoda		++	++
Antocianidinas	Antocianidinas		-	
Mucílagos	Mucílagos			-

FUENTE: Laboratorio de fitoquímica y productos naturales.

Dónde:

Los espacios en blanco significan que esos ensayos no fueron realizados

(+) Significa que se obtuvo una respuesta positiva de poca intensidad para ese metabolito en el extracto

(++) Significa que se obtuvo una respuesta positiva de mediana intensidad para ese metabolito en el extracto.

(+++) Significa que se obtuvo una respuesta positiva de mayor intensidad para ese metabolito en el extracto.

(-) Significa que se obtuvo una respuesta negativa para ese metabolito en el extracto

En el cuadro 4, se muestran los resultados realizados al extracto etéreo, alcohólico y acuoso, donde se muestran la alta variabilidad de compuestos presentes en las hojas de *Physalis peruviana*. Donde se observa una importante presencia de metabolitos secundarios entre los que destacan alcaloides, triterpenos y compuestos fenólicos, que podrían estar relacionados con la actividad farmacológica de esta planta. Mismos que para este género podrían estar relacionados con múltiples actividades farmacológicas, entre ellas la hipoglicemiante.

La presencia de esta clase de metabolitos podrían estar relacionados con varias investigaciones realizadas para la familia *Solanaceae*, por Laxmidhar M; Jimoh A; Sridevi M. y los descritos también por Medina D; Douglas A; para *P. peruviana*, cuando se han realizado estudios farmacológicos de afecto hipoglucemiante, en los cuales se reportan la presencia de alcaloides, flavonoides, triterpenos, entre los más representativos. (DOUGLAS, A. 2011; JIMOH, A. & otros. 2013; LAXMIDHAR, M. & otros. 2010; MEDINA, D. 2012; SRIDEVI, M., & otros. 2011)

Por otro lado se observó que el extracto etéreo muestra una menor proporción de metabolitos, a diferencia del extracto alcohólico y acuoso donde se observa una mayor proporción, lo que sugiere que las hojas de *Physalis peruviana* poseen mayor proporción de metabolitos polares, sobre todo alcaloides de polaridad intermedia.

Además se observa que el extracto alcohólico es donde se encuentran disueltos la mayor cantidad de metabolitos secundarios.

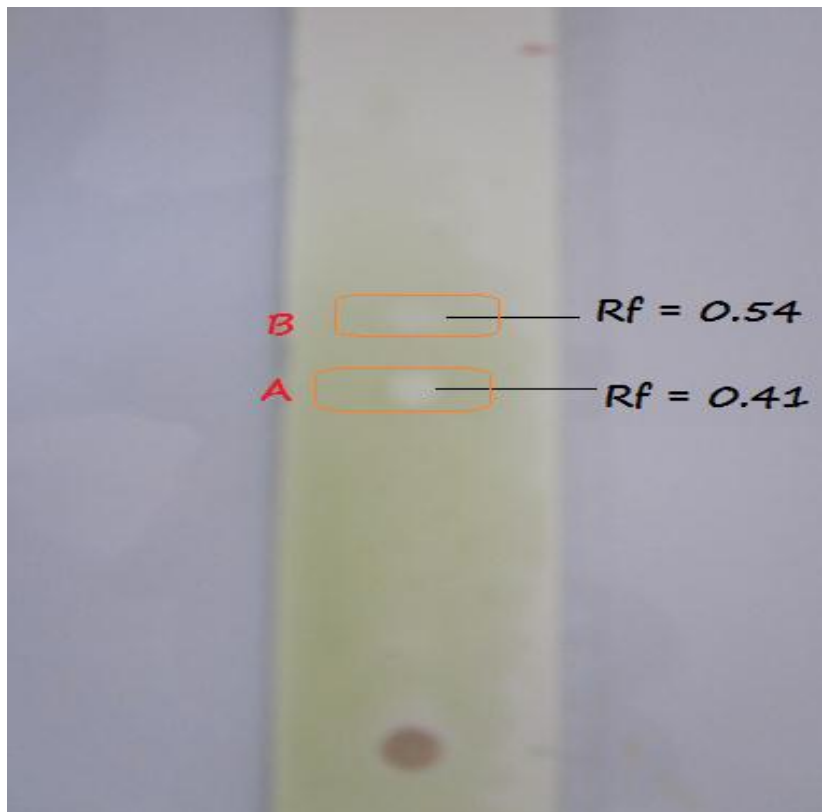
3.1.3. ESTUDIO CROMATOGRÁFICO DE METABOLITOS DE *Physalis peruviana*.

Luego de haber realizado el tamizaje fitoquímico, adicionalmente se llevó a cabo un análisis cromatográfico de los metabolitos encontrados en mayor proporción (Alcaloides y Flavonoides totales). El extracto etanólico en condiciones definidas presentará una huella digital característica para el metabolito investigado. (BERNAL, C. 2012)

3.1.3.1. Detección De Flavonoides Por Cromatografía En Capa Fina

En la detección de flavonoides fracciones del extracto etanólico mostraron presencia de este metabolito con factores de retención (R_f) similares a los descritos en la literatura referencial.

La fotografía 2 muestra el resultado de la elución de extracto etanólico de *Physalis peruviana*. Las muestras fueron aplicadas en placas de gel de sílice, misma que se eluyó utilizando como fase móvil Cloroformo-Acetato de etilo-Acido fórmico, se utilizó como revelador sulfato de cerio para detectar la presencia de flavonoides.

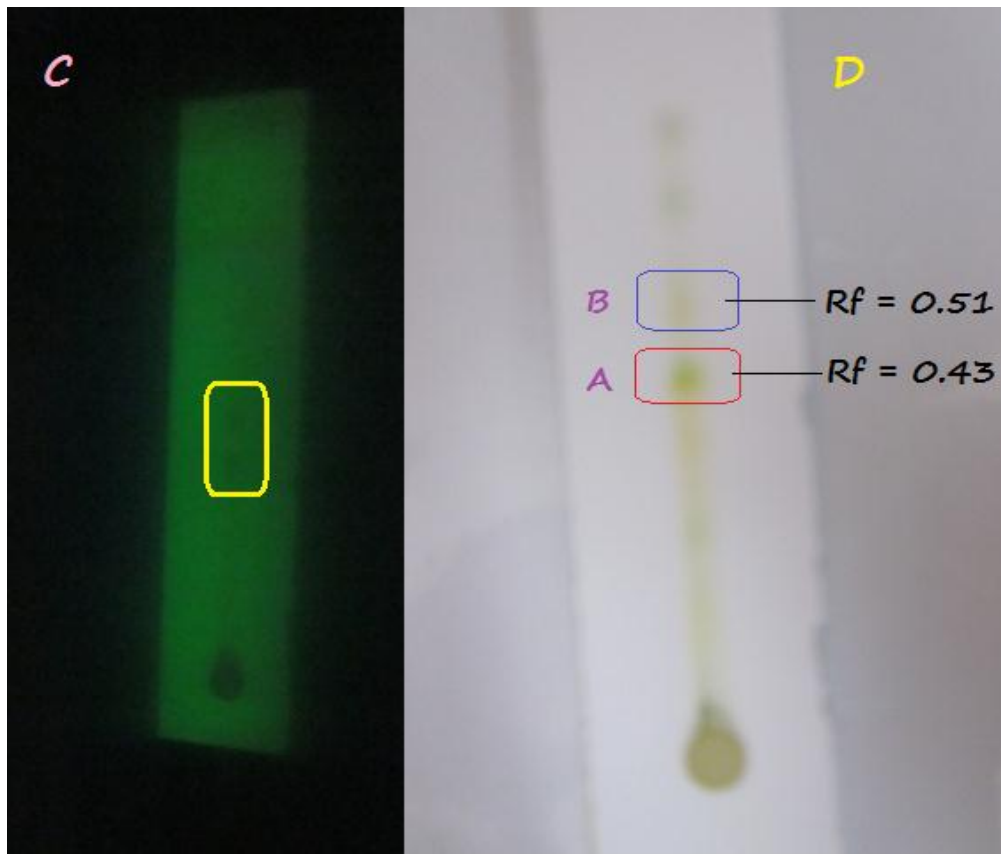


FOTOGRAFÍA No 2. PERFIL CROMATOGRÁFICO. SE APRECIAN MANCHAS DE DOS COMPUESTOS FLAVONOIDES DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Physalis peruviana*. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

Posteriormente en la placa se observó 2 manchas blancas de alta intensidad A y B, la huella digital A presenta un Rf de 0.41 y la B con un Rf de 0.54, que estarían relacionados con flavonoides de tipo Rutina (Rf ~ 0.4) y Ácido clorogénico (Rf 0.45) respectivamente, al comparar con lo descrito por Wagne H.; cuando se realiza el análisis cromatográfico para la familia *Solanaceae*. (WAGNE, H., BLAD, S. 1996)

3.1.3.2. Detección de alcaloides por cromatografía en capa fina.

Para la detección de alcaloides, fracciones del extracto etanólico de *Physalis peruviana* mostraron mejor resolución, al utilizar como fase móvil Trietilamina-Cloroformo-Tolueno, fotografía 3.



FOTOGRAFÍA No 3. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO. SE APRECIAN DOS MANCHAS DE ALCALOIDES DE TIPO TROPANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Physalis peruviana*. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

Al revelar con reactivo de Wagner se obtuvieron 2 manchas de mayor y menor intensidad de color naranja A y B respectivamente y marrón observado bajo la luz U.V a λ 254 nm. La detección está relacionada con la estructura de los alcaloides de tipo tropano, la mancha de Rf 0.43 está relacionada con el alcaloide escopolamina (Rf ~0.4) su presencia en la familia *Solanaceae* fue reportada y descrita cuando se realizó estudios fitoquímico para *Physalis pubescens* por Douglas A. Por otro lado la mancha de Rf 0.51 se relaciona con isómeros de Hyoscyamina y escopolamina (Rf 0.25) al comparar con lo descrito por Wagne H. De esta manera se puede comprobar la mediana intensidad de metabolitos en el extracto alcohólico. (DOUGLAS, A. 2011; WAGNE, H., BLAD, S. 1996)

3.1.4. CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE FLAVONOIDES TOTALES

Para el análisis cuantitativo de flavonoides, una vez obtenida la fracción etanólica de *Physalis peruviana*, se procedió a realizar las mediciones en el espectrofotómetro, primero con el estándar (para la curva de calibración) y concluyendo con la muestra.

La curva de calibración se llevó a cabo utilizando la rutina como estándar referencial, para lo cual se pudo obtener seis valores de absorbancia a diferentes concentraciones y a una longitud de onda de 510 nm.

CUADRO No 5. CONCENTRACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE: 100µg/ml. DATOS DETALLADOS DE LA RUTINA PARA OBTENER LA ECUACIÓN DE LA RECTA. LABORATORIO DE QUIMICA INSTRUMENTAL. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

Diluciones ml/ml	Concentración (ppm)	Absorbancia (nm)
2/10	20	0,222
4/10	40	0,435
6/10	60	0,647
8/10	80	0,86
10/10	100	1,073

Posteriormente se elabora una curva de calibración para obtener la ecuación de la recta para la rutina.

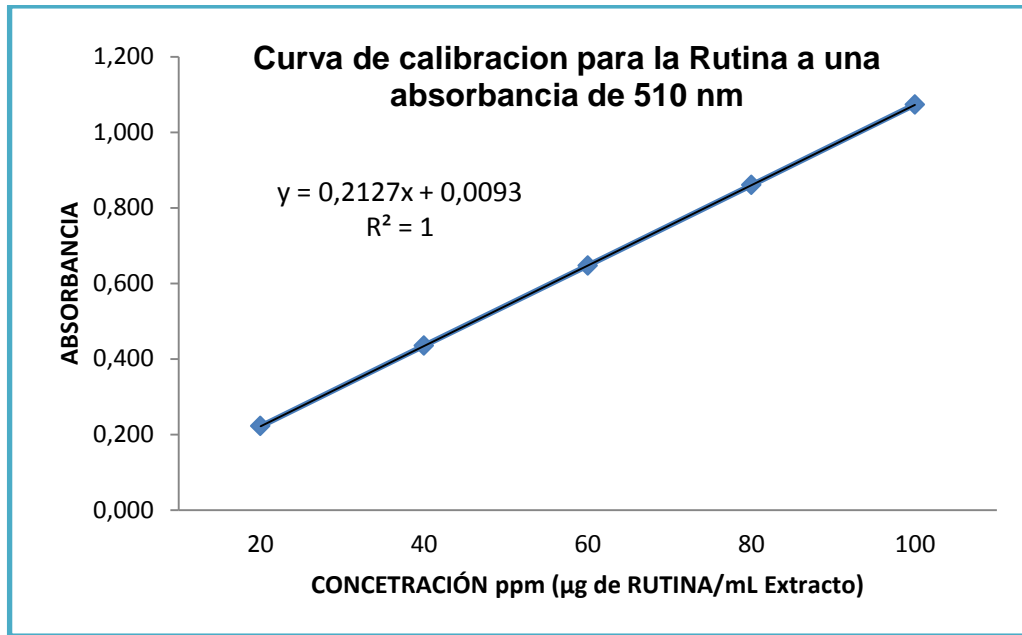


GRÁFICO No 1. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LA RUTINA. CADA PUNTO REPRESENTA LA CONCENTRACIÓN EN ppm VS LA ABSORBANCIA EN nm DE CADA MEDICIÓN. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

Con la ecuación de la recta y el coeficiente de determinación (r^2) ajustado a 1, se determina la concentración de flavonoides expresados como μg de rutina/mL extracto, para fracciones repetidas del extracto etanólico de *Physalis peruviana* se obtiene una concentración de 1.54 ppm.

Para establecer el porcentaje que constituyen la cantidad de flavonoides totales en el extracto, es necesario sustituir en la ecuación que se presenta a continuación, los valores de la absorbancia encontrada, porcentaje de humedad de la droga y la masa de la muestra en gramos.

$$\% \text{ Flavonoides} = \frac{A \times 62500}{500 \times m (100 - Pd)}$$

Dónde:

A = absorbancia de la muestra a 510 nm

m = masa de la muestra en gramos

Pd = humedad de la droga cruda (%)

CUADRO No 6. DATOS DETALLADOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES DE *Physalis peruviana*, A LA LONGITUD DE ONDA DE 510 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO INSTRUMENTAL. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. OCTUBRE DEL 2013.

PARÁMETRO	CANTIDAD DE FLAVONOIDE	
	Porcentaje	ppm ($\mu\text{g/mL}$)
Absorbancia	0.337 nm	
Humedad	7.56 %	0.23
Masa	2 g	1.54

Estos resultados 1.54ppm y 0.23%, calculados como rutina ($\text{C}_{27}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$) y con una longitud de onda de 510 nm indican que *Physalis peruviana* sugiere como fuente media de Flavonoides, que al comparar con lo establecido por la farmacopea brasileña y a lo descrito por Look de Ugaz O. La concentración de principios activos (Flavonoides) y la presencia de los metabolitos evidenciados en el tamizaje fitoquímico, tienen relación directa con el estudio farmacológico evaluado en el presente estudio. (LOCK DE UGAZ, O. 1994)

3.2. ESTUDIO FARMACOLÓGICO

3.2.1. ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO DE HOJAS DE UVILLA SILVESTRE (*Physalis peruviana*) EN *Rattus norvegicus*.

3.2.1.1. Efecto De Los Tratamientos Sobre Los NGS En Los RB.

CUADRO No 7. EFECTO DE PHYSALIS PERUVIANA SOBRE LOS NGS EN RATAS CON HIPERGLUCEMIA INDUCIDA, ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. DICIEMBRE 2013.

Variables	Tratamiento															E. E.	Prob	
	LAB	LAP	LAC	LAT1	LAT2	LAT3	LAT4	LAT5										
0	78.00	a	88.00	a	73.67	a	72.00	a	76.33	a	81.67	a	87.67	a	80.67	a	4.29	0.13
30	78.00	b	109.33	a	91.33	ab	85.00	ab	93.33	ab	79.33	b	89.00	ab	91.00	ab	5.01	0.01
90	82.33	a	117.33	a	91.00	a	94.33	a	88.33	a	80.00	a	87.33	a	90.67	a	8.78	0.18
150	60.33	b	93.67	a	79.33	a	84.67	a	88.67	a	84.00	a	89.33	a	87.00	a	3.07	0.00
210	64.33	a	86.33	a	73.33	a	81.67	a	87.00	a	82.00	a	87.00	a	81.33	a	4.95	0.06
270	74.33	a	68.33	ab	48.67	b	82.00	a	81.33	a	82.00	a	83.67	a	78.00	a	4.39	0.00

Los valores se expresan en medias para lotes de 3 reactivos biológicos cada uno

Letras iguales no difieren significativamente según Tukey al 5 %.

E.E. Error Estándar.

Fuente: Llumiguano, L. (2014).

Al analizar la glucosa inicial en la sangre de las ratas permitió registrar NGS de 72.00 - 87.67 mg/dl valores entre los cuales no difieren significativamente por lo que nos permiten establecer; las condiciones normales en las que se encuentran los RB antes de iniciar el estudio y diferenciar la existencia de hiperglicemia.

A los 30 minutos los NGS de los RB para el lote problema registró un promedio de 109.33 mg/Dl, mismos que difiere significativamente del resto de tratamientos principalmente de LAT3 y LAB en los cuales se determinaron NGS de 79.33 y 78.00 mg/Dl, esto principalmente se debe a que el tratamiento LAT3 está causando una ligera actividad, al disminuir los NGS cercanos a la normalidad.

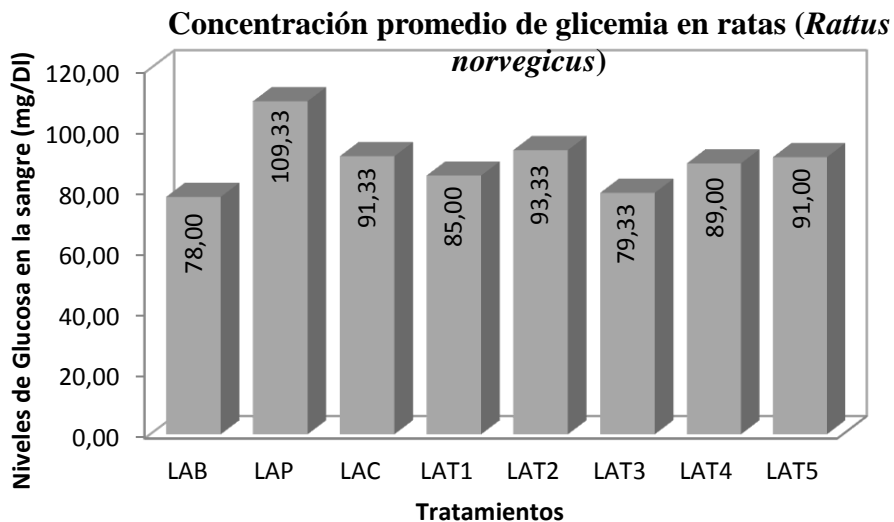


GRÁFICO No 2. CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA SANGUÍNEA EN RATAS CON HIPERGLUCEMIA INDUCIDA DESPUÉS DE 30 MINUTOS DE APLICAR LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL DEL 2014.

Transcurrido los 90 minutos, la concentración de glucosa en sangre de los RB permitió registrar NGS de 82.33 – 117.33 mg/dl, valores entre los cuales no difieren significativamente, esto principalmente se debe a que los diferentes tratamientos no influyen directamente sobre la concentración de glucosa en sangre.

Después de los 150 minutos se registraron NGS de 60.33 mg/dl, niveles normales especialmente para el lote blanco y que difiere significativamente del resto de

tratamientos, esto debido a que el fármaco de referencia utilizado en este estudio ejerce un efecto hipoglicémico evidente en relación a los lotes tratados con *Physalis peruviana* que ejercen un aligera activada al registrar valores de NGS cercanos a la normalidad encontrados y registrados al inicio del estudio.

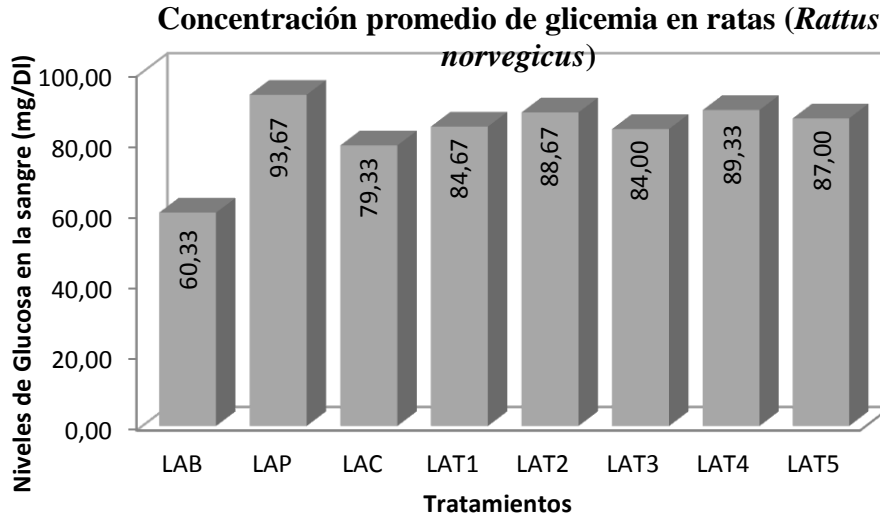


GRÁFICO No 3. CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA SANGUÍNEA EN RATAS CON HIPERGLUCEMIA INDUCIDA DESPUÉS DE 150 MINUTOS DE APLICAR LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL DEL 2014.

Los NGS de los RB a los 210 minutos registraron valores entre 64.33 - 87.00 y mg/dl valores entre los cuales no difieren significativamente, pero que si la hay en el minuto 270 donde el lote tratado con Glibenclamida registro valores de 48.67 mg/dl en relación con los diferentes tratamientos, esto probablemente se deba al ayuno prolongado y a la disminución significativa de la concentración de glucosa, al disminuir su captación y metabolismo a nivel sanguíneo.

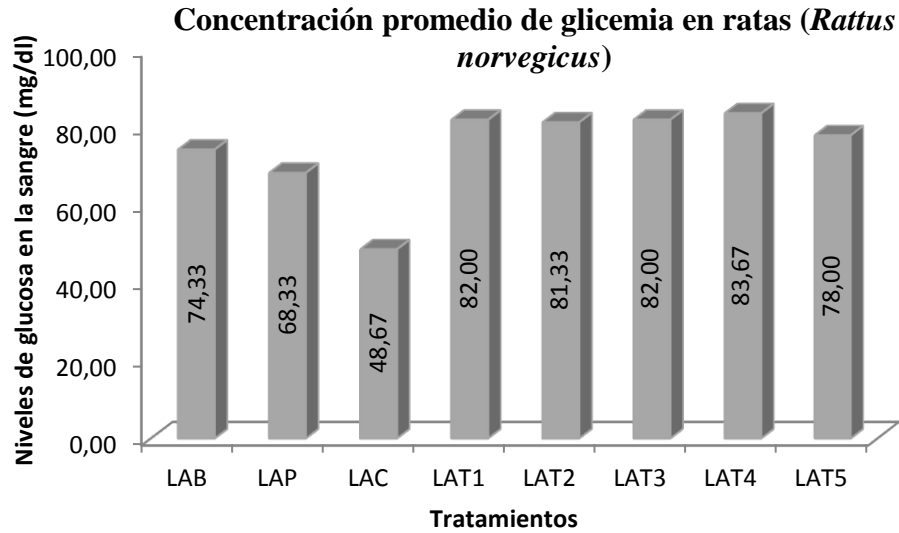


GRÁFICO No 4. CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA SANGUÍNEA EN RATAS CON HIPERGLUCEMIA INDUCIDA DESPUÉS DE 270 MINUTOS DE APLICAR LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL DEL 2014.

3.2.1.2. EFECTO DEL TIEMPO DE ANÁLISIS SOBRE LOS NGS EN LOS RB

CUADRO No 8. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DE LOS NGS (MG/DL) A DIFERENTES TIEMPOS EN LOS LOTES BAJO TRATAMIENTO. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. DICIEMBRE 2013

	LAB	LAP	LAC	LAT1	LAT2	LAT3	LAT4	LAT5
Coefficiente de correlación múltiple	0.460	0.482	0.560	0.114	0.019	0.135	0.231	0.460
Coefficiente de determinación R ²	0.212	0.232	0.314	0.013	0.000	0.018	0.053	0.212
R ² ajustado	0.162	0.184	0.271	-0.049	-0.062	-0.043	-0.006	0.162
Intercepción	88.210	107.315	89.457	81.973	86.050	80.553	88.954	88.210
Regresión	-0.027	-0.108	-0.106	0.010	-0.002	0.008	-0.013	-0.027
Probabilidad	0.036	0.043	0.016	0.652	0.941	0.592	0.357	0.055

FUENTE: Llumiguano L. (2014)

Los niveles de glucosa en la sangre están relacionadas significativamente ($P < 0.05$) del periodo de evaluación, el 24.70 % de glucosa en la sangre depende del periodo de evaluación, y por cada periodo de evaluación, la glucosa en la sangre disminuye en 0.0418 mg/dl en el lote blanco. Metabolismo glucolítico

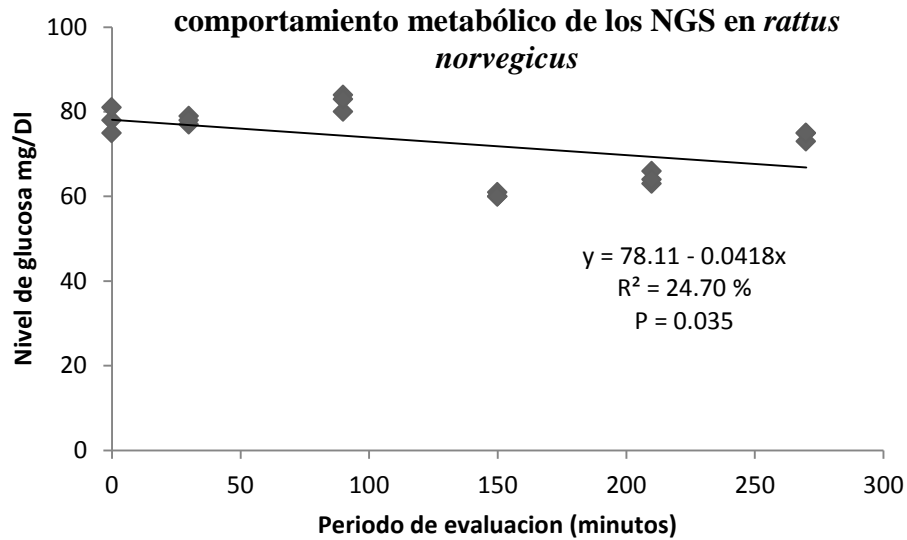


GRÁFICO No 5. COMPORTAMIENTO METABÓLICO DE LOS NIVELES DE GLUCOSA EN SANGRE (mg/dl) EN EL LOTE BLANCO. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL DEL 2014.

Los niveles de glucosa en la sangre están relacionadas significativamente ($P < 0.05$) del periodo de evaluación, el 23.23 % de glucosa en la sangre depende del periodo de evaluación, y por cada periodo de evaluación, la glucosa en la sangre disminuye en 0.1079 mg/dl al inducir la hiperglicemia transitoria por SOA, teniendo su mayor valor a los 90 minutos con 117.33 mg/dl de glicemia; momento en el cual empieza a disminuir.

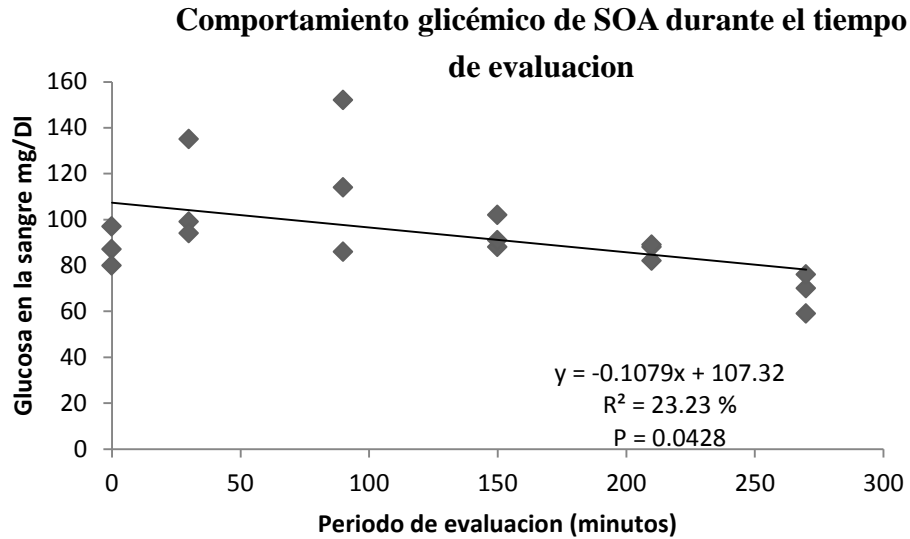


GRÁFICO No 6. COMPORTAMIENTO GLICÉMICO (mg/dl) DE LA SOBRECARGA ORAL DE ALMIDÓN DURANTE EL TIEMPO DE EVALUACION AL LOTE PROBLEMA. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL DEL 2014.

En el lote tratado con Glibenclamida, fármaco de referencia para este ensayo se observó que los niveles de glucosa en la sangre están relacionadas significativamente ($P < 0.05$) del periodo de evaluación; el 31.37 % de glucosa en la sangre depende del periodo de evaluación, y por cada periodo de evaluación, la glucosa en la sangre disminuye en 89.457 mg/dl; presentando la mayor disminución al minuto 90 y la menor a los 270 minutos.

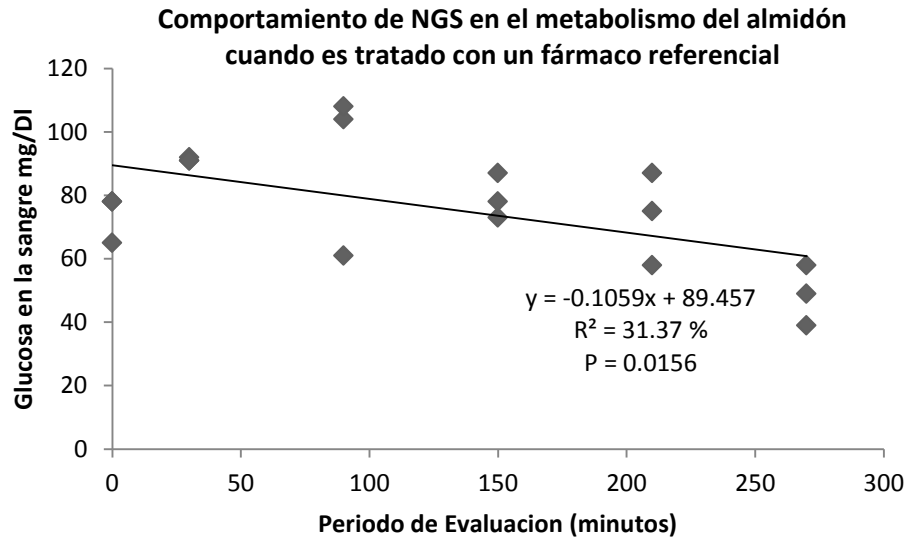


GRÁFICO No 7. COMPORTAMIENTO DE LOS NGS (MG/DL) EN EL METABOLISMO DEL ALMIDÓN CUANDO ES TRATADO CON GLIBENCLAMIDA COMO FÁRMACO REFERENCIAL EN EL ESTUDIO. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL DEL 2014.

Por otro lado los lotes tratados con los extractos de *P. peruviana*, se observó que los niveles glicemia logrados tras la administración de las dosis de 0.86, 1.85 y 2.46 mg/Kg de peso resultaron, en todos los tiempos, superiores o menores a los desarrollados en el lote control positivo (LAC+), al no observar una linealidad ni diferencias significativas en la primera hora ($p < 0.05$) se obtiene que la infusión acuosa de *Physalis peruviana* a la dosis de 1.85 mg/Kg de peso presenta una pequeña pero no significativa actividad.

Como se puede apreciar en la curva de tolerancia, los lotes tratados con los extractos de *Physalis peruviana*, se observó que los NGS logrados tras la administración de las dosis de 0.86, 1.85 y 2.46 mg/Kg de peso se mantuvieron, en la mayoría del tiempo por debajo de lote problema y en todos los tiempos, superiores o menores a los desarrollados en el lote control positivo (LAC+), al no observar una linealidad ni diferencias significativas en los primeros tiempos ($p < 0.05$) se obtiene que la infusión acuosa de *Physalis peruviana* a la dosis de 1.85 mg/Kg de peso presenta una pequeña y no significativa actividad. pero esta diferencia no presentó significancia estadística y no se mantuvo al finalizar el tratamiento. Este resultado sugiere que el extracto de hojas de *Physalis peruviana* no tiene un efecto hipoglicemiante en el modelo de hiperglicemia transitoria en ratas inducido con SOA.

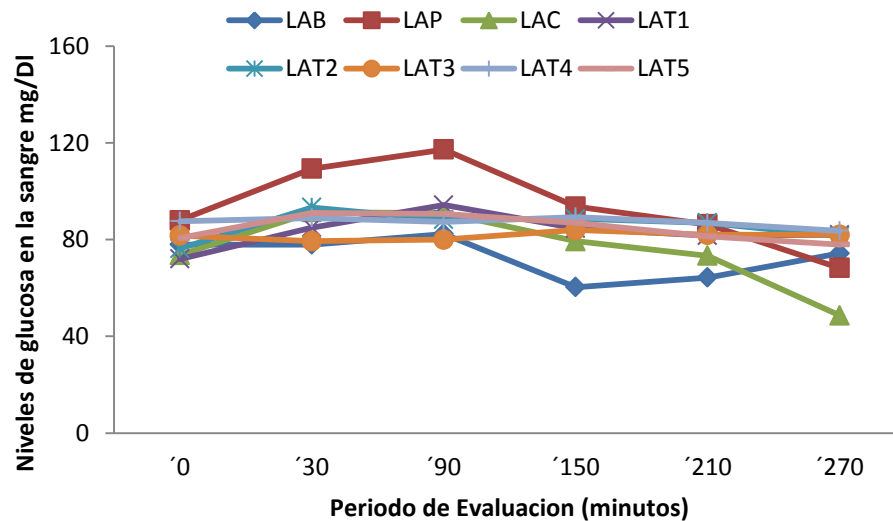


GRÁFICO No 8. CURVA DE TOLERANCIA ORAL A LA GLUCOSA DE RATAS ALBINAS MACHO A INTERVALOS DE TIEMPO DIFERENTES. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL DEL 2014.

3.3. ESTUDIO TOXICOLÓGICO

3.3.1. TOXICIDAD AGUDA

Para el estudio de la toxicidad aguda, cuatro ratas macho fueron tratados con una sola dosis de 2.46 mg/Kg de extracto etanólico de *Physalis peruviana*. El ensayo se llevó a cabo observando el comportamiento de los animales durante los primeros 30 minutos, periódicamente durante las primeras 24 horas y diariamente hasta los 14 días que dura el estudio. Los signos observados fueron Grito, Irritabilidad, Respuesta al toque, Huida, Contorsiones, Patas posteriores, Enderezamiento, Tono corporal, Convulsiones, Lagrimación, Micción, Defecación, Piloerección y Número de muertos.

En el cuadro 7 se aprecia las ponderaciones otorgadas a cada signo evaluado durante los primeros siete días.

CUADRO No 9. EVALUACIÓN DE LOS SIGNOS EN LOS PRIMEROS 7 DIAS DEL ESTUDIO DE TOXICIDAD AGUDA, A UNA DOSIS ÚNICA, 2.35 mg/kg, v.o. DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Physalis peruviana*. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. DICIEMBRE 2013.

SIGNOS EVALUADOS	TX ₁							TX ₂							TX ₃							TX ₄						
	DÍA							DÍA							DÍA							DÍA						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
Actividad General	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Grito	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Irritabilidad	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
Respuesta al toque	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Huida	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Contorciones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ratas posteriores	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Enderezamiento	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tono corporal	4	4	4	4	4	4	4	2	2	2	2	2	2	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Convulsiones	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lagrimacion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Micción	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Defecación	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	4	4	4	4	4	4	4
Piloereccion	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Muerte	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dónde:

0 Ausencia del signo en el animal de experimentación.

1-2 Manifestación del signo con moderada intensidad en el animal de experimentación.

3-4 Presencia del signo con alta intensidad en el animal de experimentación.

TX1 Toxicidad aguda para el reactivo biológico 1

TX2 Toxicidad aguda para el reactivo biológico 2

TX3 Toxicidad aguda para el reactivo biológico 3

TX4 Toxicidad aguda para el reactivo biológico 4

En el transcurso del estudio no se presentaron reacciones adversas significativas después de los siete días, razón por la cual no fue necesario determinar la dosis letal 50, puesto que no hubo muerte en el transcurso y al final del ensayo.

La masa corporal de los reactivos biológicos fue evaluada cada siete días, no evidenciando cambios significativos respecto al control.

CUADRO No 10. MASA CORPORAL DE LOS REACTIVOS BIOLÓGICOS MACHO. GRUPO CONTROL Y EN TRATAMIENTO, EN LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA A UNA DOSIS ÚNICA, 2.35 mg/kg, v.o. DE EXTRACTO ETANOLICO DE *Physalis peruviana*. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. DICIEMBRE 2013.

PESO CORPORAL EN GRAMOS			
GRUPO	Día 0	Día 7	Día 14
Control	355	358	350
TX1	351	347	349
TX2	352	348	353
TX3	357	341	344
TX4	370	357	353

Al final de los 14 días fueron realizados el análisis macroscópico de los órganos, en los cuales no se observa ninguna alteración aparente en relación al control. De igual manera la masa de los tres órganos farmacocinéticos (Estomago, Hígado y Riñón) en animales machos control y bajo tratamiento, fueron determinadas al final del experimento.

CUADRO No 11. ESTUDIO MACROSCÓPICA DE ÓRGANOS FARMACOCINÉTICOS. EN LA PRUEBA DE TOXICIDAD AGUDA A UNA DOSIS ÚNICA, 2.35 mg/kg, v.o DE EXTRACTO ETANOLICO DE *Physalis peruviana*. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. DICIEMBRE 2013.

EXAMEN MACROSCÓPICO						
GRUPO	ÓRGANO	Color	Peso (g)	Longitud en cm		
				Largo	Ancho	Profundidad
Control	Estomago	Blanquecino	2.9	3	1.1	0.6
	Hígado	Rojo oscuro	11.1	5.5	4	0.6
	Riñón	Café oscuro	1.1	1.7	1.1	0.5
TX1	Estomago	Rosa pálido	2	2.7	1.2	0.6
	Hígado	Rojo oscuro	11.4	5.6	3.5	0.6
	Riñón	Rojo vino	1.4	2.1	1.1	0.7
TX2	Estomago	Rosa pálido	2	3.3	1.2	0.6
	Hígado	Rojo oscuro	11.3	5.6	4.2	0.6
	Riñón	Café oscuro	1.3	1.9	1.2	0.6
TX3	Estomago	Rosa pálido	2	2.8	1.4	0.5
	Hígado	Rojo oscuro	12.3	6	4.6	0.5
	Riñón	Rojo vino	1.2	1.9	1.2	0.5
TX4	Estomago	Blanquecino	2.6	2.1	1.2	0.5
	Hígado	Rojo oscuro	12.1	6.1	4.4	0.4
	Riñón	Café oscuro	1.3	2	1.1	0.6

El estudio macroscópico de estómago, hígado y riñón no presentan alteraciones significativas en relación al control

El estudio microscópico del estómago, reporta que no se observa lesiones ni ulceraciones de la mucosa gástrica. Los lobulillos hepáticos presentan una arquitectura normal y los espacios porta presentan un aligera congestión vascular, esto es, debido a la técnica empleada para la eutanasia. Los glomérulos y túbulos renales presentan una arquitectura y calibre normal, sin daño evidente.

En base a estos resultados, los estudios realizados con extracto etanólico de *Physalis peruviana* no presenta signos de toxicidad evidente, a la dosis administrada.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

Al término de la investigación se realizó la caracterización Farmacognóstica, fitoquímica y farmacológica de las hojas de Chapuca (*Physalis peruviana*) mediante ensayos generales, determinación cualitativa de metabolitos secundarios, cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales y análisis cromatográfico en capa fina para la detección de alcaloides y flavonoides. Con lo que se concluye:

1. Según los parámetros de control de calidad de la droga cruda y el extracto etanólico de *Physalis peruviana*, se encuentran dentro de los límites establecidos por normas internacionales y nacionales.
2. El tamizaje fitoquímico del extracto etéreo, etanólico y acuoso de hojas de *Physalis peruviana* indicaron la presencia significativa de alcaloides, triterpenos, compuestos fenólicos y flavonoides, mismos que tienen relación directa con la actividad hipoglicemiante.
3. La cuantificación espectrofotométrica a 510 nm de flavonoides expresados como rutina, en el extracto etanólico de *Physalis peruviana*, reveló una cantidad significativa de flavonoides, 1.54 ppm (0.23%), reportados como principio activo por la farmacopea brasileña.

4. Mediante el análisis cromatográfico para flavonoides y alcaloides, se verificó la posible presencia de Rutina y Ácido clorogénico, alcaloides de tipo tropano, escopolamina e Hyoscyamina.

5. La evaluación de la actividad Hipoglicemiante indica que los extractos de *Physalis peruviana* administrados a una dosis de 0.86, 1.85 y 2.46 mg/Kg de peso (v.o), no posee una actividad hipoglicemiante estadísticamente significativa de acuerdo al test de Tukey al 5% y al coeficiente de determinación obtenido de la estadística de regresión, después de ser administrado en ratas con hiperglicemia transitoria y al comparar con el fármaco de referencia.

6. Mediante la administración intragástrica y empleando el ensayo de dosis única. La dosis 2.46 mg/Kg peso del extracto etanólico de *Physalis peruviana* (Chapuca) no produce signos de toxicidad aguda en ratones.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Continuar con los estudios farmacológicos y toxicológicos que permitan validar las propiedades Hipoglicemiantes y otras patologías relacionadas, utilizando otros órganos de *P. peruviana*.
2. Realizar estudios de purificación e identificación química de principios activos responsables de la actividad Hipoglicemiente de las hojas de *P. peruviana*.
3. Probar el mismo estudio y patologías relacionadas, pero con otros modelos experimentales ya que la misma familia reportan actividad farmacológica.

BIBLIOGRAFÍA

ADEWOLE, S. & otros. Morphological changes and hypoglycemic effects of *Annona muricata* linn. (annonaceae) leaf aqueous extract on pancreatic β -cells of streptozotocin-treated diabetic rats. (African Journal of Biomedical Research). Vol. 9. No. 3. Durban-Sudáfrica, p.p. 173–187. Septiembre 2006.

ARAGÓN, Javier & otros. El pie diabético., Barcelona-España. Masson. 2002, p.p. 9.

BERNAL, Carlos. Contribución al estudio farmacotécnico del extracto estandarizado de frutos de *Physalis peruviana* L. con miras a la obtención de un producto fitoterapéutico (TESIS) (Magister en Ciencias Farmacéuticas) Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias. Departamento de Farmacia, Bogotá-Colombia, 2012. p.p. 10-30.

BOUCHÉ, Clara. & otros. The cellular fate of glucose and its relevance in type 2 diabetes. (Endocrine Reviews). Vol. 25. No. 5. Boston-Estados Unidos, p.p. 807-830. Octubre 2004.

CALVO, Socorro & otros. Patologías nutricionales en el siglo XXI: un problema de salud pública. , Madrid-España. Aranzadi, 2011. p.p. 109-112.

DALLAK, Mohammad. & otros. In vivo acute effects of orally administered hydro-ethanol extract of *Catha edulis* on blood glucose levels in normal, glucose-fed hyperglycemic, and alloxan-induced diabetic rats. (Arabia Med J). Vol. 31. No. 6. Abha-Arabia Saudita, p.p. 627-633. Junio 2010.

DOUGLAS, Alamino. Características Agronomicas De Fisalis (*Physalis pubescens*) Produzida Por Diferentes Métodos, Substratos, Aspectos Anatómicos Y Fitoquímicos (TESIS) (Maestría en Agronomía). Universidad Tecnológica Federal Do Paraná, Pato Branco-Paraná-Brasil. 2011, p.p. 17-25.

ENRIQUE, Blázquez & AMADOR, Schüller. Contribuciones de la Biología Molecular a la Medicina Actual: con Especial énfasis en los fundamentos moleculares de la Diabetes mellitus tipo 2. , Madrid-España. Real Academia Nacional de Medicina, 2002. p.p. 53-57.

ENRÍQUEZ, Andrés & otros. Estudio farmacognóstico y fitoquímico del rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe “Jengibre” de la ciudad de Chanchamayo-Región Junín (Revista médica Vallejana). Vol. 5. No. 1. Chanchamayo-Perú, p.p. 50-64. 14 de Abril de 2008.

ERHSSDIRIWEERA, & RATNASOORIYA, W. Usos etnobotánicos y estudios de bioactividad de *Scoparia dulcis*. (An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda). Vol. 29. No. 1. Rajagiriya-Sri Lanka. p.p. 31. 2008.

ESCALONA, Julio. Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de *Tamarindus indica* como premisa para su introducción en la medicina complementaria. (TESIS). (Doctor en Ciencias de la Salud). Universidad de Oriente, Facultad de Ciencias Naturales, Departamento de Farmacia, Santiago de Cuba-Cuba. 2011. p.p. 10-15.

ESCOBAR, Fernando & TÉBAR, Francisco. La Diabetes Mellitus En La Practica Clínica. , Madrid-España. Médica Panamericana, 2009, p.p. 1-7.

FIGUEROLA, Daniel. Manual de educación terapéutica en diabetes. , Madrid-España. Díaz de Santos, 2011, p.p. 21.

FREEMAN, W. & otros. Biología celular y molecular. 5 ed., Madrid-España. Médica Panamericana, 2005, p.p. 618-620.

FRÖDE, T. & MEDEIROS, Y. Los modelos animales para probar fármacos con potencial actividad antidiabética. (Diario de Etnofarmacología). Vol. 1. No. 115. Florianópolis-Brasil. p.p. 173-183. 04 de noviembre 2007.

FUENTES A. & otros. Bioquímica clínica y patología molecular. 2 ed., Barcelona-España. Reverte, 1998, p.p. 655-658.

HASANAT MD, A. & SIDDIQUA, M. In Vitro actividad antibacteriana, antifúngica y citotóxica de *Scoparia dulcis* L. (Revista Internacional de Farmacia y Ciencias Farmacéuticas). Vol. 3. No. 2. Dhaka-Bangladesh, p.p. 198-203. 02 de enero 2011.

HERNÁNDEZ, Manuel. & SASTRE, A. Tratado de Nutrición. , Madrid-España. Diaz de santos, 1999, p.p. 957-958.

JARA, Katia. Determinación de apoptosis miocárdica por medio de citometría de flujo en corazones fetales de ratones de madres diabéticas en el día 17 de gestación. (TESIS). (Médico Veterinario). Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Veterinarias. Instituto De Anatomía Y Morfofisiología, Valdivia-Chile. 2009, p.p. 2-7.

JIMOH, A. & otros. Evaluation of hypoglycaemic and antihyperglycaemic activity of methanolic wholeplant extract of *Schwenckia americana* (Solanaceae) in normal and alloxan-induced diabetic rats., (African Journal of Pharmacy y Farmacología). Vol. 7. No. 39. Sokoto-Nigeria, p.p. 2662-2666. 22 de octubre 2013.

JOVER, Alejandro. & GARCÍA, María. Manual de Auxiliar de Farmacia. , Sevilla-España. Eduforma, 2003, p.p 182-183.

JUÁREZ-ROJOP, Isela. & otros. Efecto hipoglucemiante de *Carica papaya* *deja* en ratas diabéticas. (Complementary and Alternative Medicine). Vol. 12. No. 236. Mexico, p.p. 1472-6882. 28 de noviembre 2012.

KHAN, V., & otros. Una evaluación farmacológica de plantas medicinales con potencial antidiabético. (Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences). Vol. 4. No. 1. Nueva Delhi-India, p.p. 27-42. 03 de enero 2012.

KOOLMAN, Jan. & RÖHM, Klaus. Bioquímica: texto y atlas. 3 ed. Madrid-España. Médica Panamericana. 2004, p.p. 158-219.

KRENTZ, Andrew. & BAILEY, Clifford. Antidiabéticos orales: Papel actual de diabetes mellitus tipo 2. (Drogas). Vol. 3. No. 65. Southampton-Inglaterra, p.p. 385-411. 2005.

LAXMIDHAR, Maharana. & otros. Potencial anti-hiperglucémico del extracto acuoso de hojas de *Solanum nigrum* Linn. (Der Pharmacia Lettre). Vol. 2. No. 3. Orissa-India, p.p. 168-179. 2010.

LOCK DE UGAZ, Olga. Investigación Fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. 2 ed. Perú. Fondo editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, 1994, p.p 2-20.

LORENZO, Pedro. & otros. Farmacología: Básica y Clínica. 18 ed. Madrid-España. Médica Panamericana. 2008, p.p. 635.

LUEGAS-CAICEDO, Pilar. Contribuição para a padronização de extratos de folhas de *cecropia glaziovii* snethl.: estudos de variação sazonal e intra-específica de

flavonóides e proantocianidinas, de metodologias de extração e de atividade vasorelaxante. (TESIS). (Doctorado en Ciencias Farmacéuticas). Universidad Federal De Minas Gerais, Facultad de Farmacia, Ciencias Farmacéuticas, Belo Horizonte-Brasil, 2005, p.p. 55-71.

MEDINA, Diana. Implementación de una metodología para la obtención de marcadores de frutos de *Physalis peruviana* L., y evaluación de actividad hipoglicemiante. (TESIS). (Magister en Ciencias Farmacéuticas) Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia, Bogotá-Colombia, 2012, p.p. 5-43.

MÜLLER-ESTERL, Werner. Bioquímica. Fundamentos para Medicina y Ciencias de la Vida. , Barcelona-España. Reverté. 2008, p.p. 621-624.

OSORIO, Edison. Aspectos Básicos De Farmacognosia (TESIS) (Farmacia) Universidad de Antioquia, Facultad de química farmacéutica. Antioquia-Colombia, 2009, p.p. 28-57.

OYEDEPO, T. & otros. Evaluation of Anti-hyperlipidemic Effect of Aqueous Leaves Extract of *Moringa oleifera* in Alloxan Induced Diabetic Rats. (Revista Internacional de Investigación Bioquímica y reseña). Vol. 3. No. 3. Ede-Nigeria, p.p. 162-170. 03 de Mayo 2013.

PAZMIÑO, Carlitos. Determinación de la actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcoholico de justicia *chlorostachya leonard* (insulina). En ratones con hiperglicemia inducida. (TESIS). (Bioquímico Farmacéutico). Escuela Superior Politecnica De Chimborazo, Facultad de ciencias, Escuela de bioquímica y farmacia, Riobamba-Ecuador. 2011, p.p. 1-20.

RAWI, Sayed. & otros. Biochemical changes in experimental diabetes before and after treatment with *Mangifera indica* and *psidium* guava extracts. (Int J Pharm Biomed Sci). Vol. 2. No. 2. Cairo-Egipto, p.p. 29-41. 10 de julio 2011.

SALVADOR, Cañaguera. Las monografías de cálida, seguridad y eficacia en el uso racional de los preparados a base de plantas medicinales. (Revista de fitoterapia). Vol. 6. No. 1. Barcelona-España, p.p. 25-29. 09 de Diciembre 2006.

SARIVIA, Amaranillis. Manual de Ensayos Toxicológicos y Farmacológicos Experimentales in vivo e in vitro. , Guatemala. Universitaria. 2005, p.p. 65-72.

SASIDHARAN, S. & otros. Extracción, aislamiento y caracterización de compuestos bioactivos a partir de extractos de plantas. (African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicine). Vol. 8. No. 1. Minden-Malasia, p.p. 1-10. 02 de octubre 2010.

SHAO, Jingwei. & LIN, Manman. Cuantificación en vivo de glucosa en sangre usando espectroscopia Raman. (Revista científica PLOS ONE). Vol. 7. No. 10. Fustou-China, p.p. 48-127. 25 de octubre 2012.

SILBERNAGL, Stefan. & DESPOPOULOS, Agamemnon. Fisiología: texto y atlas. 7 ed. Madrid-España. Médica Panamericana. 2009, p.p. 284-285.

SOLGORRÉ, Enrique. Efecto del extracto hidroalcohólico de hojas y flores de *Otholobium pubescens* en la hiperglicemia experimental en *Rattus norvergicus* var. Albinus. (TESIS). (Magister en recursos vegetales y terapéuticos). Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Facultad de farmacia y bioquímica, Lima-Perú, 2005, p.p. 8-15.

SRIDEVI, M. & otros. Antihyperlipidemic activity of alcoholic leaf extract of *Solanum surattense* in streptozotocin diabetic rats. (Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicina). Vol. 1. No. 1. Tamil Nadu-India, p.p. 276-280. 28 de Junio 2011.

TEIJÓN, José. & otros. Fundamentos de bioquímica metabólica. 2 ed., Madrid-España. Tebar. 2006, p.p. 23-27.

TIWARI, Prashant. & otros. Tamizaje fitoquímico y de extracción. (Internationale Pharmaceutica Sciencia). Vol. 1. No. 1. Phagwara-India, p.p. 98-106. 26 de Febrero 2011.

TOAPANTA, Sofía. Cambios En La Capacidad Antioxidante Durante El Almacenamiento Refrigerado De Uvilla (*Physalis Peruviana*) Orgánica Sin Capuchón Tratada Con Radiación Uv. (TESIS). (Ingeniería De Alimentos). Universidad Tecnológica Equinoccial, Facultad De Ciencias De La Ingeniería. Quito-Ecuador, 2011, p.p. 16-41.

URZÚA, Zorayda. Efectos Cronicos de la Cafeína sobre el nivel y tolerancia a la glucosa en ratas sanas y con diabetes mellitus experimental. (TESIS). (Master en Ciencias Médicas). Universidad de Colima, Facultad de Medicina, Colima-Ecuador. 2011, p.p. 6-10.

VASUDEVAN, D. & otros. Texto de Bioquímica para Estudiantes de Medicina. 6 ed. Jalisco-Mexico. Cuéllar Ayala. 2011, p.p. 274-291.

VIDAURRE, Milagros. & QUEREVALÚ, Laura. Características Farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia*. (Revista Médica Vallejana). Vol. 4. No. 2. Perú, p.p. 121-131 18 de Septiembre 2007.

WAGNE, Hildebert. & BLAD, Sabine. Plant Drug Analysis: A thin layer chromatography atlas. 2 ed, Munich-Alemania. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 1996, p.p. 48-50.

WILEY, Jhon. & SONS. Bioquímica: libro de texto con aplicaciones clínicas. 5 ed, Barcelona-España. Reverte. 2006, p.p. 605-610.

YEONG, M. Lo esencial en metabolismo y nutrición. 3 ed, Barcelona-España. Elsevier. 2010, p.p. 1-10.

BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET

ANÁLISIS QUÍMICO DE PLANTAS AROMÁTICAS Y MEDICINALES.

Universidad politécnica de Madrid. 2010-03-24

<http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema12.pdf>

2013-07-20

BANCO DE MEDICAMENTOS: GLYBURIDE DB01016. Banco de medicamentos. 2013-09-23

<http://www.drugbank.ca/drugs/DB01016>

2013-07-19

CULTIVO DE AGUAYMANTO (*Physalis peruviana*) II PARTE. Araujo Z. Guido

E. 2009-04-04

<http://aguaymanto.blog.galeon.com/2009/04/04/cultivo-de-aguaymanto-physalis-peruviana-ii-parte/>

2013-09-01

DIABETES AFECTA A 800 000 PERSONAS EN ECUADOR. El comercio. 2011-11-14

http://www.elcomercio.com.ec/sociedad/Diabetes-afecta-personas-Ecuador_0_590341076.html

2013-09-25

DOCUMENTO DE ORIENTACIÓN SOBRE EL RECONOCIMIENTO, EVALUACIÓN Y USO DE SIGNOS CLÍNICOS COMO CRITERIOS DE VALORACIÓN HUMANAS PARA ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN, UTILIZADOS EN LA EVALUACIÓN DE SEGURIDAD. Organización para la Cooperación y el Desarrollo. 2000-12-20.

[http://search.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO\(2000\)7&doclanguage=en](http://search.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO(2000)7&doclanguage=en)
2013-11-16

DIRECTRICES OCDE PARA LAS PRUEBAS DE LOS PRODUCTOS QUÍMICOS (423): TOXICIDAD ORAL AGUDA-MÉTODO DE LAS CLASES DE TOXICIDAD AGUDA. Organización para la Cooperación y el Desarrollo. 2002-02-08.

http://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/SuppDocs/FedDocs/OECD/OECD_GL423.pdf
2013-10-20

DIRECTRIZES DE LA SOCIEDAD BRASILEIRA DE DIABETES: EPIDEMIOLOGIA DE LA DIABETES MELLITUS. Sociedad brasileira de diabetes. 2009-11-10.

http://www.diabetes.org.br/attachments/diretrizes09_final.pdf
2013-11-03

EL USO DE AGENTES HIPOGLUCEMIANTES ORALES. Educación sobre la Diabetes Grupo de Estudio de la Asociación Europea para el Estudio de la Diabetes. 2007-11-05

http://www.infodiabetes.it/files/DESG/teaching_letter_37.pdf
2013-07-19

ESTRATEGIA DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS) SOBRE MEDICINA TRADICIONAL. Organización mundial de la salud. 2002-01-15

<http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s2299s/s2299s.pdf>
2013-12-08

GUÍA PARA EL CUIDADO Y USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO. Centro de Información de Bienestar Animal. 2002-04-03.

<http://www.nal.usda.gov/awic/pubs/noawicpubs/careuse.htm#chap2>

2013-07-12

HOMEOSTASIS. Fisiologia-11-edicion. 2011-01-31.

<http://physiology-11.wikispaces.com/02+Homeostasis>

2013-11-26

HIPOGLUCÉMICOS ORALES C. M. Centro Médico de Boulder. 2009-11-03.

http://www.bouldermedicalcenter.com/articles/oral_hypoglycemic_drugs.htm

2013-07-19

HOJA BOTÁNICA: AGUAYMANTO (*Physalis peruviana L.*) Nicolas Doster & Otros. 2011-11-10

<http://perubiodiverso.pe/assets/HOJA-BOTANICA-AGUAYMANTO3.pdf>

2013-09-01

LOS MEDICAMENTOS ORALES PARA LA DIABETES EN LOS ADULTOS CON DIABETES TIPO 2. Agencia para la Investigación y Calidad. 2011-03-15.

[http://effectivehealthcare.ahrq.gov/ehc/products/155/645/Oral Diabetes_ExSumm \(2\).pdf](http://effectivehealthcare.ahrq.gov/ehc/products/155/645/Oral_Diabetes_ExSumm(2).pdf)

2013-07-19

MEDICAMENTOS ORALES PARA CONTROLAR LA DIABETES TIPO 2.

Debra Manzella. 2014-06-13.

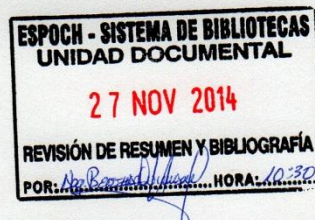
<http://diabetes.about.com/od/equipmentandbreakthroughs/p/oralmeds.htm>

2014-07-29

TECNOLOGÍAS DE EXTRACCIÓN DE PLANTAS MEDICINALES Y AROMÁTICAS. Organización para el Desarrollo Industrial de las Naciones Unidas y el Centro Internacional de Ciencia y Tecnología. 2008.

https://www.unido.org/fileadmin/user_media/Publications/Pub_free/Extraction_technologies_for_medicinal_and_aromatic_plants.pdf
2013-11-25

TOMATE VERDE: PHYSALIS PHILADELPHICA LAM. Yerberito. 2009-03-29
<http://jardindelasalud.blogspot.com/2009/03/tomate-verde-physalis-philadelphicalam.html>
2013-07-24



CAPITULO VI

6. ANEXOS

ANEXO No 1. ESTUDIO FARMACOGNÓSTICO GENERAL DE *Physalis peruviana*.



FOTOGRAFÍA No 4 y 5. HABITA NATURAL Y RECOLECCIÓN DEL MATERIAL BOTÁNICO.



FOTOGRAFÍA No 6. LAVADO DE *Physalis peruviana*.



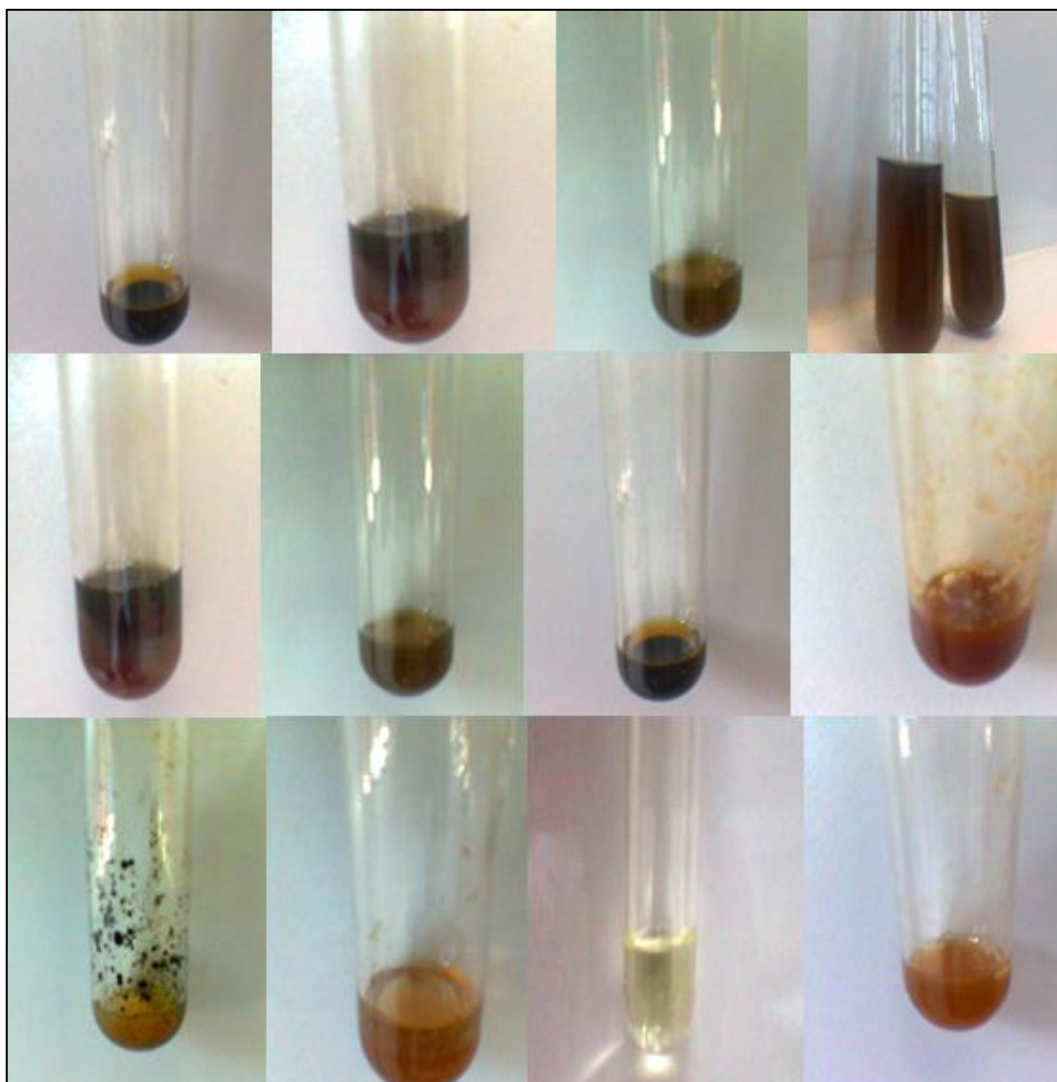
FOTOGRAFÍA No 7 Y 8. MACERACIÓN Y CONCENTRADO DEL MATERIAL BOTÁNICO.



FOTOGRAFÍA No 9 Y 10. DETERMINACIÓN GRAVIMÉTRICA DE HUMEDAD Y CENIZA



FOTOGRAFÍA No 11. CONTROL DE CALIDAD FÍSICO-QUÍMICO PARA *Physalis peruviana*: Densidad, pH y Sólidos totales.



FOTOGRAFÍA No 12. TAMIZAJE QUÍMICO CUALITATIVO DE *Physalis peruviana*.

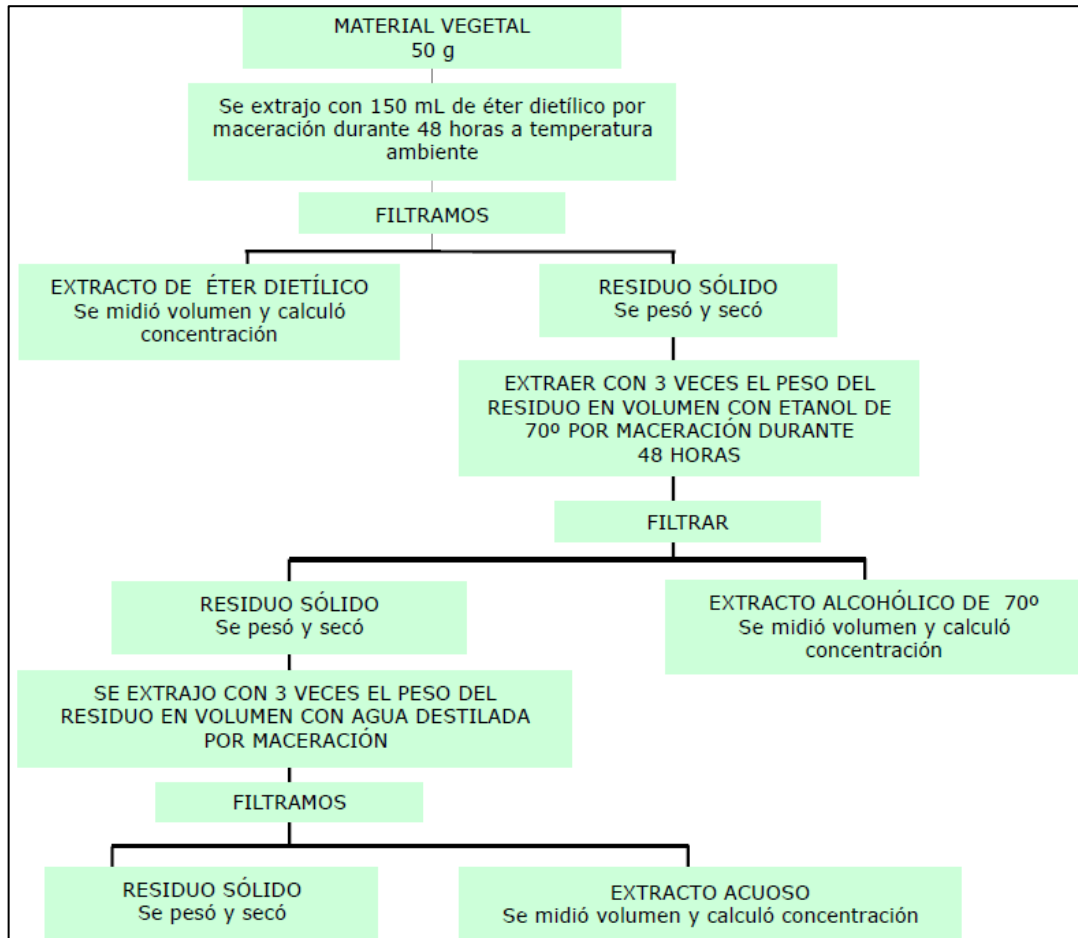


FIGURA 10. EXTRACCIÓN SUCESIVA DE *Physalis peruviana* PARA LA APLICACIÓN DE TÉCNICAS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO.

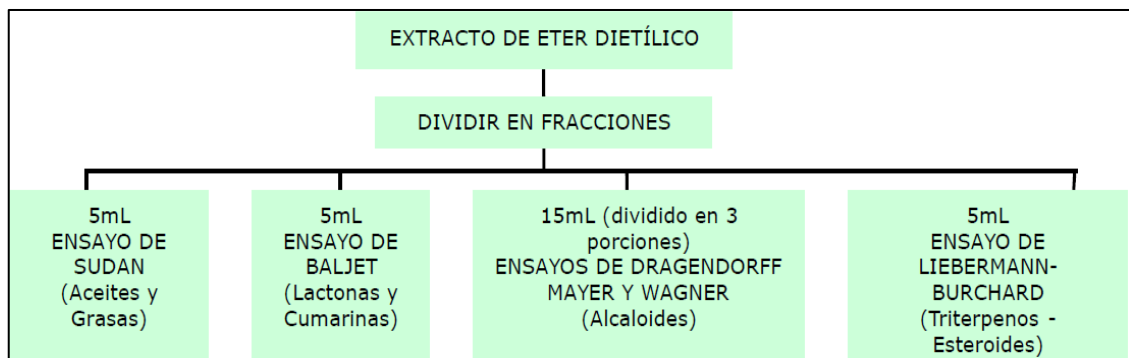


FIGURA 11. ESQUEMA DE REACCIONES A REALIZAR AL EXTRACTO DE ÉTER DIETÍLICO DE *Physalis peruviana*.

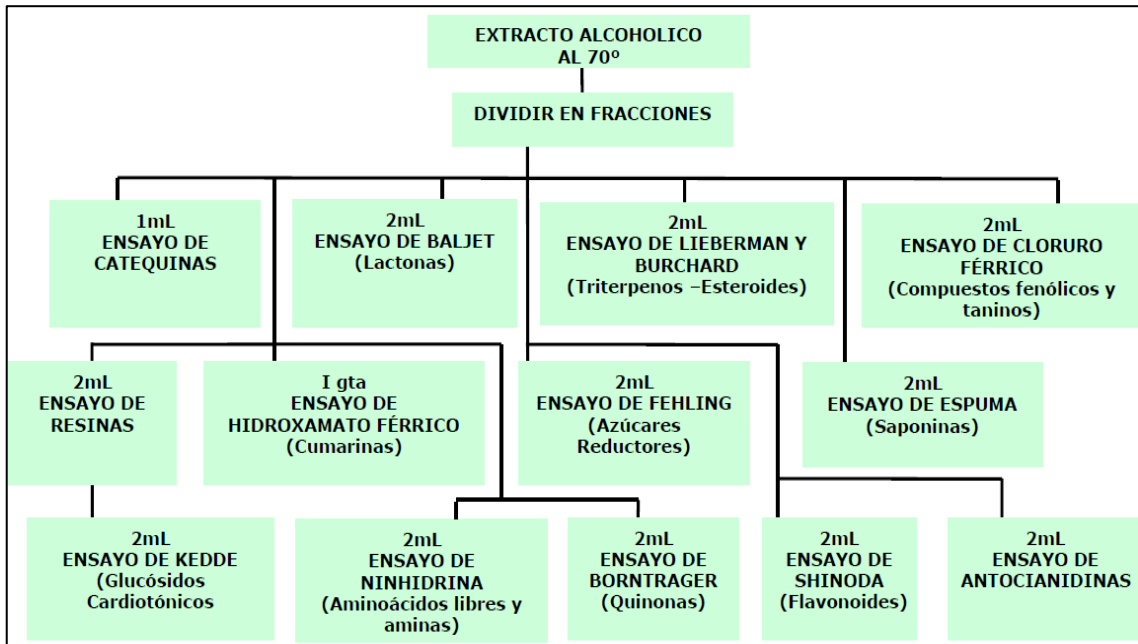


FIGURA No 12. ESQUEMA DE REACCIONES REALIZADAS AL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE *Physalis peruviana*.

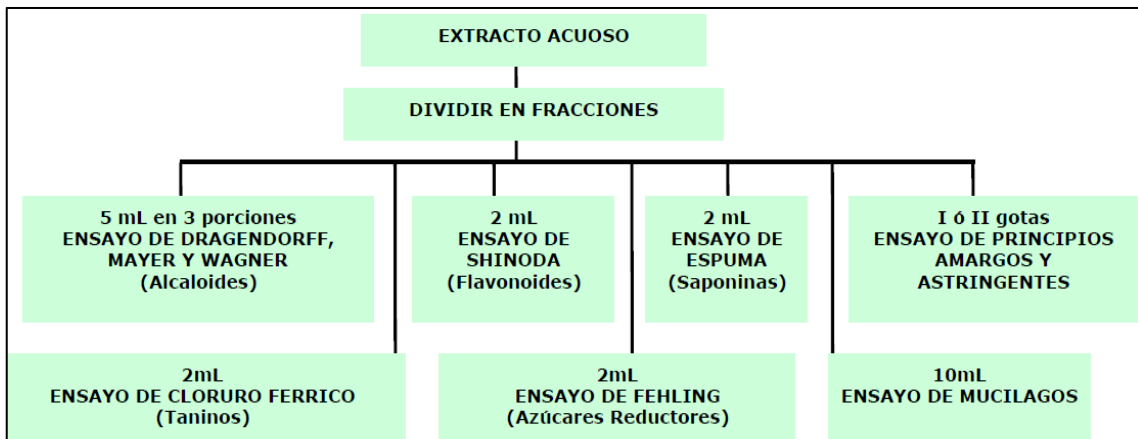
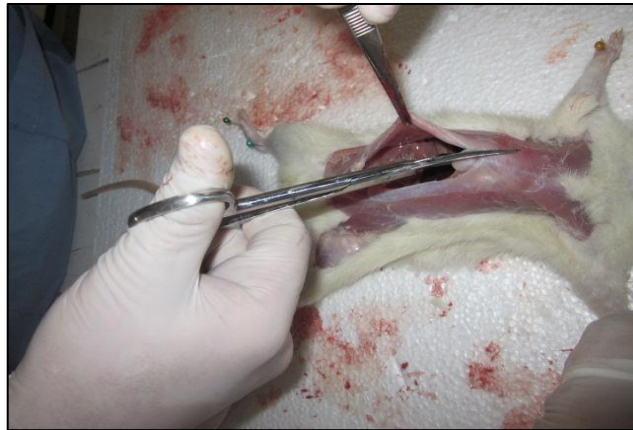
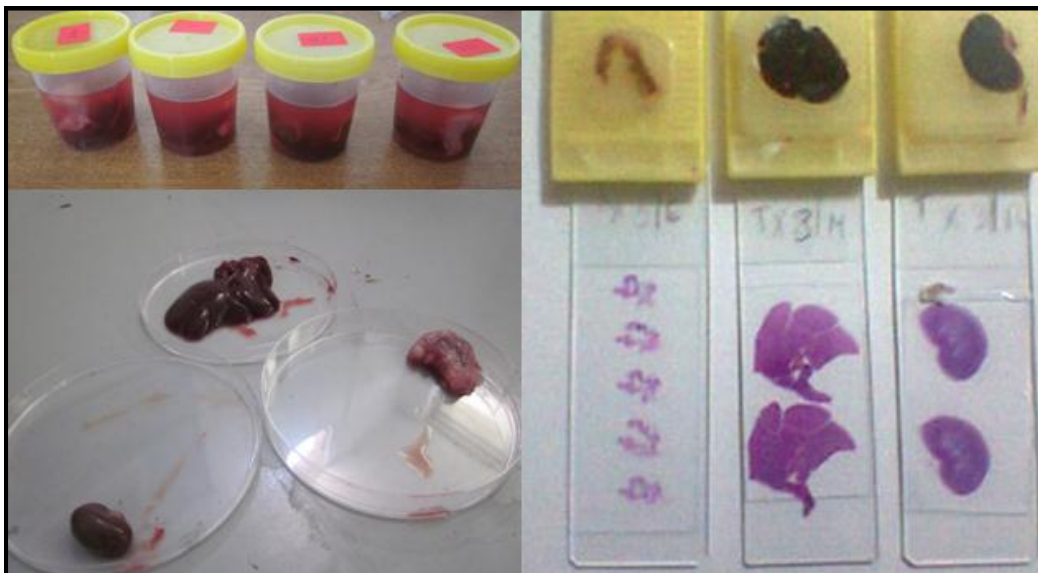


FIGURA 13. ESQUEMA DE REACCIONES PARA EL EXTRACTO ACUOSO DE *Physalis peruviana*.

ANEXO No 2. DISEÑO EXPERIMENTAL PARA EL ESTUDIO TOXICOLÓGICO DE *Physalis peruviana* EN *Rattus norvegicus*.



FOTOGRAFÍA 13. DISECCIÓN DE RATA ALBINA (*Rattus norvegicus*)



FOTOGRAFÍA 14. ESTUDIO ANATOMO E HISTOPATOLÓGICO DE *Rattus norvegicus*.

ANEXO No 3. DISEÑO EXPERIMENTAL PARA EL ESTUDIO FARMACOLÓGICO De *Physalis peruviana* EN *Rattus norvegicus*.



FOTOGRAFÍA No 15. PREPARACIÓN DE DROGA Y SUSTANCIAS QUÍMICAS; AMBIENTACIÓN Y DISTRIBUCIÓN ALEATORIA DE REACTIVOS BIOLÓGICOS.



FOTOGRAFÍA No 16. ADMINISTRACIÓN DE EXTRACTO, GLIBENCLAMIDA Y ALMIDÓN



FOTOGRAFÍA No 17. TOMA DE MUESTRA Y MEDICIÓN DE NIVELES DE GLUCOSA EN SANGRE.