



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

**“ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO
HIDROALCOHOLICO DE *Jungia rugosa* EN RATONES (*Mus
musculus*) DIABÉTICOS INDUCIDOS POR
ESTREPTOZOTOCINA”**

**Trabajo de Titulación para optar al grado académico de
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

AUTORA: SONIA ELIZABETH TACUAMÁN JÁCOME

TUTORA: Lcda. KAREN ACOSTA LEÓN M.Sc

RIOBAMBA-ECUADOR

2015

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

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE *Jungia rugosa* EN RATONES (*Mus musculus*) DIABÉTICOS INDUCIDOS POR ESTREPTOZOTOCINA”, de responsabilidad de la señorita egresada Sonia Elizabeth Tacuamán Jácome, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Nancy Veloz DECANA FAC. DE CIENCIAS	_____	_____
Dra. Félix Andueza DIRECTOR ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA	_____	_____
M.Sc. Karen Acosta León DIRECTOR DE TESIS	_____	_____
M.Sc Diego Vinueza Tapia MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	_____
BQF. Fausto Contero Bedoya MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	_____
DOCUMENTALISTA SISBIB ESPOCH	_____	_____
NOTA DE TESIS ESCRITA	_____	

Yo, **Sonia Elizabeth Tacuamán Jácome**, 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

SONIA ELIZABETH TACUAMÁN JÁCOME

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado con todo mi amor y admiración a mis queridos padres Fredy y Martha, aquí está plasmado nuestro sacrificio y dedicación, estoy profundamente agradecida por todo el apoyo, confianza y las enseñanzas que día a día construyeron en mí la persona que soy e hicieron posible que logrará alcanzar mis metas, a ustedes por siempre mi amor y corazón.

A mi hija Emily Cristina, por ser la mi inspiración que alegra todos los días de mi vida, y mi motor principal para seguir adelante.

A Francisco Xavier, mi compañero, por ser la persona que siempre ha estado en los momentos más difíciles para brindarme su cariño, ayuda y conocimientos.

A mis hermanos Freddy, Edgar y Jorge; por ser tan afectuosos, brindándome su apoyo y ánimos

A mis tíos Levy, Yadira, Doris, millón gracias por su cariño y consejos brindados en toda mi vida.

En especial esta investigación es pensando en la salud y bienestar de todas las personas que sufren de diabetes, para que siempre mantenga la esperanza y la fe de que son el grupo prioritario para el estudio y el desarrollo de neo-medicamentos naturales, económicos, eficaces, seguros y al alcance de toda la población.

Con el más profundo amor esta tesis se las dedico a ustedes.

Sonia

AGRADECIMIENTO

Mi más sencillo, profundo y sincero agradecimiento, en primer lugar a Dios quien me dio la vida y guía mi camino, a mis adorables padres que con amor y comprensión me apoyaron, a mis hermanos y tíos, quienes confiaron en mí, llenándome de cariño y de seguridad, para que yo de este gran paso haciendo posible este logro académico, que será la base fundamental y esencial de mi vida profesional.

A mi querida Alma Mater, por abrir sus puertas a muchos de sus siervos que orgullosamente representan a esta noble institución, a las autoridades y mis estimados mentores de la escuela de Bioquímica y Farmacia, que compartieron sus conocimientos, experiencias y formación guiados en lo académico, ético y moral durante mi vida estudiantil.

De manera especial a la licenciada Karen Acosta M.Sc directora de esta tesis y al BQF. Diego Vinuesa M.Sc colaborador, quienes me brindaron sus conocimientos y sugerencias para la culminación de este trabajo investigativo. A todos ustedes mil gracias.

Dios les bendiga por siempre.

Sonia

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	x
ÍNDICE DE CUADROS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE GRAFICOS.....	xiii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xv
RESUMEN.....	xvi
SUMMARY.....	xvii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I	
1. MARCO TEÓRICO.....	3
1.1 Antecedentes: La diabetes en la Historia.....	3
1.2. Diabetes.....	4
<i>1.2.1. Tipos de diabetes.....</i>	<i>5</i>
<i>1.2.1.1. Diabetes Mellitus tipo I.....</i>	<i>6</i>
<i>1.2.1.2. Diabetes Mellitus tipo II.....</i>	<i>6</i>
<i>1.2.1.3. Diabetes Mellitus Gestacional.....</i>	<i>8</i>
1.3. Alteraciones: De la tolerancia a la glucosa y de la glucosa en ayunas.....	8
1.4. Complicaciones en la diabetes.....	8
<i>1.4.1. Enfermedad cardiovascular.....</i>	<i>10</i>
<i>1.4.2. Enfermedad renal o nefropatía.....</i>	<i>10</i>
<i>1.4.3. Retinopatía o enfermedad ocular.....</i>	<i>10</i>
<i>1.4.4. Lesiones nerviosas.....</i>	<i>10</i>
<i>1.4.5. Pie Diabético.....</i>	<i>11</i>
<i>1.4.6. Hipertensión.....</i>	<i>11</i>
<i>1.4.7. Complicaciones durante el embarazo.....</i>	<i>11</i>
1.4.8. Otras complicaciones.....	11
<i>1.4.8.1. Salud bucodental.....</i>	<i>11</i>
<i>1.4.8.2. Apnea del sueño.....</i>	<i>12</i>
1.5. Factores de riesgo.....	12
<i>1.5.1. Edad y sexo.....</i>	<i>12</i>
<i>1.5.2. Etnia y susceptibilidad genética.....</i>	<i>12</i>
<i>1.5.3. Obesidad.....</i>	<i>12</i>
<i>1.5.4. Dieta y alcohol.....</i>	<i>13</i>
1.6. Prevención de la diabetes.....	13

1.6.1.	<i>Prevención de las hipoglucemias</i>	13
1.7.	La Diabetes en el Mundo	14
1.7.1.	<i>Prevalencia y proyecciones de mundiales</i>	14
1.7.2.	<i>Distribución por edades</i>	16
1.7.3.	<i>Distribución por sexos</i>	16
1.8.	La diabetes en Ecuador	16
1.9.	Tratamiento de la Diabetes Mellitus	17
1.9.1.	<i>Secretagogos</i>	17
1.9.1.1.	<i>Sulfonilureas</i>	17
1.9.1.2.	<i>Metiglinidas</i>	18
1.9.2.	<i>Biguanidas</i>	18
1.9.3.	<i>Inhibidores de alfa glucosidasa</i>	19
1.9.4.	<i>Insulina</i>	19
1.10.	Metabolitos naturales con acción antidiabética	20
1.11.	Compuestos fenólicos	21
1.11.1.	<i>Flavonoides</i>	21
1.11.1.1.	<i>Flavonoides en la diabetes</i>	22
1.12.	<i>Jungia rugosa Less</i>	24
1.13.	Modelos animales experimentales	25
1.13.1.	<i>Ratón de laboratorio</i>	25
1.14.	Modelos de Inducción a diabetes mediante administración de fármacos	26
1.14.1.	<i>Estreptozotocina</i>	27
1.14.2.	<i>Alloxano</i>	27
1.15.	Vías de administración	28
1.15.1.	<i>Vía oral</i>	28
1.15.2.	<i>Vía intravenosa</i>	28
1.15.3.	<i>Vía intraperitoneal</i>	28
CAPÍTULO II		
2.	MARCO METODOLÓGICO	29
2.1.	Lugar de investigación	29
2.2.	Materiales, equipos y reactivos	29
2.2.1.	Materia prima	29
2.2.2.	<i>Reactivo biológico</i>	29
2.2.3.	<i>Descripción</i>	30
2.2.4.	<i>Materiales y equipos</i>	30
2.3.	Técnicas y Métodos	31
2.3.1.	<i>Control de calidad de la droga cruda</i>	31

2.3.1.1.	<i>Determinación del contenido de humedad</i>	31
2.3.1.2.	<i>Determinación de cenizas totales</i>	32
2.3.2.	Tamizaje fitoquímico	33
2.3.2.1.	<i>Ensayo de Dragendorff</i>	33
2.3.2.2.	<i>Ensayo de Mayer</i>	33
2.3.2.3.	<i>Ensayo de Wagner</i>	34
2.3.2.4.	<i>Ensayo de Lieberman- Buchard</i>	34
2.3.2.5.	<i>Ensayo de Baljet</i>	34
2.3.2.6.	<i>Ensayo de Sudán III</i>	34
2.3.2.7.	<i>Ensayo de Borntrager</i>	35
2.3.2.8.	<i>Ensayo de Catequinas</i>	35
2.3.2.9.	<i>Ensayo de Saponinas</i>	35
2.3.2.10.	<i>Ensayo de Cloruro férrico</i>	35
2.3.2.11.	<i>Ensayo de Shinoda</i>	36
2.3.3.	Preparación del extracto de <i>Jungia rugosa</i> Less	36
2.3.4.	Cromatografías en capa fina (TLC)	38
2.3.4.1.	<i>Cromatografías en capa fina del extracto de <i>Jungia rugosa</i> Less</i>	38
2.3.5.	Separación de los compuestos	38
2.3.6.	Cuantificación de flavonoides totales	39
2.3.7.	Determinaciones espectroscópicas	39
2.3.7.1.	<i>Determinación de IR</i>	39
2.3.7.1.	<i>Determinación del HPLC- UV</i>	39
2.3.8.	Preparación de los tratamientos	39
2.3.8.1.	<i>Preparación del tratamiento control de Acarbosa 20 mg/kg</i>	39
2.3.8.2.	<i>Preparación del tratamiento experimental (25 mg/kg)</i>	39
2.3.8.3.	<i>Preparación del tratamiento experimental (100 mg/kg)</i>	40
2.3.8.4.	<i>Preparación del tratamiento experimental (400 mg/kg)</i>	40
2.3.9.	Protocolo Farmacológico	41
2.3.9.1.	<i>Inducción de diabetes moderada a los ratones</i>	42
2.3.9.2.	<i>Inducción de diabetes severa a los ratones</i>	43
2.3.9.3.	<i>Actividad hipoglucemiante en los animales con diabetes moderada</i>	43
2.3.9.4.	<i>Actividad hipoglucemiante en los animales con diabetes severa</i>	44
2.3.9.5.	<i>Ensayo de Toxicidad</i>	45
2.3.10.	Análisis estadístico	45
CAPITULO III		
3. MARCO DE RESULTADOS, ANALISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS46		
3.1.	Control de calidad de la droga cruda	46

3.2.	Tamizaje fitoquímico.....	47
3.3.	Cromatografías en capa fina.....	48
3.3.1.	<i>Cromatografías del extracto flavónico de J. rugosa Less</i>	48
3.4.	Cuantificación de flavonoides totales.....	48
3.5.	Análisis espectroscópico de los compuestos del extracto flavónico de <i>J. rugosa Less</i>	49
3.5.1.	<i>Compuesto 1</i>	49
3.5.2.	<i>Compuesto 2</i>	50
3.5.3.	<i>Compuesto 3</i>	51
3.5.4.	<i>Compuesto 4</i>	51
3.5.5.	<i>Compuesto 5</i>	52
3.6.	Análisis de HPLC- UV.....	53
3.7.	Análisis del protocolo hipoglucemiante.....	54
3.7.1.	<i>Protocolo hipoglucemiante en los ratones con diabetes moderada</i>	54
3.7.2.	<i>Protocolo hipoglucemiante en los ratones con diabetes severa</i>	55
3.8.	Análisis estadístico.....	57
3.8.1.	<i>Hipoglicemia moderada</i>	57
3.8.2.	<i>Hipoglicemia severa</i>	58
3.9.	Análisis de toxicidad aguda.....	59
	CONCLUSIONES.....	60
	RECOMENDACIONES.....	61
	BIBLIOGRAFÍA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AGA	Alteración de glucosa en ayunas
a.n.e	Antes de nuestra era
ATG	Alteración de tolerancia a la glucosa
ANOVA	Análisis de varianza
cm²	Centímetro cuadrado
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FDA	Food and Drug Administration
FID	Federación Internacional de Diabetes
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficiencia
INEC	Instituto Nacional de Estadísticas y Censos
IR	Infrarrojo
kg	Kilogramo
MetOH	Metanol
mg	Miligramo
mg/kg	Miligramo por kilogramo de peso
min	Minuto
MINSAL	Ministerio de Salud de Chile
MINSAP	Ministerio de Salud de Cuba
MSP	Ministerio de Salud Pública de Ecuador
NAD	Nicotinamida
NRSP	Normas Ramales de drogas crudas y extractos y tinturas.
OMS	Organización Mundial de la Salud
STZ	Estreptozotocina
TLC	Thin Layer Chromatography
UV	Ultravioleta

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro No. 1-3	Control de calidad de la parte aérea de la planta seca <i>Jungia rugosa</i> Less. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba, Julio 2015.....	46
Cuadro No. 2-3	Tamizaje Fitoquímico del extracto de <i>Jungia rugosa</i> Less. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba Julio 2015.....	47
Cuadro No. 3-3	Análisis de <i>J. rugosa</i> por HPLC- UV. Centrocesal. Quito. Julio 2015.....	53
Cuadro No. 4-3	Lecturas de glicemias a través de las horas en los ratones con diabetes moderada. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Julio 2015.....	54
Cuadro No. 5-3	Lecturas de glicemias a través de los días en los ratones con diabetes moderada. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba, Julio 2015.....	55
Cuadro No. 6-3	Lecturas de glicemias a través de las horas en los ratones con diabetes severa. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba, Julio 2015.....	55
Cuadro No. 7-3	Lecturas de glicemias a través de los días en los ratones con diabetes severa. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba, Julio 2015.....	56
Cuadro No. 8-3	Parámetros a evaluar en el análisis de toxicidad.....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No. 1-1	Descubrimiento de la insulina como tratamiento de la diabetes.....	4
Figura No. 2-1	Tipos de diabetes.....	5
Figura No. 3-1	Mecanismo de acción de la diabetes tipo II.....	7
Figura No. 4-1	Principales complicaciones de la diabetes mellitus.....	9
Figura No. 5-1	Regiones que pertenecen a la FID.....	14
Figura No. 6-1	Prevalencia de diabetes y TAG en el mundo.....	15
Figura No. 7-1	Tiempo de acción de las insulinas.....	20
Figura No. 8-1	Estructura base de los flavonoides.....	22
Figura No. 9-1	Estudio de los flavonoides del cacao como antioxidantes.....	23
Figura No. 10-1	<i>Jungia rugosa</i> Less.....	25
Figura No. 11-2	Diagrama de obtención del metabolitos secundarios.....	33
Figura No. 12-2	Esquema de reacciones realizadas en el extracto etéreo.....	35
Figura No. 13-2	Esquema de reacciones realizadas en extracto alcohólico.....	36
Figura No. 14-2	Diagrama de flujo para la obtención del extracto hidroalcohólico de <i>J. rugosa</i> Less.....	37

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico No. 1-3	Cromatografía en capa fina del extracto flavónico de <i>J. rugosa</i> Less. Fase móvil: Tolueno: acetato de etilo 70:30.....	48
Gráfico No. 2-3	Curva de calibración de quercetina.....	49
Gráfico No. 3-3	Espectro Infrarrojo del compuesto 1 aislado del extracto hidroalcohólico de <i>J. rugosa</i>	49
Gráfico No.4-3	Espectro Infrarrojo del compuesto 2 aislado del extracto hidroalcohólico de <i>J. rugosa</i>	50
Gráfico No. 5-3	Espectro Infrarrojo del compuesto 3 aislado del extracto hidroalcohólico de <i>J. rugosa</i>	51
Gráfico No. 6-3	Espectro Infrarrojo del compuesto 4 aislado del extracto hidroalcohólico de <i>J. rugosa</i>	51
Gráfico No. 7-3	Espectro Infrarrojo del compuesto 5 aislado del extracto hidroalcohólico de <i>J. rugosa</i>	52
Gráfico No. 8-3	Cromatogramas del estándar y muestra del <i>J. rugosa</i> . Centrocesal. Quito. Julio 2015.....	53
Gráfico No. 9-3	Áreas bajo la curva de los niveles de glicemia moderada durante 6 horas.....	54
Gráfico No. 10-3	Áreas bajo la curva de los niveles de glicemia severa durante 6 horas.....	56
Gráfico No. 11-3	Análisis estadístico ANOVA y post test Dunnett para el grupo de diabetes moderada.....	57
Gráfico No. 12-3	Análisis estadístico ANOVA para el grupo de diabetes severa.....	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No. 1-1	Síntomas característicos de la diabetes tipo I.....	6
Tabla No. 2-1	Síntomas característicos de la diabetes tipo II.....	7
Tabla No. 3-1	10 principales causas de mortalidad en Ecuador, año 2013.....	17
Tabla No. 4-1	Clasificación de Sulfonilureas.....	18
Tabla No. 5-1	Tipos de Metiglinidas que se comercializan.....	18
Tabla No. 6-1	Taxonomía de la <i>Jungia rugosa</i>	25
Tabla No. 7-1	Taxonomía del ratón de laboratorio.....	26
Tabla No. 8-2	Lista de materiales y equipos utilizados.....	30
Tabla No. 9-2	Lista de reactivos utilizados en la investigación.....	31
Tabla No. 10-2	Formulaciones de las soluciones para actividad hipoglucemiante....	40
Tabla No. 11-2	Esquema de tratamientos para la actividad hipoglucemiante.....	41
Tabla No. 12-2	Esquema de dosificación para inducción a diabetes moderada.....	42
Tabla No. 13-2	Esquema de dosificación para la inducción de diabetes severa.....	43
Tabla No. 14-2	Esquema de tratamientos para los animales con diabetes moderada...	44
Tabla No. 15-2	Esquema de tratamientos para animales con diabetes severa.....	45
Tabla No. 16-3	Rf de los compuestos extraídos del extracto hidroalcohólico de <i>J. rugosa</i> Less.....	48

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A	Determinación de humedad y cenizas
Anexo B	Preparación del extracto hidroalcohólico de <i>Jungia rugosa Less</i>
Anexo C	Tamizaje Fitoquímico del extracto hidroalcohólico de <i>Jungia rugosa Less</i>
Anexo D	Separación de los compuestos del extracto flavónico de <i>J. rugosa Less</i>
Anexo E	Inducción de diabetes a los animales de experimentación
Anexo F	Lecturas de glicemias a los animales mediante punción en la vena caudal

RESUMEN

Se evaluó la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de *Jungia rugosa* Less en el modelo animal ratón de laboratorio (*Mus musculus*) cepa BALB/c a los cuales se indujeron diabetes mediante administración de estreptozotocina, y nicotinamida- estreptozotocina, luego de aplicar un diseño experimental de bloques al azar, se administraron los tratamientos a los grupos experimentales a las dosis de 25 mg/kg, 100 mg/kg y 400 mg/kg de extracto hidroalcohólico por kilogramo de peso de animal. Se usó un control positivo para discriminar el avance de los tratamientos sin la presencia de un principio activo. El extracto se obtuvo mediante un proceso de reflujo a partir de 40 gramos de parte aérea seca de la especie vegetal. Se consiguió como resultado una disminución marcada en los valores de glicemia en el caso de diabetes moderada durante las horas posteriores a la administración del tratamiento, y a través de los días establecidos por el protocolo. Este hecho fue comprobado aplicando un análisis de varianzas (ANOVA) seguido de un post test DUNNET, siendo los tratamientos de 100 mg/kg y 400 mg/kg los más eficaces. El tratamiento de 25 mg/kg se comparó con el control. En cuanto a la diabetes severa no existió una diferencia significativa entre los tratamientos y el control, por lo que se concluye que los tratamientos son tan eficaces como el control. En adición, se analizó el efecto tóxico de *Jungia rugosa* Less a una dosis de 2000 mg/kg de peso en un grupo previamente establecido, el resultado fue concluyente ya que no se produjo ningún efecto tóxico, por lo cual queda demostrado que la planta es inocua para el consumo humano. Es recomendable realizar el análisis en la fracción acuosa del extracto, ya que aquí pueden existir metabolitos con efectos similares, además es necesario elucidar las estructuras específicas de los compuestos de la planta.

Palabras clave: <DIABETES> <TAMIZAJE FITOQUÍMICO> <ESPECTROFOTOMETRÍA IR> <PRUEBAS IN VIVO> <CARNE HUMANA [*Jungia rugosa*]> <FLAVONOIDES> <GLUCOSA>

ABSTRACT

The hypoglycemic effect of alcoholic extract of *Jungia rugosa* Less in mouse laboratory animal model (*Mus musculus*) strain BALB/c which diabetes, was induced by administration of streptozotocin was evaluated, nicotinamide and streptozotocin, after applying an experimental design randomized block, treatments to experimental groups at doses of 25mg/kg, 100mg/kg and 400mg/kg of hydroalcoholic extract per kilogram of animal weight were administered. Discriminating a positive advancing treatment without the presence of an active control was used. The extract was obtained by a reflow process from 40 grams of dried aerial parts of the plant species. It was achieved resulting in a marked in glycemic levels in the case of moderate diabetes during hours after to the treatment administration, and through the days established by the protocol. This fact was tested using analysis of variance (ANOVA) followed by DUNNET post-test. The treatments being 100mg/kg and 400mg/kg are the most effective. Treatment of 25 mg/kg compared with the control. As severe diabetes there was no significant difference between treatment and control. So, it is concluded that the treatments are as effective as the control. In addition, the toxic effect of *Jungia rugosa* Less at a dose of 2000mg/kg in a group previously set was analyzed. The result was conclusive that there was no toxic effect, which is demonstrated by the plant is safe for human consumption. It is recommended that the analysis of the aqueous fraction of the extract, since here may exist metabolites with similar effects. Also, it is necessary elucidate the specific structures of the compounds of the plant.

Key words: <DIABETES> <PHYTOCHEMICAL SCREENING> <SPECTROPHOTOMETRY
IR> <LIVE TESTING> <HUMAN FLESH [*Jungia rugosa*]> <FLAVONOIDS> <GLUCOSE>

INTRODUCCIÓN

Existe una alta biodiversidad de plantas en todo el mundo, las cuales han sido utilizadas desde tiempos inmemoriales por cuantiosas civilizaciones para cubrir las necesidades biológicas de alimentación y para curar enfermedades. Así dan testimonios los escritos encontrados en la China en el año de 3700 a.n.e. donde se describe que para cada enfermedad hay una planta curativa, esto no es más que una confirmación que la medicina natural es un potente arsenal terapéutico utilizado desde los tiempos más arcaicos hasta la actualidad. (Corrales, I, et.al. 2014. Pp 79-80)

La fusión de la valiosa herencia ancestral de conocimientos botánicos con los avances científicos y tecnológicos enfocados en el campo de la medicina, permitieron desarrollar fármacos alternativos y adecuados a los convencionales, dando lugar el desarrollo de los famosos fitomedicamentos. Aproximadamente un 25% de los principios activos presentes en las farmacopeas son obtenidos de numerosas plantas, por esta razón se ve la prioridad de seguir realizando estudios exhaustivos con el fin de conocer a fondo bondades, propiedades y aplicaciones de nuevas especies vegetales, lo que se evidencia una nueva generación de medicamentos considerados como medicina verde o fitoterapia (Solís S, 2014. Pp 10-12).

El Ecuador es un país territorialmente pequeño, que por su ubicación geográfica neotropical privilegiada posee gran biodiversidad de flora y fauna, gracias a las características topográficas, diversidad de zonas climáticas, amplios ecosistemas, relieves, humedad etc., lo hace acreedora de una importante riqueza vegetal; por estas razones está considerado entre los 17 países megadiversos del mundo. En estudios realizados en el año 2012, se reportó la existencia de 17.058 especies de plantas vasculares, de las cuales 15.306 especies son originarias del país, además 4.173 de las especies sólo existen en el país. Esta variedad e importante biodiversidad constituye uno de los principales potenciales para un desarrollo investigaciones en la medicina alternativa, realizando además los conocimientos ancestrales de la nación, que han sido transmitidos de generación en generación, que sirven hoy en día en el aprovechamiento de las bondades y propiedades curativas atribuidas a cientos de plantas desde la antigüedad. (Buitrón, 2012. Pp. 5).

Alrededor del mundo, la presencia de casos de diabetes se incrementado de forma alarmante debido a muchas causas entre estas: la alimentación, estrés, sedentarismo, factores genéticos; lo cual ha situado a esta enfermedad como la principal causa de mortalidad en diferentes naciones. La Federación Internacional de Diabetes (IFD, por sus siglas en inglés) en el 2013, valoró que aproximadamente 382 millones de personas vivían con esta patología y que cerca de 5.1 millones de personas fallecieron. Está proyectado que para el 2035 la cifra de diabéticos ascenderá a 592

millones de pacientes, existe un aumento prevalente de diabetes mellitus II en todos los países, el 80% de diabéticos corresponde a los países de ingresos económicos medios y bajos, cada año 78.000 niños desarrollan diabetes tipo I. En cuanto a gastos sanitarios la cifra es de aproximadamente 548.000 millones de dólares (IFD, 2014).

En Ecuador en el año 2013, el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC) reportó, a la diabetes como primordial causa de mortalidad, seguido de las enfermedades cerebro- vasculares. 4.695 Personas fallecieron a causa de diabetes, lo que significa una tasa de 29,8 por cada 100.000 habitantes, comparados al año 2011 que hubo 4.455 defunciones, lo cual nos demuestra un incremento en la prevalencia de la enfermedad, en la región de la costa presenta el mayor número de casos de Diabetes Mellitus seguido por la región insular, en cuanto al género, las mujeres encabezan las tablas de prevalencia de esta enfermedad. (MSP. 2014).

Para el tratamiento de la diabetes existen numerosos medicamentos que permiten un control de las glicemias, que muchas veces con el transcurso del tiempo se presenta resistencia al tratamiento, a su vez causando un aumento de dosis; lo que conlleva a un incremento en el riesgo de presentar reacciones no deseadas, elevado costos innecesarios al paciente y como resultado final el fracaso terapéutico, por estos motivos es necesario encontrar alternativas como el desarrollo de fitofármacos hipoglucemiantes o antidiabéticos.

La presencia de metabolitos secundarios en los extractos hidroalcohólicos de *Jungia rugosa* le confiere ciertas propiedades etnobotánicas como: cicatrizante, antimicrobiana, gastroprotectora e hipoglucemiante, siendo esta última el motivo de investigación en esta planta. Además este estudio está vinculado con la constitución de la república y el Sumak Kawsay “garantizar la disponibilidad y el acceso a medicamentos de calidad, seguros y eficaces, incentivar la investigación y generar normativa para la protección e incorporación del conocimiento y los saberes ancestrales, comunitarios y populares al Sistema de Salud Pública” (Constitución de la República del Ecuador, 2008).

La presente investigación pretende demostrar lo que empíricamente ya era conocido y practicado por muchas culturas de la serranía ecuatoriana en la utilización de plantas para el tratamiento de múltiples enfermedad, entre las que se encuentra la Diabetes, que sin duda alguna es un grave problema de salud. (INEC, 2014)

A sí mismo la Organización Mundial de Salud ve la importancia de las investigaciones en las plantas y que estén encaminadas en esta área para el desarrollo de tratamientos económicos, eficaces y seguros. Por lo consiguiente, con este trabajo se plantea una alternativa para el tratamiento de esta enfermedad de manera asequible e inocua para la población. (OMS, 2014).

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes: La Diabetes en la Historia

La diabetes es un padecimiento crónico representado por un aumento significativo de los niveles de glucosa en la sangre, en la era antigua era sin duda alguna una sentencia de muerte. Históricamente la diabetes ha sido conocida desde la era cristiana, así relata en el manuscrito egipcio de Ebers que data del siglo XV donde se observó a pacientes con síntomas de esta enfermedad. Posteriormente, Areteo en el siglo II fue quien asignó la determinación de Diabetes como tal, que proviene etimológicamente de la palabra “sifón” en relación al aumento de la micción de quienes la padecen y argumentó que “la vida con diabetes es corta desagradable y dolorosa”. Las culturas de la India, de la China y la japonesa compartieron la mismas ideología al denominar a la diabetes como “la enfermedad de la orina dulce o azúcar en la orina”. (Rodríguez, 2014. Pp. 12- 15).

Avicena (Persia 980-1037) detalló: que la diabetes de ese tiempo se caracterizaba por apetito anormal, indisposición sexual y un apacible sabor a dulce en la orina, en estos años ya se observó problemas de necrosis en las extremidades que llamaron gangrena diabética. Luego de un proceso de letargo que sufrió la enfermedad en 1679, Tomás Willis redacta a esta patología con toda su sintomatología. 100 años más tarde un grupo de investigadores médicos de Liverpool realizaron el primer estudio de esta enfermedad en un grupo de pacientes, quienes describieron la presencia anormal de glucosa en la orina y sangre. (Rodríguez, 2014. Pp. 12-15).

En 1889, Joseph von Mering y Oskar Minkowsky, observaron que cuando se extirpaba el páncreas en canes desarrollaban los signos y síntomas de la diabetes y que al poco tiempo estos morían. Sir Edward Albert (1910) se aproximó más al mecanismo de la patología al apuntar que los pacientes con diabetes tenían un déficit de una sustancia procedente del páncreas, propuso llamarla “insulina”, del latín “aislamiento”, que significa isla, procedente de los islotes de Langerhans encargados de la producción de insulina en el páncreas. En 1921, Sir Frederick Banting y Charles Herbert Best partieron de otras investigaciones y demostraron que se lograría curar la diabetes con la administración de un extracto obtenido de los islotes de Langerhans de perros sanos a otros inducidos a diabetes. Con este descubrimiento posteriormente purificaron la hormona de insulina del páncreas de bovinos, en 1922 trataron al primer paciente con inyecciones los resultados fueron eficaces, un año más tarde (1923) les otorgaron el Premio Nobel de

Fisiología y Medicina. La producción de insulina como tratamiento de la diabetes se expandió muy rápidamente por todos los países del mundo. (Rodríguez, 2014. Pp. 12-15).

Seguidamente a los acontecimientos de estas épocas, se desarrolla un incremento transcendental en las investigaciones científicas, que dieron como resultados grandes adelantos en la medicina, proporcionando de esta manera un mejor control en los tratamientos de pacientes con diabetes, mejorando así su calidad de vida y disminuyendo las tasas de mortalidad (Centro Mexicano Diabetes-vida, 2011).

Durante muchos años y después de varios estudios surgen los primeros medicamentos hipoglucemiantes, las sulfonilureas en Japón en 1942 que fueron ensayados en animales de experimentación. En 1920 se experimentan con biguanidas pero no tuvieron una aceptación al principio por los potenciales efectos que causaban. Cada 14 de noviembre se celebra el Día Mundial de la Diabetes, esta fecha hace honor al cumpleaños de Banting. (Ayala R, et al. 2011).

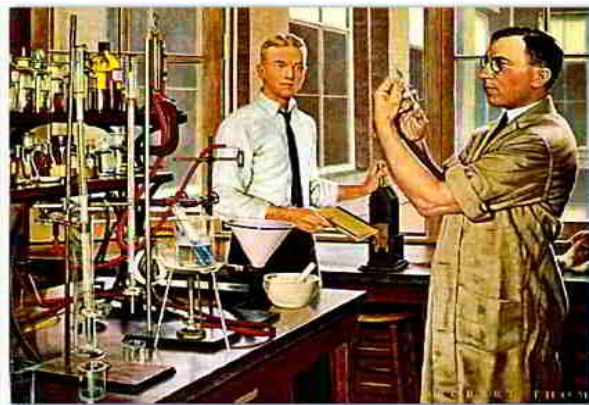


Figura No. 1-1. Descubrimiento de la insulina como tratamiento de la diabetes

Fuente: Fernández, A. 2014.

1.2. Diabetes

La diabetes es una patología crónica caracterizada por los niveles elevados de glucosa en la sangre, conocida como hiperglicemia. El páncreas es el órgano que produce una hormona llamada insulina, la cual permite que la glucosa del metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas ingrese al interior de las células, lugar donde se transforma en energía para que todos los órganos, tejidos, músculos cumplan con sus funciones, al no trabajar correctamente los tejidos sufren daños muy graves con el transcurso del tiempo, produciendo inconvenientes en la salud. (FID, 2013).

El páncreas en las personas que padecen de diabetes no produce la cantidad de insulina requerida por el organismo, ya sea porque la producción es de muy mala calidad o que el cuerpo no la utiliza de forma eficaz, por lo tanto la glucosa pasa a circular por el sistema sanguíneo produciendo daños muy serios y como resultado la enfermedad.

Los valores de glucosa normales se encuentran entre 70-110 mg/dL de sangre, cuando están sobre los 110 mg/dL se habla de diabetes o hiperglicemia. (FID, 2013).

1.2.1. Tipos de Diabetes

Existen tres principales tipos de Diabetes:

- Diabetes Mellitus tipo I (DM I)
- Diabetes Mellitus tipo II (DM II)
- Diabetes Mellitus gestacional (DMG)

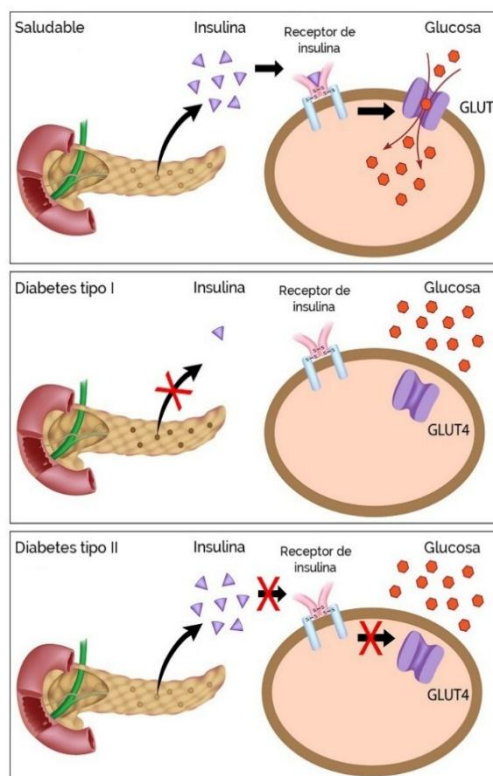


Figura No. 2-1. Tipos de diabetes

Fuente: Mejor con Salud, 2013.

1.2.1.1. Diabetes Mellitus tipo I

La DM I también conocida como; diabetes juvenil o insulino-dependiente.

Este tipo de diabetes se suscita de una reacción autoinmune, el organismo desconoce sus propias células, por lo tanto, el sistema de defensa ataca y destruye a las células beta pancreáticas encargadas de producir insulina, como resultado final cantidades excesivas de glucosa sin metabolizar en el torrente sanguíneo. Es una reacción aún desconocida. Este padecimiento afecta a cualquier edad, pero suele presentarse en niños o jóvenes adultos por eso se la conoce como diabetes juvenil. En cuanto al tratamiento las personas que poseen este tipo de diabetes la administración de inyecciones de insulina son diariamente caso contrario muere, para mantener un control adecuado de los niveles de glicemias en la sangre es esencial combinar la terapia con ejercicios físicos, monitorización, control de glucosa y dieta equilibrada. (FID, 2013).

Las causas para que se desarrolle este tipo de diabetes continúan sin esclarecerse y suele presentarse inesperadamente, pero podría ser por los cambios de los factores medio-ambientales, condiciones durante el desarrollo uterino, alimentación inadecuada en las etapas iniciales de vida o por infecciones virales aún desconocidas. (FID, 2013).

Tabla No. 1-1. Síntomas característicos de la diabetes tipo I

Sintomatología de la diabetes mellitus tipo I
<ul style="list-style-type: none">•Sed anormal y sequedad de boca•Micción frecuente•Cansancio extremo/falta de energía•Apetito constante•Pérdida de peso repentina•Lentitud en la curación de heridas•Infecciones recurrentes•Visión borrosa

Fuente: Federación Internacional de Diabetes. 2013.

1.2.1.2. Diabetes mellitus tipo II

La diabetes mellitus tipo II también conocida como diabetes no insulino-dependiente, es el tipo más frecuente, diez veces más que la DM I. La prevalencia se da en adultos, pero se diagnostica cada vez más casos en niños y jóvenes. Esta patología se considera hereditaria, en muchas

ocasiones los síntomas son tardíos o no específicos causando daños muy serios en el organismo. (FID, 2013).

En este tipo, las células beta del páncreas producen insulina pero, no es suficiente, o el organismo no usa la insulina adecuadamente lo que induce resistencia a la misma, causando una acumulación anormal de glucosa en la sangre. (Borja, A.I. 2013).

Tabla No. 2-1. Síntomas característicos de la diabetes tipo II

Factores que afectan la Diabetes Mellitus Tipo II	
•	Obesidad
•	Mala alimentación
•	Falta de actividad física
•	Edad avanzada
•	Antecedentes familiares de diabetes
•	Origen étnico
•	Nutrición inadecuada durante el embarazo, afecta al niño en desarrollo

Fuente: Federación Internacional de Diabetes. 2013.

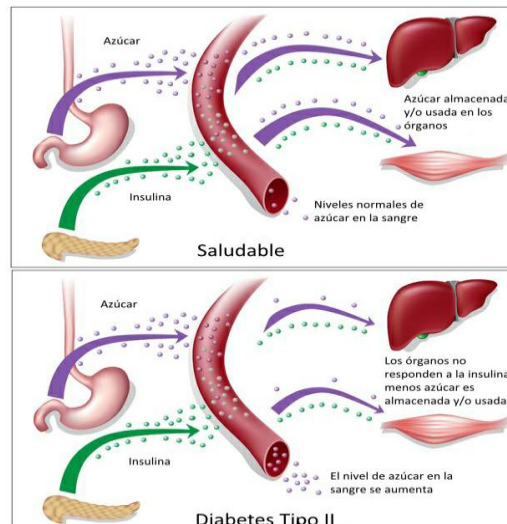


Figura No. 3-1. Mecanismo de acción de la diabetes tipo II

Fuente: Mejor la Salud. 2013.

1.2.1.3. Diabetes Mellitus Gestacional

Existe un tipo particular de diabetes, es ocasional llamada diabetes gestacional, como su nombre lo indica se produce durante el periodo de embarazo, esto se debe a que la producción de insulina en la gestante no aumenta como debería serlo para satisfacer la demanda de energía. No presenta síntomas específicos pero si se detecta por los análisis prenatales a partir del sexto mes de embarazo. El riesgo de desarrollar diabetes después de un tiempo es mayor. (Dmedicina, 2009).

1.3. Alteraciones: De la Tolerancia a la Glucosa y de la Glucosa en Ayunas

La alteración de la tolerancia a la glucosa (ATG) o alteración de la glucosa en ayunas (AGA), se trata de personas con niveles altos de glicemias, pero posiblemente no padecen la enfermedad. (FID, 2013).

Se especifica a la ATG como valores elevados de glicemia tras las comidas, en cuanto a la AGA se da en personas que presentan altos niveles de glicemias en ayuno.

Los individuos con ATG comparten muchas características con la diabetes tipo II, por lo tanto son más propensos en desarrollar este tipo de diabetes, ya que las dos presentan los mismos factores de riesgo como son obesidad, edad avanzada y la imposibilidad del cuerpo humano de utilizar correctamente la insulina que produce. Pero no todos con ATG llegan a sobrellevar DM II. (FID, 2013).

1.4. Complicaciones en la Diabetes

Normalmente la diabetes suele presentar síntomas como la polidipsia, poliuria, presencia de visión borrosa, y generalmente disminución de peso. A menudo esta sintomatología no es grave y no se observan. Por esta razón, la hiperglucemia provoca cambios patológicos durante largo tiempo antes de proporcionar un diagnóstico preciso. Posteriormente la diabetes ocasiona un desarrollo progresivo de retinopatías, con ceguera potencial; nefropatía con daño renal, neuropatías, infecciones, pie diabético con posibles amputaciones de extremidades inferiores, enfermedades cardiovasculares, etc. En la mayoría de los casos de diabetes, los pacientes presentan algún tipo de obesidad, lo cual favorece a un aumento en la resistencia de la insulina. Para minimizar o prevenir complicaciones se debe mantener en lo posible valores normales de glicemias, tensión arterial y colesterol. (Vitoria- Gasteiz, 2008. Pp. 15-16).

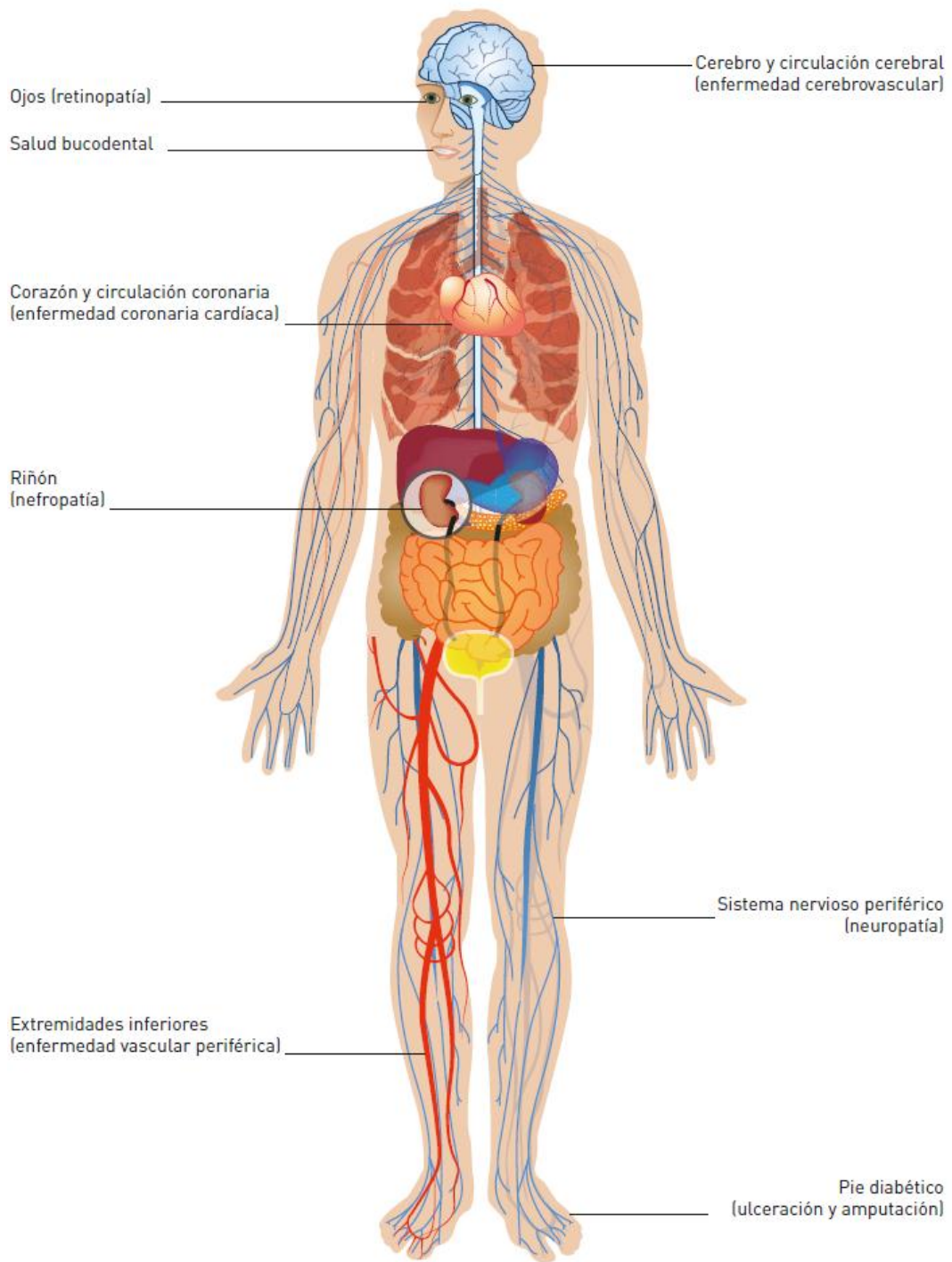


Figura No. 4-1. Principales complicaciones de la diabetes mellitus.

Fuente: Atlas de diabetes de la FID. 2013.

1.4.1. Enfermedad cardiovascular

Las complicaciones cardiovasculares en personas diabéticas son los factores más habituales de decesos e incapacidad. Los tipos de patologías cardiovasculares más comunes relacionadas con la diabetes son:

- Angina de pecho.
- Infarto de miocardio (ataque al corazón).
- Derrame cerebral.
- Enfermedad arterial periférica.
- Insuficiencia cardíaca congestiva.

Las afecciones producidas por la diabetes; hipertensión, hipercolesterolemia, hiperglucemia, y factores de riesgo (edad, sexo, etnia, disposición genética, obesidad, dieta y alcohol) aumentan los problemas cardiovasculares. (FID, 2013).

1.4.2. Enfermedad renal o nefropatía

Esta enfermedad se presenta en mayor índice en las personas con diabetes, y es crónica. La causa es por un desgaste significativo de los vasos sanguíneos, imposibilitando el normal funcionamiento de los riñones o una falla renal total. Para reducir esta complicación se debe controlar los niveles de glicemias y tensión arterial. (FID, 2013).

1.4.3. Retinopatía o enfermedad ocular

La retinopatía presenta la mayor parte de personas con diabetes, es comprometida por hiperglicemias acompañada de hipertensión e hipercolesterolemia. La red vascular que irriga los ojos en particular la retina sufre bloqueos causando daños severos en la visión o inclusive ceguera permanente. Los daños a nivel del tejido ocular, específicamente a las córneas, debido a un envejecimiento de los vasos sanguíneos, los cuales no retienen la sangre, que queda libre en la zona, produciendo un enturbiamiento en la visión. Es importante realizar exámenes rutinarios oftalmológicos y con un control de glicemias, presión arterial. (FID, 2013).

1.4.4. Lesiones nerviosas

Las lesiones nerviosas se dan cuando hay hiperglicemia e hipertensión, la diabetes ocasiona daños severos en todos los nervios del cuerpo, como resultado se da problemas digestivos, continencia urinaria, impotencia, entre otras, pero el potencial riesgo son las extremidades inferiores llamada neuropatía periférica que produce dolor, sensación de hormigueo y pérdida de la sensibilidad.

Cuando suceden estos síntomas se debe tener mucha precaución ya que se trataría de posibles infecciones, un pie diabético y de amputaciones de la zona. (FID, 2013).

1.4.5. Pie diabético

Las múltiples lesiones nerviosas, el desgaste de tejidos y una mala irrigación de los vasos sanguíneos en la diabetes puede comprometer las extremidades, principalmente las inferiores, produciendo infecciones y ulceraciones que al no ser tratadas adecuadamente resultaría en una amputación, la acumulación de glucosa en los vasos sanguíneos que irrigan la zona de los pies, que los convierten en un gran sustrato para el desarrollo bacteriano; produce la infección o necrosis tisular del área afectada, por lo tanto es esencial un control y seguimiento exhaustivo de los pies en pacientes diabéticos. (MINSAL, 2009. Pág. 5-6).

1.4.6. Hipertensión

La presión alta se desarrolla por la cantidad de glucosa que se acumula en el sistema vascular, donde las paredes de los vasos sanguíneos se vuelven rígidos provocando de este modo que la circulación de la sangre sea más forzada, por lo que se aumenta la presión para poder mantener un ritmo sanguíneo normal. (Tamayo, M. 2014. Pp. 30).

1.4.7. Complicaciones durante el embarazo

Las mujeres que padecen de diabetes son las más susceptibles de presentar complicaciones antes y durante el periodo de gestación si no se hace un control y seguimiento de su enfermedad. La hiperglicemia en mujeres embarazadas afecta principalmente al feto causando aumento de peso (macrosomía) por lo tanto una sobre producción de insulina, lo que provoca riesgos en el parto, lesiones neonatales como disminución de glicemias en el recién nacido, que para un futuro el niño suele desarrollar diabetes. (FID, 2013).

1.4.8. Otras complicaciones

1.4.8.1. Salud bucodental.

Tradicionalmente no se considera como una complicación, pero según especialistas, la diabetes puede ser una amenaza para la salud dental, con un peligro de gingivitis que se trata de inflamación de las encías, pérdida de dientes y acrecentar las patologías cardiovasculares principalmente en pacientes con diabetes mal controladas. (FID, 2013).

1.4.8.2. Apnea del sueño

Según estudios, puede existir una posible relación entre la diabetes tipo II con la apnea obstructiva del sueño (AOS), se trata de un trastorno común en la respiración durante el periodo de sueño y que es interrumpida por pausas en la respiración varios segundos hasta minutos, lo que causa es malestar por no poder dormir bien y cansancio además puede influenciar sobre los niveles glicémicos. (FID, 2013).

1.5. Factores de Riesgo

1.5.1. Edad y sexo

En cuanto a la edad esto varía dependiendo de qué tipo de diabetes se está hablando. La DM I se hace evidencia en la población más joven, infantes y adolescentes. En la DM II, según datos estadísticos, la prevalencia de diabetes se incrementa con la edad, generalmente es más prevalente pasados los 60 años, y se presenta en mayor cantidad en el género masculino que en el femenino, según datos mundiales. (Vitoria- Gasteiz, 2008).

1.5.2. Etnia y susceptibilidad genética

Según estudios realizados en Estados Unidos la tasa de desarrollo de diabetes es menor en la raza caucásica, que en otras etnias estudiadas. Así mismo, el riesgo genético en el desarrollo de la diabetes se fundamenta en una compleja interacción entre varios factores incluyendo el ambiental, sin embargo, si uno de los familiares es diabético, existe mucha probabilidad que los hijos hereden dicha condición. (Vitoria- Gasteiz, 2008).

1.5.3. Obesidad

El estudio de la obesidad, asociada a la diabetes ha sido muy documentado a lo largo de los años, y siempre se ha concluido que la presencia de obesidad es un factor para incrementar la presencia de diabetes, este peligro es más constante en las mujeres que en los hombres. El mecanismo de acción por que una excesiva cantidad de grasa provoque resistencia a la insulina no está muy determinado. Lo que sí es conocido es que el aumento de la grasa corporal puede producir un incremento en los ácidos grasos libres y triglicéridos, lo que influye en la resistencia de la insulina, por lo tanto aumenta los niveles de glucosa. De modo, que el riesgo de diabetes aumenta con el índice de masa corporal. (Vitoria- Gasteiz, 2008. Pp. 16-18).

1.5.4. Dieta y alcohol

El tipo de dieta empleada por las personas, también es un factor influyente en la diabetes, ya que en la actualidad el estilo de alimentación ha cambiado de modo significativo, produciendo un aumento en los casos de diabetes a nivel mundial, por lo tanto, se concluye que con una dieta sana se disminuye el riesgo de padecer esta enfermedad. (Vitoria- Gasteiz, 2008. Pp. 16-18).

1.6. Prevención de la diabetes

En la actualidad no existe un método eficaz de prevención para la diabetes mellitus tipo I. Mejorar los hábitos de vida diaria, comida equilibrada y saludable, deporte, evitar el sobrepeso etc. puede prevenir la diabetes tipo II.

- Un control adecuado de la alimentación es uno de los tratamientos más efectivos para prevenir y tratar la diabetes describen investigaciones.
- Realizar ejercicio físico usualmente contribuye cuantiosos beneficios: ayuda a mantener valores de colesterol cercanos a los normales, mantiene una presión arterial adecuada, ayuda a controlar el índice de peso corporal y, fundamentalmente, disminuye la resistencia de los tejidos periféricos a la insulina, punto clave en el progreso de la diabetes. Ayuda en la disminución de la ansiedad. (Murillo, S. 2015.)

1.6.1. Prevención de las hipoglucemias.

- Realizar un ajuste personalizado de la dosis del fármaco administrado.
- Adecuar un régimen estricto para la ingesta de alimentos.
- Ingerir cantidades adecuadas de carbohidratos antes de realizar una actividad física.
- Mantener a mano alimentos con alto contenido de azúcar en caso de emergencias.

Recomendaciones: en caso de presentar hipoglucemia se debe ingerir azúcar, caramelos, galletas o bebidas que contengan carbohidratos de fácil adsorción (zumos de frutas, mermeladas, néctares etc.). Si los síntomas no disminuyen en 5 o 10 minutos, se trata de hipoglicemias graves y la persona pierde el conocimiento, por lo que es necesario inyectar una ampolla de glucagón por vía subcutánea o intramuscular. El mecanismo de acción del glucagón es movilizar las reservas de glucosa del organismo y hace efecto en unos 10 minutos. Si no hay recuperación, el afectado debe recibir asistencia médica inmediata. (Murillo, S. 2015).

1.7. La Diabetes en el Mundo

La diabetes como carga mundial en pleno milenio, es uno de los problemas de salud pública más preocupante; en la mayoría de países con ingresos económicos altos y estables ocupa la cuarta o quinta causa de muerte de personas por esta enfermedad y existen datos de que en otros países en pleno desarrollo económico e industrial se considere a la diabetes como una epidemia. (Atlas de Diabetes de la FID. 2013).

En los últimos 20 años es impresionante el nivel y números de investigaciones que engloban posibles causas, prevenciones, tratamientos, prevalencia, proyecciones etc. de una enfermedad que está presente en todos los países principalmente en las naciones de ingresos económicos bajos y medios, que reporta mayor carga de diabetes, los gobiernos actuales han puestos sus ojos en coordinación con entidades de salud pública en dar batalla a esta enfermedad con programas de prevención o para saber vivir dignamente con la diabetes. (Atlas de Diabetes de la FID. 2013).

Un porcentaje considerable de la población que padece la enfermedad no saben que la tienen, ya sea por no hacerse controles de rutina o porque no presentan síntomas específicos para la enfermedad prematuramente en la DM II. Otro tema de salud pública con muy estrecha relación con la Diabetes y enfermedades cardiovasculares es la tolerancia anormal a la glucosa (TAG), que se manifiesta con niveles altos de glucosa en la sangre pero que no es precisamente diabetes, aunque con el tiempo hay un índice de desarrollar la enfermedad. (Atlas de Diabetes de la FID. 2013).

1.7.1. Prevalencia y proyecciones mundiales.

En la sexta edición del Atlas de Diabetes de la FID, describe la estimación de prevalencia de diabetes y la TAG del año 2013, y una proyección para el 2035. Los datos fueron recolectados de 219 países, pertenecientes a la FID:



Figura No. 5-1. Regiones que pertenecen a la FID

Fuente: Atlas de la Diabetes de la FID. 2013.

En países con ingresos económicos altos la diabetes mellitus tipo II representa entre el 85% y el 95% de la población total, los porcentajes resultarían mayores en los países con ingresos económicos medios y bajos y esto sería resultado de los cambios habituales y socio culturales; la senescencia de la población, la industrialización, la rápida creciente de la urbanización, el sedentarismo y una dieta inadecuada. (Atlas de Diabetes de la FID. 2013).

En cuanto a la Diabetes Mellitus I, los porcentajes de personas con este tipo va cada vez en aumento en todo el mundo, la prevalencia es mayor en niños y adolescentes en países subdesarrollados.

La prevalencia de Diabetes gestacional es muy variada en las diferentes regiones del mundo, al igual que la Diabetes mellitus I y II causa preocupación por el incremento global. La posibilidad de desarrollar diabetes mellitus II es muy alta en mujeres con diabetes gestacional. (Atlas de Diabetes de la FID. 2013).

La población mundial estimada es de 7.200 millones de personas de las cuales aproximadamente 382 millones padecen de diabetes, que representa el 8,3% de adultos. Las proyecciones van en incremento con el pasar de los años, para el 2035 se estima unos 592 millones de personas lo que significa que 1 de cada 10 personas adultas tendrían la enfermedad del siglo, la diabetes. Es decir cerca de 10 millones por año. (Atlas de Diabetes de la FID. 2013).

EN UN VISTAZO	2013	2035
Población mundial total (miles de millones)	7,2	8,7
Población adulta (de 20 a 79 años, miles de millones)	4,6	5,9
DIABETES Y TAG (20-79 AÑOS)		
Diabetes		
Prevalencia global (%)	8,3	10,1
Prevalencia comparativa (%)	8,3	8,8
Número de personas con diabetes (millones)	382	592
TAG		
Prevalencia global (%)	6,9	8,0
Prevalencia comparativa (%)	6,9	7,3
Número de personas con TAG (millones)	316	471

Figura No. 6-1. Prevalencia de diabetes y TAG en el mundo

Fuente: Atlas de la Diabetes de la FID. 2013

1.7.2. Distribución por edades

- Más o menos la mitad de los adultos entre 40 y 59 años tienen diabetes, de este grupo el 80% de los 184 millones de personas con diabetes, viven en países en desarrollo.
- Para el 2035, la expectativa del aumento es a 264 millones, el 86% de naciones económicamente bajas y medias.

1.7.3. Distribución por sexos

- La diferencia es mínima según el sexo de personas con diabetes: se evidencia una prevalencia mayor en hombres que mujeres según datos estadísticos mundiales, aproximadamente 198 millones de hombres y 184 millones de mujeres, (14 millones menos que los hombres).
- Para el 2035 se espera 305 millones del sexo masculino y 288 millones del sexo femenino.

1.8. La Diabetes en Ecuador

La diabetes en el Ecuador es un grave problema de salud pública, que acarrea un sin número de complicaciones en la salud agravando a otros órganos del cuerpo al no ser diagnosticado a tiempo y tratados adecuadamente, a más de implicar grandes gastos económicos para los pacientes, esta enfermedad en el país en los últimos años se ha convertido en una epidemia, es muy alarmante y preocupante el incremento de casos de Diabetes Mellitus, según datos adquiridos del Anuario de Nacimientos y Defunciones de la INEC la diabetes es la primera causa de mortalidad seguido por enfermedades hipertensivas en el Ecuador. En el 2013 se reportaron 63.104 decesos generales, de los cuales 4.695 corresponden a diabetes mellitus, lo que representa a 7,44% y de 29,76 como tasa de mortalidad por cada 100.000 habitantes. (Anuario de nacimiento y defunciones INEC. 2013).

El Gobierno en conjunto con entidades de Salud ha apostado en crear conciencia en la población de este terrible mal, con estrategias de prevención, pero al parecer esto no está dando el resultado que se esperaba, ya que hace muchos años atrás la diabetes se mantiene en el primer puesto de causas de muerte en los ecuatorianos. El MSP elabora variadas actividades institucionales e intersectoriales con fines preventivos y de control para reducir sus efectos nocivos. Educar, implementar programas y especialistas endocrinólogos o diabetólogos son los desafíos de la Sociedad Ecuatoriana de Endocrinología. Además, cabe rescatar, que la prevalencia es en mayor porcentaje en mujeres que en hombres, así mismo existe una mayor prevalencia de la enfermedad en la costa que en la región interandina. (Anuario de nacimiento y defunciones INEC. 2013).

Tabla No.3-1. 10 Principales causas de mortalidad en Ecuador, año 2013

Principales causas de mortalidad general Año 2013						
Lista corta de agrupamiento de causas de muerte (L.C. CIE-10)						
				Población estimada 2013	15.774.749	
				Total de defunciones	63.104	
				Tasa de mortalidad general (x 100.000 hab.)	400,03	
Nº Orden	Código L.C.	Cód. CIE-10 detallada	Causas de muerte	Número	%	Tasa
1	26	E10-E14	Diabetes mellitus	4.695	7,44%	29,76
2	34	I10-I15	Enfermedades hipertensivas	4.189	6,64%	26,56
3	46	J10-J18	Influenza y neumonía	3.749	5,94%	23,77
4	42	I60-I69	Enfermedades cerebrovasculares	3.567	5,65%	22,61
5	57	V00-V89	Accidentes de transporte terrestre	3.072	4,87%	19,47
6	35	I20-I25	Enfermedades isquémicas del corazón	2.942	4,66%	18,65
7	51	K70-K76	Cirrosis y otras enfermedades del hígado	2.005	3,18%	12,71
8	53	N00-N39	Enfermedades del sistema urinario	1.874	2,97%	11,88
9	41	I50-I51	Insuficiencia cardíaca, complicaciones y enfermedades mal definidas	1.716	2,72%	10,88
10	09	C16	Neoplasia maligna del estómago	1.570	2,49%	9,95

Fuente: Anuario de Nacimientos y Defunciones, INEC. 2013.

1.9. Tratamiento de la Diabetes Mellitus

En la actualidad se cuenta con variedad de opciones farmacológicas para tratar la diabetes. Para la DM I es obligatoria la utilización de insulina, que generalmente se emplea una insulina de acción prolongada y se suele combinar con una insulina de acción rápida. Entre las insulinas que cuentan como basales está la NPH y glargina. E insulinas de ultracorta acción existe la Lispro. En el caso de la diabetes mellitus tipo II existe gran variedad de fármacos disponibles, algunos de los cuales se mencionan a continuación. (Herrera, Cornejo. 2012. Pp.25).

1.9.1. Secretagogos

Se dividen en dos grandes grupos: Sulfonilureas y meglitinidas que incrementa la secreción de insulina.

1.9.1.1. Sulfonilureas

Incrementa la sensibilidad de las células beta pancreática para la liberación de insulina pero no de la síntesis de la misma. Además, actúan en el bloqueo de los canales de potasio, por ende la reducción de la salida de potasio de las células, con una despolarización de la membrana permite ingresar calcio y activa la secreción de insulina.

Efectos extrapancreáticos.- tienen efecto en los tejidos periféricos al sensibilizarlos a la función de la insulina. Con el trascurso del tiempo inhibe la producción de insulina en el hígado y activa la captación de la misma. (González, M; Lopera, W; Arango, A. 2011. Pp. 287).

- las sulfonilureas son de acción prolongada (16 a 24 horas) y se dividen en dos generaciones.
- Las sulfonilureas de segunda generación son más efectivas o de mejor acción que las de primera generación.

Tabla No.4-1. Clasificación de las sulfonilureas

Primera generación: aparecen a fines del año 1950

- Clorpropamida

Sulfonilureas de segunda generación: aparecen en los años de 1960 y 1970

- Glibenclamida
- Gliclazida
- Glimepirida

Fuente: Herrera, Cornejo. 2012.

1.9.1.2. Meglitinidas

Es un secretagogo que aumenta la producción de insulina, por el mismo mecanismo de las sulfonilureas.

- El grupo de las metiglinidas son de corta acción o duración
- Dosis diarias de 3 a 4 comprimidos/ antes de cada comida

Tabla No.5-1. Tipos de metiglinidas

METIGLINIDAS:

- Repaglinida
- Nateglinida

Fuente: Herrera, Cornejo. 2012.

1.9.2. Biguanidas

La biguanidas aumenta la acción de la insulina en los tejidos, disminuyen el proceso de gluconeogénesis, y aumentan la utilización de la glucosa, disminuyendo la resistencia a la insulina. Las biguanidas intervienen en la liberación de la insulina, por lo cual no solo es efectiva

en casos de diabetes tipo II, sino que se pueden utilizar en conjunto con la insulina en el tratamiento de la diabetes tipo I. Generalmente los efectos secundarios son relativamente frecuentes. El principal representante de este grupo es la metformina. (González, M; Lopera, W; Arango, A. 2011. Pp. 288).

1.9.3. Inhibidores de alfa glucosidasa

Los inhibidores de alfa glucosidasa como la acarbosa y el miglitol, bloquean la enzima alfa glucosidasa del intestino retardando de este modo la degradación de los carbohidratos, disminuyendo de este modo los niveles de hiperglucemia. Al bloquear la digestión de los hidratos de carbono se ocasiona un efecto fermentativo, que generalmente se presenta con flatulencia y dolor abdominal. (González, M; Lopera, W; Arango, A. 2011. Pp. 289).

1.9.4. Insulina

La insulina es una hormona producida en los islotes de Langerhans del páncreas, facilita el ingreso de la glucosa a las células para producir energía. El tratamiento con insulina ha sido muy importante a lo largo de los siglos. Anteriormente, las insulinas se obtenían de animales como cerdos y vacas, debido a que solo diferían en pocos aminoácidos, pero desde el año 2002 se dejó de utilizar ese tipo de insulinas. Actualmente las insulinas se obtienen mediante recombinación genética. (González, M; Lopera, W; Arango, A. 2011. Pp. 291).

Las insulinas se diferencian por su modo de acción y tiempo de duración en el organismo, así tenemos:

Las insulinas de acción ultrarrápida como la insulina LISPRO, tiene un tiempo de acción de minutos, por lo que su tiempo de vida media es pequeño. Seguido están las insulinas de acción intermedia como la NPH, que se administra entre las 10- 10:30 de la noche, provocando de este modo un pico de insulina en la mañana, y controlando la hiperglucemia en el desayuno. (Herrera, Cornejo. 2012).

La insulina glargina, que es de acción prolongada proporcionada la dosis de insulina necesaria a lo largo del día sin producir picos, lo cual ha hecho que la comparen con antidiabéticos orales.

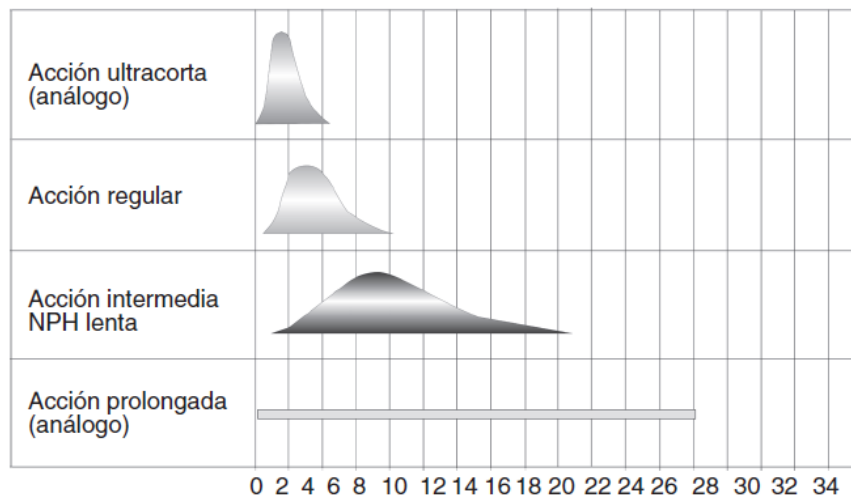


Figura No. 7-1. Tiempo a acción de las insulinas

Fuente: Herrera, Cornejo. 2012.

1.10. Metabolitos naturales con acción Antidiabética.

Se conoce una gran cantidad de plantas utilizadas ancestralmente como coadyuvantes, en el tratamiento de la diabetes, cuya función es la disminución de los niveles de glucosa sanguínea. Existen estudios científicos que garantice la actividad hipoglucemiante de estas plantas pero hasta la actualidad no se conoce con mucha certeza la farmacocinética y farmacodinamia de algunos compuestos bioquímicos que le dan esta actividad. (Guerrero, D. 2014. Pp. 65).

En la base de datos NAPRALERT se encuentran aproximadamente 1.200 especies vegetales, 725 géneros y 183 familias, añadiendo a este grupo algas y hongos, que se han utilizado históricamente para el tratamiento de la diabetes. Se estima que un 50% de esta cifra se usa en la medicina tradicional y que aproximadamente la mitad de esta se han considerado para los estudios de experimentales hipoglucemiantes. (Napraltet, 2010).

En las plantas los grupos de compuestos químicos que presentan esta actividad son, de mayor a menor importancia: polisacáridos, alcaloides, glucopéptidos, terpenos, péptidos, aminas, esteroides, flavonoides, lípidos, cumarinas, compuestos azufrados, iones inorgánicos y otros.

Algunos mecanismos participantes en la actividad de estos metabolitos en el control de la glucemia son: antagonismos directos competitivos con la insulina, estimulación de la secreción de insulina, estimulación de la glucogénesis y glucólisis hepática, adrenomimeticismo, bloqueo de los canales de potasio de las células beta pancreáticas, estimulación del AMPc (segundo mensajero) y modulación de la absorción de glucosa desde el intestino, entre otros. Hay que tomar en consideración, que en una especie vegetal puede existir metabolitos que le confieren la

actividad hipoglucemiante como también otros que le dan la actividad hiperglucemiante. (Giner, E. Castillo, E. 2003)

1.11. Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos están ampliamente distribuidos en la naturaleza, por lo que se encuentran en la dieta alimenticia de millones de personas en todo el mundo, estas sustancias presentan propiedades poderosas para tratar ciertas enfermedades como el cáncer y problemas cardiovasculares, esto se debe a su capacidad antioxidante, en la captura de radicales libres y neutralizando sustancias peligrosas reactivas de O₂ e iones metálicos quelantes, es aquí donde radica su gran importancia e investigaciones. (Redrobán, 2012. Pp. 30-32).

Los fenoles son compuestos orgánicos que se caracterizan por tener en común en su estructura un anillo aromático, con uno o más sustituyentes oxidrilos (OH), con frecuencia se encuentran unidos con glucósidos que son unidades de azúcares, solubles en agua lo cual los hace polares.

Los compuestos fenólicos se subdividen en un gran número de metabolitos como son: flavonoides, cumarinas, cromenos, benzofuranos, xantonas y quinonas. (Lock, O, 1994).

En múltiples investigaciones realizadas mediante modelos *in vivo* e *in vitro* se ha demostrado que estos compuestos presentan una marcada actividad antidiabética. Estos compuestos en su mayoría se encuentran combinados con un ácido orgánico, un azúcar o bien, con ellas mismas para formar un polímero.

Es bien conocida la actividad antidiabética de ciertos compuestos fenólicos como la quercetina. En investigaciones realizadas se ha encontrado que la actividad de estos compuestos en la disminución de las glicemias en animales inducidos, además de que se cree que poseen un mecanismo de acción en la inhibición de la enzima alfa- glucosidasa, la cual es encargada de disminuir el metabolismo de los carbohidratos, por lo tanto, actúan de manera indirecta en la disminución de la glucosa sanguínea. (Cruz, J, 2012).

1.11.1. Flavonoides

Las plantas producen muchos metabolitos secundarios siendo destacables los flavonoides, estas sustancias son derivadas de fenilpropano, que se encuentran en forma de glucósidos, o de agliconas. La mayoría de los vegetales presentan estas sustancias, así hasta la actualidad se ha logrado identificar más de 8.000 flavonoides diferentes. Los flavonoides se encuentran formados por dos o tres anillos aromáticos con dobles enlaces conjugados. (Lock, O, 1994).

Debido a su estructura química los flavonoides se pueden diferenciar entre sí como: flavonas, flavonoles, flavanonas, y en menor cantidad isoflavonas, chalconas, auronas. Estos compuestos producen el color característico de muchas plantas, flores y frutos, y también son responsables de los sabores desde los dulces hasta amargo. Farmacológicamente los flavonoides son reconocidos por sus acciones antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes, gastroprotectoras, cicatrizantes, etc. (Redrobán, 2012. Pág. 33-34).

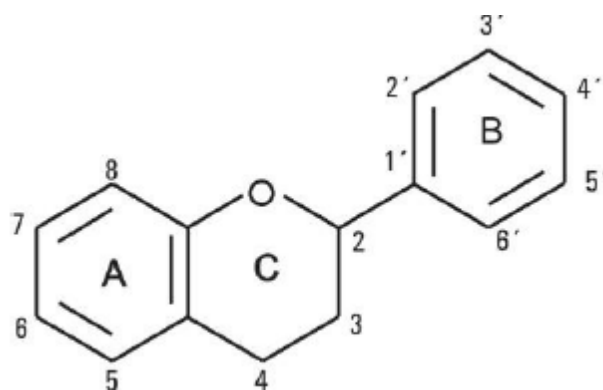


Figura. No.8-1. Estructura base de los flavonoides

Fuente: Lock, O. 1994.

1.11.2. Flavonoides en la diabetes

Es bien conocido que la Diabetes mellitus tipo II, se desarrolla por una alteración en la secreción o síntesis de la hormona de insulina, este fallo de las células pancreáticas y la resistencia de los tejidos periféricos a la acción de la insulina impide la entrada de la glucosa proveniente del metabolismo de carbohidratos en la alimentación, como resultado final la glucosa permanece en el torrente sanguíneo, elevando las glicemias en sangre. Según estudios realizados detalla que esta patología se da por déficit en el metabolismo y en el sistema de defensa antioxidante celular, lo que refleja un punto crítico del estrés oxidativo que es el origen de este padecimiento. (Murillo, S. 2015).

Los antioxidantes presentes en un sin número de alimentos como frutas, legumbres y en muchas especies vegetales que se ingiere en la dieta alimenticia hacen posible la protección del ser humano frente una de las más terribles enfermedades del milenio, que ha causado la muerte de millones de personas en todo el mundo, estas frutas y especies vegetales con los estudios realizados han brindado una esperanza de vida digna con la prevención, impidiendo un desarrollo agresivo y tratamiento de la DM II. (Cordero, Herrera, 2013).

“Según un grupo de expertos que investigaron algunos polifenoles del cacao del ICTAN, concerniente al CSIC. El grupo de Metabolismo y Bioactividad de Fitoquímicos del Departamento de Metabolismo y Nutrición ha justificado la contribución de los polifenoles en la prevención de la diabetes tipo II y ha puntualizado unos de los vitales mecanismos moleculares participantes en la protección”.

Concretamente se da en las células procedentes del páncreas, ciertos flavonoides presentes en varias especies vegetales permiten reducir el peligro del estrés oxidativo en las células del organismo mejorado el estado redóx en las células pancreáticas. Salvaguardando de esta forma la secreción de la hormona de insulina. (Cordero, Herrera, 2013).

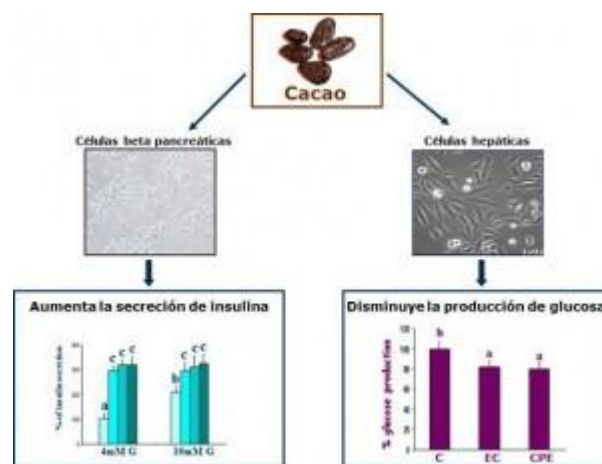


Figura No.9-1. Estudio de los flavonoides del cacao como antioxidantes

Fuente: Cordero, Herrera. 2013.

El grupo de investigación describe que, “recurrieron a un modelo de células del hígado donde se demostró que los flavonoides del cacao mejoran la sensibilidad a la hormona de insulina”.

Los flavonoides antioxidantes que se encuentran ampliamente distribuidas en un sinnúmero de especímenes botánicos, se destacan por presentar varias ventajas benéficas para la salud. Al disminuir la resistencia de la insulina, mejorando la regulación de glucosa en la sangre y la desinflamación; estas actividades se les atribuyen a las flavonas y antocianinas. Específicamente las flavonas contribuyen a mejorar los niveles de la proteína adiponectina, que regula los procesos metabólicos, con esto los niveles glicémicos, esta proteína cumple el papel clave en la ruta de señalización de la insulina. *Las antocianinas ayudan a controlar procesos inflamatorios, suprimiendo la formación de citoquinas inflamatorias, los cuales se relacionan con enfermedades cardiovasculares, hipertensión, obesidad y diabetes.* (Cordero, Herrera. 2013).

Otras investigaciones clínicas realizadas en pacientes mujeres voluntarias sanas, detalla los resultados eficientes de las dietas ricas en flavonoides, para una prevención indiscutible de la diabetes tipo II. El mecanismo de acción es similar a lo expuesto por muchas investigaciones acerca de este tema, los flavonas intervienen en minimizar la resistencia a la insulina en los tejidos periféricos, por ende nivela los valores normales de glucosa en sangre. “Lo que no se sabe exactamente es la cantidad necesarias para reducir el riesgo a la enfermedad”. Señala Aedin Cassidy.

1.12. *Jungia rugosa* Less

Es muy escasa la información científica y estudios acerca de esta planta. *Jungia rugosa* Less, es un arbusto que pertenece a la familia de las asteráceas, su descubridor fue el médico-botánico Christian Friedrich Lessing en 1830, se localiza a lo largo de los Andes en Ecuador, Perú y Bolivia. Crece entre altitudes de 2.900 a 3.800 metros sobre el nivel del mar. En el Perú es conocida como matico de puna, fompo, guayombo, trikache, cuyas hojas son utilizadas como desinflamante y cicatrizante. (Solís S, 2014. Pp. 35).

Características botánicas: es un arbusto trepador. Tallo no tomentoso. Hojas simples, con peciolo de 4-5 cm, lámina coriácea, orbicular, marginalmente lobulada, escabrosa, palmatinervias, base cordada, ápice con óvulo agudo. Capítulos cortamente pedicelados, involucre campanulado, filarias 2-seriadas. Flores homógamas, numerosas, bilabiadas, blanco-moradas. Se distingue fácilmente por su superficie bulada características de parte superior de las hojas y filarios glandulares. El ápice de los filarios es variable de agudo a atenuado, pero la densidad glandular pelosa y ciliolada de los márgenes es invariable (Solís S, 2014. Pp. 35).

En el Ecuador es conocida con el nombre popular de “carne humana”, utilizada tradicionalmente para el tratamiento de varias enfermedades: gastritis, diabetes, principios de cánceres, etc. (Fernández. L, 2014).

Tabla No. 6-1. Taxonomía de la *Jungia rugosa* Less

Reino:	Plantae
Filo:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	asterales
Familia:	asteraceae
Género:	<i>Jungia</i>
Especie:	<i>Jungia rugosa</i>

Fuente: Solís, S. 2014.



Figura No. 10-1. *Jungia rugosa* Less

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

1.13. Modelos animales experimentales

1.13.1. Ratón de laboratorio

Los ratones son animales mamíferos, que poseen sangre caliente y presentan hábitos nocturnos. Estos animales tienen un oído y olfato sumamente desarrollados por lo cual se alteran ante cualquier ruido fuerte. Además gracias a su olfato pueden establecer un orden social, y buscar comida. A pesar de todo esto, poseen una visión muy simple, y no pueden distinguir los colores.

Debido a su pequeño tamaño son muy sensibles a cualquier cambio atmosférico, tanto, que una variación entre dos o tres grados puede afectar severamente a la fisiología del roedor. (Instituto Nacional de Salud, 2008).

Entre 12 y 15 cm se encuentra el tamaño de este animal, con un peso de 30 gramos aproximadamente en su adultez. Además poseen un ciclo luminoso con un pico de actividad máxima durante las horas nocturnas. Los animales en sus jaulas separan las áreas para comer, dormir, miccionar. (Instituto Nacional de Salud, 2008).

Tabla No.7-1. Taxonomía del ratón de laboratorio

Reino	Animalia
Filo	Chordata
Clase	Mammalia
Orden	Rodentia
Familia	Muridae
Subfamilia	Murinae
Género	Mus
Subgénero	Mus
Especie	<i>Mus musculus</i>

Fuente: Instituto Nacional de Salud. 2008.

A pesar de todo lo expuesto, estos roedores presentan grandes ventajas como modelo de experimentación, ya que poseen una alta tasa de reproducción, son de fácil manipulación, y presentan alta variabilidad genética.

1.14. Modelos de Inducción a Diabetes mediante Administración de Fármacos

Los modelos in vivo son imprescindibles en los distintos estudios e investigaciones en medicina, para entender mecanismos, tratar y prevenir enfermedades que éticamente no se pueden experimentar en humanos. Es difícil obtener resultados veraces al extrapolar clínicamente en humanos, pero brinda una información muy importante sobre el tema estudiado.

El uso de animales de experimentación ha sido registrado a través de la historia de la ciencia, ya que son varias las enfermedades y los mecanismos de fármacos que han sido elucidados en modelos con anatomía similar al humano. La utilización de éstos presenta grandes ventajas, sobre todo debido a la facilidad de manipulación e inducción a enfermedades en investigación; lo cual es difícil realizarlo en el ser humano. (Pazmiño, C. 2011. Pp. 40).

1.14.1. Estreptozotocina

La estreptozotocina (STZ), es un agente químico derivado de la nitrosourea, aislado del *Streptomyces achromogenes*, posee actividad antibiótica de amplio espectro, así como antineoplásica. La STZ actúa interfiriendo en el transporte de la glucosa y la función de la glucokinasa, por tratarse de una potente agente alquilante. En el ADN, induce múltiples rupturas en la doble hélice.

La molécula de STZ esencialmente tiene glucosa en su estructura, unida a la nitrosourea, este fragmento es el reactivo, utiliza el mismo mecanismo de transporte de la glucosa para ingresar a las células; una vez adentro la molécula se desprende el fragmento de nitrosourea el cual realiza la acción tóxica. (Arias, J. Balibrea, J. 2007).

Existen varios mecanismos posibles de acción de la STZ:

- Metilación del ADN.- la STZ produce la destrucción de las células beta pancreáticas, debido a que ésta dona óxido nítrico.
- Destrucciones autoinmune de los islotes de Langerhans (Arias, J. Balibrea, J. 2007).

La STZ posee una alta especificidad, atacando a las células beta del páncreas, produciendo una reducción parcial de la masa de células β , lo cual puede ser utilizado para producir un estado diabético. Las células beta pancreáticas, por ser células con mayor actividad en la captación de glucosa, son más susceptibles al daño producido por la STZ. Hay que tomar en cuenta que el efecto de la STZ, depende de varios factores: especie animal, cepa, sexo, edad, nutrición, el modo, cantidad y ruta de administración, los cuales son factores esenciales para una buena inducción.

1.14.2. Alloxano

El alloxano es una sustancia utilizada con el mismo fin que la estreptozotocina, inducir a diabetes en animales experimentales, uno de los principales problemas que causa este compuesto es su falta de selectividad, ya que no solo destruye las células beta del páncreas, sino que también destruye las demás células produciendo un daño en el páncreas que conlleva a la muerte al espécimen. Aun así su mecanismo de acción no está del todo claro. (Carrasco- Formiguera. 1974. Pp. 274).

Al utilizar alloxano existe la posibilidad que ciertos azúcares protejan las células contra el químico, lo cual ocasiona que la inducción fracase. Además de provocar resistencia en el animal, y daño hepático y renal antes de finalizar la inducción. (Hard, J. 1985. Pp. 703).

1.15. Vías de Administración

Las formas en la que un fármaco ingresa al organismo son muy variadas, la selección a de una u otra vía depende de varios factores como la rapidez de la acción deseada, por las características físico- químicas del principio activo.

Para la selección de la ruta de administración de un medicamento en un modelo animal, es necesario tomar en cuenta, el tamaño del espécimen y la dosis administrada. (Instituto Nacional de Salud, 2008.)

1.15.1. Vía oral

La vía oral es una de las formas más comunes de administrar un fármaco. Para este tipo de administración es necesario tener una buena sujeción del animal de experimentación, para que no se produzca daño en los órganos internos y por lo tanto la muerte del espécimen. Una vez correctamente inmovilizado al animal se utiliza una sonda orogástrica, introduciéndola por el extremo derecho de la boca, lentamente, y sin presión para no desgarrar el esófago. Mediante esta ruta es posible administrar hasta 2 mL de fármaco. (Instituto Nacional de Salud, 2008).

1.15.2. Vía intravenosa

La administración intravenosa se utiliza cuando se requiere una acción rápida del fármaco, sobre todo en medicamentos que se pueden degradar por otras vías. En el caso de utilizar esta ruta en los modelos experimentales, se debe inmovilizar correctamente al animal de modo que la cola quede disponible para manipularla, esto se realiza con ayuda de un cepo. Seguidamente se procede a localizar la vena caudal y con una jeringa de insulina se administra el fármaco a investigarse. Mediante esta ruta es posible administrar hasta 1 mL de solución. (Instituto Nacional de Salud, 2008).

1.15.3. Vía intraperitoneal

Para administrar por vía intraperitoneal se utiliza jeringas de insulina, ya que estas poseen agujas de una bajo calibre. Primero se procede a inmovilizar al animal correctamente, seguido se lo coloca con la cabeza hacia abajo para que los órganos internos descendan. Se procede a realizar la punción el cuarto inferior izquierdo del abdomen, tomando en cuenta que el émbolo de la jeringa no se tiña de sangre, que sucede en caso de una punción incorrecta. Mediante esta ruta es posible administrar 3 mL de solución. (Instituto Nacional de Salud, 2008).

CAPITULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Lugar de investigación

La presente investigación fue realizada en:

- El Laboratorio de Productos Naturales de la Escuela de Bioquímica y Farmacia, perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
- El Bioterio de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
- El Laboratorio de Química Instrumental de la Facultad de Ciencias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo, Ecuador

2.2. Materiales, equipos y reactivos

2.2.1. *Materia prima*

El material vegetal utilizado para la realización de este trabajo fue la *Jungia rugosa* Less, conocida como carne humana, fue recolectada en la provincia de Pichincha, cantón Mejía, sector Romerillos, Panamericana Sur Km 37 vía a Quito, a una temperatura promedio de 14°C, ubicada a 2945 msnm, con una humedad de 90%.

2.2.2. *Reactivo biológico*

El modelo animal utilizado en el ensayo *in vivo* fueron ratones de laboratorio de la especie *Mus musculus* de cepa BALB/c, del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, los animales fueron ambientados a una temperatura de 22±1 °C, con una humedad del 50%, cumpliendo un ciclo luminoso de 12 horas con luz, y 12 horas de oscuridad, alimentación y agua *ad libitum*. Se utilizaron ratones de 8 semanas de vida, y tuvieron un período de adaptación a las condiciones de investigación de 15 días.

2.2.3. Descripción

- Peso promedio de los ratones: $42,06 \pm 5,3$ gramos.
- Sexo de los animales: machos
- Procedencia: Bioterio de la Facultad de Ciencias, de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo.
- Ciclo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad.
- Alimento 5,0 gramos de balanceado por animal
- Agua *ad libitum*
- Cambio de camas día de por medio

2.2.4. Materiales y equipos

Tabla No.8-2. Lista de materiales y equipos utilizados

MATERIALES	EQUIPOS
<ul style="list-style-type: none">• Espátulas• Fundas rojas y negras• Frascos color ámbar• Guantes de manejo• Bisturís• Tubos de ensayo• Embudo• Refrigerante• Vasos de precipitación• Balones aforados de 50 y 25 mL• Balón esmerilado• Jeringuillas de 1mL, 3 mL• Pinzas• Varillas de agitación• Mangueras• Papel filtro• Pipetas volumétricas• Pinzas universales• Cuba cromatográfica• Jaulas para animales• Fanelas• Cápsulas de porcelana• Cánula orogástrica	<ul style="list-style-type: none">• Evaporador rotatorio• Reverbero• Estufa• Mufla• Balanza analítica• pH-metro• Desecador• Espectrofotómetro UV Helios- β• Espectrofotómetro IR JASCO FT/IR4100• Glucómetro Prestige• Tirillas reactivas para glucómetro Prestige

Elaborado por: Sonia E. Tacuamán J., 2015.

Tabla No. 9-2. Lista de reactivos utilizados en la investigación

REACTIVOS GENERALES	REACTIVOS PARA TAMIZAJE FITOQUIMICO
<ul style="list-style-type: none"> • Agua destilada • Metanol • Etanol • Cloroformo • Acetato de etilo • Acetona • N-butanol • Ácido acético glacial • Ácido fórmico • Estreptozotocina • Ácido cítrico • Citrato de sodio • Ácido sulfúrico • Propilenglicol • Nicotinamida • Acarbosa • Insulina Glargina 	<ul style="list-style-type: none"> • Reactivo de Dragendorff • Reactivo de Wagner • Reactivo de Mayer • Cloruro férrico 5% • Magnesio metálico • Reactivo de Baljet • Reactivo de Fehling • Alcohol amílico • Anhídrido acético • Ácido clorhídrico 1% • Ácido nítrico • Hidróxido de sodio 10% • Solución de ninhidrina 5%

Elaborado por: Sonia E. Tacuamán J., 2015.

2.3. Técnicas y métodos

2.3.1. Control de Calidad de la Droga Cruda

2.3.1.1. Determinación del contenido de humedad

Para evaluar el contenido de humedad en la planta seca se utiliza el método gravimétrico, mediante el cual se pesa 2 gramos de planta seca en una cápsula de porcelana previamente tarada, seguidamente se somete a calentamiento en la estufa a una temperatura de 105°C, durante 3 horas para eliminar el agua en la muestra. Finalmente se traslada a un desecador hasta que la cápsula se enfríe y se pesa, hasta obtener valores constantes. (Normas Ramales para drogas crudas y extractos y tinturas. NRSP 309, 311, 312, MINSAP 1992).

Mediante el siguiente cálculo se obtiene el porcentaje de humedad en la muestra:

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

Dónde:

- M_2 = Peso de la cápsula con la muestra
- M_1 = Peso de la cápsula con la muestra desecada
- M = peso de la cápsula vacía tarada

2.3.1.2. *Determinación de cenizas totales*

El análisis para determinación de cenizas totales se realiza por el método gravimétrico, para lo cual se pesa 2 gramos de planta seca, y se coloca en un crisol previamente tarado, antes de colocar la muestra en la mufla se la carboniza para eliminar todo residuo orgánico, posteriormente se coloca en la mufla a una temperatura de 600°C, durante 2 horas, o hasta obtener un polvo blanco, el crisol se retira y se coloca en un desecador hasta que se enfríe. Se pesa la muestra hasta obtener un valor constante. (Normas Ramales para drogas crudas y extractos y tinturas. NRSP 309, 311, 312, MINSAP 1992).

La cantidad de cenizas se evalúa mediante la siguiente fórmula:

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

Dónde:

- M_2 : Peso del crisol con la ceniza
- M_1 : Peso del crisol con la muestra a ensayar
- M : Peso del crisol vacío

2.3.2. Tamizaje fitoquímico

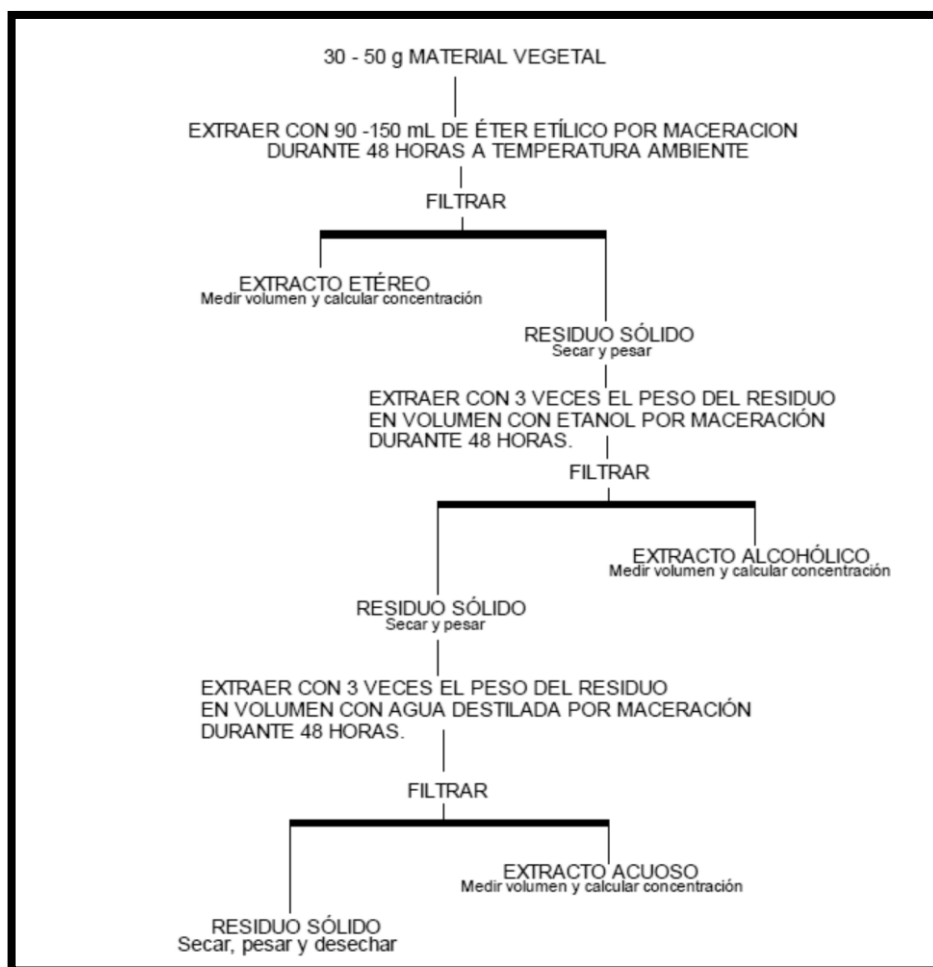


Figura No.11-2. Diagrama de obtención de metabolitos secundarios

Fuente: Miranda M, Farmacognosia y productos naturales, 2011.

2.3.2.1. Ensayo de Dragendorff

El extracto seco se redisuelve en ácido clorhídrico al 1%. Se calienta lentamente y se enfría, con esta solución se realiza el análisis, agregando 3 gotas del reactivo de Dragendorff, se procede a agitar y se observa: (+) opalescencia, (++) turbidez definida, (+++) precipitado. Con este método podemos determinar la presencia de alcaloides en la muestra. (Miranda, M, 2006 p. 39).

2.3.2.2. Ensayo de Mayer

Se procede de manera similar al método para Dragendorff, se coloca una gota de cloruro de sodio, se agita y filtra. A dicho filtrado se agrega 3 gotas de reactivo de Mayer, y se reporta: (+)

opalescencia, (++) turbidez definida, (+++). Junto con el método anterior permite cualificar alcaloides. (Miranda, M, 2006 p. 39).

2.3.2.3. Ensayo de Wagner

Se procede que la técnica anterior para el ensayo de Dragendorff, y se agrega 2 gotas de reactivo de Wagner. Se reporta de la misma manera que los ensayos anteriores. (Miranda, M, 2006 p. 39).

2.3.2.4. Ensayo de Lieberman- Buchard

Se lleva la muestra hasta sequedad y se redisuelve en cloroformo. Agregarle 1 mL de anhídrido acético y se agita suavemente. Lentamente se deja resbalar por las paredes del tubo 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado, no se debe agitar. Es importante tener en cuenta que no exista agua en el sistema debido a que puede explotar. Con este ensayo se evalúan la presencia de terpenos en la muestra. Se observa cambios de coloración de esta manera: (Miranda, M, 2006 p. 39).

- Rosado- azul muy rápido
- Verde intenso- visible medio rápido
- Verde oscuro- negro, final de la reacción.

2.3.2.5. Ensayo de Baljet

Llevar la muestra hasta sequedad, y disolver en etanol. Añadir 1 mL de reactivo de Baljet. El resultado se considera positivo cuando hay la presencia de un precipitado color rojo. Sirve para determinar presencia de compuestos cumarínicos. (Miranda, M, 2006 p. 39).

2.3.2.6. Ensayo de Sudán III

A una porción del extracto se agrega 1 mL de reactivo de Sudán III, calentar en Baño María hasta que se evapore el solvente. La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotitas grasas o una película de color rojo. (Miranda, M, 2006 p. 39).

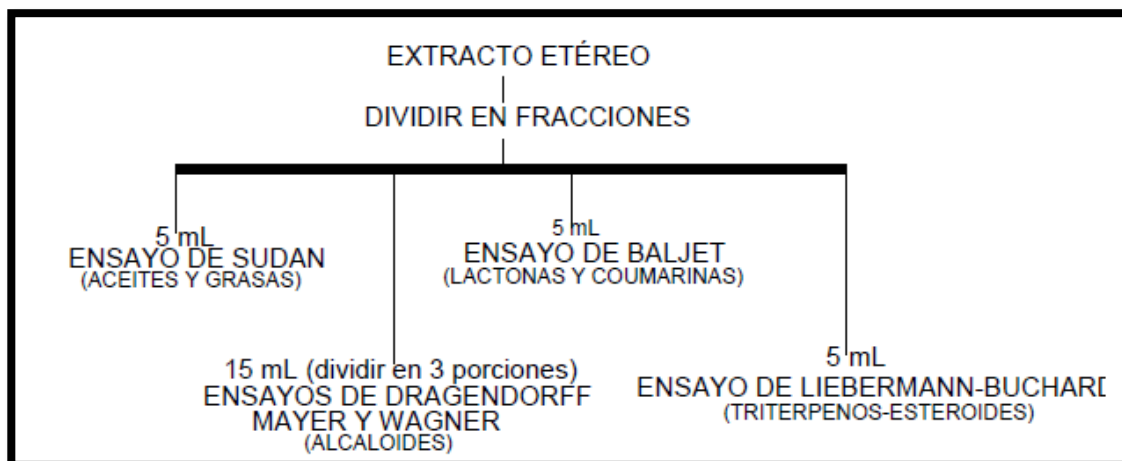


Figura No.12-2. Esquema de reacciones realizadas en extracto etéreo

Fuente: Miranda M, Farmacognosia y productos naturales, 2011.

2.3.2.7. *Ensayo de Borntrager*

Llevar la muestra hasta sequedad, disolverla en 1 mL de cloroformo, añadir 1 mL de hidróxido de sodio al 5%, agitar y dejar reposar. Si la fase acuosa superior cambia a color rosado o rojo el ensayo se considera positivo. Este ensayo permite detectar la presencia de quinonas. (Miranda, M, 2006 p. 39).

2.3.2.8. *Ensayo de catequina*

Con unas gotas de extracto llenar un capilar, colocar una gota en un pedazo de papel filtro, seguidamente agregar unas gotas de carbonato de sodio, observar bajo la luz UV de larga onda, una mancha verde brillante se considera como positivo. Este análisis nos indica la presencia de catequinas. (Miranda, M, 2006 p. 40).

2.3.2.9. *Ensayo de saponinas*

Diluir 2 mL de extracto en agua hasta obtener 5 veces su volumen. Agitar con fuerza durante 4 minutos. Observar la formación de espuma, si esta se mantiene por más de dos minutos el ensayo se considera positivo. (Miranda, M, 2006 p. 40).

2.3.2.10. *Ensayo de cloruro férrico*

Sirve para determinar la presencia de compuestos fenólicos. A una pequeña porción de extracto se añade unas gotas de cloruro férrico al 5%. El a la alícuota de extracto se agrega unas gotas de

tricloruro férrico al 5%. La formación de color rojo se considera como un ensayo positivo para compuestos de tipo fenólico. (Miranda, M, 2006 p. 40).

2.3.2.11. Ensayo de Shinoda

Sirve para determinar la presencia de compuestos flavónicos en la muestra. El extracto es diluido en 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y se agrega un trocito de cinta de magnesio o polvo de magnesio metálico. Luego de la reacción que se produce se deja reposar 5 minutos y se agrega 1 mL de alcohol amílico, se agita bien y se deja reposar hasta separación de fases. Este ensayo es considerado positivo cuando la fase alcohólica se colorea de amarillo, naranja o rojo. (Miranda, M, 2006 p. 40).

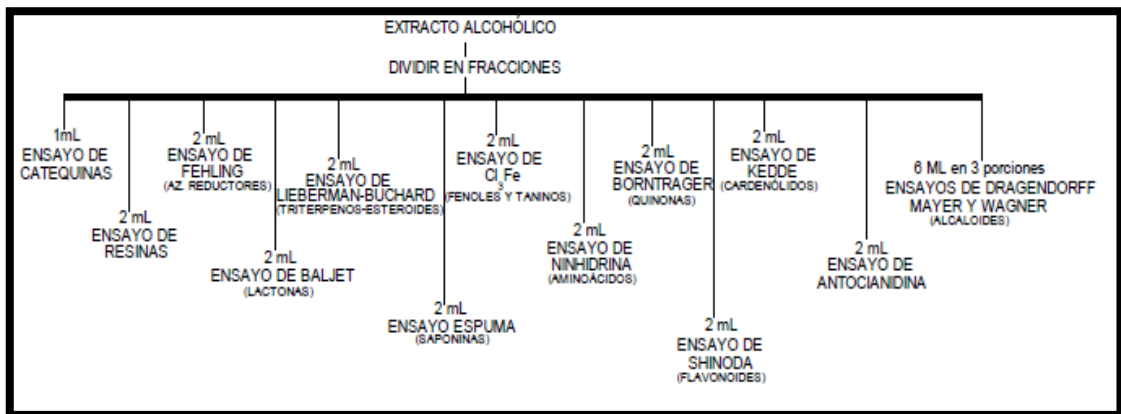


Figura No.13-2. Esquema de reacciones realizadas en extracto alcohólico

Fuente: Miranda M, Farmacognosia y productos naturales, 2011.

2.3.3. Preparación del extracto de *Jungia rugosa* Less

La elaboración del extracto de la especie vegetal a investigar se realizó de la siguiente manera, tomando en cuenta que se utiliza la parte aérea de la planta (hojas y tallos).

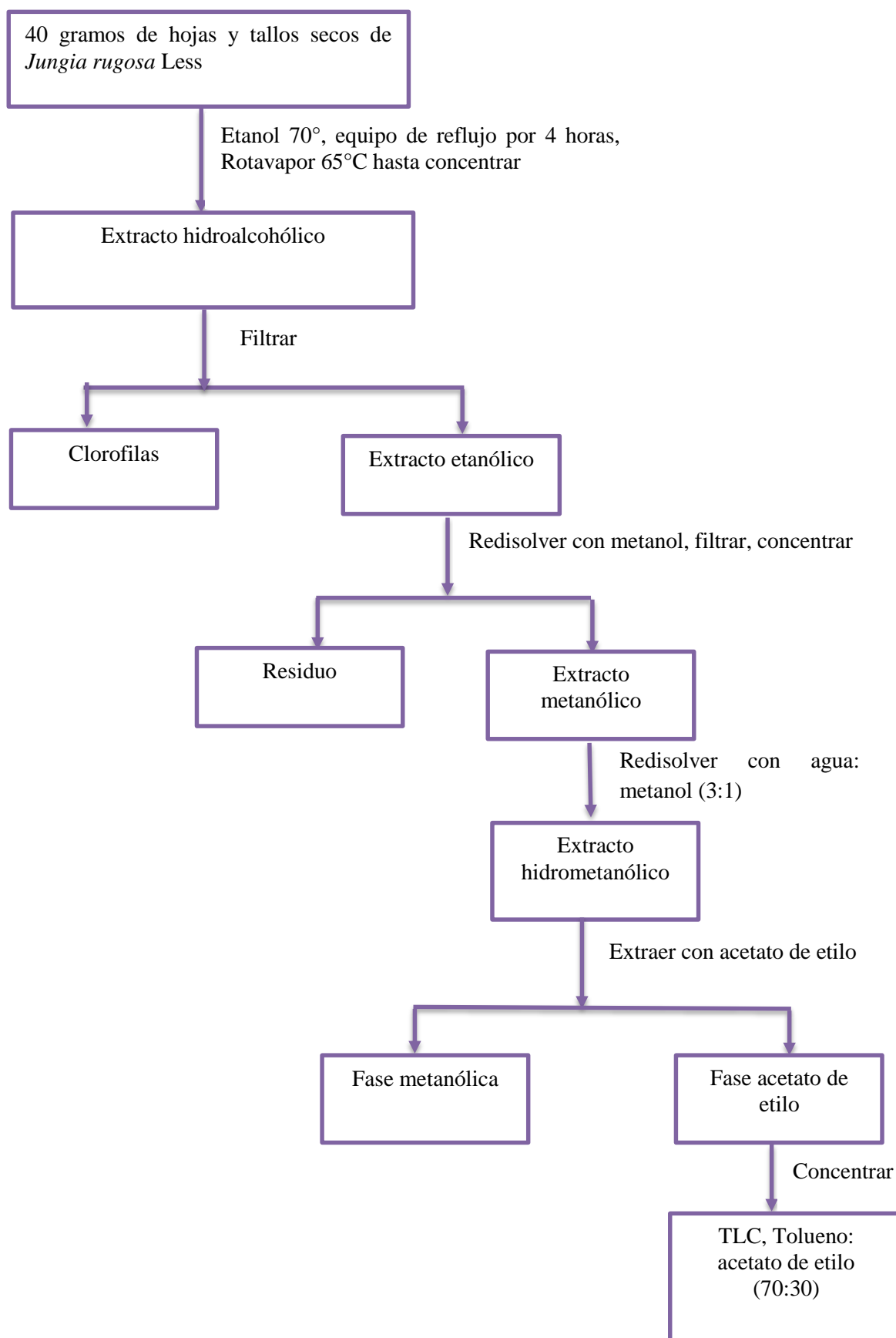


Figura No.14-2. Diagrama de flujo para la obtención del extracto hidroalcohólico de *J. rugosa* Less

2.3.4. Cromatografía de capa fina (TLC)

2.3.4.1. Cromatografía del extracto de (*Jungia rugosa* Less)

La fase flavónica aislada, de *Jungia rugosa* Less, fue sometida a cromatografías de capa fina para poder determinar y separar los compuestos presentes en dicha fracción, para lo cual se ensayaron las siguientes fases móviles:

- Acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético glacial: agua en la proporción 100:11:11:26, dicho sistema no muestra una buena resolución. por lo cual se investiga en bibliografía y se prueba el siguiente sistema. (Lock, O, 2002 135).
- Cloroformo: metanol: acetato de etilo, 60:30:10, no presenta resolución de los compuestos, una sola mancha al UV.
- Tolueno: acetato de etilo en proporción 70:30, con la que dio una buena resolución y separación de cinco manchas bien definidas, fluorescentes al UV.

2.3.5. Separación de los compuestos

Una vez determinada la fase móvil conveniente de la resolución adecuada de los compuestos se procedió a realizar una placa cromatográfica preparativa utilizando como soporte alúmina para aislar cada compuesto. Luego de preparar la placa se eluyó en el sistema de solventes (tolueno: acetato de etilo 70:30) para obtener los componentes definidos. La placa eluida, se secó y marcó cada mancha; se procedió a raspar el soporte que contiene cada compuesto y se colocó por separado en frascos correctamente rotulados.

A continuación, se extrajeron los compuestos del soporte con solventes adecuados, los más apolares con tolueno y los más polares con acetato de etilo y etanol caliente. Para finalizar, se filtraron los eluidos y se prepararon placas cromatográficas individuales con la finalidad de comprobar la presencia de una sola mancha que indica la separación correcta de los compuestos; luego se procedió a concentrar hasta sequedad luego de ser purificados.

Para futuras determinaciones espectroscópicas se redisolviaron los compuestos en metanol.

2.3.6 Cuantificación de flavonoides totales

Para la cuantificación de flavonoides totales presentes en la muestra, se utilizó la curva de calibración del estándar de quercetina, la cual se preparó con las siguientes concentraciones: 1; 2,5; 5; 7,5; 10 µg/mL. Se procedió a la medición de la fracción flavónica del extracto a la longitud de onda de 770 nm. Los resultados se detallaron como flavonoides totales expresados como quercetina.

2.3.7. Determinaciones espectroscópicas

2.3.7.1. Determinación IR

En un espectrofotómetro infrarrojo JASCO FT/IR4100, se obtuvieron los espectros IR de cada compuesto separado y redisolto en metanol. Se procedió al análisis de cada pico para determinar la presencia de grupos funcionales correspondientes a flavonoides.

2.3.7.2. Determinación del HPLC UV

El análisis de HPLC acoplado a UV, fue realizado utilizando como estándares quercetina 95%, apigenina 98%, y luteolina 98%. Se utilizó una columna C-18, con una fase móvil, la cual consistió en ácido fórmico 0,1%: acetonitrilo: metanol (60:16:24), a una temperatura de 30°C, y con una velocidad de flujo constante de 1 mL/min. La quercetina fue utilizada como estándar interno. (Zhonjian, C. et al. 2012. Pp. 1617).

2.3.8. Preparación de los tratamientos

2.3.8.1. Preparación del tratamiento control de acarbosa 20 mg/kg

- Pesar 36,44 mg de acarbosa en polvo y disolver en 0,5 mL de propilenglicol.
- Aforar con agua destilada hasta 50 mL.
- Se trasvasa a un frasco ámbar y se rotula.
- Almacenar en refrigeración 4°C.

2.3.8.2. Preparación del tratamiento experimental (25 mg/kg de peso).

- Pesar 51,65 mg de fracción flavónica seca y disolver en 0,5 mL de propilenglicol.

- Aforar con agua destilada hasta 50 mL.
- Se trasvasa a un frasco ámbar y se rotula.
- Almacenar en refrigeración 4°C.

Con esta formulación se obtiene una solución con una concentración adecuada a fin de que cada administración por vía oral corresponda a una dosis de 25 mg/kg de peso para los animales.

2.3.8.3. Preparación del tratamiento experimental (100 mg/kg de peso).

- Pesar 215,58 mg de fracción flavónica seca y disolver en 0,5 mL de propilenglicol.
- Aforar con agua destilada hasta 50 mL.
- Se trasvasa a un frasco ámbar y se rotula.
- Almacenar en refrigeración 4°C.

Con esta formulación se obtiene una solución con una concentración adecuada a fin de que cada administración por vía oral corresponda a una dosis de 100 mg/kg de peso para los animales.

2.3.8.4. Preparación del tratamiento experimental (400 mg/kg de peso).

- Pesar 941,67 mg de fracción flavónica seca y disolver en 0,5 mL de propilenglicol.
- Aforar con agua destilada hasta 50 mL.
- Se trasvasa a un frasco ámbar y se rotula.
- Almacenar en refrigeración 4°C.

Con esta formulación se obtiene una solución con una concentración adecuada a fin de que cada administración por vía oral corresponda a una dosis de 400 mg/kg de peso para los animales.

Tabla No. 10-2: Formulaciones de las soluciones para actividad hipoglucemiante

Formulación solución control	Formulación de solución 25 mg/kg	Formulación de solución 100 mg/kg	Formulación de solución 400 mg/kg
Propilenglicol 0,5 mL	Propilenglicol 0,5 mL	Propilenglicol 0,5 mL	Propilenglicol 0,5 mL
Agua destilada 49,5 mL	Agua destilada 49,5 mL	Agua destilada 49,5 mL	Agua destilada 49,5 mL
Acarbosa 36,44 mg	Extracto flavónico seco 51,65 mg	Extracto flavónico seco 215,58 mg	Extracto flavónico seco 941,67 mg

Elaborado por: Sonia Tacuamán J, 2015.

2.3.9. Protocolo Farmacológico

Se utilizaron 33 ratones machos *Mus musculus* de la cepa BALB/C, de 8 semanas de vida, divididos aleatoriamente en 11 grupos de 3 individuos cada uno. Fueron aclimatados durante un periodo de 15 días.

Tabla No. 11-2: Esquema de tratamientos para la actividad Hipoglucemiante

DIABETES MODERADA (Tipo II)				
Blanco	Control	Tratamiento 25 mg/kg	Tratamiento 100 mg/kg	Tratamiento 400 mg/kg
STZ 150 mg/kg + NAD 1000 mg/kg	STZ 150 mg/kg + NAD 1000 mg/kg	STZ 150 mg/kg + NAD 1000 mg/kg	STZ 150 mg/kg + NAD 1000 mg/kg	STZ 150 mg/kg + NAD 1000 mg/kg
Solución vehículo	Acarbosa 20 mg/kg	Solución de flavonoides 25 mg/kg	Solución de flavonoides 100 mg/kg	Solución de flavonoides 400 mg/kg

Elaborado por: Sonia Tacuamán J, 2015

DIABETES SEVERA (Tipo I)					ENSAYO DE TOXICIDAD
Blanco	Control	Tratamiento 25 mg/kg	Tratamiento 100 mg/kg	Tratamiento 400 mg/kg	Tratamiento 2000 mg/kg
STZ 50 mg/kg	STZ 50 mg/kg	STZ 50 mg/kg	STZ 50 mg/kg	STZ 50 mg/kg	Buffer citrato
Solución vehículo Agua: propilenglicol	Insulina glargina 0,5 mmol/kg	Solución de flavonoides 25 mg/kg	Solución de flavonoides 100 mg/kg	Solución de flavonoides 400 mg/kg	Extracto total 2000 mg/kg

2.3.9.1. Inducción de diabetes moderada a los ratones

Para inducir la diabetes moderada en los animales se administró nicotinamida disuelta en buffer citrato 0.1 M (pH 4.5), en una dosis de 1000 mg/kg, 15 minutos después de la administración se inyectó 150 mg/kg de estreptozotocina disuelta en solución de buffer citrato 0.1 M (pH 4.5), la administración de ambas sustancias fue única. Con lo cual se obtuvo un daño parcial de las células β del páncreas, con un 40% de producción de insulina residual. La administración se realizó por vía intraperitoneal de acuerdo al peso del animal. (Atsuo T, Akiko M, Masayuki S. 2014. P. 7).

Tabla. No. 12-2. Esquema de dosificación para inducción a diabetes moderada (TipoII)

DIABETES MELLITUS II (Nicotinamida 1000mg/Kg) x1 día					
	peso, g	dosis, mg/kg	cantidad STZ, mg	STZ, mg/mL	Vol. Administración, mL
blanco	33,6	1000	33,600	379	0,09
	34,3	1000	34,300	379	0,09
	35	1000	35,000	379	0,09
control (acarbosa)	35,8	1000	35,800	379	0,09
	36,6	1000	36,600	379	0,10
	36,8	1000	36,800	379	0,10
T1: 50mg	37	1000	37,000	379	0,10
	37,3	1000	37,300	379	0,10
	37,7	1000	37,700	379	0,10
T2: 200mg	38,5	1000	38,500	379	0,10
	39,3	1000	39,300	379	0,10
	40,6	1000	40,600	379	0,11
T3: 450mg	41,5	1000	41,500	379	0,11
	42,5	1000	42,500	379	0,11
	42,2	1000	42,200	379	0,11

DIABETES MELLITUS II (Estreptozotocina 150mg/Kg) x1 día					
	peso, g	dosis, mg/kg	cantidad STZ, mg	STZ, mg/mL	Vol. Administración, mL
blanco	33,6	150	5,040	56,9	0,09
	34,3	150	5,145	56,9	0,09
	35	150	5,250	56,9	0,09
control (acarbosa)	35,8	150	5,370	56,9	0,09
	36,6	150	5,490	56,9	0,10
	36,8	150	5,520	56,9	0,10
T1: 50mg	37	150	5,550	56,9	0,10
	37,3	150	5,595	56,9	0,10
	37,7	150	5,655	56,9	0,10
T2: 200mg	38,5	150	5,775	56,9	0,10
	39,3	150	5,895	56,9	0,10
	40,6	150	6,090	56,9	0,11
T3: 450mg	41,5	150	6,225	56,9	0,11
	42,5	150	6,375	56,9	0,11
	42,2	150	6,330	56,9	0,11

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

2.3.9.2. Inducción de diabetes severa a los ratones

La inducción de diabetes severa a los animales se obtuvo con la administración de 50 mg/kg de estreptozotocina disuelta en una solución de buffer citrato 0.1 M (pH 4.5), durante 5 días consecutivos, la administración se realizó en ayunas, con lo cual se consiguió un daño total de las células β del páncreas. La administración se realizó por vía intraperitoneal de acuerdo al peso de los animales. (Zaman, M.M, Shinagawa. T, Ishii. S, 2014 p. 2).

Tabla No. 13-2. Esquema de dosificación para inducción de diabetes severa (Tipo I).

EXPERIMENTALES	DIABETES MELLITUS I (Estreptozotocina 50mg/Kg) x5día				
	peso, g	dosis, mg/kg	cantidad STZ, mg	STZ, mg/mL	Vol. Administración, mL
blanco	40,6	50	2,030	23,1	0,09
	42,6	50	2,130	23,1	0,09
	43,2	50	2,160	23,1	0,09
control (acarbosa)	44,4	50	2,220	23,1	0,10
	44,7	50	2,235	23,1	0,10
	45	50	2,250	23,1	0,10
T1: 50mg	45	50	2,250	23,1	0,10
	45,3	50	2,265	23,1	0,10
	45,6	50	2,280	23,1	0,10
T2: 200mg	46,2	50	2,310	23,1	0,10
	46,7	50	2,335	23,1	0,10
	47,4	50	2,370	23,1	0,10
T3: 450mg	49,4	50	2,470	23,1	0,11
	52,5	50	2,625	23,1	0,11
	54,4	50	2,720	23,1	0,12

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

2.3.9.3. Actividad hipoglucemiante en los animales con diabetes moderada

El efecto hipoglucemiante de *J. rugosa* fue realizado en un ayuno de 12 horas en los animales con diabetes moderada. Se administró por vía oral utilizando una sonda orogástrica los tratamientos: solución vehículo, el control de acarbosa (20 mg/kg) y los extractos a las diferentes dosis: 25, 100 y 400 mg/kg respectivamente. Se obtuvieron las muestras de sangre mediante punción de la vena caudal a los tiempos de 0,30, 1, 2, 4, 6 horas, y se midieron los niveles de glucosa utilizando un glucómetro de la marca Prestige easy. Luego se controlaron los niveles de glucosa en los días 3, 5, y 7. (Sunil, J., Y Kumar, MSY Khan. 2012. p. 3).

Tabla No. 14-2. Esquema de tratamientos para los animales con diabetes moderada

DIABETES MODERADA (Tipo II)	Animales	Tratamientos
Blanco (Diabético+ vehículo)	Ratón 1	1 mL solución vehículo
	Ratón 2	1 mL solución vehículo
	Ratón 3	1 mL solución vehículo
Control (Diabético + acarbosa 20 mg/kg)	Ratón 4	1 mL solución acarbosa 20 mg/kg
	Ratón 5	2 mL solución acarbosa 20 mg/kg
	Ratón 6	3 mL solución acarbosa 20 mg/kg
T1 (Diabético + Extracto 25 mg/kg)	Ratón 7	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 25 mg/kg
	Ratón 8	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 25 mg/kg
	Ratón 9	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 25 mg/kg
T2 (Diabético + Extracto 100 mg/kg)	Ratón 10	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 100 mg/kg
	Ratón 11	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 100 mg/kg
	Ratón 12	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 100 mg/kg
T3 (Diabético+ Extracto 400 mg/kg)	Ratón 13	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 400 mg/kg
	Ratón 14	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 400 mg/kg
	Ratón 15	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 400 mg/kg

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

2.3.9.4. Actividad hipoglucemiante en los animales con diabetes severa

El efecto hipoglucemiante de *J. rugosa* Less se realizó en ayuno de 12 horas en los animales con diabetes severa. Se administró por vía oral utilizando una sonda orogástrica los tratamientos: solución vehículo, el control de insulina glargina (0,5 mmol/kg) y los extractos a las diferentes dosis: 25, 100 y 400 mg/kg respectivamente. Se obtuvieron las muestras de sangre mediante punción de la vena caudal a los tiempos de 0, 30, 1, 2, 4, 6 horas, y se midieron los niveles de glucosa utilizando un glucómetro de la marca Prestige easy. Luego se midieron los niveles de glucosa en el transcurso de los días 3, 5, y 7. (Sunil, J., Y Kumar, MSY Khan. 2012. p. 3).

Tabla No 15-2. Esquema de tratamientos para animales con diabetes severa

DIABETES SEVERA (Tipo I)	Animales	Tratamientos
Blanco (Diabético+ vehículo)	Ratón 1	1 mL solución vehículo
	Ratón 2	1 mL solución vehículo
	Ratón 3	1 mL solución vehículo
Control (Diabético + Insulina glargina 0,5 mmol/kg)	Ratón 4	1 unidad insulina glargina
	Ratón 5	1 unidad insulina glargina
	Ratón 6	1 unidad insulina glargina
T1 (Diabético + Extracto 25 mg/kg)	Ratón 7	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 25 mg/kg
	Ratón 8	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 25 mg/kg
	Ratón 9	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 25 mg/kg
T2 (Diabético + Extracto 100 mg/kg)	Ratón 10	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 100 mg/kg
	Ratón 11	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 100 mg/kg
	Ratón 12	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 100 mg/kg
T3 (Diabético+ Extracto 400 mg/kg)	Ratón 13	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 400 mg/kg
	Ratón 14	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 400 mg/kg
	Ratón 15	1 mL solución de <i>J. rugosa</i> 400 mg/kg

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

2.3.9.5. Ensayo de toxicidad

Para el ensayo de toxicidad aguda se preparó una solución de extracto total a una dosis de 2000 mg/kg de peso para cada animal, y se administró por vía oral al grupo elegido para toxicidad, se observa al grupo durante 12 horas y hasta completar 14 días, aunque no existan signos de toxicidad aparente, adicionalmente se realizan cortes histológicos para observar posibles daños en los principales órganos farmacocinéticos.

2.3.10. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las lecturas de glicemias para cada grupo, se trataron de la siguiente manera:

Se realizó una normalización de datos, con los que se obtuvieron las áreas bajo las curvas para cada individuo. Con estos datos se realizó un análisis de normalidad utilizando el test de Shapiro-Wilk, un Análisis de Varianzas y un post test de Dunnett para comprobar diferencias significativas entre los tratamientos y el control. ($p < 0.05$ se tomó en consideración como significativo).

CAPITULO III

3. MARCO DE RESULTADO, ANALISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1. Control de calidad de la droga cruda

La preparación del extracto de *J. rugosa* Less se realizó en base a la Guía de Farmacognosia y Productos Naturales, también se tomó como referencia las Normas Ramales para Drogas crudas, extractos y tinturas. (NRSP 309, 311 y 312). Consecutivamente, el extracto y la droga seca fueron ensayadas según se describe en el capítulo anterior. Los resultados obtenidos se detallan a continuación.

CUADRO No. 1-3. Control de calidad de la parte aérea de la planta seca *Jungia rugosa* Less. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba Julio 2015.

PARÁMETRO	<i>Jungia rugosa</i> Less	Límites aceptados (Real Farmacopea Española 2002)
HUMEDAD (%)	10,6%	14%
CENIZAS TOTALES (%)	4,1%	5%

Elaborado por: Sonia Tacuamán J.

El valor porcentual de humedad para *J. rugosa* Less fue de 10,6%, el cual referenciado con los datos descritos en la Real Farmacopea Española (2002), está dentro de los valores establecidos. , este ensayo evidencia la cantidad de agua presente en la planta, en referencia al sector donde se recolectó la muestra y también a los órganos (tallos, hojas) que fueron estudiados. De modo, que existe una aceptación en los resultados obtenidos.

Según el resultado del contenido de cenizas fue de 4,1%, el cual cumple con los parámetros señalados según bibliografía. Este análisis nos permite determinar el contenido de minerales existentes. Debido a que los valores de humedad y ceniza se hallan por debajo de los límites de referencia, se puede concluir que hay minerales en una baja concentración, lo cual no causa interferencias en los demás estudios. (Brunenton, J, 2001 pp. 59).

3.2. Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico, fue realizado siguiendo la metodología explicada en la bibliografía. (Miranda, M, 2006). En la determinación de los principales metabolitos secundarios en la especie vegetal del extracto analizado, se presentaron los siguientes datos:

CUADRO No. 2-3. Tamizaje fitoquímico del extracto de *Jungia rugosa* Less. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba Julio 2015.

Dónde: (+) opalescencia, (++) turbidez definida), (+++) precipitado

Ensayo realizado	Compuesto a identificar	Resultado <i>Jungia rugosa</i>
Sudán III	Grasas	+
Dragendorff	Alcaloides	-
Wagner	Alcaloides	-
Mayer	Alcaloides	-
Baljet	Cumarinas	-
Borntrager	Quinonas	++
Lieberman-Buchard	Terpenos	+++
Catequinas	Catequinas	++
Shinoda	Flavonoides	+++
Antocianidinas	Antocianidinas	++
Espuma	Saponinas	+
Resinas	Resinas	+
Cloruro Férrico	Compuestos fenólicos	+
Fehling	Azúcares reductores	+

Elaborado por: Sonia Tacuamán J

Los resultados que se observaron en los diferentes ensayos del tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de la especie vegetal, demuestra la presencia de los metabolitos siguientes: flavonoides, antocianidinas, catequinas, compuestos fenólicos, terpenos y saponinas. Se observa que en mayor cantidad están los compuestos fenólicos y flavonoides, por lo cual se da a entender que la acción principal de disminución de la glicemia está proporcionada por estos compuestos de tipo fenólico. (Lock, O. 1994 p. 114).

No existe presencia de alcaloides en la especie vegetal, por lo que, una hipotética actividad queda descartada en este trabajo. Debido a que en mayor cantidad se encontraron flavonoides se decidió se decidió trabajar con esta fracción, para identificar los compuestos presentes y realizar la actividad hipoglucemiante.

3.3. Cromatografías en capa fina

3.3.1. Cromatografía del extracto flavónico de *J. rugosa* Less

El sistema de solventes utilizado fue tolueno: acetato de etilo en una proporción 70:30, con el cual se observó una adecuada resolución, presentándose cinco manchas, todas fluorescentes al UV cercano.

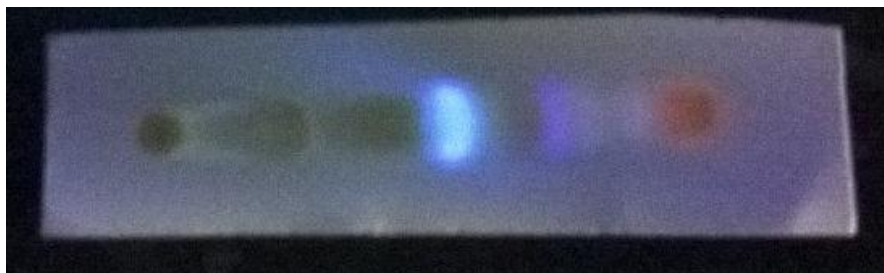


Grafico No. 1-3. Cromatografía en capa fina del extracto flavónico de *J. rugosa* Less. Fase móvil: Tolueno: acetato de etilo 70:30

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

Tabla No. 16-3. Rf de los compuestos extraídos del extracto hidroalcohólico de *J. rugosa* Less

COMPUESTO	Rf	Color a luz visible	Color al UV cercano	Posible Flavonoide
Mancha 1	0,13	amarillo	Verde	flavanona carente de 5 OH libre
Mancha 2	0,7	Ausencia	Azul	Flavona o flavanona sin 5 OH libre
Mancha 3	0,8	Ausencia	Lila	Flavona o flavonol 3-sustituido
Mancha 4	0,87	Verde- amarillo	Verde	Flavonoles con 3 OH libre
Mancha 5	0,93	naranja	Rojo	Flavonol con un 3 OH libre y con o sin 5 OH libre

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015

3.4. Cuantificación de Flavonoides totales

Se realizó la cuantificación de flavonoides totales expresados como quercetina, por lo cual se desarrolló una curva de calibración con un estándar de quercetina a 1; 2,5; 5; 7,5 y 10 $\mu\text{g/mL}$ como concentraciones, con la ecuación de la curva y las absorbancias obtenidas a una longitud de onda de 377 nm, se procedió a calcular la concentración de flavonoides presentes en el extracto.

[] ug/mL	Abs
1	0,063
2,5	0,167
5	0,338
7,5	0,496
10	0,63

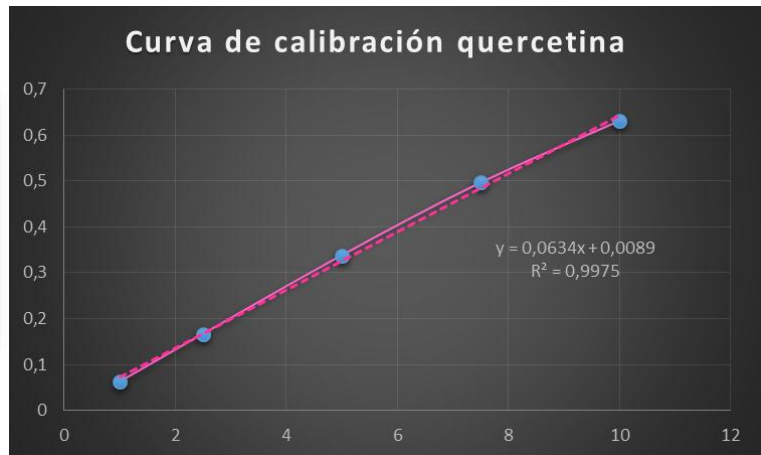


Gráfico No. 2-3. Curva de calibración de quercetina

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

En el gráfico se observa la curva de calibración, e interpolada la absorbancia de la muestra se obtuvo una concentración de 5,02 mg/g de planta seca de *J. rugosa* Less. Lo cual nos demuestra la presencia de flavonoides en la planta expresados como quercetina, en una cantidad considerable.

3.5. Análisis espectroscópico de los compuestos separados del extracto flavónico de *J. rugosa* Less

3.5.1. Compuesto 1

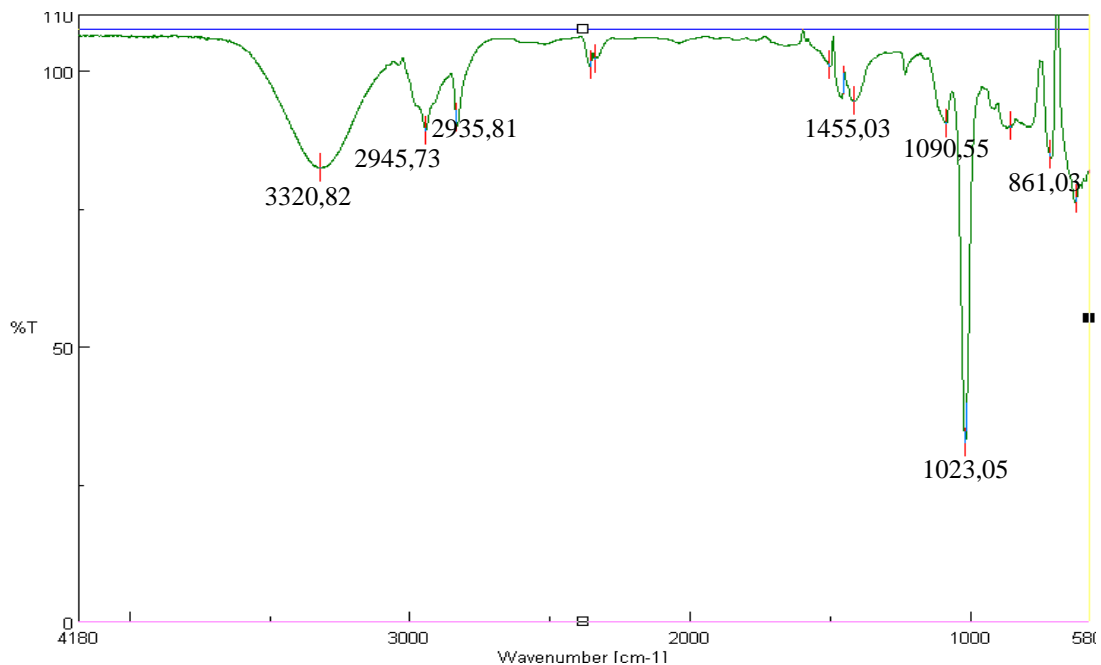


Gráfico No. 3-3. Espectro Infrarrojo del compuesto 1 aislado del extracto hidroalcohólico de *J. rugosa* Less

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

El compuesto 1 es un polvo color amarillo poco soluble en metanol, en el espectro IR presenta los siguientes picos: una banda a $3320,82\text{ cm}^{-1}$, correspondiente a una vibración del grupo O-H, existe dos vibraciones de tensión correspondiente al grupo C-H, entre los $2945,73$ y $2935,81\text{ cm}^{-1}$. Un pico correspondiente a la vibración del grupo aromático se puede observar a $1455,03\text{ cm}^{-1}$, en la zona de la huella dactilar se observa la tensión del grupo carbonilo C=O típica de flavonoides a los $1090,55\text{ cm}^{-1}$, a $1023,05\text{ cm}^{-1}$, se encuentra una vibración de estiramiento del grupo CH libre. (Hesse, M. et al. 1997. Pp. 29-66)

3.5.2. Compuesto 2

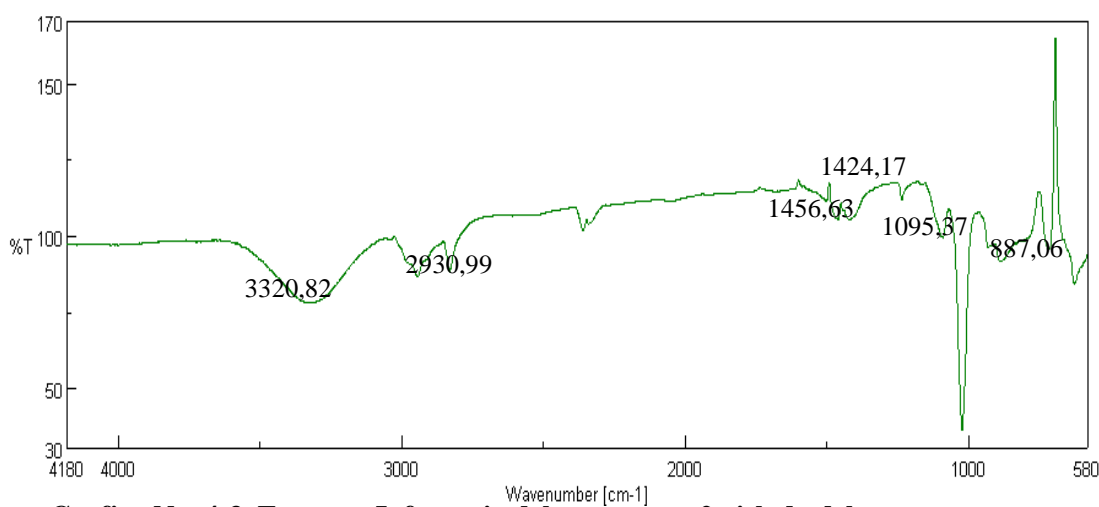


Grafico No. 4-3. Espectro Infrarrojo del compuesto 2 aislado del extracto hidroalcohólico de *J. rugosa* Less

Elaborado por: Sonia Tacuamán J.

El compuesto número dos se observa como un polvo amarillo, soluble en metanol, que presenta el espectro infrarrojo con los siguientes picos: una banda correspondiente a una tensión del grupo O-H a $\approx 3320,82\text{ cm}^{-1}$, seguido de un pico correspondiente al grupo C-H cercano a los $2930,99\text{ cm}^{-1}$. Observamos un pico de tensión correspondiente al grupo C=C entre los $1456,63$ y un pico a $1424,17\text{ cm}^{-1}$ correspondiente al grupo aromático, ambos picos característicos de un compuesto de tipo flavónico; en la región de la huella dactilar se observa un pico a $1095,37\text{ cm}^{-1}$ que corresponde al grupo carbonilo C=O, y a $887,06\text{ cm}^{-1}$, un estiramiento del grupo CH₃ libre. (Hesse, M. et al. 1997. Pp. 29-66).

3.5.3. Compuesto 3

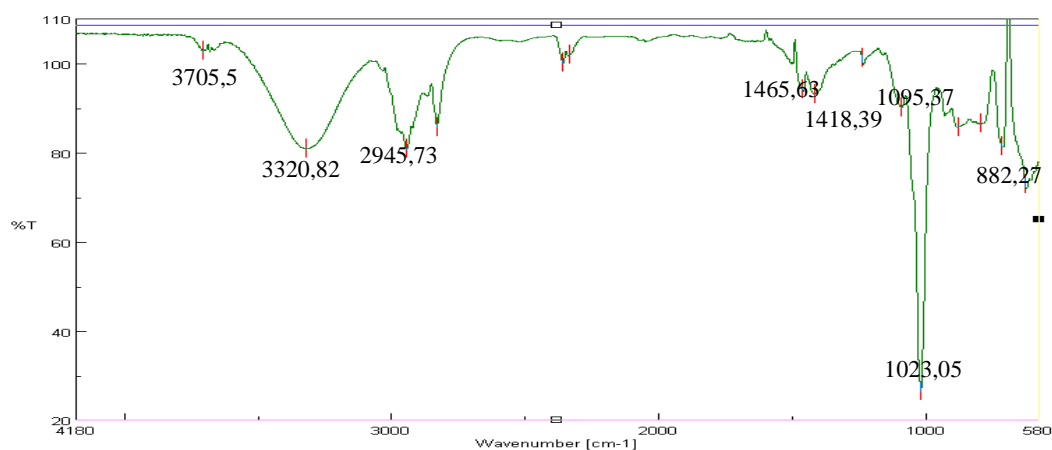


Grafico No. 5-3. Espectro Infrarrojo del compuesto 3 aislado del extracto hidroalcohólico de *J. rugosa* Less

Realizado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

El compuesto número tres se presentó como cristales traslúcidos, solubles en metanol, que presenta el espectro infrarrojo con los siguientes picos: Una banda de baja intensidad a 3705, 5 cm^{-1} , que pertenece a la presencia de agua en la solución. Una banda correspondiente a una tensión del grupo O-H a $\approx 3320,82 \text{ cm}^{-1}$, seguido de un pico correspondiente al grupo C-H cercano a los 2945,73 cm^{-1} . Observamos un pico de tensión correspondiente al grupo C=C entre los 1465,63 y un pico a 1418,39 cm^{-1} correspondiente al grupo aromático, ambos picos característicos de una compuesto de tipo flavónico; en la región de la huella dactilar se observa un pico a 1095,37 cm^{-1} que corresponde al grupo carbonilo C=O, y a 882,27 cm^{-1} , un estiramiento del grupo CH₃ libre. (Hesse, M. et al. 1997. Pp. 29-66).

3.5.4. Compuesto 4

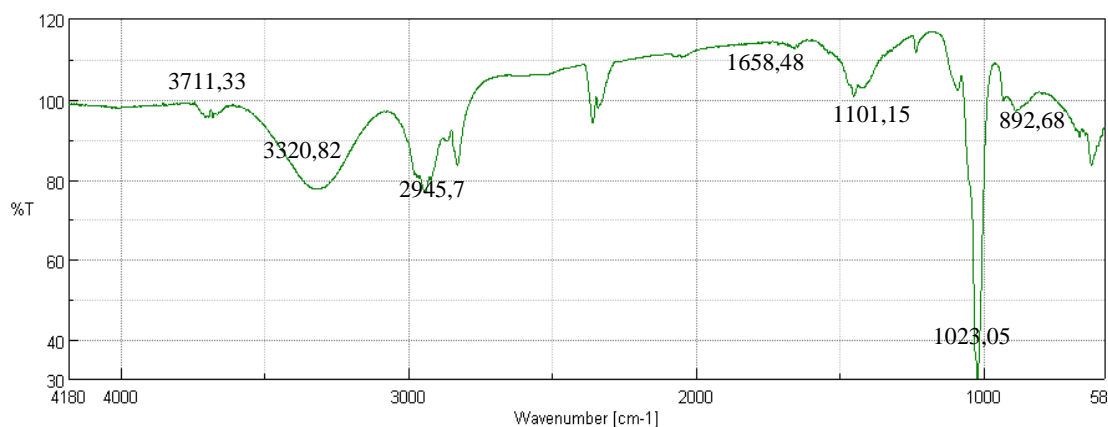


Grafico No. 6-3. Espectro Infrarrojo del compuesto 4 aislado del extracto hidroalcohólico de *J. rugosa* Less

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

El compuesto 4 se obtuvo como un polvo color amarillo, soluble en metanol, se analizó en el infrarrojo, presentando los siguientes picos: una banda levemente intensa a $3711,33\text{ cm}^{-1}$, indicador de agua en la solución analizada, una banda del grupo O-H a $3320,8\text{ cm}^{-1}$, una vibración de tensión del grupo C-H a $2945,7\text{ cm}^{-1}$, además existen dos vibraciones una a $1658,48\text{ cm}^{-1}$ y a $1450,21\text{ cm}^{-1}$, correspondientes al grupo C=C y a la tensión del grupo aromático, respectivamente. En la región de la huella dactilar encontramos una vibración del grupo carbonilo C=O a $1101,15\text{ cm}^{-1}$ característico de grupo flavónicos, finalmente se encuentran vibraciones a $1023,05$ y $892,68\text{ cm}^{-1}$ correspondientes a los CH_3 libres. (Hesse, M. et al. 1997. Pp. 29-66).

3.5.5. Compuesto 5

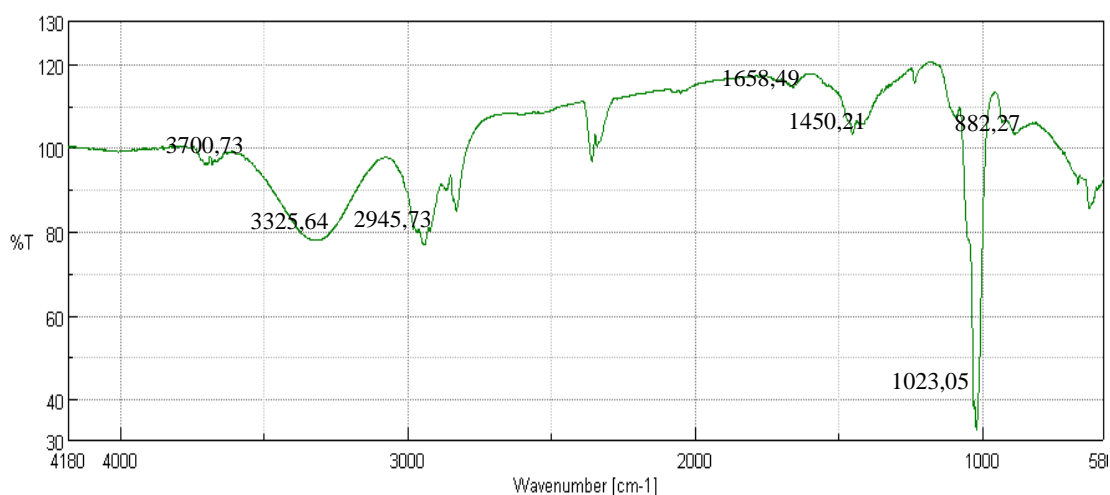


Grafico No. 7-3. Espectro Infrarrojo del compuesto 5 aislado del extracto

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

El compuesto 5 se obtuvo como cristales solubles en metanol, se analizó al infrarrojo y se obtuvieron los siguientes resultados: una baja con baja intensidad a $3700,73\text{ cm}^{-1}$, correspondiente a presencia de agua en la muestra. Seguido tenemos una banda correspondiente al grupo O-H en los $3325,64\text{ cm}^{-1}$, hay un pico de vibración a $2945,73\text{ cm}^{-1}$, correspondientes al grupo C-H, en la zona media del espectro se observa una vibración del grupo C=C entre los $1658,49\text{ cm}^{-1}$, y otra vibración a los $1450,21\text{ cm}^{-1}$ perteneciente al grupo aromático. En la región de la huella dactilar se encuentra una vibración del C-H libre en los $1023,05\text{ cm}^{-1}$.

3.6. Análisis de HPLC- UV

El análisis de HPLC se realizó utilizando una fase móvil consistente en ácido fórmico: acetonitrilo: metanol (60:16:24), la cual dio resultados satisfactorios en la separación de los componentes de la muestra. Los resultados se muestran a continuación:

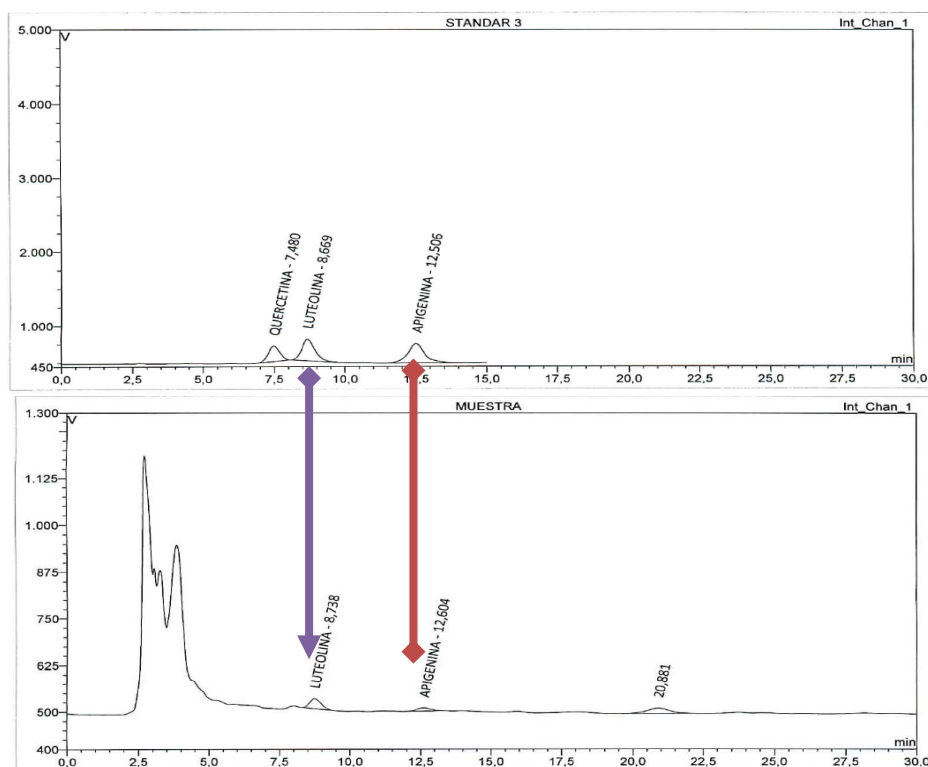


Grafico. No.8-3 .Cromatogramas del estándar y muestra de *J. rugosa*. CentroCesal. Quito, Julio 2015

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

Cuadro No. 3-3. Análisis de *J. rugosa* por HPLC- UV. Centrocesal. Quito. Julio 2015.

Compuesto en la muestra	Tiempo de retención (min)	Concentración (mg/100g)
Luteolina	8,74	19,57
Apigenina	12,60	6,81

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

Como podemos observar en la gráfica y en la tabla, el tiempo de retención para la luteolina fue de 8,74 minutos y de la apigenina de 12,60 minutos, los cuales posteriormente comparando con la muestra se obtienen a los mismos tiempos. No se reporta quercetina en el análisis. Seguidamente mediante cálculos se obtiene la cantidad de cada flavonoide en mg/100 g de planta.

3.7. Análisis del Protocolo Hipoglucemiante

3.7.1. Protocolo hipoglucemiante en los ratones con diabetes moderada

Cuadro No. 4-3. Lecturas de glicemias a través de las horas en los ratones con diabetes moderada. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba, Julio 2015

	0 horas	0,5 horas	1 hora	2 horas	4 horas	6 horas
Blanco	162,67 ± 7,6	219,33 ± 14,4	240,33 ± 11,0	248,33 ± 11,9	226,33 ± 13,3	225,67 ± 9,0
Control (acarbosa 20 mg/kg)	144,67 ± 5,9	133,67 ± 6,4	133,00 ± 13,2	176,67 ± 11,5	164,00 ± 14,2	165,67 ± 2,1
Tratamiento con <i>J. rugosa</i> 25 mg/kg	162,67 ± 9,3	145,33 ± 12,9	151,67 ± 12,9	147,67 ± 9,7	182,67 ± 15,8	168,33 ± 17,6
Tratamiento con <i>J. rugosa</i> 100 mg/kg	134,00 ± 7,0	123,00 ± 14,0	107,00 ± 13,0	102,67 ± 8,7	97,33 ± 6,0	89,33 ± 15,0
Tratamiento con <i>J. rugosa</i> 400 mg/kg	182,00 ± 3,0	166,67 ± 5,5	139,33 ± 7,5	138,33 ± 14,6	128,00 ± 10,5	105,67 ± 7,6

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

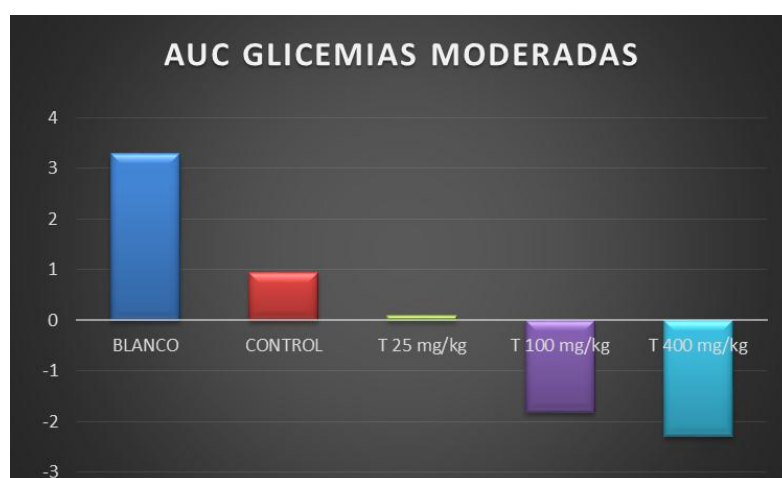


Grafico No. 9-3. Áreas bajo la curva de los niveles de glicemia moderada durante 6 horas

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

Cuadro No. 5-3. Lecturas de glicemias a través de los días en los ratones con diabetes moderada. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba, Julio 2015

	día 0	día 3	día 5	día 7
Blanco	225,67± 9,0	230,33± 4,5	196,67± 7,5	214,33± 9,7
Control (acarbosa 20 mg/kg)	165,67± 2,1	149,33± 9,1	140,33± 9,9	113,00± 12,8
Tratamiento con <i>J. rugosa</i> 25 mg/kg	168,33± 17,6	139,67± 6,8	114,0± 8,5	111,67± 7,6
Tratamiento con <i>J. rugosa</i> 100 mg/kg	89,33± 15,0	104,67± 4,7	101,0± 3,6	100,33± 8,5
Tratamiento con <i>J. rugosa</i> 400 mg/kg	105,67± 7,6	108,67± 2,9	102,33± 2,5	94,33± 8,5

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

Como se puede observar en el diagrama de barras, el tratamiento en el que se administró el extracto de *J. rugosa* Less que presenta mejor actividad es el de 100 y 400 mg/kg de peso del animal, sin embargo es recomendable establecer entre estas dos dosis, cual es la efectiva que no represente ninguna toxicidad. El tratamiento de 25 mg/kg es comparable con el del control de acarbosa, ya que si presenta una disminución de la glicemia pero no tan marcada como los demás tratamientos. Además en el transcurso de los días de tratamiento se puede observar que existe un control en la glucosa.

3.7.2. Protocolo hipoglucemiante en los ratones con diabetes severa

Cuadro No. 6-3. Lecturas de glicemias a través de las horas en los ratones con diabetes severa. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba, Julio 2015

	0 horas	0,5 horas	1 hora	2 horas	4 horas	6 horas
Blanco	225,00 ± 16,5	240,67 ± 54,2	236,67 ± 58,3	233,67 ± 17,6	235,00 ± 18,1	239,00 ± 9,4
Control (insulina 0,5 mmol/kg)	226,33 ± 13,3	255,00 ± 46,3	245,33 ± 27,8	218,00 ± 27,9	190,33 ± 22,7	191,00 ± 19,3
Tratamiento con <i>J. rugosa</i> 25 mg/kg	237,33 ± 3,1	269,33 ± 15,5	268,67 ± 38,0	211,00 ± 24,8	179,33 ± 18,0	249,00 ± 13,1
Tratamiento con <i>J. rugosa</i> 100 mg/kg	220,00 ± 9,2	231,67 ± 4,0	221,00 ± 6,2	205,67 ± 18,9	187,33 ± 24,6	186,33 ± 20,6
Tratamiento con <i>J. rugosa</i> 400 mg/kg	222,33 ± 32,0	240,00 ± 38,0	223,33 ± 22,1	192,00 ± 37,7	191,67 ± 31,0	181,00 ± 3,6

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

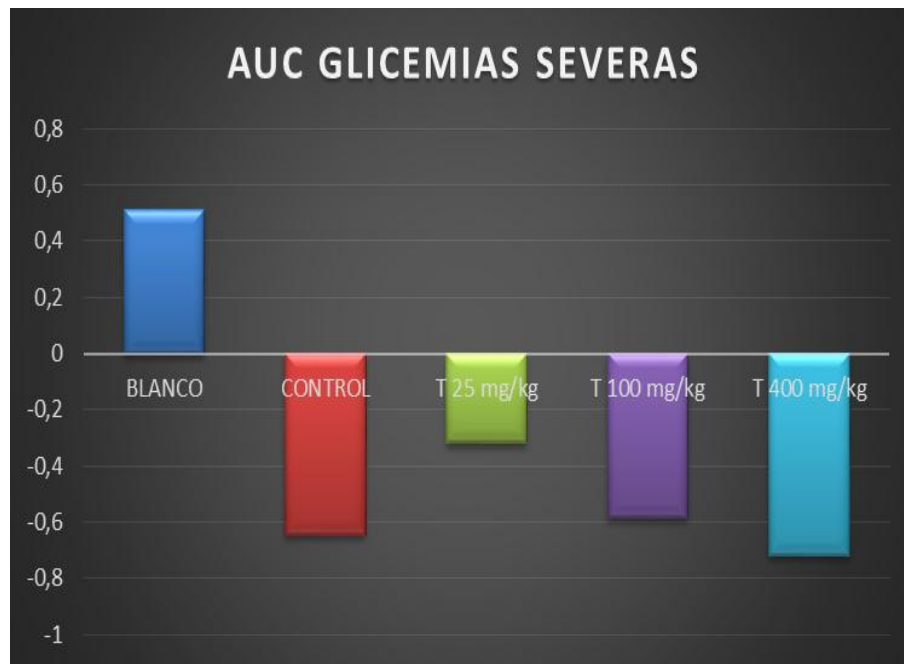


Grafico No. 10-3. Áreas bajo la curva de los niveles de glicemia severa durante 6 horas

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

Cuadro No. 7-3. Lecturas de glicemias a través de los días en los ratones con diabetes severa. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba, Julio 2015

	día 0	día 3	día 5	día 7
Blanco	239,00 ± 9,8	265,67 ± 10,7	230,33 ± 10,1	222,33 ± 2,1
Control (insulina 0,5 mmol/kg)	191,00 ± 19,3	123,00 ± 5,6	103,33 ± 7,6	90,00 ± 11,0
Tratamiento con <i>J. rugosa</i> 25 mg/kg	249,00 ± 13,1	121,33 ± 3,5	121,00 ± 4,6	120,67 ± 7,8
Tratamiento con <i>J. rugosa</i> 100 mg/kg	186,33 ± 20,6	126,00 ± 7,0	124,00 ± 3,0	123,33 ± 10,4
Tratamiento con <i>J. rugosa</i> 400 mg/kg	181,00 ± 3,6	112,00 ± 11,4	111,67 ± 9,5	116,00 ± 4,4

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

Como se puede observar en el gráfico anterior existe efecto hipoglucemiante en los tratamientos administrados, sin embargo éstos no presentan una diferencia significativa en comparación con el control de insulina. Durante la administración del tratamiento por los días no se observa una disminución y control importante de los niveles de glucosa. Por lo tanto, se puede inferir que este tratamiento no es el más apropiado para este tipo de modelo diabético.

3.8. Análisis estadístico

3.8.1. Hipoglicemia moderada

Con el resultado obtenido en el ANOVA, se rechaza la H_0 y se acepta la H_1 , ya que existe una diferencia significativa entre la disminución de los niveles de glucosa de los diferentes tratamientos. Es preciso, que los tratamientos con más eficacia fueron el de 100 y 400 mg/kg de peso, ya que disminuye aproximadamente un 80% de los niveles de glucosa.

Posteriormente, se aplicó el test de Dunnett, en el cual se comparó a los tratamientos en referencia con el control químico, obteniéndose que los tratamientos con extracto de *J. rugosa* Less de 100 y 400 mg/kg tuvieron mejor acción durante el tiempo delimitado por el protocolo experimental.

One Way Analysis of Variance						miércoles, Julio 22, 2015, 12:22:43	
Data source: Data 1 in Notebook1							
Normality Test (Shapiro-Wilk) Passed (P = 0,937)							
Equal Variance Test: Passed (P = 0,754)							
Group Name	N	Missing	Mean	Std Dev	SEM		
BLANCO	3	0	3,291	0,896	0,517		
CONTROL	3	0	0,946	0,229	0,132		
25 mg/kg	3	0	0,0967	0,779	0,450		
100 mg/kg	3	0	-1,814	0,698	0,403		
400 mg/kg	3	0	-2,290	0,326	0,188		
Source of Variation	DF	SS	MS	F	P		
Between Groups	4	60,779	15,195	36,961	<0,001		
Residual	10	4,111	0,411				
Total	14	64,890					
The differences in the mean values among the treatment groups are greater than would be expected by chance; there is a statistically significant difference (P = <0,001).							
Power of performed test with alpha = 0,050: 1,000							
Multiple Comparisons versus Control Group (Dunnett's Method):							
Comparisons for factor:							
Comparison	Diff of Means	q'	P	P<0,050			
CONTROL vs. 400 mg/kg	3,237	6,183	<0,001	Yes			
CONTROL vs. 100 mg/kg	2,761	5,273	0,001	Yes			
CONTROL vs. BLANCO	2,344	4,478	0,004	Yes			
CONTROL vs. 25 mg/kg	0,850	1,623	0,353	No			

Grafico No. 11-3. Análisis estadístico ANOVA y post test Dunnett para el grupo de diabetes moderada

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

3.8.2. Hipoglicemia severa

Con el resultado obtenido del ANOVA se procedió a aceptar H_0 y a rechazar H_1 , debido a que no existe una diferencia significativa en la disminución de los niveles de glucosa de los diferentes tratamientos. Con esto se concluye, que este tratamiento tiene una eficacia comparable con el control de insulina.

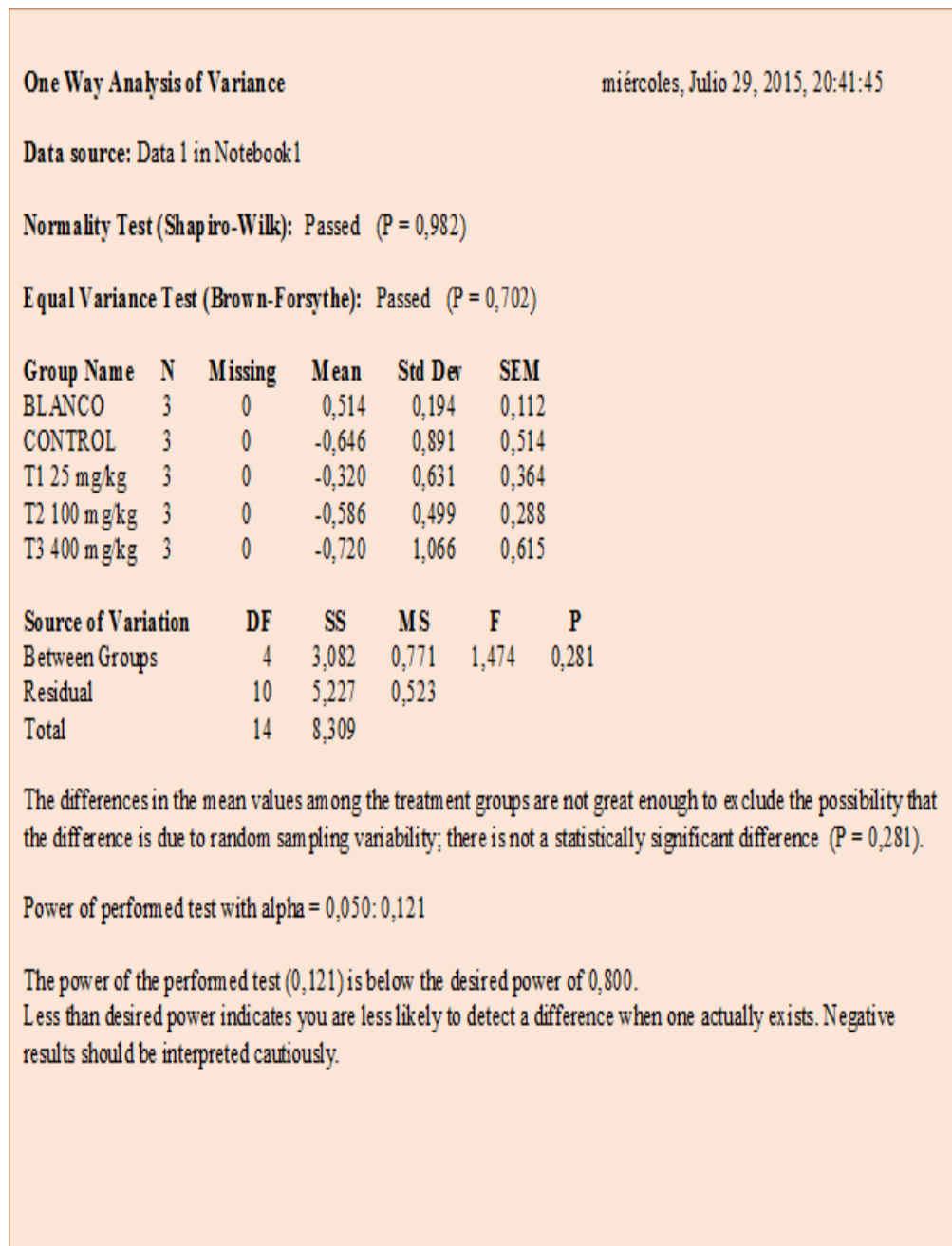


Grafico No. 12-3. Análisis estadístico ANOVA para el grupo de diabetes severa

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

3.9. Análisis de Toxicidad aguda

El estudio de toxicidad aguda fue realizado con el extracto total de *J. rugosa* Less, para lo cual se administró una dosis de 2000 mg/kg de peso para cada individuo del grupo seleccionado. Los parámetros medidos se muestran a continuación:

Cuadro No. 8-3. Parámetros a evaluar en el análisis de toxicidad

Parámetro a evaluar	1 h	2 h	3 h	6 h	10 h	12h
Disminución de la actividad motora						
Pérdida de prensibilidad						
Pilo erección						
Diarrea						
Pasivo						
Mortalidad						

Elaborado por: Sonia Tacuamán J. 2015.

A pesar de no existir ningún daño durante el tiempo de observación, se realizaron cortes histopatológicos de estómago, hígado y riñones, en las placas no se observó ninguna anomalía. Así fue comprobada que la especie vegetal *J. rugosa* es inocua y segura para el consumo.

CONCLUSIONES

1. Se realizó el tamizaje fitoquímico de *Jungia rugosa* Less, observando la existencia de una gran variedad de metabolitos secundarios: flavonoides, terpenos, antocianidinas, catequinas, compuestos fenólicos, saponinas. De ellos, destaca la presencia de flavonoides.
2. Se realizaron dos tipos de inducción a diabetes a los animales, así se obtuvo una diabetes moderada, al administrar estreptozotocina en conjunto con nicotinamida, para que no exista un daño pancreático total. Y se indujo una diabetes severa con administración de estreptozotocina durante cinco días consecutivos, produciendo un daño total de las células beta pancreáticas.
3. Se comprobó la actividad hipoglucemiante del extracto de *J. rugosa* Less, de manera que en el tipo de diabetes moderada se observó que los tratamientos efectivos fueron de 100 y 400 mg/kg. En el modelo de diabetes severa no existió una variación significativa en los tratamientos en comparación al control, con lo cual se concluye que los tratamientos son tan efectivos como el control de insulina.
4. Se comprobó la toxicidad aguda del extracto, obteniéndose como resultado que la planta es inocua a cualquier dosis, por lo tanto es segura para su consumo.
5. Mediante la técnica de HPLC, con uso de estándares, se pudo comprobar que la planta posee en su composición apigenina y luteolina, (6,81 y 19,57 mg/100 g de planta respectivamente). Este resultado sugiere que el efecto hipoglucemiante podría estar relacionado con la capacidad antioxidante de estos flavonoides.

RECOMENDACIONES

1. Establecer la dosis efectiva del extracto que produzca el efecto deseado y que no sea tóxica para el paciente.
2. Realizar estudios más profundos para elucidar las estructuras en concreto que posee la planta, y conocer cuál es la que presenta la actividad biológica.
3. Realizar otros estudios con esta planta, ya que es rica en metabolitos secundarios y podría tener otras actividades, que según conocimiento ancestral también se utiliza como antibacteriano, antiinflamatorio, cicatrizante y protector solar.
4. Investigar nuevas especies vegetales, con fines terapéuticos en Ecuador ya que es un país muy biodiverso, y posee una flora única en el mundo.
5. Se recomienda realizar el estudio en la fase acuosa del extracto, ya que aquí podrían existir otros metabolitos con una actividad similar.

BIBLIOGRAFIA

BARAJAS, Miguel. *Estrategias de terapia celular para el tratamiento de la diabetes tipo 1: dónde estamos y qué podemos esperar.* *Avances en Diabetología.* Vol. 27. No 4. 2011. México D.F. México. Pp. 115-127.

CARRASCO-FORMIGUERA, R. *The mechanism of alloxan hypoglycemia.* Barcelona-España. Pro. Am. Diabetes Assoc. 1947. Pp. 277-287.

CARRILLO PAULINA. *Comprobación del efecto hipoglucemiante del fruto de noni (Morinda citrifolia) en ratas (Rattus norvegicus) con hipoglucemia inducida. (Tesis pregrado).* Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2011. Pp. 27-30.

CASTRO-TORRES, Ibrahim Guillermo, et al. *Efecto hipoglucemiante de dos curcubitacinas aisladas de Ibervillea lindheimeri en un modelo experimental de diabetes inducida por estreptozotocina.* *Vitae.* Vol. 21. No 1. Bogotá-Colombia. 2014. Pp. S101-S102.

CUELLAR, A., MIRANDA, M. *Farmacognosia y productos naturales.* 2^a. ed. La Habana-Cuba. Editorial Félix Varela. 2001. Lima- Perú. Pp. 107- 13.

CH, J. Hilda Jurpe; HERENCIA, Vilma E.; ROBLES, J. Mónica. *Contribución al estudio de la actividad hipoglucemiante del Smalanthus sonchifolius (yacón).* *Revista de la Facultad de Medicina humana.* Vol. 7. No 2. Bogotá-Colombia. 2013.

DE CIENCIAS VETERINARIAS, *Gaceta.* *Efecto del extracto de hojas de Nim (Azadirachta indica A. Juss) en la Diabetes Mellitus inducida por Estreptozotocina en ratones.* *Gaceta de Ciencias Veterinarias,* 2010, Vol. 15, No 2, Lima- Perú. Pp. 64-71.

FERNÁNDEZ, A. *La Diabetes Mellitus en la historia de la humanidad.* Repositorio de artículos, Infomed (2014) <http://articulos.sld.cu/diabetes/category/historia/>.

FID. *Atlas de diabetes de la FID*, 6ta edición. Federación Internacional de Diabetes. 2012.

FLORES, C., et I. *Caracterización de la Diabetes Mellitus experimental inducida con estreptozotocina en ratones nmri*. Gaceta de Ciencias Veterinarias. Vol. 12. No.1. México D.F.-México. 2006. Pp. 13-18.

GILMAN, GOODMAN. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 2da Edición. Madrid-España. McGraw-Hill-Interamericana. 1940. Pp. 345-346.

GINER, E, CASTILLO. E. *Fitoterapia y diabetes*. Revista de Fitoterapia. Vol. 3. N° 2. 2003. Valencia-España. Pp. 113-114.

GONZALEZ A, LOPERA W, ARANGO A. *Manual de terapéutica. Fundamentos de medicina*. 14va Edición. Bogotá- Colombia. CIB. 2010. Pp. 286-290.

GRANADOS, S, ET AL. *Evaluación del efecto hipoglucemiante de Jatropha gossipifolia en modelos in vitro e in vivo*. Red de Revistas científicas de América Latina. El Caribe, España y Portugal. 2014.

GUERRERO D.I. *Actividad hipoglucemiante del extracto de las hojas de Oreocallis grandiflora en ratas (Rattus norvegicus), por inhibición de alfa-amilasa*. (Tesis Pregrado). (BQF). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba. 2014. Pp. 34-36.

HARD, G, C. *Identification of a high-frequency model for renal carcinoma by induction of renal tumors in the mouse with a single, dose of streptozotocin*. Cancer Research, Vol. 2, No. 3, 1985. México D.F- México Pp. 703-708.

HESSE M, MEIER H, ZEEH B. *Métodos espectroscópicos en química orgánica*. 5ta Edición. Madrid- España. Editorial Síntesis. 1997.

HERRERA, CORNEJO. *La diabetes*. 3ra edición. México D.F- México. 2012. Pp. 25-30.

INEC. *Anuario de nacimientos y defunciones*. Ministerio de Salud Pública. Quito- Ecuador 2013.

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. *Guía de manejo y cuidado de animales de Laboratorio*. Ratón. Ministerio de Salud. Lima, Perú. 2008. Pp.15-18

LOCK, O. *Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Segunda Edición*. Pontificia Universidad Católica del Perú. Fondo Editorial. 1994. Lima- Perú Pp. 114-140.

MENDOZA, C. *Estrés oxidativo hepático en ratones hembras hasta los 45 días post-inducción de diabetes mellitus por estreptozotocina*. Trabajo de Ascenso, 2004, Buenos Aires. Argentina pp. 32-35.

MINSAL. *Guía clínica de la diabetes mellitus tipo 2*. Ministerio de Salud Chile. Santiago de Chile- Chile. 2010.

MIRANDA, Martha. *Farmacognosia y productos naturales. (Normas Ramales. De drogas crudas y extractos y tinturas. NRSP 309, 311 y 312. MINSAP, La Habana- Cuba. 1992, pp. 32-62*

MURILLO S. *Prevención de la diabetes mellitus tipo 2 con la alimentación y ejercicios*. Fundación para la Diabetes. Barcelona-España. 2015.

MSP. *Boletín del Día Mundial de la diabetes*. Ministerio de Salud Pública. Quito- Ecuador. 2014.

NAVARRO, Mónica, et al. *Efecto Hipoglucemiante del Extracto Acuoso de Phyllanthus sellowianus (sarandí blanco) en Ratones C57BL/Ks*. Acta Farm Bonaer. Vol. 23. 2004. Buenos Aires. Argentina. pp. 520-523.

OHADOMA, SC. *Effects of co- administration of methanol leaf extract of Cantaranthus roseous on the hypoglycemic activity of metformin and glibenclamide in rats.* Asia Journal of Tropical Medicine. Vol. 3. No. 2. Madonna University. Okija- Nigeria. 2011.

PAZMIÑO, C. *Determinación de la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de Justicia chlorostachya Leonard, en ratones con hiperglicemia inducida.* (Tesis pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba- Ecuador. 2011. Pp. 40-43

REDROBÁN, K.F. *Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos del berro (Nartustium officinalis) y llantén (Plantago major) en ratones (Mus musculus).* (Tesis pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba- Ecuador. 2012. Pp. 30-32

RODRÍGUEZ E. *Ética de la investigación en modelos animales de enfermedades humanas.* Acta bioética. Vol. 13. No. 1. 2014. Santiago- Chile.

SAFONTS G, ET AL. *Efecto hipoglucemiante y antioxidante del extracto alcohólico y acuoso de Allophylus cominia.* Grupo empresarial LABIOFARM. La Habana- Cuba. 2007.

SOLIS, S. *Determinación de la actividad antimicrobiana de Jungia rugosa Less en extractos de n- hexano y Diclorometano.* (Tesis pregrado). Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias Químicas. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Cuenca- Ecuador. Pp. 35-40.

SUNIL JAWLA, ET AL. *Hypoglycemic activity of Bugainvillea spectabilis stem bark in normal and alloxan- induced diabetic rats.* Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. Vol. 4. No. 2. 2012. New Delhi- India. Pp. 4.

SUSHIL KUMAR, ET AL. *An in vitro studies on indigenous aryuvedic plants, having hypoglycemic activity.* Asian Pacific Journal of Tropical diseases. Vol. 3. No. 2. 2012. New Delhi- India.

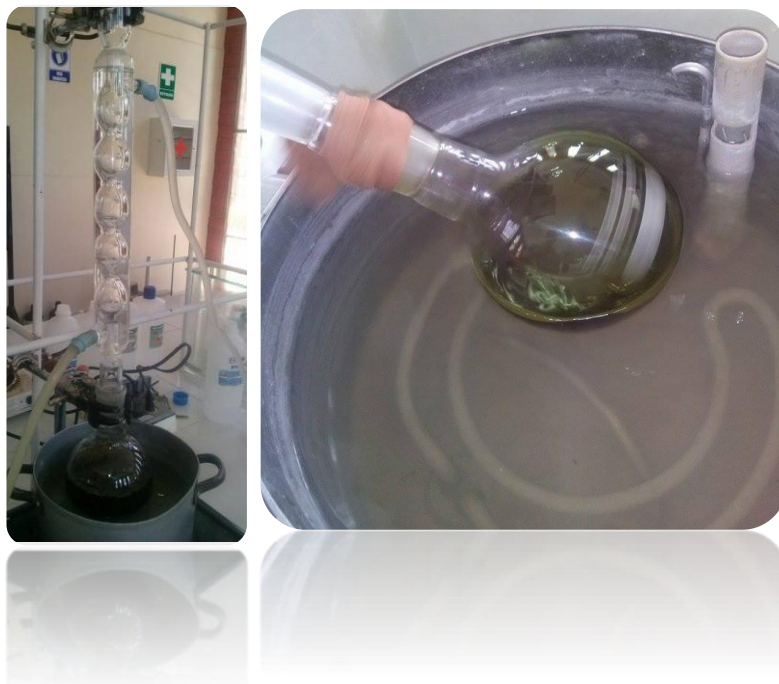
TAMAYO, M. *Influencia de un tratamiento integral de pie diabético en la disminución del índice de amputaciones de los pacientes atendidos en la unidad de pie diabético del hospital provincial general docente Riobamba, durante el período enero – septiembre de 2013.* (Tesis de pregrado). Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Medicina. Ambato- Ecuador. 2014. Pp. 25

ANEXOS

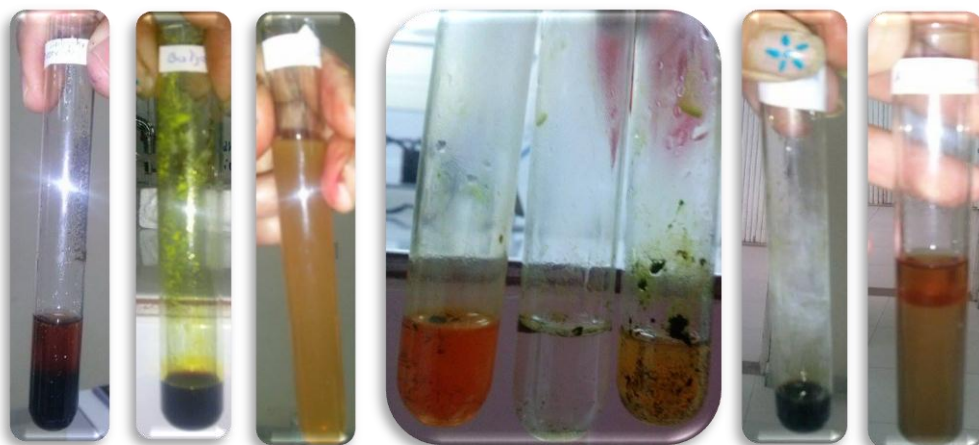
ANEXO A: Determinación de humedad y cenizas



ANEXO B: Preparación del extracto hidroalcohólico de *J. rugosa* Less



ANEXO C: Tamizaje Fitoquímico del extracto hidroalcohólico



ANEXO D: Separación de los compuestos del extracto flavónico de *J. rugosa* Less



ANEXO E: Inducción a diabetes a los animales de experimentación



ANEXO F: Lecturas de glicemias a los animales mediante punción de la vena caudal



