

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

“EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA SEMILLA DE *Anacardium occidentale* L. (MARAÑÓN) EN RATAS ALBINAS CON DIABETES TIPO 2”

Tesis Para optar el Título Profesional de Químico

Farmacéutico y Bioquímico

TESISTAS: Bachiller: Enrriquez Rivera, Julio Cesar

Bachiller: Chacón Cueva, Víctor Mariano

ASESOR: Mg. Q. F. Teófilo Chire Murillo

LIMA – PERÚ

2019

DEDICATORIAS

A Dios por darme la vida, por mantenerme en este camino, por darme las fuerzas en todo momento y de esta manera cumplir con éxito mis objetivos planteados en esta etapa de mi vida.

A mis padres Doris Rivera Veliz y Cesar Enriquez Sánchez, también a mis tías, por depositar su confianza en mí, por sus sabios consejos, por sus ejemplos de responsabilidad y valores

A mi novia Vanessa Cárdenas Mogollón, por su apoyo incondicional y por estar siempre presente en este recorrido profesional para alcanzar mi meta.

Julio Enriquez

El presente trabajo es dedicado a Dios por mantenerme bien de salud y darme las fuerzas necesarias para continuar con mi mayor objetivo.

A mis padres por ser mi fuente de inspiración por estar conmigo en todo momento brindándome apoyo, fuerza y por sus sabios consejos.

A mis hermanos, por ser el primer cimiento para mi vida profesional, gracias por brindarme su cariño y su comprensión

Víctor Mariano

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, por darme la oportunidad para desarrollar mis capacidades, adquirir nuevos conocimientos, formarme profesionalmente y también como persona; así mismo a todos los docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica que durante mi etapa estudiantil supieron entregarme sus sabios conocimientos y consejos.

A nuestro asesor de Tesis Mg. Q.F. Teófilo Chire Murillo, por su valioso apoyo, sentido y generosidad; por brindar su destreza en el desarrollo y culminación de la investigación

Al Mg. Oscar Muguruza Lopez, Dr. Mario Pineda Perez, Mg. Florentino Linares Soto; por su gran apoyo invaluable, consejos y orientación que permitieron la realización del presente trabajo.

A todos los compañeros que dieron su cariño y compañía en toda la época de estudio.

Víctor Mariano y Julio Enriquez

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	
DEDICATORIAS	
AGRADECIMIENTOS	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE ANEXOS	
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA	2
1.2. IDENTIFICACIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	3
1.2.1. Problema general	3
1.2.2. Problemas específicos	3
1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.3.1. Objetivo general	3
1.3.2. Objetivos específicos	4
1.4. JUSTIFICACIÓN	4
1.5. Limitación de la investigación.....	
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	7
2.1. ANTECEDENTES	7
2.1.1. Antecedentes nacionales	7
2.1.2. Antecedentes extranjeros	8
2.2. BASES TEÓRICAS.....	11
2.2.1. <i>Anacardium occidentale</i> L. (marañón)	11
2.2.2. Descripción botánica del <i>Anacardium occidentale</i> L. (marañón)	11
2.2.3. Requerimientos climáticos y edáficos	16
2.2.4. Diabetes mellitus.....	18
2.2.4.1. Tipos de diabetes mellitus.....	19

2.2.4.2. Complicaciones de la diabetes mellitus	20
2.2.5. Ratas (<i>Mus musculus L</i>).	21
2.3. FORMULACIÓN DE LAS HIPÓTESIS	22
2.3.1. Hipótesis general	22
2.3.2. Hipótesis específicas.....	22
2.4. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS.....	24

CAPITULO III. METODOLOGÍA	26
3.1. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.....	26
3.1.1. Tipo.....	26
3.1.2. Nivel.....	26
3.1.3. Diseño de la Investigación	26
3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN.....	27
3.2.1. Población vegetal y animal	27
3.2.2. Muestra vegetal y animal	27
3.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS	28
3.3.1. Equipos de laboratorio	28
3.3.2. Materiales de vidrio.....	28
3.3.3. Reactivos y otros insumos	28
3.3.4. Otros	28
3.4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.....	29
3.4.1. FASE FITOQUÍMICA	30
3.4.1.1. Recolección y Preparación del Extracto.....	30
3.4.1.2. Prueba de solubilidad.....	31
3.4.1.3. Marcha fitoquímica.....	31
3.4.2. FASE FARMACOLÓGICA	31
3.4.2.2. Procedimiento de ensayo farmacológico	32
3.4.2.3. Estudio de toxicidad.....	35
3.4.2.4. Determinación de la DL50.....	36
3.5. PROCEDIMIENTO DE DATOS	36

CAPITULO IV. RESULTADOS	37
4.1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS.....	37
4.1.1. Prueba de solubilidad.....	37
4.1.2. Screening fitoquímico.....	38
4.1.3. Determinación del efecto hipoglucemiante	39
4.2. CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS	53
4.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	54
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	55
5.1. CONCLUSIONES	55
5.2. RECOMENDACIONES.....	56

BIBLIOGRAFÍA

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Rango nutritivo de contenido en 100 g de pulpa.....	13
Tabla 2: Examen fitoquímico del concentrado fluido y de la tintura al 20% de hojas de <i>Anacardium occidentale L.</i>	15
Tabla 3: Ensayo final para determinación de la DL ₅₀	36
Tabla 4: Resultado de la prueba de solubilidad	37
Tabla 5: Resultado de screening fitoquímico	38
Tabla 6: Promedio del nivel del efecto hipoglucemiante por grupo-concentración	39
Tabla 7: Estadísticos descriptivos.....	39
Tabla 8: Prueba de los inter-sujetos.....	42
Tabla 9: Prueba de kolmogoro-smirnov.....	45
Tabla 10: Comparaciones múltiples... ..	48
Tabla 11: Efecto hipoglucemiante (cambio de nivel de glucosa basal).....	49
Tabla 12: Grupo_concentracion = GRUPO AZUL 50 mg extracto/kg/día.....	50
Tabla 13: Grupo_concentracion = GRUPO VERDE 250 mg extracto/kg/día.....	51
Tabla 14: Grupo_concentracion = GRUPO ROJO 500 mg extracto/kg/día.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gráfico de residuos frente a los valores predichos por el modelo	43
Figura 2. Gráfico de perfil	44
Figura 3. Homogeneidad de varianzas	46
Figura 4. Gráfico de las Medias (días)	47
Figura 5. Gráfico de las Medias (grupo-concentracion)	

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia.....	62
Anexo 2. Instrumento de llenado de datos de prueba de solubilidad.	63
Anexo 3. Hoja de validacion del instrumento “solubilidad”	64
Anexo 4. Instrumento de llenado de datos de sceening fitoquimico	65
Anexo 5. Hoja de validacion del instrumento de screenin fitoquimico	66
Anexo 6. Instrumento de llenado de datos de los animales (ratas)	67
Anexo 7. Hoja de validacion del instrumento estudio farmacologico.....	68
Anexo 9. Materia prima.....	69
Anexo 10. Obtención del extracto.....	71
Anexo 11. Tamizaje fitoquímico del extracto de la semilla de <i>Anacardium occidentale</i> L (Marañón).....	72
Anexo 12. Evaluación de la actividad hipoglucemiante del extracto de la semilla de <i>Anacardium occidentale</i> L (Marañón).....	73
Anexo 13. Clasificación taxonómica del “Marañón”.....	75
Anexo 14. Certificación de “ <i>Rattus novergicus</i> ”.....	76

RESUMEN

El objetivo de este trabajo de investigación fue evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de la semilla *Anacardium occidentale L.* (marañón) en ratas con diabetes tipo 2. El presente trabajo es cuantitativo, experimental, prospectivo de carácter longitudinal. El extracto se obtuvo de las semillas secas de *Anacardium occidentale L.* (marañón). La muestra biológica estuvo constituida por 20 ratas hembras Holtzman, especie *Rattus norvegicus*, variedad albina de siete 7 meses de edad, con salud y una masa promedio de 150 g y con particularidades similares. El estudio es con 5 grupos: Grupo I (ratas diabéticas tratadas con extracto de 50 mg/kg/día); grupo II (ratas diabéticas tratadas con extracto de 250 mg/kg/día); grupo III (ratas diabéticas tratadas con extracto de 500 mg/kg/día); grupo IV (ratas diabéticas tratadas con glibenclamida de 5 mg/kg/día) y el grupo V (ratas que no recibió ningún tratamiento). Se observó que las tres concentraciones del extracto tuvieron efecto hipoglucemiante, siendo la concentración de 500 mg/Kg/día la que tuvo mayor efecto hipoglucemiante. Luego de realizar el análisis estadístico, con un nivel de confianza del 95 % y para el contraste de hipótesis se utilizó el diseño de bloques completo al azar, se puede afirmar que los diferentes efectos hipoglucemiantes fueron significativos. Se concluyó que la concentración de 500 mg/kg/día fue significativamente de mayor efecto hipoglucemiante.

Palabras Clave: *Anacardium occidentale L.* "Marañón"; actividad hipoglucemiante, diabetes mellitus tipo 2, glucosa.

ABSTRACT

The objective of this investigation was to evaluate the hypoglycemic effect of the hydroalcoholic extract of the *Anacardium occidentale L.* seed (cashew) in rats with type 2 diabetes. The present work is quantitative, experimental, and prospective of longitudinal character. The extract was obtained from the seeds of *Anacardium occidentale L.* (cashew). The biological sample consisted of 20 female Holtzman rats, *Rattus norvegicus*, seven-year-old albino variety, with health and a mass of 150 g with similar characteristics. The study was carried out with 5 groups: Group I (diabetic rats treated with extract of 50 mg/kg/day); group II (diabetic rats treated with extract of 250 mg/kg/day); Group III (diabetic rats treated with extract of 500 mg/kg/day); group IV (diabetic rats treated with glibenclamide 5 mg/kg/day) and group V (rats that did not receive treatment). It was observed that at the same time there was a hypoglycemic effect, being the concentration of 500 mg/kg/day the one that had greater hypoglycemic effect. After carrying out the statistical analysis, with a confidence level of 95% and by the contrast of the hypotheses, as well as the design of the blocks at random, it can be affirmed that the different hypoglycemic effects are significant. It was concluded that the concentration of 500 mg/kg/day was significantly greater hypoglycemic effect.

Palabras Clave: *Anacardium occidentale L.*"Marañón"; Hypoglycemic activity, diabetes mellitus type 2, glucose.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, se estima que existen unos 260 000 tipos de plantas, de donde el 10 % es considerado como plantas medicinales. De allí, la importancia de buscar nuevas alternativas para mejorar y controlar la enfermedad sin afectar el nivel de vida de los pacientes diabéticos; por estas razones, hoy en día se han divulgado gran variedad de estudios sobre medicina natural^{1,2}.

La diabetes mellitus es la afección bioquímica muy constante en el mundo. Se determina por la presencia de hiperglucemia, por la acción o secreción de la insulina². Entonces, la hiperglucemia crónica origina males serios en distintos órganos, sobre todo en la retina, riñón, corazón y arterias³. Esta afección tiene gran interés al ser el primero en morbilidad en el mundo. Los elevados precios por la parte económica, así como su mejoría de los enfermos está relacionado con la enfermedad de la diabetes mellitus tipo 2⁴.

Es así, que existen muchas especies vegetales con efecto hipoglucemiante. Algunas de estas son muy revisadas con respuestas positivas en personas con diabetes mellitus tipo 2, son aplicadas de forma complementaria o completa⁵. Dentro de esta si está el marañón (*Anacardium occidentale L.*), reconocido en su adquisición de personas con diabetes mellitus.

Anacardium occidentale L es un árbol frutal de la familia *Anacardiaceae*, varios autores la señalan como nativa de Brasil y de manera total el hemisferio norte de América del Sur. Aumenta mucho en diferentes lugares en la Selva, indicándose características hipoglucemiantes⁶.

De acuerdo con lo anteriormente descrito, el objetivo general del presente estudio fue determinar el efecto que tiene el extracto hidroalcohólico de la semilla del *Anacardium occidentale L* (marañón) sobre la diabetes tipo 2, identificar los metabolitos secundarios, dosis efectiva; y observar si modifican los valores de glucosa.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

La diabetes mellitus tipo 2 es una afección siempre presente para casi todas las sociedades a nivel mundial y local. Esta representa en el mundo y en nuestro país un problema en salud pública y el alto efecto emocional y físico a corto plazo deteriora la condición de vida de las pacientes que la tienen.

La diabetes mellitus (DM) es una afección incurable en el mundo; el número de personas con esta enfermedad ha crecido considerablemente en los últimos años, por lo que se mantiene entre las primeras 10 causas de muerte, desde 1970⁷. La enfermedad renal que no tiene cura en el paciente diabético constituye una de sus principales complicaciones, por lo que se ve necesario controlar estrictamente y vigilar estos pacientes⁸.

En Perú, para el 2015, se calculó que el número de pacientes con diabetes de adultos de 25 años a más era del 7,0%; y de estas personas el 40% no fueron diagnosticados, lo que revela gran interés como problema de subdiagnóstico. Ahora, un trabajo hecho en hospitales del grupo de vigilancia de diabetes del Perú que de los enfermos que tuvieron alguna consulta, el 73,4% tuvo un valor de hemoglobina glicosilada mayor o igual que 7,0%, lo cual nos indica un mal control de la diabetes, de repente en relación con problemas en el camino y uso correcto de servicios de salud⁹.

El *Anacardium occidentales L.* (marañón) es una especie de planta con uso curativo tradicional a la que se le atribuye propiedades hipoglucemiantes. Además, es usado como cicatrizante en afecciones gastrointestinales¹⁰; sin embargo, no se dispone de información farmacológica, experimental ni histórica de la semilla de "*Anacardium occidentale L*" que afirme el uso terapéutico, solo los conocimientos tradicionales del marañón de origen y experiencia colectiva de los lugareños.

1.2. IDENTIFICACIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1. Problema general

¿El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale L.* (marañón) poseerá efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2?

1.2.2. Problema específico

¿El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale L.* (marañón) presentará metabolitos secundarios responsables del efecto hipoglucemiante?

¿Cuál será la dosis hipoglucemiante efectiva del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale L.* (marañón) en ratas albinas con diabetes tipo 2?

¿El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale L.* (marañón) posee efecto hipoglucemiante comparado con glibenclamida de 5mg/mL?

1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1. Objetivo general

Determinar si el extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale L.* (marañón) tiene efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2

1.3.2. Objetivos específicos

Identificar los metabolitos secundarios con mayor concentración en el extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale* L. (marañón) responsables del efecto hipoglucemiante

Establecer la dosis hipoglucemiante efectiva del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale* L. (marañón) en ratas albinas con diabetes tipo 2

Determinar el efecto hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale* L. (marañón) comparado con glibenclamida de 5mg/mL

1.4. JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo de investigación tiene la finalidad de determinar si el extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale* L. (marañón) tiene efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes. Los estudios que implican la determinación de actividades hipoglucemiantes de los vegetales han tomado importancia en la prevención de la Diabetes Mellitus. Por ello, con este estudio será posible identificar los compuestos químicos en la semilla del *Anacardium occidentale* L. Esta especie es usada por los lugareños para múltiples tratamientos gastrointestinales, cicatrizantes en lesiones cutáneas y como efectos hipoglucemiante. El aumento de la diabetes mellitus, así como sus complicaciones y el incremento de las personas afectadas, nos motivó a la investigación y búsqueda de nuevos tratamientos que ayuden a su control. La amplia diversidad de plantas que hay en nuestro país requiere un estudio científico de las plantas empleadas empíricamente para dar por válido en forma experimental sus efectos, a diferencia de la insulina y los antidiabéticos orales.

En la actualidad, el uso de las plantas medicinales disminuyó, gradualmente, por el cambio con la revolución científica, y desapareció la mayor cantidad del legado cultural y los recursos naturales. Generando diversas causas de tipo socioeconómico, que dañan la prolongación y reproducción de los conocimientos antiguos. Además, aún hay muchas plantas que requieren nuestra atención y que no han sido estudiadas, no se toma en cuenta de manera total por completo su actividad terapéutica". Estos estudios son necesarios y beneficiosos a nuestra comunidad, tratando de atender varios mitos medicinales donde la eficiencia de sus actividades fitoterapéuticas lleva un principio científico completando el espacio de otras generaciones. Según Santamaría C. "Los resultados naturales son de gran importancia para la investigación farmacológica, dejando grandes alternativas que permitirán obtener el conocimiento de por primicias de moléculas útiles al tratamiento de ciertas patologías" ¹².

Debido a ciertas circunstancias que existen ahora, se evaluará, el resultado de *Anacardium occidentale*. L "marañón" como hipoglucemiante, a través de la aplicación a base del extracto hidroalcohólico de la semilla de esta planta y así se proporcionará en evidencia esta actividad in vivo a través de un tipo de estudio que represente una importancia científica, como los métodos utilizados para determinar la actividad hipoglucemiante de esta manera saber que proporciona una eficaz terapia segura, de acceso rápido y sencillo en la administración.

1.5. LIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Las limitaciones que se presentaron en esta investigación fueron las siguientes

- El laboratorio estuvo cerrado por vacaciones. Esto no nos permitió avanzar con nuestro proyecto en los meses de enero a marzo.

- Los reactivos fueron difíciles de conseguir y costosos.

- No contar con un bioterio en la facultad, lo cual nos obligó a utilizar otro bioterio y otros ambientes externos a la facultad.

- La falta de investigaciones referente a la semilla del *Anacardium occidentale* L. (marañón).

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES

La búsqueda bibliográfica nos ha permitido identificar los siguientes antecedentes.

2.1.1. Antecedentes nacionales

Pezo M. (1994) en su trabajo “Obtención de la almendra de la nuez del *Anacardium occidentale L.* Y su conservación por frito - salado.” El presente estudio, se fundamentó en buscar métodos adecuados para la obtención de la almendra del marañón (*Anacardium occidental. L.*), trabajando con la variedad propia de la zona u "nativa", determinándose sus características fitosanitarias, físicas, valores unitarios y la composición química, permitiendo esta evaluación caracterizar la materia prima¹³.

Gómez S, et al. (2016) realizaron el estudio “Evaluación de la actividad anti-*Staphylococcus aureus* del extracto alcohólico de hojas de *Anacardium occidentale L.* “casho” mediante el método de difusión en disco (kirbybauer)” Las hojas de *Anacardium occidentale L* (casho) tiene altas cantidades óptimas de minerales, material saponificable, ácidos grasos mono insaturados, fitoesteroles y proteínas solubles, por ello se le atribuye con propiedades medicinales como hipoglucemiante, antihipertensiva, astringentes, antihelmíntica y antiinflamatoria¹⁴.

Rodríguez F. (2016) en su investigación “Efecto hipoglicemiante de capsulas (Diab) administrados a dosis de 100 y 200 mg/kg en ratas albinas con diabetes inducidas”. Para inducción se usó aloxano al 5%; Los grupos fueron: Control negativo (agua destilada), control positivo (glibenclamida 10mg), control muestra (cápsula Diab 100mg/kg), control muestra (cápsula Diab 200mg/kg), se evaluaron cada: 1 hora, 3 horas, 6 horas, 12 horas y 24 horas, para observar los cambios de nivel de glucosa entre los grupos de control muestra y el control positivo. Para la evaluación de glicemia en sangre se usó el método enzimático de glucosa oxidasa. Los resultados del extracto natural de “Cápsula Diab” a dosis de 100mg/kg disminuye los niveles de glicemia en un 17.33% (1-24 horas) de estudio y a dosis de 200mg/kg bajando los niveles de glicemia en 28.46% (1-24 horas) de estudio; siendo la dosis de 200mg/kg aproximándose al control positivo (33.12%), se concluye que el suplemento alimenticio cápsula Diab, tiene acción hipoglucemiante a la cantidad necesaria¹⁵.

2.1.2. Antecedentes extranjeros

Dario R, et al. (2017) realizaron el estudio “Efecto hipoglicemiante de la corteza de *Anacardium occidentale-L (marañón)*”. Estudió la incidencia de los extractos de la corteza de *Anacardium occidentale L.* sobre los niveles de glucosa sanguínea de conejos diabetizados con aloxano, empleando la técnica de la o-toluidina. Se observó que al suministrar extractos etanólico y acuoso del marañón por vía oral e intramuscular en condiciones de ayunas total o para una carga de glucosa y de acuerdo con sus diferentes dosis, ocurría lo siguiente: 1). Se produce un aumento en los niveles de glucosa sanguínea, y 2). Los niveles de glucosa sanguínea aumentan proporcionalmente a la concentración de los extractos ¹⁶.

Peroné A. (2012) en su investigación “El uso popular de marañón (*Anacardium occidentale* L. – Franz Eugen Kohler-1887) en Tabatinga (amazonas Brasil) y su potencial como planta cicatrizante”. Se trabajó con cinco casos clínicos con una muestra de la población, en el área de la Unidad Básica de Salud, los que usan la planta de marañón en la cura de heridas. El resultado de la planta como cicatrizante de heridas en la piel humana aplicadas tradicionalmente y usarla en enfermedades por los voluntarios de la investigación. Los consejos están dirigidos a seguir las investigaciones con la finalidad de terminar todo el camino de la marcha para la aprobación científica del uso de la planta marañón como cicatrizante de heridas en la piel humana¹⁷.

Martínez A, et al. (2012) realizaron el estudio “Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro de extractos de hojas de *Anacardium occidentale* L. (marañón)”. Se evaluó el extracto fluido y la tintura al 20 %. Determinación de la actividad antibacteriana con (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella entérica*, *Shigella sp.*) de tres diluciones del extracto seco (50, 100 y 200 mg/ml) de la tintura al 20 % y de los extractos n-hexánico, clorofórmico y acetato de etilo con (*Escherichia coli*, *Shigella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella entérica*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter aerogenes*). Producto del extracto fluido y en la tintura al 20 % se encontró cumarinas y otros metabolitos como saponinas, flavonoides, azúcares reductores, aminoácidos libres, triterpenos/esteroides, fenoles/taninos. Los extractos n-hexánico, clorofórmico y acetato de etilo mostraron actividad estafilocócica in vitro¹⁸.

Domínguez J, et. al. (2012) realizaron el estudio "Efectos del consumo de una bebida de cajuil (*Anacardium occidentale L*) sobre la respuesta glucémica e insulínica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2" determinaron el resultado del consumo de una bebida de cajuil sobre la hiperglucemia e insulínico postprandial en diabéticos tipo 2; se representó una bebida con jugo del pseudofruto de cajuil al 60% (v/v), sucralosa, ácido cítrico y benzoato de sodio. Disponiéndose de una muestra de 10 adultos, la prueba control fue el consumo de 50 g de carbohidratos (pan blanco) y 250 mL de agua. Luego de siete días, se repite el examen con pan blanco y 250 mL de bebida de cajuil. Se sacan muestras de sangre a los 0, 60 y 120 minutos. Las respuestas de la ingesta de la bebida de cajuil bajan la glucemia a los 120 min post-ingesta del alimento, con la reducción significativa en el área debajo de la curva de la glucemia ($p < 0,05$). El jugo de cajuil aumentó notablemente el resultado insulínica a los 120 min. Finalizando que la ingesta de la bebida de cajuil arregló la respuesta glucémica e insulínica de los pacientes en estudio¹⁹.

Pérez D. (2004) en su investigación "Plantas antidiabéticas utilizadas en México: validación del efecto hipoglucemiante de (*Struthanthus sp*)". Reporta un registro de 172 especies de plantas que son empleadas en México, empíricamente, en el tratamiento de la diabetes mellitus. Y, solamente, 86 especies han sido investigadas para corroborar su acción hipoglucemiante. Las familias botánicas más importantes con mayor tratamiento en la diabetes son *Asteraceae*, *Fabaceae*, *Cactaceae*, *Euphorbiaceae* y *Rosaceae*. Es por ello que, en esta investigación, se ratificó el efecto hipoglucemiante de *Struthanthus sp*. Y se observó que a una dosis de 500 mg/kg presenta efectos hipoglucemiante en ratas diabéticas²⁰.

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. *Anacardium occidentale* L. (marañón)

Originaría en la cuenca del Amazonas norte de Brasil. Se encuentra desde México hasta Perú además Hawái, Puerto Rico y otras zonas del sur de la Florida²³. En el Perú, crece en los departamentos de Loreto, Ucayali, Cusco y Madre de Dios. Entre 22° y 26° C, sin heladas, con lluvias de 800 a 1,500 mm anuales, y un tiempo de sequía de 3 a 4 meses. *Anacardium occidentale* L, conocido comúnmente con el sinónimo de marañón, planta con amplio registro de uso medicinal y escasos trabajos farmacológicos; por ello, es de interés este estudio, con la finalidad de comprobar la actividad farmacológica en la DM 2²³.

2.2.2. Descripción botánica del *Anacardium occidentale* L. (marañón)



Figura 1. Planta entera de *Anacardium occidentales* L.

- **Forma**

Es un árbol que conserva su follaje todo el año que puede crecer de 1.5 hasta 15 m de tamaño, en su lugar de vida natural entre 12 y 20 m en cultivos comerciales, con un diámetro de hasta 40 cm²⁴.

- **Sistema radicular**

Comprende raíz principal pivotante, muy profunda de 10 metros a más. Con dos raíces laterales en aumento promedio de dos veces lo requerido de la copa, y en algunas plantas, pueden crecer hasta 20 metros. El grosor toma nutrientes y concentra entre 15 a 40 centímetros de profundidad en bloques con crecimiento lateral.

- **Hojas**

De color verde azulado mate, presenta hojas alternas y simples, obovadas o elípticas; lámina de 7 a 20 cm de largo por 4 a 12 cm de ancho²⁴.

- **Fruto o nuez**

De forma arriñonada es una nuez constituida con capa gruesa (determinada por un exocarpo grueso, endocarpo duro, los dos diferenciados por un mesocarpo resinoso) que bordea al embrión. Es de color verde inicialmente, luego cambia a carmelita gris progresivamente. En su desarrollo, el receptáculo crece y forma una pulpa jugosa, amarilla o roja, de 2 a 4 pulgadas de crecimiento con figura de pera ²⁵.

- **Falso fruto o pedúnculo ensanchado**

Es un pseudofruto conocido como la “manzana” del marañón. Ahora existen dos tipos de frutos, de manzana roja y amarilla, las finales con poca estíptica que las rojas. Además, diferencias notables en tamaño y forma; por ejemplo, existen frutos de manzana amarilla grande, cuadrada y semilla grande, otro grupo de manzana amarilla grande, cónica y semilla pequeña, y frutos rojos pequeños, achatados, con semilla grande ²⁶.

Componentes fisicoquímicos del pseudofruto de marañón

Tabla 1: Rango nutritivo de contenido en 100 g de pulpa.

PARAMETRO	VALOR
Calorías	56
Humedad	87.10g
Proteínas	0.80g
Fibras	1.50g
Calcio	4.00mg
Fosforo	18.00mg
Hierro	1.00mg
Vitamina B1	0.03mg
Vitamina B2	0.03mg
Niacina	0.40mg
Vitamina C	219mg
Ph	4.10
Brix	11.63
Acidez	0.74mg

Fuente: CHAVEZ G. Ms(c) Desarrollo Empresarial, Directora del Grupo de Investigación

- **Flores**

Se encuentra corimbos a un costado de la rama de una terminal; erectas, corimbiformes, gruesas, perfumadas, flores bisexuales y masculinas observándose intermezcladas; el panículo es de 15-85 cm de largo. Con cinco sépalos de forma lanza angosta, aguda, color verde intenso poco pubescente por fuera, de color verde amarillento adentro y de 0,3-0,4 cm de largo. La floración ocurre en los meses de junio a julio²⁶.

- **Corteza**

Fuera es suave, café o gris con lenticelas dispersas y toscas fisuras longitudinales (agrietada). Internamente de color blancuzco a castaño, gruesa, agria y estíptica y tiene una savia lechosa.

- **Ubicación taxonómica**

Dominio:	Eucariota
Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta.</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida.</i>
Sub Clase:	<i>Rosidae.</i>
Orden:	<i>Sapindales.</i>
Familia:	<i>Anacardiáceae.</i>
Género:	<i>Anacardium.</i>
Especie:	<i>Occidentale.</i>
Nombre científico:	<i>Anacardium occidentale L.</i> ”
Nombre común:	“Marañón”, “merey”, “cashu.”

- **Metabolitos secundarios**

Estos son conocidos como resultados naturales, no universales, cada especie en sus distintos órganos (flor, hoja, tallo, raíz) presenta distintos compuestos químicos y acción terapéutica, cosmética o astringente. Las plantas construyen su propio alimento por la fotosíntesis.

Tabla 2: Examen fitoquímico del concentrado fluido y de la tintura al 20% de hojas de *Anacardium occidentale L.*

Ensayo de identificación	Extracto fluido	Tintura al 20%
Fenoles/taninos	+	+
Flavonoides	+	+
Aminoácidos libres	+	+
Quinonas	-	-
Triterpenos /esteroides	+	+
Cumarinas	++	++
Resinas	-	-
Antocianidinas	+	+
Azucares reductores	+	+
Alcaloides(M)	-	-
Alcaloides(w)	-	-
Saponinas	+	+
Principios amargos	-	-

Leyenda: (++) Moderado (+++) Abundante (-) Ausente

Fuente: Dr. C. Yordan Martínez A "Metabolitos secundarios y actividad Antibacteriana in vitro de extractos de hojas de *Anacardium occidentale L.* (marañón)" ²⁴.

2.2.3. Requerimientos climáticos y edáficos

- **Humedad relativa y temperatura**

Esta plata vive a temperaturas promedio anual de 27 °C, soporta temperaturas mínimas de 16 a 20 °C y máximas de 34 a 37 °C, entre tiempos largos de temperaturas mínimas o máximas afectando el óptimo crecimiento del vegetal.

Acepta humedad relativa 60 a 85% pero entre mayor sea, habrá enfermedades como mildiú polvoso y antracnosis, que afectan las hojas, flores y brotes y por lo tanto la producción.

- **Altura**

Se siembra desde los 0 m.s.n.m. a 600 m.s.n.m. aunque puede darse bien hasta los 1.000 m. La mayor cantidad de plantaciones en nuestro país está bajo los 500 m.s.n.m. con gran desarrollo y rendimiento.

- **Profundidad**

Debe tener una profundidad del suelo mayor a 4 metros. Requisito que apoya el aumento del desarrollo radicular en la especie todo esto por el agresivo crecimiento radicular del árbol de marañón el cual es de 10 metros. Si tiene ´baja profundidad, menos a 2.5 metros, de 10 años no se desarrollan con el desarrollo en cotejo de otras especies que fueron plantados en suelos de gran fondo, teniendo bajo rendimiento y disminuyendo su vida.

- **pH del suelo**

Encontrándose aluminio, no permite absorber nutrientes, el que se corregirá con cal agrícola, su pH esta entre 5,5 a 6,5. Se debe tomar muestras de suelo para verificar el pH, y realizar el análisis de laboratorio respectivo.

- **Nombres comunes**

Los aborígenes del Brasil utilizan la palabra marañón (indios de la amazona) MARANY-ABBE, que significa, MARANY = Resina y ABBE = Río, en otras palabras, resina de río o como lugar de mucha agua, y sería fruta con bastante agua. En el Perú, tiene nombre de marañón; otro país lo conoce como caju, merey, cashew, tree, cajuil, cajueiro, cashu, acajuiba, acajú, acajaiba, alcayoiba, anacardo, cacajuil, gajus, jocote marañón, noix D'acajou, ajuil, pomme cajou, Jambu, Jambu golok, Jambu mete, jambu monyet y jambu terong.

- **Usos medicinales *Anacardium occidentale L.***

El uso del vegetal es en hojas, corteza, resina, pedúnculo, fruto, epicarpio del fruto, raíz y flores.

Indican que en Mozambique se practica la inhalación de hojas frescas, o de su corteza en decocción, en males de tos. La corteza en decocción utilizada, en la Amazonía del Perú, para úlceras dérmicas, hemorragias dentales, como contraceptivo y antiséptico vaginal (en duchas), muy usado para la afección de diabetes (tal como sucede en Brasil y Colombia) como antidiarreica (así como en Brasil, Colombia, Cuba y Honduras), además para inflamaciones e irritaciones de la garganta (Brasil y Honduras). Ahora, en Honduras se usa en gargarismos, y en Colombia como tópico en Inflamaciones, aftas bucales y placas en la garganta²¹.

2.2.4. Diabetes mellitus

Dolencia con gran interés en el mundo, es un trastorno no transmisible frecuente, y por lo agresivo y de complicación crónicas. La diabetes mellitus (DM) es un conjunto diverso de afecciones con forma constante está en grados altos de glucosa en sangre (hiperglucemia). Con mayor frecuencia DM tipo 2, que afecta en el 80 % a 90 % de todos los enfermos con DM. La ocurrencia y continuidad de la afección aumenta en tiempos actuales y se cree continuará²⁵.

El aumento de caso con diabetes mellitus es alto y rápido en nuestro país y la causa de esta aceleración es la forma de modo de subsistencia del grupo peruano, comúnmente por exceso de alimentos de alto contenido calórico, ejemplo la “comida chatarra” y bebidas azucaradas, también una reducción de actividad física que hace altas tasas de sobrepeso y obesidad²⁶.

2.2.4.1. Fisiopatología de la Diabetes Mellitus

La diabetes es una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce. La insulina es una hormona que regula el azúcar en la sangre. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia (aumento del azúcar en la sangre), que con el tiempo daña gravemente muchos órganos y sistemas, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos³⁸.

El páncreas es la glándula abdominal y se localiza detrás del estómago; este posee jugo que contribuye a la digestión, y que produce también una secreción hormonal interna (insulina). La mayor parte del páncreas está formado por tejido exocrino que libera enzimas en el duodeno. Hay grupos de células endocrinas, denominados islotes de Langerhans, distribuidos por todo el tejido que secretan insulina y glucagón. La insulina actúa sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas y grasas, aumentando la tasa de utilización de la glucosa y favoreciendo la formación de proteínas y el almacenamiento de grasas. El glucagón aumenta de forma transitoria los niveles de azúcar en la sangre mediante la liberación de glucosa procedente del hígado³⁸.

2.2.4.2. Tipos de diabetes mellitus

Diabetes tipo 1: Conocida como insulino dependiente, juvenil o comienzo en la infancia. Debiéndose a poca producción de insulina y necesita dar diariamente esta hormona. No se conoce aún que produce la diabetes de tipo 1, y hasta ahora no se puede evitar. Sus señales son, excreción excesiva de orina (poliuria), sed (polidipsia), hambre constante (polifagia), pérdida de peso, trastornos visuales y cansancio. Signos que pueden aparecer de forma súbita¹⁹.

En América Latina las tasas más elevadas de incidencia la reportan países como Uruguay y Brasil ($>5,0/10^5$) mientras que Perú y Venezuela ($<1,0/10^5$) reportan las tasas más bajas de diabetes tipo 1. Cuba, según el estudio Día Mond, reporta tasas alrededor de los ($4,0/10^5$)^{13, 27}.

Diabetes tipo 2: Enfermedad crónica caracterizada por hiperglucemia constante (alta cantidad de glucosa en sangre) alterando la bioquímica de los lípidos, proteínas e carbohidratos que comienzan al no puede producir suficiente insulina o usarla con eficacia, y produce alteraciones crónicas micro y macro vasculares²⁸.

Por lo tanto, es un síntoma heterogéneo desarrollado por la intercambio genético-ambiental y determinando en una hiperglucemia crónica, debido a deficiencias en la secreción o acción de la insulina, desencadenando problemas agudos (cetoacidosis y coma hiperosmolar), crónicas microvasculares (retinopatías y neuropatías) y macrovasculares (cardiopatía coronaria, enfermedades cerebrovasculares y vasculares periféricas)²⁹.

Diabetes gestacional: Momento hiperglucémico que comienza por primera vez, durante el embarazo. Signos con molestias parecidas a los de la diabetes de tipo 2, que se diagnostican por exámenes prenatales. El deterioro de la tolerancia a la glucosa y la alteración de la glucemia en ayunas son estados de transición entre

la normalidad y la diabetes, quien lo tiene sufre mucho progreso hacia la diabetes de tipo 2, aunque esto no es inevitable¹⁹.

2.2.4.3. Complicaciones de la diabetes mellitus

Complicaciones agudas: La Hipoglucemia es un impedimento a una medicación farmacológica de la diabetes mellitus. Los pacientes que utilizan antidiabéticos en tabletas o insulina puede sufrirla, pero más continuo en enfermos que se tratan intensivamente con insulina, tienen extenso tiempo de la diabetes mellitus y/o padecen neuropatía autónoma³⁰.

Complicaciones crónicas: Enfermos con diabetes mellitus adquieren complicaciones a largo plazo, sin ser la intensidad y duración de la hiperglucemia los factores cruciales a que aparezcan con problemas, donde participan otras causas de riesgo, como la hipertensión arterial, dislipemia y tabaquismo, exclusivamente.

Estos problemas crónicos de la diabetes se clasifican en

- **Macrovasculares** (arteriosclerosis), siendo afectadas las arterias y determinando enfermedad cardíaca coronaria, cerebrovascular y vascular periférica.
- **Microvasculares**, como la retinopatía, nefropatía y neuropatía.
- **El pie diabético**, apareciendo en resultado de la neuropatía y/o de la afección vascular de origen macroangiopático³⁰.

2.2.5. Ratas (*Rattus norvegicus*).

Tipo de roedores comunes con mucha distribución. Se utiliza esta especie *Rattus norvegicus*, para los trabajos científicos. Este tipo de animales por ley es obligación del investigador cuidarlo y mantener su confort mientras viva, se debe entender sus necesidades y sufre dolor.

TAXONOMÍA (*Rattus norvegicus*).

Reino: Animalia.

Phylum: Chordata.

Clase: Mammalia.

Orden: Rodentia.

Familia: Muridae.

Nombre científico: *Rattus norvegicus*.

En los trabajos de investigación usar animales de experimentación se basa en el protocolo o «principio de las 3 R» reducción, refinamiento y reemplazo.

Reducción: Maniobra para usar la mínima cantidad de especies básicas para completar el logro determinado en la técnica.

Refinamiento: Técnica que dañan a la vida del animal de ensayo y no alivian o reducen el probable dolor, entonces el confort de la especie.

Reemplazo: Usando otras técnicas diferentes que aporten el mismo tipo de información que el logrado en tratamiento con animales, e incluso buenos resultados, y que sean necesarios la utilización de estos animales de experimentación.

2.3. FORMULACIÓN DE LAS HIPÓTESIS

2.3.1. Hipótesis general

El extracto hidroalcohólico de las semillas de *Anacardium occidentale* L. (Marañón) presenta acción hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2.

2.3.2. Hipótesis específicas

El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale* L. (Marañón) presenta metabolitos secundarios responsables del efecto hipoglucemiante.

El extracto hidroalcohólico de semillas de *Anacardium occidentale* L. (Marañón) tiene efecto hipoglucemiante a diferentes dosis en ratas albinas con diabetes tipo 2.

El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium Occidentale* L. (Marañón) presenta efecto hipoglucemiante comparado con glibenclamida de 5mg/ml.

2.4. VARIABLES E INDICADORES

2.4.1. Tabla de operacionalización de variables e indicadores

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ITEMS	INSTRUMENTO
VI: Extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Anacardium</i> <i>occidentale</i> L. (MARAÑÓN)	Fitoquímica	Identificación de metabolitos primarios y secundarios	<ul style="list-style-type: none"> - Carbohidratos - Cumarinas - Taninos - Flavonoides - Saponinas - Alcaloides - Compuestos fenólicos - Quinonas y otros 	Ficha de Observación Ad Hoc
	Dosificación	Dosis del extracto hidroalcohólico	<ul style="list-style-type: none"> - 50 mg/kg - 250 mg/kg - 500 mg/kg 	
VD Efecto hipoglucemiante	Farmacológico	Cambio del nivel de glucosa basal	Nivel de glucosa >HI	Ficha de Observación Ad Hoc
	Toxicológico	DL ₅₀	50% de las ratas muertas	
V. INT. Peso de la rata	Magnitud	Peso de las ratas	- 150 g.	

2.5. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

Aloxano: Estructura química, parecida a la urea con acción necrosante selectivamente sobre las células β de los islotes de Langerhans. Con relación a la acción del producto a nivel pancreático, se tienen dos postulados: uno explica la acción de los compuestos del Aloxano con el zinc pancreático, los que son parte del deterioro de células beta; en cambio, hay experiencias que contemplan la hipótesis de formar radicales de oxígeno que cumplen predominantemente en la acción diabetogénica de un compuesto³⁶.

Cumarinas: Componentes que conforman un tipo de compuestos secundarios, muy repartido en el reino vegetal, además en hongos y bacterias. Ordenadamente son lactonas del ácido o-hidróxi-cinámico (2H-1-benzopiran-2-onas) como ejemplo más sencillo de la cumarina³⁵.

Dosificación: Es la cantidad necesaria de un compuesto químico terapéutico que se administra a un individuo de acuerdo con su peso, edad y tamaño, y es necesario para el tratamiento de una enfermedad ³².

Extractos vegetales: Resultado líquido que se logra de las plantas o parte de ellas por diversas técnicas y uso de diversos solventes. Generalmente, se usan todas las partes de la planta, aunque, según los activos que se quieran conseguir, se seleccionan una o varias partes: hojas, frutos, semilla, flores, raíces y corteza³¹.

Flavonoides: Compuestos de pequeño peso molecular formada en casi todas las plantas vasculares. Este gran grupo de compuestos ha estado siempre en la naturaleza durante muchos miles millones de años, de forma que actúan con el desarrollo de muchos organismos ³³.

Solubilidad: Gran cantidad de soluto (peso de muestra) disuelto en 100 gr. de solvente a una temperatura fija y formando una mezcla saturada en cierta cantidad de solvente³⁴.

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1. TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.

3.1.1. Tipo

Es una investigación de tipo experimental y longitudinal, El estudio evalúa niveles de medición y análisis estadístico, se desarrolla en diferentes tiempos hasta determinar o mejorar la aparición de causa efecto.

3.1.2. Nivel

La presente investigación es de nivel “aplicado y experimental”, puesto que genera conocimientos científicos y emplea una serie de instrumentos de medición para registrar los procesos que se generen al manipular una de las variables en busca de resultados de causa efecto.

3.1.3. Diseño de la Investigación

La presente investigación es de diseño experimental, por la manipulación de animales de experimentación y especies botánicas con actividad terapéutica para obtener el resultado deseado.

Distribución de los grupos experimentales.

GRUPOS DE ESTUDIO	DOSIS DEL EXTRACTO	N° DE ANIMALES	VIA DE ADMINISTRACION
AZUL	50 mg/kg/día	4 por grupo	oral
VERDE	250 mg/kg/día	4 por grupo	oral
ROJO	500 mg/kg/día	4 por grupo	oral
CONTROL POSITIVO	No recibió ningún tratamiento	4 por grupo	oral
FARMACO	Glibenclamida 5mg/kg/día	4 por grupo	oral

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

3.2.1. Población vegetal y animal

Para la realización del estudio de investigación, se tomó una muestra vegetal de la familia *Anacardiácea*, especie *Occidentale* (marañón).

Los animales de experimentación que se utilizaron fueron ratas *Holtzman*, especie *Rattus norvegicus*, variedades albinas. Fueron adquiridos el 01 de agosto del 2018 en el bioterio de la UPCH.

3.2.2. Muestra vegetal y animal

La muestra vegetal que se utilizó fueron las semillas secas de *Anacardium occidentale L.* (marañón), que se recolectó en el departamento de San Martín distrito de Saposoa, provincia de Huallaga durante el mes de diciembre 2017.

La muestra animal para la presente investigación estuvo conformada por veinte (20) ratas hembras Holtzman, especie *Rattus norvegicus*, variedad albina de siete (7) meses de edad, de peso promedio de 150 g.

3.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

3.3.1. Equipos de laboratorio

Balanza analítica, baño maría, estufa, refrigeradora, cánulas orogástricas para rata y equipo de disección.

3.3.2. Materiales de vidrio

Baguetas de vidrio, embudo, placa Petri, vaso de precipitados, pipetas, tubos de ensayo, fiolas, probetas.

3.3.3. Reactivos y otros insumos

Aloxano, agua destilada, etanol, metanol, reactivo de Dragendorff, reactivo de Wagner, reactivo de Liebermann Burchard, reactivo de Mayer, reactivo de Fehling, tricloruro de aluminio, reactivo de gelatina al 1%, reactivo de Benedict, reactivo de Cloruro Férrico, reactivo de limadura de Mg, reactivo de Molish, reactivo de Tollens, cloroformo, acetato de Etilo y Glibenclamida 5mg.

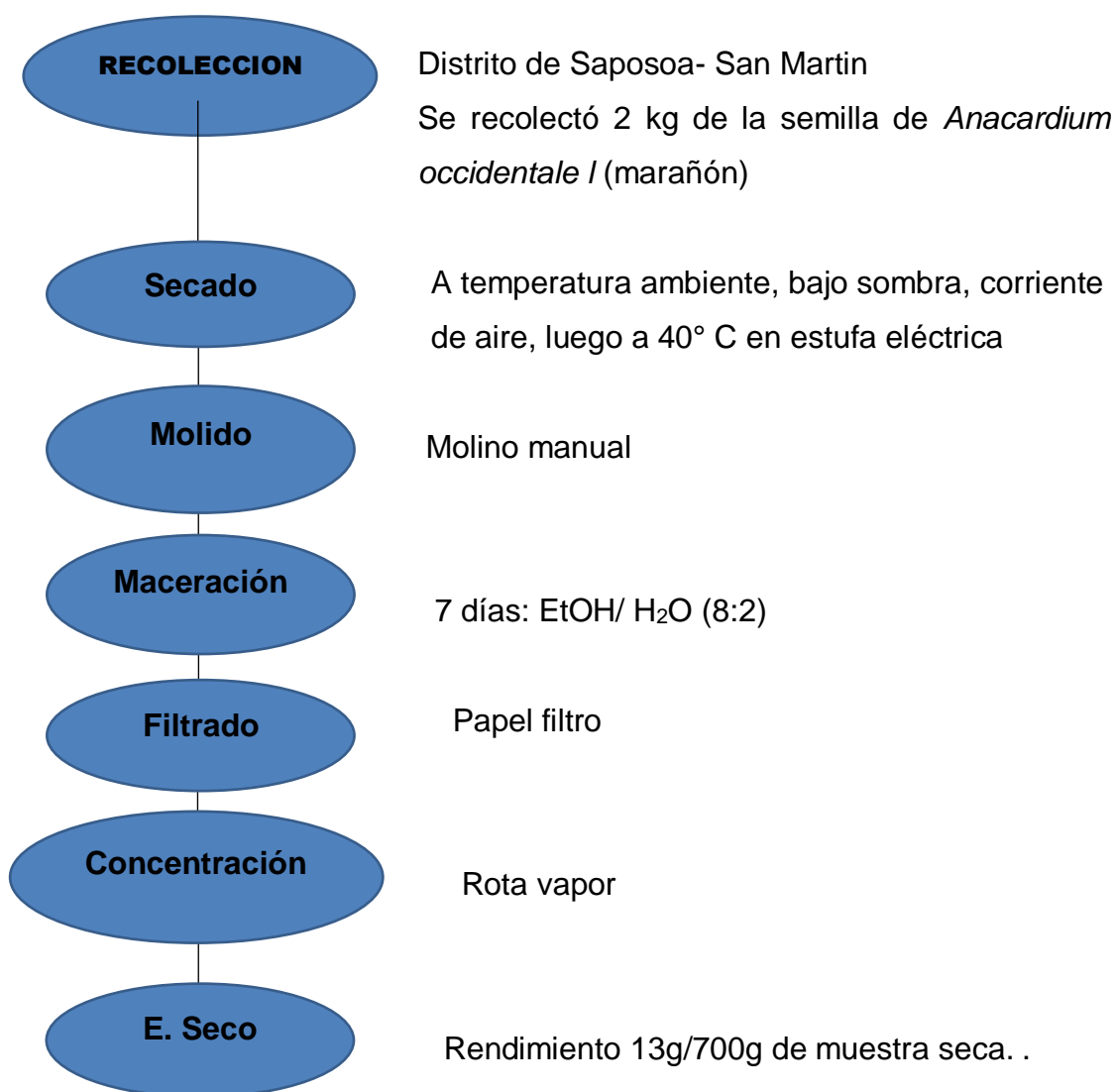
3.3.4. Otros

Algodón, cámara fotográfica, espátula, frascos de vidrio color ámbar, gorro de laboratorio, guantes quirúrgicos, jaulas metálicas, jeringa de 1 mL, lápiz indeleble, mascarilla, mortero, papel craft, papel filtro, plumón marcador, regla, tijera, glucómetro y tiras reactivas.

3.4. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

La marcha fitoquímica y la prueba de solubilidad se ejecutó en el laboratorio de farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega. El estudio de actividad hipoglucemiante se realizó en el laboratorio de farmacología del bioterio de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

El procedimiento utilizado se describe en el siguiente diagrama



3.4.1. FASE FITOQUÍMICA

3.4.1.1. Recolección y Preparación del Extracto

Se estudia una semilla (seudo fruto) de *Anacardium occidentale L.* (marañón); se recoge la cantidad de 2 kg en aproximación en el departamento de San Martín distrito de Saposoa, provincia de Huallaga durante el mes de diciembre 2017 y fue clasificada en el Museo de Historia Natural de la UNMSM (herbario de San Marcos).

La técnica de secado se realiza en el centro de recolección tomando en cuenta (sombra con corriente de aire, temperatura ambiente).

Luego, se trasladó a la ciudad de Lima para completar el secado. Se procedió a separar las semillas con cuidado y recolectarlas en papel Kraft, para luego ser llevado a la estufa a una temperatura de 40 °C; se utilizó esta temperatura para no alterar los metabolitos que queremos evaluar.

Una vez seca fue sometido a molienda en molino manual, luego se pesó 700 gramos. La maceración hidroalcohólica a 80 %, por 7 días. Se filtró y se procedió al desengrasado en un embudo de decantación luego se concentró secando el extracto a 40 – 45 °C. Se obtuvo 13 gr de melcocha. Se colocó un envase de vidrio color ámbar y se colocó a refrigeración.

Continúa la marcha fitoquímica determinando la presencia de compuestos secundarios, con reacciones de coloración y precipitación.

3.4.1.2. Prueba de solubilidad

Se utilizan solventes de acuerdo a su polaridad creciente (acetato de etilo, éter de petróleo, ciclo hexano, metanol, butanol, agua destilada); para lo cual se tomó 1 mL de extracto hidroalcohólico y en unos tubos de ensayo, a los cuales se les adiciona 1 mL de cada disolvente y verificando su solubilidad.

3.4.1.3. Marcha fitoquímica

Se realizó análisis cualitativos encontrándose como compuestos químicos en el extracto hidroalcohólico de la semilla seca del *Anacardium occidentale L.* (marañón).

El extracto seco de *Anacardium occidentale L.* (marañón) se cogió 0.65 g. y se añadió en un tubo de ensayo limpio y seco utilizando una bagueta; luego se añadió 13 mL de etanol con agitación constante hasta homogenización completa. Se utilizó 13 tubos limpios y secos, a cada uno se agregó 1 mL del extracto y 1 mL del reactivo del tubo antes preparado, luego a doce tubos se adicionó los reactivos de reconocimiento de metabolitos secundarios y un tubo quedó como control.

3.4.2. FASE FARMACOLÓGICA

Se usó ratas Holtzman para experimentación, adquiridas en el bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, correspondientes a la especie *Rattus norvegicus*, variedades albinas, hembras de 7 meses de edad con masa promedio de 150 gramos. Estos animales estuvieron en jaulas independientes con agua y alimento.

El sustento de estos animales son productos elaborados por la planta de Alimentos del Departamento de Nutrición de la Nacional Facultad de Zootecnia de la Universidad Agraria La Molina.

3.4.2.1. Inducción a la hiperglicemia experimental

Inducción al DM

Se seleccionó las ratas, para el suministro del aloxano en dosis de 120 mg/kg por peso corporal (p.c.) por vía parenteral antes fueron puestas a un ayuno de 12 horas.

La técnica empleada es propia por lo que se disminuyó la dosis del aloxano y el nivel de glucemia basal que indica diabetes, fue de 400 mg/dl referente a **Solgorre E.** en su investigación “efecto del extracto hidroalcohólico de hojas y flores de *Otholobium pubescens* en la hiperglicemia experimental en *Rattus norvegicus* var. Albinas”

3.4.2.2. Procedimiento de ensayo farmacológico

Las 20 ratas de cepas Holtzman, especie *Rattus norvegicus*, variedad albina, hembras de 7 meses de edad con una masa promedio de 150g fueron agrupadas en 5 grupos: el primer, segundo y tercer recibieron un tratamiento con el concentrado hidroalcohólico en la semilla de *Anacardium occidentale* L. (marañón); el cuarto grupo para ser tratadas con glibenclamida; el quinto grupo no recibió ningún tratamiento y sería el grupo control.

Se prepararon estos animales con un ayuno de 12 horas y luego se determina la glicemia basal a todas. Posteriormente, se le administra aloxano 120 mg/kg de peso corporal por Vía intraperitoneal.

Posteriormente, al primer, segundo y tercer grupo de ratas aloxanadas se les suministró por vía oral el extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale* L. (marañón), con una dosis de 50, 250 y 500 mg/kg de peso corporal respectivamente.

Al cuarto grupo de ratas aloxanadas se les suministró una dosis diaria con el fármaco glibenclamida que es utilizada como hipoglucemiante, a una dosis de 5 mg/kg de peso corporal por vía oral.

El quinto grupo de ratas aloxanadas no recibió ningún medicamento, y así se comparó el efecto hipoglucemiante del extracto en estudio y del fármaco glibenclamida.

A los cinco grupos se les hizo toma de sangre en los días 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, para determinar los niveles de glicemia.

Cálculos de aloxano

El aloxano es un compuesto sólido. Para la aplicación se preparó 100 mL de una solución de 50mg/mL.

120 mg de aloxano -----1kg de peso de rata.

X----- 0.150 kg peso promedio de rata.

$X = 18 \text{ mg de aloxano}$

Entonces, como necesitamos administrar por vía intraperitoneal.

1mL ----- 50 mg.

X ----- 18 mg.

$X = 0.36 \text{ mL de sol aloxano se aplicó a cada rata}$
--

Cálculos del extracto

El extracto se preparó disolviendo 6.5 gr de melcocha en 65 mL de agua destilada.

$$\text{Por tanto: } \frac{6500 \text{ mg}}{65 \text{ mL}} = 100 \text{ mg/mL.}$$

Cálculo para 500 mg/kg del extracto

500mg de extracto ----- 1kg de peso de rata.

X ----- 0.150 kg peso promedio de la rata.

$$X = 75 \text{ mg se aplicó a cada rata.}$$

Entonces como necesitamos administrar por vía intraperitoneal.

1mL ----- 100 mg.

X ----- 75 mg.

$$X = 0.75 \text{ mL del extracto de marañón se aplicó a cada rata.}$$

Cálculo para 250 mg/kg del extracto.

250 mg del extracto ----- 1kg de peso de rata.

X ----- 0.150 kg peso promedio de la rata.

$$X = 37.5 \text{ mg se aplicó a cada rata.}$$

Entonces como necesitamos administrar por vía intraperitoneal.

1mL ----- 100 mg.

X ----- 37.5 mg.

$$X = 0.375 \text{ mL del extracto de marañón se aplicó a cada rata.}$$

Cálculo para 50 mg/kg del extracto.

50 mg de extracto ----- 1kg de peso de rata.

X ----- 0.150 kg peso promedio de la rata.

X = 7.5 mg se aplicó a cada rata.

Entonces como necesitamos administrar por vía intraperitoneal.

1mL ----- 100 mg.

X ----- 75 mg.

X =0.075 mL del extracto de marañón se aplicó a cada rata

3.4.2.3. Estudio de toxicidad

Se realizó el estudio de toxicidad aguda, para lo cual fue administrada, por vía oral, las dosis antes mencionadas cada día (durante 8 días), y se evaluó su comportamiento, estado físico general (características organolépticas, peso del animal). Cabe recalcar que durante estos 8 días de estudio el animal dispuso de alimento y agua. Terminado los 8 días de preparación, se empezó a desarrollar las necropsias de los órganos más importantes de cada fito tratamiento, siendo entre ellos: riñón, hígado, estómago. Con los cuales se realizó el estudio histopatológico para investigar daño a nivel tisular.

Luego de realizar el estudio de toxicidad, se pudo comprobar que no presenta toxicidad.

3.4.2.4. Determinación de la DL₅₀

Como concepto la DL₅₀ viene hacer la medida de droga o dosis suministrada a un grupo que causa alteraciones o muerte al 50% de ellos.

El estudio se desarrolló con un grupo de 20 ratas divididas en 5 grupos (4 ratas por grupo). Se suministra el extracto hidroalcohólico en dosis de 50, 250, y 500 mg/kg de peso corporal por vía parenteral y cuyas respuestas sirvieron para determinar la DL₅₀. Se suprime el alimento 12 horas antes del ensayo, antes de dar inicio a la experiencia.

Tabla 3: Ensayo final para determinación de la DL₅₀.

Dosis (mg/ kg p. c.)	Nº de muestras (ratas)
50	4
250	4
500	4
Control	4

Fuente: Elaboración propia, 2018

3.5. PROCEDIMIENTO DE DATOS

Los datos obtenidos al realizar el experimento en las ratas, para el análisis estadístico, fueron procesados en una base de datos creada en el paquete estadístico Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versión 23. Los datos obtenidos se analizaron con la prueba estadístico ANOVA. Cuando el resultado de la prueba Anova hubo un resultado significativo ($p < 0.05$), se aplicó la prueba de Tukey para probar la diferencia de los grupos.

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1. PRODUCTO DE LA INVESTIGACIÓN

4.1.1. Prueba de solubilidad

Los resultados de la prueba de solubilidad se observan en la tabla 4

Tabla 4: Resultado de la prueba de solubilidad

SOLVENTE	PROCEDIMIENTO	RESULTADOS
ACETATO DE ETILO	1 ml extracto + 1 ml del reactivo	-
CICLOHEXANO	1 ml extracto + 1 ml del reactivo	-
METANOL	1 ml extracto + 1 ml del reactivo	++
BUTANOL	1 ml extracto + 1 ml del reactivo	-
ETER DE PETROLEO	1 ml extracto + 1 ml del reactivo	-
ETANOL	1 ml extracto + 1 ml del reactivo	+++
AGUA DESTILADA	1 ml extracto + 1 ml del reactivo	+++

- Leyenda: Totalmente soluble: (+++); Parcialmente soluble: (++); Insoluble: (-)

Fuente: Elaboración propia, 2018

En la tabla 4, se observa que el extracto seco es soluble en metanol, etanol y agua destilada.

4.1.2. Screening fitoquímico

El screening fitoquímico del extracto seco de la especie de *Anacardium occidentale* L. “marañón” se muestra en la tabla 5

Tabla 5: Resultado de screening fitoquímico

METABOLITOS	REACTIVO	PROCEDIMIENTO	IDENTIFICACION	RESULTADOS
CARBOHIDRATOS	Molish	2ml extracto + 5 gotas de Rvo. Molish + 10 gotas H ₂ SO ₄ se dejó en reposo	Formación de un anillo violáceo	-
AZUCARES REDUCTORES	Benedict	2ml extracto + 5 gotas de Rvo. Agitamos luego llevamos a baño maría por 10 min	Formación de un precipitado amarillo	-
	Fehling A +Fehling B	2ml extracto + 5 gotas de Rvo. Fehling A + Fehling B, agitar luego llevamos a baño maría por 10 minutos	Formación de un precipitado anaranjado rojizo	++
	Tollens	2ml extracto + 3 gotas de Rvo. Tollens agitamos luego llevamos a baño maría por 10 minutos.	Formación de un espejo de plata	-
COMPUESTOS FENLICOS	FeCl ₃	2ml extracto + 5 gotas de Rvo.	Cambio de coloración pardo a azul	-
CUMARINAS	NaOH 10 %	2ml extracto + 2 gotas de Rvo.	Amarillo intenso	+++
TANINOS	Rvo. Gelatina + NaCl	2ml extracto + 5 gotas de Rvo. + 3 gotas de NaCl 10%	coloide	++
SAPONINAS	H ₂ O	2ml extracto + 1ml de H ₂ O destilada agitación por 2 minutos	Forma espuma	-
FLAVONOIDES	Limaduras de Mg	2ml extracto + 7 gotas de Rvo. Agitar, colocar 1 gota de HCl	Cambo de coloración a verde petróleo tenue	-
ALCALOIDES	Dragendor	2ml extracto + 3 gotas de Rvo.	Precipitado color anaranjado	-
	Mayer	2ml extracto + 3 gotas de Rvo.	Precipitado color blanco lechoso	-
	Wagner	2ml extracto + 5 3 gotas de Rvo.	Precipitado de color marrón	-

- Leyenda: (++) Moderado (+++) Abundante (-) ausente.

Fuente: Elaboración propia, 2018

En la tabla 5, se observa que el extracto seco presenta azúcares reductores, cumarinas y taninos.

4.1.3. Determinación del efecto hipoglucemiante

Análisis de resultados

Análisis Descriptivo

Tabla 6: Promedio del nivel del efecto hipoglucemiante por grupo-concentración

Efecto hipoglucemiante (Cambio de Nivel de Glucosa Basal)

Grupo	Dosis del extracto	Día	Media	N
AZUL	50 mg/kg/día	1	490,0000	1
		2	470,0000	1
		3	450,0000	1
		4	410,0000	1
		5	380,0000	1
		6	360,0000	1
		7	340,0000	1
		8	310,0000	1
		total	401,2500	8
VERDE	250 mg/kg/día	1	480,0000	1
		2	460,0000	1
		3	430,0000	1
		4	380,0000	1
		5	340,0000	1
		6	290,0000	1
		7	260,0000	1
		8	220,0000	1
		total	357,5000	8
ROJO	500 mg/kg/día	1	485,0000	1
		2	450,0000	1
		3	410,0000	1
		4	360,0000	1
		5	315,0000	1
		6	260,0000	1
		7	230,0000	1
		8	170,0000	1
		total	336,2500	8
CONTROL POSITIVO	No recibió ningún tratamiento	1	612,5000	1
		2	612,5000	1
		3	612,5000	1
		4	612,5000	1
		5	612,5000	1
		6	625,0000	1
		7	625,0000	1
		8	625,0000	1
		total	617,8000	8
FARMACO	Glibenclamida 5 mg/kg/día	1	500,0000	1
		2	465,0000	1
		3	410,0000	1
		4	370,0000	1
		5	315,0000	1
		6	270,0000	1
		7	200,0000	1
		8	150,0000	1
		total	335,0000	8

Fuente: Elaboración propia, 2018

En la tabla 6, se observa que en el GRUPO ROJO el extracto de 500 mg/kg/día es el que produce mayor efecto hipoglucemiante.

Tabla 7: Estadísticos descriptivos

GRUPO	DOSIS DEL EXTRACTO	MEDICION DE GLUCOSA /DIA	N	MEDIA
AZUL	50 mg/kg/día	Efecto hipoglucemiante (cambio de nivel de glucosa basal)	8	401,2500
		N valido (según lista)	8	
VERDE	250 mg/kg/día	Efecto hipoglucemiante (cambio de nivel de glucosa basal)	8	357,500
		N valido (según lista)	8	
ROJO	500 mg/kg/día	Efecto hipoglucemiante (cambio de nivel de glucosa basal)	8	336,2500
		N valido (según lista)	8	
CONTROL POSITIVO	No recibió ningún tratamiento	Efecto hipoglucemiante (cambio de nivel de glucosa basal)	8	617,8000
		N valido (según lista)	8	
FARMACO	Glibenclamida 5 mg/kg/día	Efecto hipoglucemiante (cambio de nivel de glucosa basal)	8	335.0000
		N valido (según lista)	8	

Fuente: Elaboración Propia, 2018

4.2. CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

Técnica estadística: Diseño de Experimentos – Diseño en bloques Completos Aleatorizados

El logro del presente trabajo es diferenciar los cinco tratamientos, por lo que se trata de un factor con cinco grados. Además, al hacer la medición del nivel del efecto hipoglucemiante de cada una de las cuatro ratas se obtuvo el promedio del nivel del efecto hipoglucemiante por grupo sobre los distintos días, es posible que estos influyan sobre el nivel del efecto hipoglucemiante observados, son en diferentes días. Por lo tanto, no es causa de estudio, los días es un término secundario que recibe el nombre de bloque.

Es importante determinar otros regímenes que intervienen en el nivel del efecto hipoglucemiante, por eso se realiza un contraste de hipótesis:

$$H_0 \equiv t_1 = t_2 = t_3 = t_4 = t_5 \quad \text{Vs} \quad H_1 \equiv t_i \neq t_j$$

Comparamos y no existe distinción en el valor de los cinco procedimientos frente a la elección de que al menos una media difiere de otra.

Primero se comprueba la presencia del factor bloque (los días) está justificada. Para ello, realizamos el siguiente contraste de hipótesis:

$$H_0 \equiv \beta_1 = \beta_2 = \dots = \beta_8 \quad \text{Vs} \quad H_1 \equiv \beta_i \neq \beta_j$$

Es decir, contrastamos que no hay diferencia en las medias de los 8 bloques (días) frente a la alternativa de que al menos una media difiere de otra.

Este experimento se modeliza mediante un diseño en bloques completos al azar.

El modelo matemático es:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + u_{ij}, \quad i = 1, \dots, 5 \quad j = 1, \dots, 8 \quad \text{En general } i = 1, \dots, I; \quad j = 1, \dots, J.$$

La fórmula determina simbólicamente la percepción de que cada observación ij y (Nivel del efecto hipoglucemiante medida con el tratamiento i , en el día j), puede subdividirse en cuatro componentes: un efecto medio global μ , un efecto tratamiento t_i (efecto del factor principal sobre el nivel del efecto hipoglucemiante), un efecto bloque β_j (efecto del factor secundario (días) sobre el nivel del efecto hipoglucemiante) y una desviación aleatoria debida a causas desconocidas u_{ij} (Perturbaciones o error experimental). Este modelo tiene que verificar los siguientes supuestos:

1. Las 40 observaciones (promedio de nivel del efecto hipoglucemiante de cada grupo de 4 ratas) establece muestras aleatorias independientes, cada una de tamaño 5, de 40 poblaciones con medias, $\mu_{ij} = 1, \dots, 5$ y $j = 1, \dots, 8$
2. Cada una de las 40 poblaciones es normal
3. Cada una de las 40 poblaciones tiene la misma varianza
4. Los resultados de los bloques y terapias son aditivos; por lo tanto, no hubo interacción entre los bloques y tratamientos. Entonces hay diferencias entre dos procedimientos cualesquiera, estas se mantienen en todos los bloques (días).

En no encontrarse una relación entre bloque y medicación significa que las medicaciones tienen una conducta fuerte a través de los bloques y que los bloques tienen un comportamiento consistente por los tratamientos. Indicado matemáticamente su significado indica que la diferencia de los valores medios para dos tratamientos cualesquiera es igual en todo un bloque y que la diferencia de las estimaciones medias para dos bloques cualesquiera es la misma para cada tratamiento.

Nivel de confianza: 95%

Nivel de significancia: 5%

Variable respuesta: Nivel del efecto hipoglucemiante

Factor: Terapéutica con cinco grados. Es un coeficiente de acciones fijas ya que se conocen que niveles concretos se utilizarán.

Bloque: días con 8 categorías. Es un coeficiente de efectos fijos ya que viene decidido que niveles concretos se usarán.

Modelo completo: Son cinco medicaciones que se prueban en cada bloque exactamente.

Tamaño del experimento: Cantidad completa de observaciones (40). En cada día (bloque) se registra el promedio del nivel del efecto hipoglucemiante de las 4 ratas.

Hipótesis General:

H₀: El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale* L. (MARAÑÓN) No posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2

H₁: El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale* L. (MARAÑÓN) posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2.

Tabla 8: prueba de los efectos inter-sujetos

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Efecto Hipoglucemiante (Cambio de Nivel de Glucosa Basal)

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	646527,480 ^a	11	58775,225	14,278	,000
Intersección	7453516,389	1	7453516,389	1810,639	,000
Grupo	301367,431	4	75341,858	18,302	,000
Día	345160,048	7	49308,578	11,978	,000
Error	115262,319	28	4116,511		
Total	8215306,188	40			
Total corregida	761789,798	39			

a. R cuadrado = ,849 (R cuadrado corregida = ,789)

Fuente: Elaboración propia, 2018

La Tabla 8 ANOVA, indica:

El resultado del estadístico de contraste de igualdad de bloques, $F = 11.978$ deja a su derecha un p-valor bajo que 0.000, menor que la significancia del 5%, y descarta la Hipótesis nula de igualdad de bloques (el nivel del efecto hipoglucemiante es diferente en cada día). El rendimiento del modelo obedece a los resultados de los bloques. Un valor grande de F de los bloques (11.978) significa que el factor bloque tiene una respuesta mayor. Por lo tanto, el diseño es mejor que el diseño completamente aleatorizado ya que si el cuadrado medio entre bloques es grande (49308.578), el término residual será mucho menor (4116.511) y el contraste principal de las medias de los tratamientos será más sensible a las diferencias entre tratamientos. Por lo tanto, la inclusión del factor bloque (promedio de nivel del efecto hipoglucemiante de cada grupo de 4 ratas por día) en el modelo es acertada. Así, el nivel del efecto hipoglucemiante es diferente en cada día.

El valor del estadístico de contraste de igualdad de tratamiento, $F = 18.302$ deja a su derecha un p-valor de 0.000, menor que el nivel de significación del 5%, por lo que descarta la Hipótesis nula de igualdad de tratamientos. Así, el régimen mejora en el nivel del efecto hipoglucemiante. Es decir, existen diferencias significativas en el nivel del efecto hipoglucemiante entre los cinco tratamientos.

La salida de SPSS también nos muestra que R cuadrado vale 0.849, explicándonos que el modelo explica el 85% la fluctuación de los datos.

Decisión estadística: Como el p_valor obtenido 0.000 es menor que el nivel de significancia se descarta la Hipótesis nula entonces: El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale* L. (MARAÑÓN) posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2

Estudio de la Idoneidad del modelo

Hipótesis de aditividad entre los bloques y tratamientos.

Variable dependiente: Efecto Hipoglucemiante (Cambio de Nivel de Glucosa Basal)

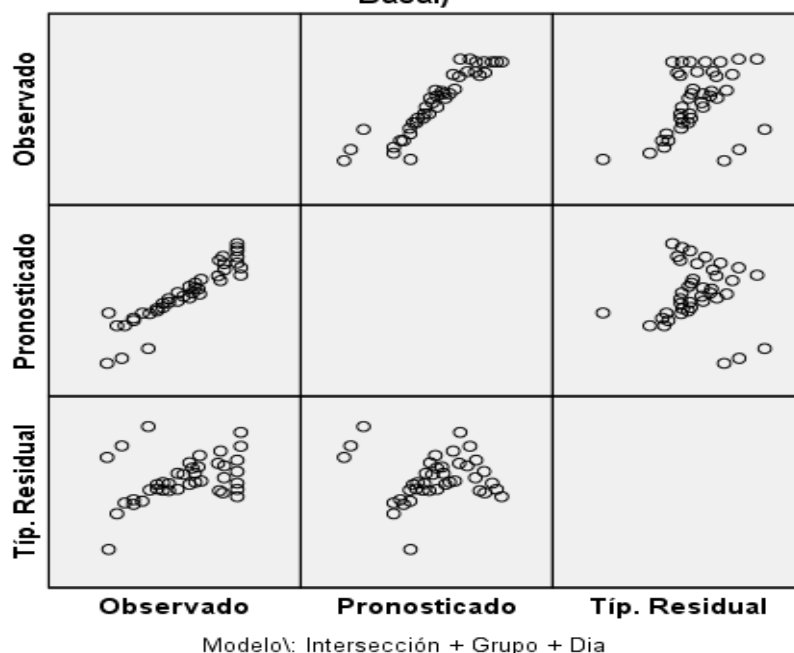


Figura 1: Gráfico de residuos frente a los valores predichos por el modelo

Fuente: Elaboración propia, 2018

Interpretación del gráfico que aparece en la fila 3 columna 2, es aquella figura que indica los residuos en el eje de ordenadas y los valores pronosticados en el eje de abscisas. No se observa, en esta figura, ninguna tendencia curvilínea, es decir no muestra certeza de interacción entre el factor bloque y los tratamientos.

Medias marginales estimadas de Efecto Hipoglucemiante (Cambio de Nivel de Glucosa Basal)

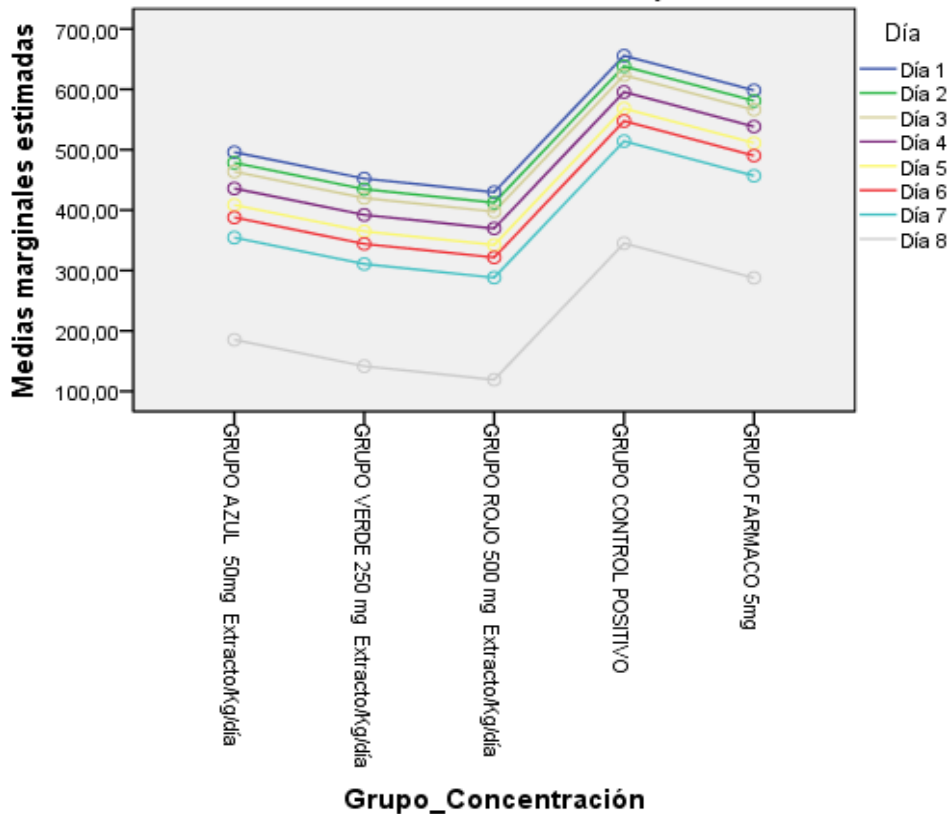


Figura 2: Gráfico de perfil

Fuente: Elaboración propia, 2018

La figura 2 representa el gráfico de las medias de los tratamientos. No hay relación, los segmentos lineales que unen dos medias cualesquiera serán paralelos a través de los bloques. Entonces es posible realizar apreciaciones generales relativas a los tratamientos sin tener que especificar el bloque implicado. Concluimos que el tratamiento del GRUPO ROJO con el extracto de 500 mg/Kg/día es más acertado que los otros en el sentido que disminuye el nivel del efecto hipoglucemiante.

Hipótesis de normalidad

H_0 : Los residuos para el nivel del efecto hipoglucemiante es normal

H_1 : Los residuos para el nivel del efecto hipoglucemiante no es normal

Tabla 9: prueba de kolmogorov-smirnov para una muestra

Prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra

		Residuo para Nivel_glucosa
N		40
Parámetros normales ^{a,b}	Media	,0000
	Desviación típica	,00000
Diferencias más extremas	Absoluta	,318
	Positiva	,307
	Negativa	-,318
Z de Kolmogorov-Smirnov		2,014
Sig. asintót. (bilateral)		,001

a. La distribución de contraste es la Normal.

b. Se han calculado a partir de los datos.

Fuente: Elaboración propia, 2018

El valor del p-valor, 0.001, es menor que el nivel de significación 0.05, por lo que NO se acepta la hipótesis de normalidad.

Independencia entre los residuos

En la figura de residuos delante a los valores predichos por el modelo se interpretó el gráfico que aparece en la fila 3 columna 2, por lo tanto esa figura que se representan los residuos en el eje de ordenadas y los valores pronosticados en el eje de abscisas. No hay, en dicho gráfico, ninguna tendencia sistemática que haga sospechar del incumplimiento de la suposición de independencia.

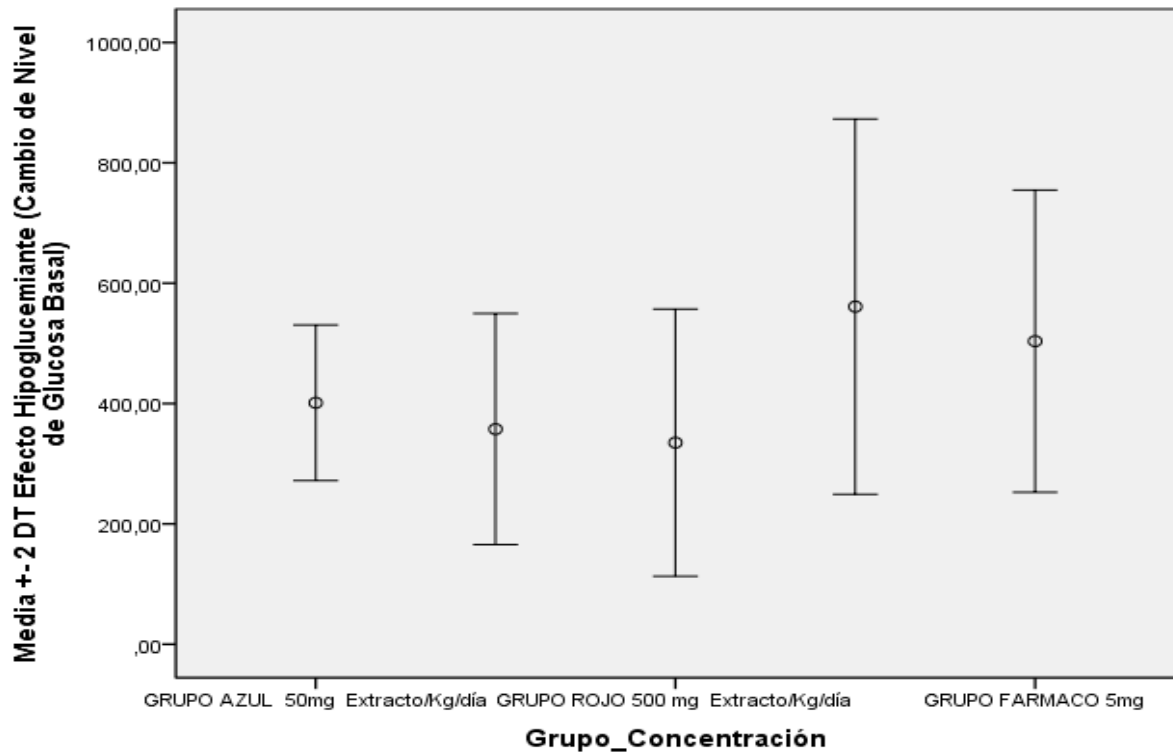


Figura 3: Homogeneidad de varianzas

Fuente: Elaboración propia, 2018

Observamos que en el tratamiento del GRUPO ROJO con el extracto de 500 mg/kg/día la dispersión es mayor que en los tres grupos de concentración del extracto. Entonces de la figura no extraemos directamente si hay homogeneidad en estas varianzas, entonces se analiza analíticamente por la prueba el test de Levene.

Prueba de homogeneidad de varianzas

Efecto Hipoglucemiante (Cambio de Nivel de Glucosa)

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3,903	7	32	,004

El p-valor es 0.004 por lo tanto se tiene que descartar la hipótesis de homogeneidad de las varianzas y se culmina que los cinco grupos tienen varianzas diferentes.

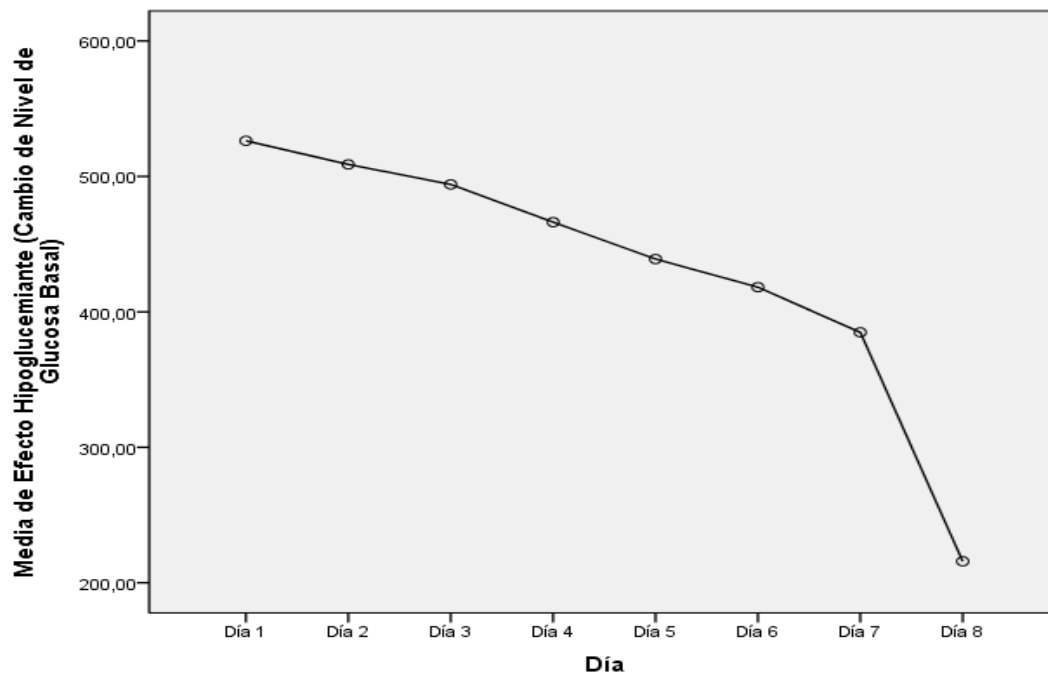


Figura 4: Gráfico de las Medias

Fuente: Elaboración propia, 2018

El presente grafico se observa que el mayor efecto hipoglucemiante se desarrolla con el día 8.

Se desarrolla el mismo contraste para los bloques, para constatar la homocedasticidad tanto en los tratamientos como en los bloques

Prueba de homogeneidad de varianzas

Efecto Hipoglucemiante (Cambio de Nivel de Glucosa)

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
,404	4	35	,805

El p-valor es 0.805 entonces no se descarta la hipótesis de homogeneidad de las varianzas y se finaliza indicando que los 5 tratamientos (grupos) tienen varianzas homogéneas.

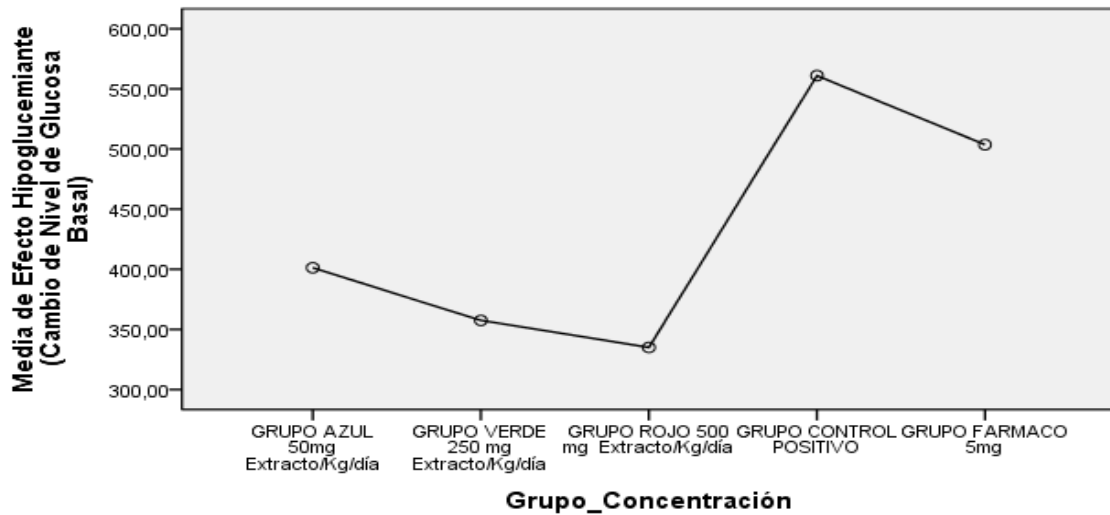


Figura 5: Gráfico de las Medias

Fuente: Elaboración propia, 2018

En esta gráfica observamos que el mayor efecto hipoglucemiante se produce en el GRUPO ROJO con el extracto de 500 mg/kg/día.

Tabla 10: Comparaciones múltiples

Efecto hipoglucemiante (cambio de nivel de glucosa basal)

Duncan ^{a, b}

Grupo	Dosis del extracto	N	subconjunto				
			1	2	3	4	5
VERDE	250 mg/kg/día	8	357,5000				
ROJO	500 mg/kg/día	8		336,2500			
AZUL	50 mg/kg/día	8			401,2500		
FARMACO	glibenclamida 5 mg/kg/día	8				335,0000	
CONTROL POSITIVO	No recibió ningún tratamiento	8					617,8000
	Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 1948,113.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 8,000

b. Alfa = .05.

Fuente: Elaboración propia, 2018

Tabla 11: efecto hipoglucemiante (cambio de nivel de glucosa basal)

Duncan ^{a, b}

Grupo	Dosis del extracto	N	subconjunto	
			1	2
ROJO	500 mg/kg/día	8	336,2500	
VERDE	250 mg/kg/día	8	357,5000	
AZUL	50 mg/kg/día	8	401,2500	
FARMACO	Glibenclamida 5 mg/kg/día	8		335,0000
CONTROL POSITIVO	No recibió ningún tratamiento	8		617,8000
	Sig.		,060	,084

Se muestran las medias de los grupos de subconjuntos homogéneos.

Basadas en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática(Error) = 4116,511.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 8,000

b. Alfa = .05.

Fuente: Elaboración propia, 2018

La tabla 11 de subconjuntos homogéneos señala en dos columnas los subgrupos de medias iguales, conformadas por usar el método de Duncan. Se observa que el primer grupo está formado por los grupos rojo, verde y azul y el segundo grupo está formado por el grupo fármaco y el grupo control positivo, los dos grupos difieren significativamente entre sí.

Hipótesis Específicas

H₀: El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale* L. (MARAÑÓN) al 50 mg/kg/día No posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2

H₁: El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale* L. (MARAÑÓN) al 50 mg/kg/día. Posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2.

Tabla 12: Grupo_Concentración = GRUPO AZUL - Extracto 50 mg/kg/día

Estadísticos para una muestra^a

	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Efecto Hipoglucemiante (Cambio de Nivel de Glucosa Basal)	8	401,2500	64,68329	22,86900

a. Grupo_Concentración = GRUPO AZUL 50mg Extracto/Kg/día

Fuente: Elaboración propia, 2018

Prueba para una muestra^a

	Valor de prueba = 0					
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
Efecto Hipoglucemiante (Cambio de Nivel de Glucosa Basal)	17,546	7	,000	401,25000	347,1734	455,3266

a. Grupo_Concentración = GRUPO AZUL 50mg Extracto/Kg/día

Fuente. Elaboración propia, 2018

Decisión estadística: Como el p_valor obtenido 0.000 es bajo que el nivel de significancia se rechaza la Hipótesis nula por lo tanto: El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale L.* (MARAÑÓN) al 50mg. posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2

H₀: El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale L.* (MARAÑÓN) al 250 mg/kg/día no posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2

H₁: El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale L.* (MARAÑÓN) al 250 mg/kg/día si posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2.

Tabla 13: Grupo_Concentración = GRUPO VERDE - Extracto 250 mg/kg/día

Estadísticos para una muestra^a

	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Efecto Hipoglucemiante (Cambio de Nivel de Glucosa Basal)	8	357,5000	96,02827	33,95112

a. Grupo_Concentración = GRUPO VERDE 250 mg Extracto/Kg/día

Fuente: Elaboración propia, 2018

Prueba para una muestra^a

	Valor de prueba = 0					
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
Efecto Hipoglucemiante (Cambio de Nivel de Glucosa Basal)	10,530	7	,000	357,50000	277,2184	437,7816

a. Grupo_Concentración = GRUPO VERDE 250 mg Extracto/Kg/día

Fuente: Elaboración propia, 2018

Decisión estadística: Como el p_valor obtenido 0.000 es bajo que el nivel de significancia se rechaza la Hipótesis nula por lo tanto: El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale L.* (MARAÑÓN) al 250mg. Posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2

H₀: El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale L.* (MARAÑÓN) al 500 mg/kg/día no posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2

H₁: El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale L.* (MARAÑÓN) al 500 mg/kg/día si posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2.

Tabla 14: Grupo_Concentración = GRUPO ROJO – Extracto 500 mg/Kg/día**Estadísticos para una muestra^a**

	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Efecto Hipoglucemiante (Cambio de Nivel de Glucosa Basal)	8	335,0000	111,00193	39,24511

a. Grupo_Concentración = GRUPO ROJO 500 mg Extracto/Kg/día

Fuente: Elaboración propia, 2018

Prueba para una muestra^a

	Valor de prueba = 0					
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
Efecto Hipoglucemiante (Cambio de Nivel de Glucosa Basal)	8,536	7	,000	335,00000	242,2001	427,7999

a. Grupo_Concentración = GRUPO ROJO 500 mg Extracto/Kg/día

Fuente: Elaboración propia, 2018

Decisión estadística: Como el p_valor obtenido 0.000 es menor que el nivel de significancia se rechaza la Hipótesis nula por lo tanto: El extracto hidroalcohólico de la semilla de *Anacardium occidentale* L. (MARAÑÓN) al 500 mg. Posee efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2

4.3. ESTUDIO DE TOXICIDAD

GRUPO - DOSIS EXTRACTO	Nº DE ANIMALES	MUERTOS	VIVOS	OBSERVACIONES
1 50 mg/kg/día	4	0	4	no se observó ningún signo de toxicidad
2 250 mg/kg/día	4	0	4	Su comportamiento fue similar al grupo I, no evidenciando signos de toxicidad
3 500 mg/kg/día	4	0	4	Su comportamiento fue similar al grupo I, no evidenciando signos de toxicidad.
4 glibenclamida 5 mg/kg/día	4	0	4	no se observó ningún signo de toxicidad
control no recibió ningún tratamiento	4	2	2	Comportamiento pasivo, inmóviles hasta un lapso de 3 horas, y se observó mayor cantidad de heces acuosas y blandas, y restos de orina. Muerte del ratón N° 2 a los cuatro días y a los seis días muerte del ratón N.º 5.

4.4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

A partir de los resultados encontrados; aceptamos la hipótesis que establece que el extracto hidroalcohólico de la semilla *Anacardium occidentale* L (marañón) si presenta la acción hipoglicemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2, en una dosis de 500 mg/kg. Estos resultados guardan relación con **Pérez D, (2004)**²⁰, en su investigación “plantas antidiabéticas utilizadas en México: validación del efecto hipoglucemiante de (*Struthanthus* sp)”, reporta 86 especies que han sido estudiadas para validar su acción hipoglucemiante. Entre ellos, las familias de Asteraceae, Fabaceae, Cactaceae, Euphorbiaceae y Rosaceae (*Anacardium*). Y concluye que a una dosis de 500 mg/kg muestra efectos benéficos en la disminución de la hiperglucemia en ratas diabéticas²⁰.

Según el screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Anacardium occidentale* L. (marañona), contienen los compuestos: azúcares reductores, cumarinas, taninos; y estos resultados son similares con el estudio de **Martínez A, et. al. (2012)**¹⁸ en su estudio de “Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro de extractos de hojas de *Anacardium occidentale* L. (marañón)”. En su tamizaje fitoquímico determinaron presencia cumarinas, taninos y azúcares reductores¹⁸.

En la evaluación de distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico de *Anacardium occidentale* L. (marañón) se acepta que a dosis de 500 mg/kg presenta acción hipoglicemiante similar a la glibenclamida 5 mg/ml. Estos resultados guardan relación con los de **Domínguez J, et al. (2012)**¹⁹, cuyo estudio es "Efectos del consumo de una bebida de cajuil (*Anacardium occidentale* L) sobre la respuesta glucémica e insulínica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.". Estos compuestos poseen un efecto metabólico que puede ser similar a la acción de la glibenclamida (una sulfonilurea ampliamente utilizada en el tratamiento de los pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus) ¹⁹.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Los metabolitos secundarios (según el screening fitoquímico) del extracto hidroalcohólico de *Anacardium occidentale* L. “marañón” fueron cumarinas y taninos.

El extracto hidroalcohólico de semillas de *Anacardium occidentale* L. (marañón) presenta efecto hipoglucemiante a dosis de 50, 250, y 500 mg/kg siendo la de 500 mg/kg de mayor eficacia.

El extracto hidroalcohólico de *Anacardium occidentale* L. “marañón”, a la concentración de 500 mg/kg de peso presenta acción hipoglucemiante similar a glibenclamida 5 mg/mL.

5.2. RECOMENDACIONES

Usar el extracto hidroalcohólico de *Anacardium occidentale L* como materia prima para la elaboración de formas farmacéuticas sólidas, constituyendo así un fito medicamento o medicamento híbrido (natural y sintético).

Se recomienda realizar un análisis cuantitativo de los metabolitos secundarios presentes en la planta *Anacardium occidentale L*. “marañón” con el fin de precisar la cantidad de cada tipo de metabolitos secundarios, haciendo uso del IR, Espectrometría UV, Cromatografía de Gases, Resonancia magnética nuclear, entre otros.

Debería estudiarse, además otras actividades farmacológicas derivadas del presente trabajo vinculándose a la riqueza de compuestos cumarínicos y taninos de nuestra planta.

Se recomienda realizar trabajos con mayor duración para valorar resultados en una línea de tiempo y estudios para evaluar dosis tóxicas o letales.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Jiménez MF. Diabetes mellitus: actualización. Acta méd. Costa rica (2000); vol.42
- 2) González LC. “Efecto hipoglucemiante del anacardium occidentale en diabeticos tipo 2”. Universidad República Bolivariana de ; 2014
- 3) Ramos W, López T, Revilla L, More L, Huamaní M, Pozo M. Resultados de la vigilancia epidemiológica de diabetes mellitus en hospitales notificantes del Perú, Rev. Perú. med. exp. salud pública. 2014 ene./dic.; vol.31 no.1
- 4) Aranda V, Villacrés V, Sotero S, Vásquez T, Monteiro T, González A, Mego Bardales, Vigo A. Toxicidad, actividad antioxidante in vitro e hipoglucemiante in vitro e in vivo del extracto acuoso de Juglans neotropica Diels (nogal peruano). revista peruana de medicina integrativa. 2016; Vol. 1, Núm. 4
- 5) Muro I, Batista NE, Béquer L, Gómez T. Cambios histopatológicos en el hígado de ratas Wistar con diabetes mellitus experimental. Medicentro Electrónica, Santa Clara 2017; vol.21 no.2
- 6) Marrero D, Ochoa TZ, Álvarez ZM, Dorrego RD, Hechavarria E. Comportamiento de la uremia en pacientes diabéticos del Policlínico René Ávila Reyes de Holguín. 2017 Ene.-mar; vol.21 no.1
- 7) Taype A, Huapaya O, Bendezu G, Pacheco J, Bryce M. Producción científica en diabetes en Perú: Un estudio bibliométrico. chil. nutr (Santiago). 2017; vol.44 no.2
- 8) Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An. Fac. med. 2016 oct./dic; vol.77 no.4

- 9) Cáceres S. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos de verdolaga en ratas con edema inducido por carragenina, en el bioterio Epoch. [Tesis pre grado]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica De Chimborazo, Facultad De Ciencias; 2017.
- 10) Escorcía S. Hipoglucemia por fármacos antidiabéticos. Revista de Endocrinología y Nutrición. 209 Julio-Septiembre; Vol. 17, No. 3: pp 120-128.
- 11)Chávez G. Sánchez D. Lorena y Lisbeth, producción y caracterización del fruto Marañón (*anacardium occidentale*) ubicado en el corregimiento de zapatosa municipio de tamalameque – cesar. 2009.
- 12) Ponce C. Actividad antibacteriana del aceite de la cáscara de la nuez del *Anacardium occidentale* sobre *Streptococcus mutans*. Estudio in vitro. (unmsm- e.a.p. de odontología) Lima – Perú (2011).
- 13)Pezo M. “Obtención de la almendra de la nuez del *Anacardium occidentale* L. Y su conservación por frito – salado. Tarapoto- Perú 1994.
- 14)Gómez S, Pereira S. "Evaluación de la actividad Anti-*Staphylococcus aureus* del extracto alcohólico de hojas de *Anacardium occidentale* Linn." casho" mediante el método de difusión en disco (Kirby-Bauer)."Iquitos (2016)
- 15) Rodriguez F. efecto hipoglicemiante de capsulas diab administrados a dosis de 100 y 200 mg/kg en ratas albinas con diabetes inducidas. iquitos – Perú 2016.
- 16) Darío R, Morales A, Villamil C. “efecto hipoglicemiante de la corteza de *Anacardium occidentale*-I“(marañón)- 2017.

- 17) Peroné de Andrade AP. El uso popular de marañón (*Anacardium occidentale* L. –Franz eugen Kohler– 1887) en Tabatinga (Amazonas, Brasil) y su potencial como planta cicatrizante. magíster en estudios amazónicos, Leticia, Amazonas, Colombia 2012; pp 16-17
- 18) Martínez A, Soto F, Almeida M, Hermosilla R, Martínez O. Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro de extractos de hojas de *Anacardium occidentale* L. (marañón). Revista Cubana de Plantas Medicinales (Cuba 2012).
- 19) Domínguez J, et al. "Efectos del consumo de una bebida de cajuil (*Anacardium occidentale*) sobre la respuesta glucémica e insulínica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2." Perspectivas en Nutrición Humana, Colombia 2012; 11-21.
- 20) Pérez D. plantas antidiabéticas utilizadas en México: validación del efecto hipoglucemiante de "struthanthus sp". Tlalnepantla, Edo. de Mex. 2004.
- 21) Avalos V. efecto hipoglucemiante de la suplementación diaria con extracto de "Pisidium guajava L." en *Rattus Rattus* var *albinus*. Trujillo – Perú 2016.
- 22) Gordillo G, Negrón L, Zúñiga T, Flores E, Moreira R, fuertes C, et al. efecto hipoglicemiante del extracto acuoso de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. facultad de farmacia y bioquímica unmsm 2012.
- 23) Navarro MIS, Castro KL, Arriaza CL. "Identificación, selección y caracterización de clones de marañón (*Anacardium occidentale*) con alto potencial genético de producción, en la cooperativa Acopasma, cantón Tierra Blanca, Chirilagua, Departamento de San Miguel." (San Salvador 2008)

- 24) Sánchez L, Chávez J, Ríos I, Cardona S. Evaluación de un antioxidante natural extraído del marañón (*anacardium occidentale*) para mejorar la estabilidad oxidativa del biodiesel de jatropha. Colombia 2015.
- 25) Daniel Casaca. “el cultivo del Marañón (*anacardium occidentale* L.) Costa Rica, ECAG. Abril, 2005.
- 26) Alpízar R, Trujillo Z, Hernández C, Vicente B. Manejo práctico del paciente con diabetes mellitus en la Atención Primaria de Salud. 2017; Vol. 7
- 27) Segundo S. “Diabetes Mellitus en el Perú: hacia dónde vamos”. Rev Med Hered. Lima 2015; vol.26 no.
- 28) González Y, Acosta M, Ríos E, Quintana A, Marrero A. Caracterización del inicio de la diabetes mellitus tipo 1 en menores de 18 años. Rev. Finlay. Cienfuegos oct.-dic. 2016. vol.6 no.4
- 29) Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Diabetes mellitus tipo 2. Guía de Práctica Clínica. Quito: Ministerio de Salud Pública, Dirección Nacional de Normatización; 2017.
- 30) Reyes S, Pérez Á, Figueredo A, Ramírez E, Jiménez Y. Tratamiento actual de la diabetes mellitus tipo 2. Holguín ene.-mar. 2016; vol.20 no.1
- 31) Mediavilla Bravo. Complicaciones de la diabetes mellitus. Diagnóstico y tratamiento. marzo 2013; Volumen 27, Número 3
- 32) Bello S, Inche C. comparación del efecto hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas *Smallanthus sonchifolius* (Poepp) Rob “yacón” frente a un extracto de libre comercio, en ratones hiperglucémicos. Lima - Perú 2015.
- 33) Estrada Reyes, Ubaldo D, Gabriela A. Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central. Salud Ment. México sep./oct. 2012; vol.35 no.5

- 34) Ecu-Red. 2017. Solubilidad, Fecha de acceso 30 julio 2018. URL disponible en: <https://www.ecured.cu/Solubilidad>
- 35) La guía 2000. Elementos químicos, Fecha de acceso 30 de julio 2018. URL disponible en: <https://quimica.laguia2000.com/elementos-quimicos/cumarinas>
- 36) Cubillos V, López C, Alberdi A. Estudio histopatológico e inmunohistoquímico de páncreas en perros diabéticos inducidos con aloxano. Arch Med Vet. 2008; 169-177
- 37) Santillán ZB. Beneficios potenciales del camu-camu, acerola y marañón como alimentos funcionales naturales. 2017
- 38) Pazmiño C. "Determinación de la actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de justicia *chlorostachya leonard* (insulina). en ratones con hiperglicemia inducida." Riobamba-Ecuador 2011
- 39) Molina L, et al. "Prospección de marañón (*Anacardium occidentale*. L.) en áreas de las zonas norte y centro de la provincia de Las Tunas." Innovación Tecnológica 19.3 (cuba 2013).
- 40) Sokeng DS, Kamtchouing P, Watcho P, Jatsa BH, Moundipa FP, Lontsi D. Hypoglycemic activity of *Anacardium occidentale* L. Aqueous extract in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes Res. 2001
- 41) Martínez Y, Martínez O, Escalona A, Rodríguez F, Valdivié M. "Composición química y tamizaje fitoquímico del polvo de hojas y retoños del *Anacardium occidentale* L.(marañón)". 2012

ANEXOS

ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA.

"EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL HIDROALCOHOLICO DE LA SEMILLA DE *Anacardium occidentale* L. (MARAÑÓN) EN RATAS ALBINAS CON DIABETES TIPO 2"

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGIA
<p>GENERAL:</p> <p>¿El extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Anacardium occidentale</i> L. (MARAÑÓN) poseerá efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2?</p>	<p>GENERAL:</p> <p>Determinar si el extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Anacardium occidentale</i> L. (MARAÑÓN) tiene efecto hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2.</p>	<p>GENERAL:</p> <p>El extracto hidroalcohólico de las semillas de <i>Anacardium Occidentale</i> L. (MARAÑÓN) presenta acción hipoglucemiante en ratas albinas con diabetes tipo 2.</p>	<p>VI:</p> <p>Extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Anacardium occidentale</i> L. (MARAÑÓN)</p>	<p>VI:</p> <p>Fitoquímico</p>	<p>VI: compuestos químicos. Concentración:</p> <p>-Extracto 50mg/kg -Extracto 250mg/kg -Extracto 500mg/kg</p>	<p>DISEÑO: Experimental.</p> <p>TIPO: experimental, longitudinal y prospectivo</p> <p>NIVEL: aplicativo experimentar</p> <p>POBLACION Y MUESTRA. Semilla de <i>anacardium occidentale</i> (Marañón); La muestra estuvo conformada por 20 rata evaluadas.</p> <p>INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS. TECNICA: Medición</p> <p>INSTRUMENTO: Ficha de Observación Ad-hoc.</p> <p>PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE DATOS. Análisis descriptivo e inferencial con los programas SPSS, mediante pruebas: -Tuckey -Anova de 2 Factores de Medidas Repetidas.</p>
<p>ESPECIFICO</p> <p>¿El extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Anacardium occidentale</i> L. (MARAÑÓN) presentará metabolitos secundarios responsables del efecto hipoglucemiante?</p> <p>¿Cuál será la dosis hipoglucemiante efectiva del extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Anacardium occidentale</i> L.(MARAÑÓN) en ratas albinas con diabetes tipo 2?</p> <p>¿el extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Anacardium occidentale</i> L. (MARAÑÓN) posee efecto hipoglucemiante comparado con glibenclamida de 5mg/1mL?</p>	<p>ESPECIFICOS:</p> <p>"Identificar los metabolitos secundarios con mayor concentración en el extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Anacardium occidentale</i> L.(MARAÑÓN) responsables del efecto hipoglucemiante</p> <p>"Establecer la dosis hipoglucemiante efectiva del extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Anacardium occidentale</i> L. (MARAÑÓN) en ratas albinas con diabetes tipo 2."</p> <p>"Determinar el efecto hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Anacardium occidentale</i> L. (MARAÑÓN) comparado con glibenclamida de 5mg/1ml</p>	<p>ESPECIFICOS:</p> <p>"El extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Anacardium Occidentale</i> L. (MARAÑÓN) presenta importantes metabolitos secundarios responsables del efecto hipoglucemiante.</p> <p>"El extracto hidroalcohólico de las semillas de <i>Anacardium Occidentale</i> L. (MARAÑÓN) tiene efecto hipoglucemiante a diferentes dosis en ratas albinas con diabetes tipo 2."</p> <p>El extracto hidroalcohólico de la semilla de <i>Anacardium Occidentale</i> L. (MARAÑÓN) presenta efecto hipoglucemiante comparado con glibenclamida de 5mg/1ml.</p>	<p>VD:</p> <p>Efecto hipoglucemiante</p> <p>VIN:</p> <p>Peso de la rata.</p>	<p>VD:</p> <p>Farmacológico.</p> <p>Magnitud</p>	<p>VD:</p> <p>Cambio del nivel de glucosa basal</p> <p>Gramos de peso de la rata 150 g.</p>	<p>INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS. TECNICA: Medición</p> <p>INSTRUMENTO: Ficha de Observación Ad-hoc.</p> <p>PROCESAMIENTO Y ANALISIS DE DATOS. Análisis descriptivo e inferencial con los programas SPSS, mediante pruebas: -Tuckey -Anova de 2 Factores de Medidas Repetidas.</p>

Anexo 2: INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE PRUEBA DE SOLUBILIDAD

EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA SEMILLAS DE *Anacardium Occidentale L.* (Marañón) EN RATAS ALBINAS CON DIABETES TIPO 2.

INSTRUCCIONES

Antes de iniciar con la observación, procure encontrarse en un estado de equilibrio emocional y somático.
Si se siente cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación.
Procure realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones de comodidad.
En el caso de no tener certeza sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación.
Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.
Los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea.

SOLVENTE	PROCEDIMIENTO	RESULTADOS
ACETATO DE ETILO	1 ml extracto + 1 ml del reactivo	
CICLOHEXANO	1 ml extracto + 1 ml del reactivo	
METANOL	1 ml extracto + 1 ml del reactivo	
BUTANOL	1 ml extracto + 1 ml del reactivo	
ETER DE PETROLEO	1 ml extracto + 1 ml del reactivo	
ETANOL	1 ml extracto + 1 ml del reactivo	
AGUA DESTILADA	1 ml extracto + 1 ml del reactivo	

▪ Leyenda:

Totalmente soluble: (+++)

Parcialmente soluble: (++)

Insoluble: (-)

Anexo 3. FICHA DE LLENADO POR JUICIO DE EXPERTOS



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICA

N°: _____

HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO
"SOLUBILIDAD"

CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCION DE DATOS
EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA
SEMILLAS DE *Anacardium Occidentale* L. (Marañón) EN RATAS ALBINAS CON
DIABETES TIPO 2.

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

MENOS DE
50-60-70-80-90-100

7. ¿en qué porcentaje estima que con este instrumento se logran
¿Los objetivos propuestos?..... () () () () (X) ()
8. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a
¿Los conceptos del tema?..... () () () () () (X)
9. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes
¿Para lograr los objetivos?..... () () () () (X) ()
10. ¿en qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son
¿De ejecución viable?..... () () () () () (X)
11. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una
¿Una secuencia lógica?..... () () () () () (X)
12. ¿en qué porcentaje valora usted que con este instrumento se
¿Obtendrían datos similares si se aplica en otras muestras?... () () () () () (X)

SUGERENCIAS

4. ¿Qué ítem considera que deberían agregarse?
.....
Ninguno
5. ¿Qué ítem estimas que debería eliminarse?
.....
Ninguno
6. ¿Qué ítem considera que deberían reformularse o precisarse mejor?
.....
Ninguno

Validado por: *Mg. Marlon Padilla Hingaj*
Fecha: *09/03/2019*

Anexo 4: INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE SCREENING FITOQUÍMICO

EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA SEMILLAS DE *Anacardium Occidentale L.* (Marañón) EN RATAS ALBINAS CON DIABETES TIPO 2.

INSTRUCCIONES

Antes de iniciar con la observación, procure encontrarse en un estado de equilibrio emocional y somático. Si se siente cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación. Procure realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones de comodidad. En el caso de no tener certeza sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación. Registre los datos sin borrones ni enmendaduras. Los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea.

METABOLITOS	RECTIVO	PROCEDIMIENTO	IDENTIFICACION	RESULTADOS
CARBOHIDRATOS	Molish	2ml extracto + 5 gotas de Rvo. Molish + 10 gotas H ₂ SO _{3c} se dejó en reposo	Formación de un anillo violáceo	
	Benedict	2ml extracto + 5 gotas de Rvo. Agitamos luego llevamos a baño maría por 10 min	Formación de un precipitado amarillo	
AZUCARES	Fehling A + Fehling B	2ml extracto + 5 gotas de Rvo. Fehling A + Fehling B, agitar luego llevamos a baño maría por 10 minutos	Formación de un precipitado anaranjado rojizo	
	Tollens	2ml extracto + 3 gotas de Rvo. Tollens agitamos luego llevamos a baño maría por 10 minutos.	Formación de un espejo de plata	
COMPUESTOS FENLICOS	FeCl ₃	2ml extracto + 5 gotas de Rvo.	Cambio de coloración pardo a azul	
CUMARINAS	NaOH 10 %	2ml extracto + 2 gotas de Rvo.	Amarillo intenso	
TANINOS	Rvo. Gelatina + NaCl	2ml extracto + 5 gotas de Rvo. + 3 gotas de NaCl 10%	Coloide	
SAPONINAS	H ₂ O	2ml extracto + 1ml de H ₂ O destilada agitación por 2 minutos	Forma espuma	
FLAVONOIDES	Limaduras de Mg ₂	2ml extracto + 7 gotas de Rvo. Agitar, colocar 1 gota de HCl	Cambo de coloración a verde petróleo tenue	
ALCALOIDES	Dragendor	2ml extracto + 3 gotas de Rvo.	Precipitado color anaranjado	
	Mayer	2ml extracto + 3 gotas de Rvo.	Precipitado color blanco lechoso	
	Wagner	2ml extracto + 5 3 gotas de Rvo.	Precipitado de color marrón	

Anexo 5. FICHA DE LLENADO POR JUICIO DE EXPERTOS

ANEXO 5. FICHA DE LLENADO POR JUICIO DE EXPERTOS

UNIVERSIDAD INCA Garcilaso de la Vega
FACULTA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICA

HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO
"FITOQUÍMICO"

CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCION DE DATOS
EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA
SEMILLAS DE *Anacardium Occidentale* L. (Marañón) EN RATAS ALBINAS CON
DIABETES TIPO 2.

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	50	60	70	80	90	100
7. ¿en qué porcentaje estima que con este instrumento se lograran ¿Los objetivos propuestos?	()	()	()	()	()	(x)
8. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a ¿Los conceptos del tema?	()	()	()	()	(x)	()
9. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes ¿Para lograr los objetivos?	()	()	()	()	()	(x)
10. ¿en qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son ¿De ejecución viable?	()	()	()	()	(x)	()
11. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una ¿Una secuencia lógica?	()	()	()	()	()	(x)
12. ¿en qué porcentaje valora usted que con este instrumento se ¿Obtendrían datos similares si se aplica en otras muestras?	()	()	()	()	(x)	()

SUGERENCIAS

4. ¿Qué ítem considera que deberían agregarse?
Ninguno

5. ¿Qué ítem estimas que debería eliminarse?
Ninguno

6. ¿Qué ítem considera que deberían reformularse o precisarse mejor?
Ninguno

Validado por: Dr. Nelson Mario García Pérez

Fecha: 21-03-15 95%

Anexo 6. INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS.



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**

**FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS
DE
LOS ANIMALES (RATAS)**

EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LA SEMILLAS DE *Anacardium Occidentale L.* (Marañón) EN RATAS ALBINAS CON DIABETES TIPO 2.

INSTRUCCIONES

Antes de iniciar con la observación, procure encontrarse en un estado de equilibrio emocional y somático. Si se siente cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación. Procure realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones de comodidad. En el caso de no tener certeza sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación. Registre los datos sin borrones ni enmendaduras. Los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea.

a) Datos generales

NÚMERO DE FICHA:

EDAD: SEXO: macho hembra

PESO:

COLOR:

RAZA:.....

**b) Datos específicos-
TRATAMIENTO EVALUADO**

Control (+) Extracto de 50 mg/kg Extracto de 250 mg/kg

Extracto al 500 mg/kg Glibenclamida 5 mg/mL

MOMENTO DE EVALUACION					
Concentración (%) del extracto hidroalcohólico de <i>Anacardium occidentale L.</i> (Marañón)					Fármaco
N° ratas	50mg/kg	250mg/kg	500mg/kg	Control positivo	Glibenclamida
	grupo azul	grupo verde	Grupo rojo	grupo Negro	Grupo Rojo-negro
1					
2					
3					
4					
NIVEL DE GLUCOSA BASAL					

Anexo 7. FICHA DE LLENADO POR JUICIO DE EXPERTOS

ANEXO 7. FICHA DE LLENADO POR JUICIO DE EXPERTOS

UNIVERSIDAD INCA Garcilaso de la Vega
FACULTA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y
BIOQUÍMICA

HOJA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO
"ESTUDIO FARMACOLÓGICO"

CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS
EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA
SEMILLAS DE *Anacardium Occidentale L.* (Marañón) EN RATAS ALBINAS CON
DIABETES TIPO 2.

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

50-60-70-80-90-100 MENOS DE

19. ¿en qué porcentaje estima que con este instrumento se logran
¿Los objetivos propuestos? () () () () () () () () () ()

20. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a
¿Los conceptos del tema? () () () () () () () () () ()

21. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados cree que son suficientes
¿Para lograr los objetivos? () () () () () () () () () ()

22. ¿en qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son
¿De ejecución viable? () () () () () () () () () ()

23. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una
¿Una secuencia lógica? () () () () () () () () () ()

24. ¿en qué porcentaje valora usted que con este instrumento se
¿Obtendrían datos similares si se aplica en otras muestras? () () () () () () () () () ()

SUGERENCIAS

10. ¿Qué ítem considera que deberían agregarse?
Ninguno

11. ¿Qué ítem estimas que debería eliminarse?
Ninguno

12. ¿Qué ítem considera que deberían reformularse o precisarse mejor?
Ninguno

Validado por: Mg. Flores López, Oscar

Fecha: 21-03-2019

394

Anexo 8: Materia prima

FOTOGRAFIA 1.Recolección de Anacardium Occidentale L. (Marañón) **materia prima**



FOTOGRAFIA 2.Selección de las semillas de Anacardium Occidentale L. (Marañón)



Anexo 9: Obtención del extracto

FOTOGRAFIA 3. Pesado y tamizaje de *Anacardium Occidentale* L. obtención del extracto



FOTOGRAFIA 4. Tamizaje y maceración de *Anacardium Occidentale* L. (Marañón)

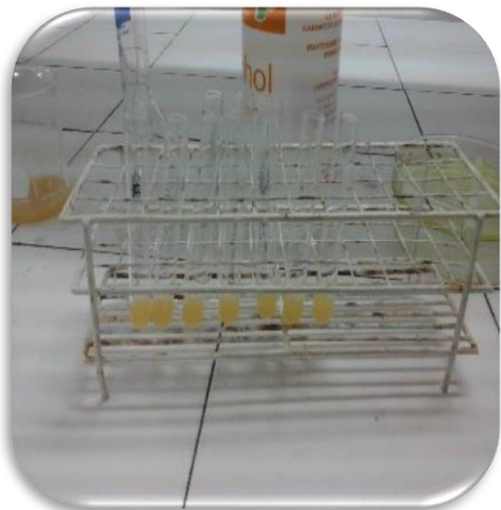


FOTOGRAFIA 5. Prueba de solubilidad del extracto de las semillas de *Anacardium Occidentale* L. (Marañón)



ANEXO 10. Tamizaje fitoquímico del extracto de la semilla de *Anacardium occidentale* L. (Marañón).

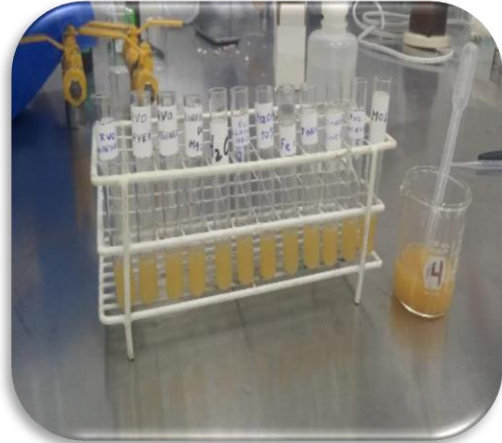
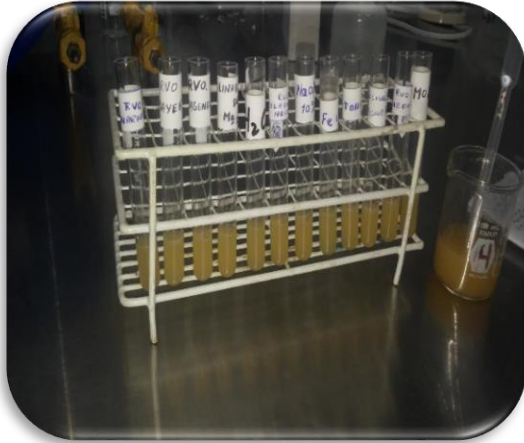
FOTOGRAFIA 6. Preparación del extracto puro y los solventes para verificar la solubilidad



FOTOGRAFIA 7. Reactivos para identificación de metabolitos secundarios



FOTOGRAFIA 8.Ensayo para metabolitos secundarios



FOTOGRAFIA 9.Extracto más reactivo



FOTOGRAFIA 10.Bioterio de medicina humana UNMSM y laboratorio de farmacología UIGV.



ANEXO 11: Evaluación de la actividad hipoglucemiante del extracto de la semilla de *Anacardium occidentale* L. (Marañón).

FOTOGRAFIA 11.Selección de las ratas albinas y pesado



FOTOGRAFIA 12.Glibenclamida y glucómetro usado en el experimento






FOTOGRAFIA 13.Administración del extracto Anacardium Occidentale L.



FOTOGRAFIA 14: Estudio de toxicidad, necropsias de los órganos farmacocinéticas



ANEXO 12. Clasificación taxonómica del "Marañón".

  **UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL 

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 10-USM-2018

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

La muestra vegetal (planta completa), recibida por **Julio Cesar ENRIQUEZ RIVERA** y **Victor Mariano CHACON CUEVA**; de la Universidad Particular Inca Garcilaso de la Vega; ha sido estudiada y clasificada como: **Anacardium occidentale** L.; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988):


DIVISION: MAGNOLIOPHYTA
CLASE: MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE: ROSIDAE
ORDEN: SAPINDALES
FAMILIA: ANACARDIACEAE
GENERO: Anacardium
ESPECIE: Anacardium occidentale L.

Nombre vulgar: "Marañón"
Determinado por: Blgo. Severo Matías Baldeón Malpartida

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 10 de enero de 2018


Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ACE/yr.

As. Areñales 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono:
619-7000 anexo 5701, 5703, 5704

E-mail: museohn@unmsm.edu.pe
<http://museohn.unmsm.edu.pe>

ANEXO 13. Certificación de “*Rattus norvegicus*”



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

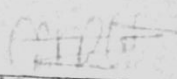
CERTIFICADO

Lima, 01 de agosto del 2018

Mediante la presente se certifica que las 20 ratas albinas (*Rattus norvegicus*) de la cepa Holtzman, hembras con un promedio de peso de 150 g, adquiridos el 01 de agosto del 2018 por el bioterio de la UPCH, se encuentran en óptimo estado sanitario y fisiológico para ser utilizado en cualquier protocolo biomédico.

Se expide este documento para fines pertinentes.

Atentamente.


Dr. FERNANDO PIPI ALVAREZ
Jefe de Bioterio
LIM - UPCH
C.M. V. 0048

