



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE QUÍMICA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE: EFECTOS
HIPOGLUCÉMICOS A PARTIR DE LA YACA
(*Artocarpus heterophyllus* Lam)”**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto de Investigación

Presentado para optar al grado académico de:

QUÍMICO

AUTORES: CRISTIAN JONNY LÓPEZ MANOBANDA

HÉCTOR FERNANDO MASABANDA CARRILLO

DIRECTORA: Ing. LINDA MARIUXI FLORES FIALLOS, M.Sc.

Riobamba – Ecuador

2021

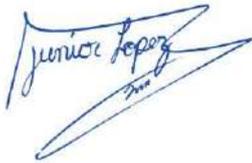
© 2021, Cristian Jonny López Manobanda y Héctor Fernando Masabanda Carrillo

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Nosotros, CRISTIAN JONNY LÓPEZ MANOBANDA Y HÉCTOR FERNANDO MASABANDA CARRILLO, declaramos que el presente trabajo de titulación es de nuestra autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

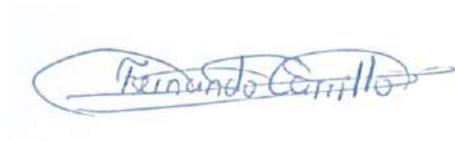
Como autores asumimos la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación. El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Riobamba, 20 de Agosto del 2021.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Cristian Jonny Lopez Manobanda". The signature is stylized with a large, sweeping flourish at the end.

Cristian Jonny López Manobanda

CI: 172617094-5

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Héctor Fernando Masabanda Carrillo". The signature is written in a cursive style with a long horizontal flourish.

Héctor Fernando Masabanda Carrillo

CI: 180518715-8

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación en primer lugar está dedicado a Dios quien con su amor supo darme fuerzas en cada una de las dificultades y guiarme en cada momento de mi carrera. A mis padres, Jonny López y Piedad Manobanda por todo el sustento emocional, por su paciencia, cariño y el sustento económico brindado en estos años, a todo el esfuerzo que hicieron cada día por verme triunfar. A mi hija, la persona más importante que llego a mi vida, quien con su cariño y amor supo darme fuerzas para seguir adelante y jamás dejar de intentarlo, y a toda mi familia que siempre estuvo ahí a mi lado en todo este tiempo. A mi novia, quien a pesar de las dificultades siempre estuvo ahí conmigo para ayudarme. Para mis mejores amigos, de manera muy especial a Luis y Cristian, quienes ya no están a mi lado para disfrutar este momento, pero siempre vivirán en mi memoria y estarán presentes en mi corazón.

Cristian

A Dios, que es mi guía y luz para seguir adelante y no rendirme en momentos complicados durante mi carrera universitaria. A mi madre Lorena, que es la persona más importante en mi vida, la que me ha guiado en esta etapa universitaria con sus consejos y esfuerzo día a día para cumplir mis metas y mis sueños. La persona que siempre tiene una confianza absoluta conmigo. A mi hermano David, que todo mi esfuerzo durante esta etapa ha sido por él, porque se convirtió en mi soporte y fuerza en momentos complicados y difíciles de mi vida.

Fernando

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo por brindarnos la oportunidad de estudiar una carrera universitaria y habernos ayudado para la realización de este trabajo de investigación.

A nuestra tutora la Ing. Linda Flores quien ha sido la guía de este trabajo de investigación, la cual ha disipado inquietudes y dudas con respecto al desarrollo del mismo. De igual manera a la BQF. Cristina Villegas por aportar sus conocimientos en la presente investigación.

A los técnicos docentes encargados de cada uno de los laboratorios un agradecimiento infinito por su paciencia y enseñanzas en este largo trayecto, de manera muy especial Al BQF. Benjamín Román quien nos ha guiado durante todo el proceso de la tesis.

Cristian y Fernando.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xv
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xvi
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	xvii
RESUMEN	xix
SUMARY	xx
INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
OBJETIVOS.....	5

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	6
1.1. Antecedentes	6
1.2. <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam	8
1.2.1. Composición Química.....	10
1.2.1.1. <i>Compuestos Fenólicos</i>	11
1.2.1.2. <i>Flavonoides</i>	11
1.2.2. <i>Aprovechamiento de la especie Artocarpus heterophyllus Lam</i>	14
1.2.3. Tamizaje Fitoquímico.....	14
1.2.4. <i>Extracto hidroalcohólico y acuoso de Artocarpus heterophyllus Lam</i>	15
1.3. Efecto hipoglucémico	15

1.3.1.	<i>Hiperglucemia</i>	15
1.3.2.	<i>Diabetes</i>	16
1.4.	Reactivo Biológico	17
1.4.1.	<i>Rata (Rattus norvegicus)</i>	18

CAPITULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	20
2.1.	Lugar de investigación	20
2.2.	Población de estudio	20
2.3.	Tamaño de la muestra	21
2.4.	Selección de la muestra	21
2.5.	Tipo de investigación	21
2.6.	Hipótesis	21
2.7.	VARIABLES	22
2.8.	<i>Diseño Experimental</i>	22
2.9.	<i>Diseño Estadístico</i>	22
2.10.	<i>Materiales, equipos y reactivos</i>	22
2.10.1.	<i>Recolección del material vegetal</i>	22
2.10.2.	<i>Material Biológico</i>	23
2.10.2.1.	<i>Descripción</i>	23
2.10.3.	<i>Material Farmacológico</i>	23
2.10.4.	<i>Materiales de laboratorio</i>	23
2.10.5.	<i>Equipos</i>	26
2.10.6.	<i>Reactivos</i>	27
2.11.	Técnicas y métodos	28

2.11.1.	<i>Determinación de los parámetros de control de calidad del material vegetal</i>	28
2.11.1.1.	<i>Determinación del contenido de humedad</i>	28
2.11.1.2.	<i>Determinación de cenizas totales</i>	29
2.11.1.3.	<i>Determinación de cenizas solubles en agua</i>	30
2.11.1.4.	<i>Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico</i>	30
2.11.2.	<i>Tamizaje fitoquímico</i>	31
2.11.2.1.	<i>Extracto Hidroalcohólico</i>	32
2.11.2.2.	<i>Extracto Acuoso</i>	34
2.11.3.	<i>Preparación del Extracto Hidroalcohólico y Acuoso de Artocarpus heterophyllus Lam para la purificación, cuantificación de fenoles, flavonoides totales y análisis hipoglucémico.</i>	36
2.11.3.1.	<i>Extracto Hidroalcohólico de Artocarpus heterophyllus Lam</i>	36
2.11.3.2.	<i>Extracto acuoso de Artocarpus heterophyllus Lam</i>	37
2.11.4.	<i>Control de calidad del extracto hidroalcohólico y acuoso de Artocarpus heterophyllus Lam.</i>	38
2.11.4.1.	<i>Requisitos Organolépticos</i>	38
2.11.4.2.	<i>Determinación de densidad relativa</i>	38
2.11.4.3.	<i>Medición de pH</i>	38
2.11.4.4.	<i>Índice de refracción</i>	39
2.11.4.5.	<i>Determinación de solidos totales</i>	39
2.11.5.	<i>Análisis infrarrojo</i>	40
2.11.6.	<i>Liofilización de los extractos</i>	40
2.11.7.	<i>Cuantificación de fenoles totales</i>	40
2.11.8.	<i>Cuantificación de flavonoides totales</i>	41
2.11.9.	Determinación de la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico y acuoso de Artocarpus heterophyllus Lam en ratas (Rattus norvegicus)	41
2.11.9.1.	<i>Condiciones ambientales y periodo de adaptación de ratas (Rattus norvegicus)</i>	41
2.11.9.2.	<i>Protocolo del análisis experimental</i>	41
2.11.9.3.	<i>Preparación del vehículo para la administración de almidón, extractos y fármaco</i> 42	

2.11.9.4.	<i>Inducción a la hiperglucemia</i>	42
2.11.9.5.	<i>Ayuno</i>	42
2.11.9.6.	<i>Período de la investigación</i>	43
2.11.9.7.	<i>Descripción del análisis hipoglucemiante</i>	43
2.11.9.8.	<i>Medición de glucosa</i>	43

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS	44
3.1.	Control de calidad de la materia vegetal	44
3.2.	Tamizaje Fitoquímico	45
3.2.	Control de calidad del extracto hidroalcohólico y acuoso de <i>Artocarpus Heterophyllus</i> Lam.	46
3.3.	Análisis infrarrojo	47
3.3.1.	<i>Extracto hidroalcohólico</i>	47
3.3.2.	<i>Extracto Acuoso</i>	48
3.4.	Cuantificación de los extractos hidroalcohólico (alcohol isopropílico al 70%) y acuoso mediante espectrofotometría UV-vis	50
3.5.	Cuantificación de flavonoides totales en extractos hidroalcohólico y acuoso de las hojas de <i>Artocarpus Heterophyllus</i> Lam.	51
3.6.	Actividad hipoglucémica en biomodelos experimentales (<i>Rattus norvegicus</i>)	52
3.6.1.	<i>Análisis de glucemia del día 1 de experimentación.</i>	52
3.6.2.	<i>Análisis de glucemia del día 7 de experimentación.</i>	524
3.6.3.	<i>Análisis de glucemia del día 15 de experimentación.</i>	525
3.6.4.	<i>Representacion de los niveles de glucemia de cada grupo en el ultimo dia de experimentacion</i>	527
3.6.5.	<i>Significancia estadística</i>	528
3.6.5.1.	<i>Interpretación del Análisis Estadístico</i>	62

CONCLUSIONES	64
RECOMENDACIONES	65
GLOSARIO	
BIBLIOGRAFIA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Descripción botánica de <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.....	10
Tabla 2-1:	Taxonomía de <i>Rattus norvegicus</i>	18
Tabla 3-1:	Parámetros fisiológicos de <i>Rattus norvegicus</i>	19
Tabla 1-2:	Representación de los materiales de laboratorio empleados en cada análisis.	23
Tabla 2-2:	Representación de los equipos de laboratorio empleados en cada análisis.	26
Tabla 3-2:	Representación de los materiales de laboratorio empleados en cada análisis.	27
Tabla 4-2:	Diseño experimental para el análisis hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico y acuoso de <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.....	42
Tabla 1-3:	Resultados de la determinación de los parámetros de calidad de hojas de <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.....	44
Tabla 2-3:	Resultados del tamizaje fitoquímico de las hojas de <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.....	45
Tabla 3-3:	Determinación de los parámetros de calidad de los extractos hidroalcohólico y acuoso de las hojas de <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.	47
Tabla 4-3:	Número de onda y % de transmitancia del extracto hidroalcohólico.....	48
Tabla 5-3:	Numero de onda y % de transmitancia del extracto acuoso	49
Tabla 6-3:	Cuantificación de fenoles totales por espectroscopia UV-visible en extractos hidroalcohólico y acuoso de las hojas de <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.	50
Tabla 7-3:	Cuantificación de flavonoides totales en extractos hidroalcohólico y acuoso de las hojas de <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.	51
Tabla 8-3:	Pruebas de normalidad.....	58
Tabla 9-3:	T student muestras relacionadas H1	59
Tabla 10-3:	ANOVA H2	59
Tabla 11-3:	ANOVA H3	60
Tabla 12-3:	Prueba de T Student para muestras independientes H4	61
Tabla 13-3:	Prueba de T Student para muestras independientes H5.....	61

Tabla 14-3: Prueba de T Student para muestras independientes H6	62
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1: Hojas de Yaca (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam)	9
Figura 2-1: Fruto de Yaca (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam)	9
Figura 3-1: Estructura del fenol	11
Figura 4-1: Estructura básica de un flavonoide	12
Figura 5-1: Estructura básica de un flavano	12
Figura 6-1: Estructura básica de un flavonol	13
Figura 7-1: Estructura básica de una flavona	13
Figura 8-1: Estructura básica de una antocianidina	13
Figura 9-1: <i>Rattus norvegicus</i>	18

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-2: Preparacion de los extractos para el tamizaje fitoquímico	32
Gráfico 2-2: Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico.....	32
Gráfico 3-2: Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso	35
Gráfico 1-3: Espectro IR del extracto hidroalcohólico	48
Gráfico 2-3: Espectro IR del extracto acuoso	49
Gráfico 3-3: Niveles de Glucemia Día 1	52
Gráfico 4-3: Niveles de Glucemia Día 7	54
Gráfico 5-3: Niveles de Glucemia Día 15	55
Gráfico 6-3: Niveles de Glucemia por grupos	57

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** Certificado de reconocimiento de *Artocarpus heterophyllus* Lam por parte del Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo
- ANEXO B:** Recolección y preparación del material vegetal para análisis cualitativo
- ANEXO C:** Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico
- ANEXO D:** Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso
- ANEXO E:** Preparación de extractos, purificación y cuantificación de fenoles y flavonoides de *Artocarpus Heterophyllus* Lam
- ANEXO F:** Control de calidad del material vegetal y de los extractos
- ANEXO G:** Cálculos y evidencia del control de calidad del material vegetal
- ANEXO H:** Cálculos y evidencia del control de calidad del extracto hidroalcohólico
- ANEXO I:** Cálculos y evidencia del control de calidad del extracto acuoso
- ANEXO J:** Liofilización y análisis en el espectrofotómetro IR de los extractos
- ANEXO K:** Periodo de adaptación y análisis hipoglucemiante en *Rattus norvegicus*
- ANEXO L:** Cuantificación de Fenoles totales

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico.
AHP	Enzima α -amilasa pancreática.
ANOVA	Análisis de varianza
ASH	Enzima α -amilasa salival humana.
ATP	Adenosín trifosfato.
cm	centímetros.
dl	decilitro
DM1	Diabetes Mellitus tipo 1.
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2.
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
g	gramos.
HCl	Ácido Clorhídrico
IC	Intervalo de confianza
Kg	kilogramos.
MSP	Ministerio de Salud Pública
mg	miligramos.
ml	mililitros.
nm	nanómetros
OGTT:	Prueba de tolerancia oral a la glucosa.

OMS	Organización Mundial de la Salud.
PPARγ	Receptor peroxisoma-proliferador-activado gamma.
ppm	Partes por millón
pH	Potencial de hidrógeno
RI:	Resistencia a la insulina.
r²	Coefficiente de correlación
STZ	Estreptozotocina
TZD	Tiazolidinedionas.
Uv-vis:	Ultravioleta visible.
°C	Grados Celsius
%	Porcentaje

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto hipoglucémico a partir de extractos hidroalcohólicos y acuosos de las hojas de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam), basando su análisis en ratas (*Rattus norvegicus*). Se prepararon extractos hidroalcohólicos (alcohol isopropílico al 70%) y acuosos a concentraciones de 125, 250 y 400 ppm respectivamente. En un periodo de 30 días se llevó a cabo el análisis hipoglucemiante, se utilizaron 45 ratas macho, las cuales fueron divididas en 9 grupos de 5 ratas cada uno, blanco, control negativo, control positivo, 3 grupos para el extracto hidroalcohólico de 125, 250 y 400 ppm y 3 grupos para el extracto acuoso a las mismas concentraciones. A los 8 grupos exceptuando el blanco, se les administró una dieta rica en almidón a una concentración de 2000 ppm (mg/Kg) de peso corporal por 15 días, efectuando así una hiperglucemia. Después de la dieta con almidón, se procedió a medir la glucemia en 15 días, el primero, séptimo y décimo quinto día, en intervalos de 30, 60 y 120 minutos. El efecto farmacológico se evidenció en los extractos tanto hidroalcohólico como acuoso a una concentración de 400 ppm con un valor p menor a 0.05 a través de pruebas estadísticas, al comparar sus resultados con el fármaco empleado comercialmente. Como conclusión se evaluó la actividad antioxidante: efectos hipoglucémicos a partir de los extractos hidroalcohólicos y acuosos de las hojas de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam). Recomendando así realizar estudios de identificación y purificación química del principio activo.

Palabras clave: <TAMIZAJE FITOQUÍMICO>, <GLUCEMIA>, <YACA (*Artocarpus heterophyllus* Lam)>, <EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO>, <EXTRACTO ACUOSO>, <ALMIDÓN>, <RATAS (*Rattus norvegicus*)>.



Firmado electrónicamente por:
**ELIZABETH
FERNANDA AREVALO
MEDINA**



1394-DBRAI-UPT-2021

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the hypoglycaemic effect from hydroalcoholic and aqueous extracts of the leaves of the Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam), basing their analysis on rats (*Rattus norvegicus*). Hydroalcoholic (70% isopropyl alcohol) and aqueous extracts were prepared at concentrations of 125, 250 and 400 ppm, respectively. In 30 days, the hypoglycaemic analysis was made, 45 male rats were used, which were divided into 9 groups of 5 rats each, blank, negative control, positive control, 3 groups for the hydroalcoholic extract of 125, 250 and 400 ppm and 3 groups for the aqueous extract at the same concentrations. The 8 groups, except the blank, were administered a diet rich in starch at a concentration of 2000 ppm (mg / Kg) of body weight for 15 days, thus affecting hyperglycaemia. After the starch diet, blood glucose was measured on 15 days, on the first, seventh and fifteenth day, at 30-, 60- and 120-minute intervals. The pharmacological effect was evidenced in both hydroalcoholic and aqueous extracts at a concentration of 400 ppm with a p-value less than 0.05 through statistical tests when comparing your results with the drug used commercially. In conclusion, the antioxidant activity, hypoglycaemic effects from the hydroalcoholic and aqueous extracts of the leaves of the Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam) were evaluated. Identification and chemical purification studies of the active ingredient are recommended.

Keywords: <PHYTOCHEMICAL SCREENING>, <GLUCEMIA>, <YACA (*Artocarpus heterophyllus* Lam)>, <HYDROALCOHOLIC EXTRACT>, <AQUEOUS EXTRACT>, <STARCH>, <RATS (*Rattus norvegicus*)>.

INTRODUCCIÓN

El trabajo que se presenta a continuación, propone una alternativa al uso de medicamentos para contrarrestar la hiperglucemia, o más conocida como diabetes transitoria, a través del uso de la medicina natural como es la utilización de plantas que contienen un efecto hipoglucémico.

Como objetivo principal esta evaluar el efecto hipoglucémico que presenta la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam) mediante la preparación de extractos hidroalcohólicos y extractos acuosos a concentraciones de 125, 250 y 400 ppm respectivamente, basándose en un análisis en biomodelos experimentales, como lo son las ratas (*Rattus norvegicus*), y determinar de esta forma cuál de los dos extractos en sus distintas concentraciones contiene un mejor efecto hipoglucémico.

Se utiliza una metodología experimental, debido a la obtención de datos al emplear reactivos que exhiben propiedades a los extractos, descriptiva debido a las particularidades de la investigación, ya que se estima la indagación de los eventos, y exploratoria, ya que permitirá obtener un conocimiento general del tema que vamos a tratar para lanzar en un futuro algún producto con efecto hipoglucémico a través de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam).

Este trabajo investigativo empieza con la identificación del problema, para así aportar con una solución a la hiperglucemia, que a futuro ocasionará una diabetes permanente.

En el capítulo I consta el marco teórico conceptual, donde se abarca las teorías científicas acerca de la problemática que es la diabetes, de igual forma todas las características del material vegetal, como los metabolitos secundarios que van a dar la función de que la planta tenga ese efecto hipoglucémico, así como el biomodelo experimental o reactivo biológico empleado para llevar a cabo el análisis hipoglucémico.

El capítulo II comprende la metodología de la investigación, es decir, aquellos lugares establecidos para cada etapa de la investigación, seguido de la selección de la muestra y los materiales, equipos y reactivos empleados en cada estudio, de igual forma se describe los procesos realizados a la planta para la determinación de metabolitos secundarios de manera cualitativa, así como la cuantificación de fenoles y flavonoides, además del control de calidad de la muestra seca, así como de los extractos, para finalmente llevar a cabo el análisis hipoglucémico en ratas (*Rattus norvegicus*).

Por último, en el capítulo III se lleva a cabo la interpretación de los resultados que se obtuvieron en cada uno de los análisis realizados, como el control de calidad, de igual manera los metabolitos

secundarios presentes en la planta, la cuantificación de fenoles y flavonoides. Además, con los datos obtenidos de la medición de glucosa, a través de pruebas estadísticas determinar si hay un efecto hipoglucémico, y cuál de los dos extractos con sus diferentes concentraciones presenta una mejor actividad hipoglucémica.

JUSTIFICACIÓN

Una de las enfermedades que está en auge, es sin duda alguna la diabetes, una enfermedad que está influyendo en la población de manera significativa sin mirar condición social ni edad. Mediante una encuesta realizada por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT), se estableció que en Ecuador la diabetes presenta el 1.7% en personas que tiene la edad de entre 10 y 59 años y esta cantidad va subiendo a la edad de 30 años, y a los 50 años 2 de cada 20 ecuatorianos presentan diabetes (OPS/OMS, 2020).

Causas como una mala alimentación, la falta de ejercicio, el exceso con las bebidas alcohólicas y el abuso en el consumo del cigarrillo, representan cuatro factores peligrosos que tienen relación con aquellas enfermedades conocidas como no transmisibles, y una de ellas, es la diabetes.

Con este trabajo se pretende colaborar en la elaboración de nuevos productos naturales que contribuyan a la población con problemas relacionados a la hiperglucemia, que a futuro conlleven a una posible diabetes, por esta razón se buscará comparar dos extractos a sus diferentes concentraciones que permitan evidenciar el efecto hipoglucemiante, es decir el efecto que estos extractos tienen sobre el azúcar en la sangre.

Por lo expuesto, se apuesta por el uso de productos naturales debido a su naturaleza, su gran producción y el bajo costo en el uso de estos productos. Para el diseño del mejor método de extracción que permita obtener la mayor concentración del principio activo responsable de la actividad antioxidante, se determinará por una amplia revisión bibliográfica.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los niveles altos de azúcar en la sangre pueden ocasionar la diabetes mellitus, es por eso por lo que cada vez se buscan alternativas en la medicina, con la utilización de plantas medicinales, que ayuden a combatir fundamentalmente; enfermedades de la piel, parasitarias, respiratorias y del sistema digestivo, que con tratamientos normales resultaría muy costoso y no podría ser accesible para todas las personas.

En los últimos años ha venido en aumento los inconvenientes de salud a causa de la diabetes, siendo una enfermedad que no mira condición social, edad ni género de las personas. Por esta razón se sugiere el uso de extractos de plantas que contengan en su composición principios activos con poder hipoglucemiante que a través de la inhibición de la enzima α -amilasa pancreática (APH), permitan la disminución de la glucemia en la sangre.

Actualmente, la diabetes mellitus se ha considerado alrededor del mundo como una enfermedad grave en los últimos tiempos, ya que representa uno de los motivos de peligro cardiovascular más significativo, sobre todo porque su tratamiento tiene un costo muy elevado. La diabetes mellitus representa a nivel mundial 4.6 millones de muertes al año. Esta enfermedad se encuentra dentro de las 10 primeras causas de discapacidad en el mundo reduciendo la productividad y el desarrollo humano. El Instituto Nacional de Estadísticas y censos en el año 2014 emitió como segunda causa de mortalidad general a la diabetes mellitus, situándola también como la principal causa de mortalidad en la población femenina y la tercera en la población masculina (MSP, 2017).

Es por esto la importancia de combatir la diabetes, con tratamientos alternativos a la medicina convencional, con el uso de plantas medicinales, como son las hojas de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam), especie que ha sido investigada en los últimos tiempos, dando resultados eficientes, con características de ser hipoglucemiante.

En las hojas de Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam) se evaluará la actividad antioxidante y esto dependerá del extracto acuoso o hidroalcohólico, a través de una caracterización cualitativa y cuantitativa de la especie en mención, método de extracción, diseño experimental y análisis estadísticos para valorar los resultados obtenidos, en fin de determinar la actividad hipoglucémica y cuál extracto influye con mayor relevancia en la actividad antioxidante de las hojas de yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam).

Formulación del problema

¿Existen efectos hipoglucémicos a partir de extractos hidroalcohólicos y acuosos de las hojas de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam)?

OBJETIVOS

Objetivo General:

Evaluar la actividad antioxidante: efectos hipoglucémicos a partir de extractos hidroalcohólicos y acuosos de las hojas de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam).

Objetivos Específicos:

- Caracterizar la hoja de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam) mediante un tamizaje fitoquímico.
- Valorar los flavonoides y fenoles de los extractos hidroalcohólico y acuoso mediante espectroscopia Uv-visible.
- Comparar el efecto de la actividad antioxidante de los dos extractos de las hojas, mediante la verificación de los niveles glucémicos obtenidos de los biomodelos experimentales.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Antecedentes

La investigación se fundamenta en la evaluación de la actividad hipoglucémica y en la comparación del extracto hidroalcohólico y acuoso a diferentes concentraciones respectivamente, de las hojas de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam), para determinar de esta manera cuál de los dos extractos con sus diferentes concentraciones tiene un mejor efecto hipoglucémico, esto quiere decir que, cuál de los extractos infiere en la disminución de los niveles de glucosa en la sangre.

“Actividad antioxidante de *Artocarpus heterophyllus* Lam, (jack fruit) extractos de hojas: notables atenuaciones de hiperglucemia e hiperlipidemia en ratas con estreptozotocina-diabéticos”

Esta investigación se enfoca en el análisis de los extractos de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam determinando la actividad antioxidante, hipoglucémica e hipolipidémica, por medio de la administración del extracto con etanol o n-butanol a las ratas diabéticas que fueron inducidas con estreptozotocina (STZ). A través de un análisis espectrofotométrico que se realizó al extracto de n-butanol, se pudo confirmar que el flavonoide aislado era isoquercetina. Finalizando de esta manera que tanto el extracto de n-butanol como el etanólico ejercen efectos hipoglucémicos e hipolipidémicos en ratas STZ-diabéticas mediante una vía antioxidante que podría ser referido a su contenido de flavonoides (Omar et al., 2011).

Estandarización farmacognosia y actividad antidiabética de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam.”

En este trabajo se preparó un extracto acuoso que se obtuvo por extracción Soxhlet de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam. Se mostró con el tratamiento a dosis de 250 mg/kg a ratas diabéticas, una reducción significativa de glucosa sérica. Se evidencio también que la planta tiene actividad hipoglucémica potencial que puede ser útil para el manejo y tratamiento de la diabetes mellitus (Shahin et al., 2012).

“Optimización del método de extracción de la fracción activa con efecto hipoglucemiante presente en las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam.”

En esta investigación se prepararon diferentes extractos acuosos y etanólicos a través de métodos de extracción como la decocción y Soxhlet a partir de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam, en tanto que la muestra fue recolectada en la Provincia de Pichincha, cantón Puerto Quito y en la Provincia de Bolívar, Parroquia San Luis de Pambil. Los extractos acuosos fueron liofilizados con el objeto de evitar contaminación microbiana y mantener así sus propiedades; se evaluó el contenido de la fracción activa con efecto hipoglucémico, (fenoles y flavonoides totales), por medio de la espectrofotometría UV-vis. Para Pichincha, los flavonoides y fenoles; presentaron una concentración de: 84, 806 mg EQ/ml y 439,67 mg EAG/ml respectivamente, mientras que para Bolívar 41,625 mg EQ/ml y 344.78 mg EAG/ml. Seguidamente se sometieron los extractos a análisis toxicológicos en donde demostraron que no causan toxicidad. A partir de esto midieron la actividad hipoglucemiante, los extractos de Pichincha presentaron una inhibición in vitro de la enzima alfa amilasa del 21% y Bolívar del 53.6 %. Los resultados determinaron que las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam, contienen compuestos fitoquímicos que pueden ser utilizados para el control de la hiperglucemia (Carvajal, 2018).

“Evaluación del efecto normoglicemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) en ratones diabéticos.”

En este estudio se tuvo como finalidad evaluar el efecto normoglicemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam en ratones con diabetes aloxánica. Se realizó el tamizaje fitoquímico y parámetros de control de calidad de la materia vegetal, además se conformaron 6 grupos de ratones con 7 animales cada uno, A: (sin tratamiento); B: (inducción sin tratamiento); C: (inducción + metformina) y los grupos D, E, F; suministrados el extracto de *Artocarpus heterophyllus* Lam a una dosis de 10, 20 y 40 mg/kg respectivamente. Los resultados del tamizaje fitoquímico mostraron presencia mayoritaria de saponinas y flavonoides, a través de una técnica cuantitativa se obtuvo una concentración de compuestos flavonicos de alrededor 760,30 mg/100 gr de material vegetal. Se avaló el efecto normoglicemiante a la dosis del extracto (E) en donde los valores de dextrosa $95,3 \pm 12,7$ no presento diferencias con los grupos A y C, pero respecto al grupo B si lo que refleja el resultado de la investigación y la disminución de los niveles de glucosa. (Mera y Murillo, 2018).

“Evaluación de los efectos hipoglucémicos e hipolipidémicos de una fracción de acetato de etilo de *Artocarpus heterophyllus* (jak) hojas en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina.”

Este estudio se realizó con un fin investigativo de evaluar los efectos hipoglucémicos e hipolipidémicos a partir del extracto de acetato de etilo de las hojas maduras de *Artocarpus heterophyllus* Lam en un modelo de rata diabética inducida por estreptozotocina. El fraccionamiento del material vegetal fue realizado mediante Soxhlet, con solventes como, diclorometano, acetato de etilo (extracto usado en la investigación) y agua. Las ratas se las dividió en tres grupos (control, de prueba y de referencia) con seis ratas cada uno las que fueron inducidas por estreptozotocina a una dosis de 60mg/kg de peso corporal. Al grupo de control se le administro agua destilada, mientras que al grupo de prueba y de referencia se administró por vía oral la fracción de acetato de etilo y glibenclamida respectivamente diariamente durante 5 semanas. En ratas norma glucémicas la dosis de 20mg/kg redujo la concentración de glucosa con un valor de significancia ($P < 0,05$). En comparación con las ratas diabéticas de control, las ratas a las que se suministraron el extracto tenían un 39 % menos de glucosa en el suero. Se puede concluir que la fracción activa contiene uno o más principios hipoglucémicos y hipolipidémicos (Chackrewarthy et al., 2010).

“Evaluación de la eficacia hipoglicemiante del extracto natural de *Artocarpus heterophyllus* (Jack fruit) en ratas hiperglicémicas.”

La investigación consistió en la medición del efecto hipoglucemiante del extracto natural de *Artocarpus heterophyllus* Lam mediante modelos bioexperimentales. Se utilizaron hojas maduras de la planta, se sometió a extracción mediante Soxhlet y su posterior liofilización, obteniendo una concentración de 44, 2 mg/ml. Las ratas de la cepa Wistar fueron inducidas a diabetes mediante la administración de almidón a una dosis de 3g/kg, los extractos se suministraron en dosis de 250, 500 y 1000 mg/kg mientras que como control positivo se utilizó glibenclamida a una dosis de 5mg/kg y como control negativo agua destilada. La administración de 250 mg/kg arroja una reducción de la glucosa, esto afirma que el extracto puede ser una alternativa para prevención y tratamiento terapéutico de la diabetes (Alvarado, 2019).

1.2. *Artocarpus heterophyllus* Lam

La Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam) es una especie tropical nativa del sureste de la India, también cultivada en Kenia, Isla Mauricio, Uganda, Jamaica, México, Las Bahamas, Estados Unidos y Australia. Los nombres comunes de esta especie son: *Jack fruit* (Ingles); *jacquier* (Francia); *nanka* (Indonesia); *jaca o yaca* (español y portugués); *lanka* (filipinas), *jaca dura* (Brasil) (Luna et al., 2013, p. 66).

Es un árbol con una altura de 8 a 25 m y un diámetro del tallo de 30 a 80 cm, todas las partes exudan látex blanco. Las hojas son de colores verde oscuro, brillantes, correosos, rígidos, grandes

(alrededor de 16 cm de largo) y varía de forma elíptica a ovalada. Estas presentan lobulaciones cuando son jóvenes (Elevitch y Manner, 2006, p. 3).



Figura 1-1. Hojas de Yaca
(*Artocarpus heterophyllus* Lam).

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Las flores son cortas, brotan de ramas gruesas, las cuales se originan del tronco y ramas mayores; la especie es monoica es decir las flores femeninas son de mayor tamaño y poseen un pedicelo grueso mientras tanto las masculinas son pequeñas y su pedicelo es delgado. Los frutos oscilan en un peso de 4.5-27.3 kg, el epicarpio es grueso y rugoso, la parte comestible contiene una pulpa dulce, aromática y crujiente, mientras la parte no comestible separa las semillas de la pulpa; cada fruto contiene de 30 a 500 semillas las cuales bordean una longitud de 2 a 3 cm (Crane y Balerdi, 2000, p. 1-2).



Figura 2-1. Fruto de Yaca
(*Artocarpus heterophyllus* Lam).

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Tabla 1-1: Descripción botánica de *Artocarpus heterophyllus* Lam.

Reino	Plantae
Subreino	Tracheobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Hamamelidae
Orden	Urticales
Familia	Moraceae
Especie	<i>Artocarpus Heterophyllus</i> Justicia

Fuente: (Prakash et al., 2009, p. 353).

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

1.2.1. Composición Química

Los metabolitos secundarios son sustancias con carácter heterogéneo, a pesar de esto comparten las siguientes características: son propios del reino vegetal, de bajo peso molecular, no son sintetizadas por el hombre, no son imprescindibles, ejercen una función protectora sobre la salud humana en dosis significativas. Entre las funciones que se pueden enlistar están: biológicas como la actividad antioxidante, modulación de las enzimas desintoxicantes, activación del sistema inmune, reducción de la agregación plaquetaria, modulación del equilibrio hormonal, actividad antibacteriana, y antiviral (Carratù y Sanzini, 2005, p. 8).

La *Artocarpus heterophyllus* Lam contiene diversas sustancias químicas como flavonas, colorantes, morina, dihidromorina, cinomacurina, artocarpina, isoartocarpina, cicloartocarpina, artocarpesina, oxidihidroartocarpesina, artocarpetin, norartocarpetin, cycloartinone y artocarpanone (Prakash et al., 2009a, p. 354).

Además, contiene sacarosa, ácidos grasos, ácido elágico y determinados aminoácidos esenciales tales como arginina, cistina, histidina, leucina, lisina, metionina, teonina y triptófano. En el mismo contexto ácido betúlico, y pigmentos flavonicos que se encuentran en la corteza del tronco principal. Las hojas y el tallo muestran la presencia de sapogeninas, cicloartenona, cicloartenol, β -sitosterol y tanino a su vez en la raíz se encuentran ácido ursólico, ácido betúlico y cicloartenona (Prakash et al., 2009b, p. 354).

Los metabolitos secundarios que ejercen el efecto glucémico son los compuestos fenólicos y los flavonoides.

1.2.1.1. *Compuestos Fenólicos*

Los fenoles son metabolitos secundarios importantes para el desarrollo y reproducción de plantas, debido a esto regulan el metabolismo y síntesis de la lignina, son sintetizados a partir de la fenilalanina por la vía del Shikímato. Su principal función es la de actuar como protector al organismo humano (Carvajal, 2018a, p. 17).

Es un grupo heterogéneo que se divide en: flavonoides, ácidos fenólicos y polifenoles. Así pues plantas y alimentos contienen diversos derivados fenólicos como fenoles simples, fenil propanoides, estilbenos, taninos, ligninas y lignanos de igual manera estas sustancias son fundamentales para el crecimiento y reproducción de plantas (Porras y López, 2009, p. 122).

Básicamente su estructura consiste en un grupo funcional hidroxilo que esta enlazado a un radical arilo, su fórmula general para los grupos fenólicos se define como Ar-OH. Existen alrededor de 8000 compuestos químicos que contienen en su estructura un anillo aromático con sustituyentes hidroxilos, en tal sentido se dividen en flavonoides y no flavonoides (Meriño, 2019, p. 20). Además, debido a su reactividad se combinan con un ácido orgánico, un azúcar con la finalidad de formar un polímero (Gracia, 2006, p. 1).

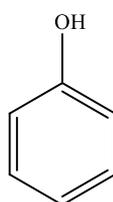


Figura 3-1. Estructura del fenol

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

En los alimentos intervienen como antioxidantes naturales los compuestos fenólicos, esta propiedad se confiere debido a su capacidad de quelar metales, ya sea equilibrando o elevando su actividad catalítica (Porras y López, 2009a, p. 122).

1.2.1.2. *Flavonoides*

Estos compuestos fitoquímicos se encuentran en los vegetales en forma de pigmentos naturales, se encargan de proteger al organismo de agentes oxidantes como, los rayos ultravioletas, sustancias químicas etc. Se encuentran distribuidos en plantas, frutas, verduras y bebidas. Estas sustancias fitoquímicas, el organismo humano no puede sintetizarlas, por lo tanto se obtiene por la alimentación o en forma de suplementos (Martínez et al., 2002, p. 271).

Estos compuestos fueron descubiertos por el Premio Nobel Szent-Gyorgy quien aisló del limón una sustancia flavonica denominada citrina (Martínez et al., 2002a, p. 271). Por otra parte, también tienen efectos terapéuticos en enfermedades como cáncer, cardiopatía isquémica y la aterosclerosis (Martínez et al., 2002b, p. 272).

Los flavonoides contienen químicamente un número variable de grupos hidroxilos fenólicos, que les confiere su actividad antioxidante. Son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenil piranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilo A y B ligados por un anillo C (Martínez et al., 2002c, p. 272).

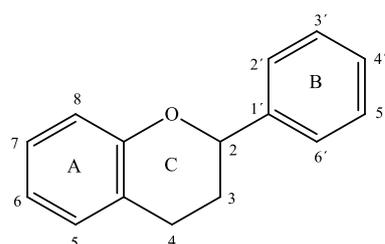


Figura 4-1. Estructura básica de un flavonoide

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Igualmente, la biogénesis de los flavonoides es mixta debido a que, el anillo A se origina de la ruta de la malonilcoenzima A mientras que el anillo B y C de la ruta del ácido shikímico (López, 2016, p. 7).

En base a la estructura química descrita anteriormente existen sustituciones y variaciones en el anillo C, es por esta razón que los flavonoides se pueden clasificar en flavanos, flavonoles, flavonas, antocianidinas (Martínez et al., 2002d, p. 272).

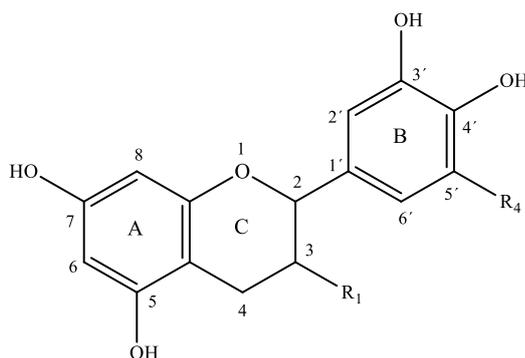


Figura 5-1. Estructura básica de un flavano

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

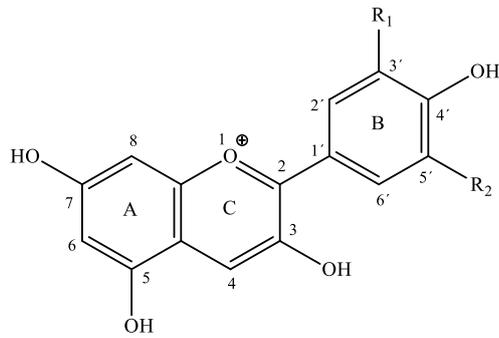


Figura 6-1. Estructura básica de un flavonol

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

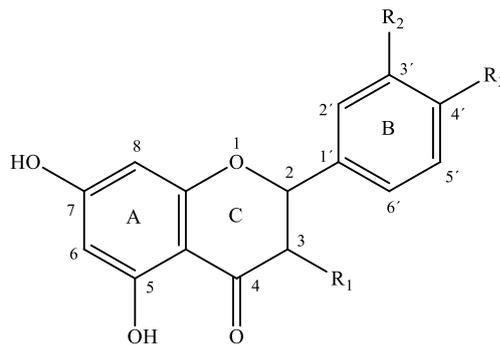


Figura 7-1. Estructura básica de una flavona

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

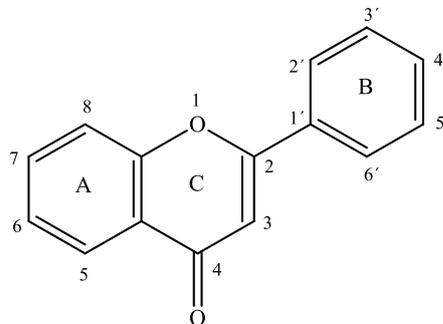


Figura 8-1. Estructura básica de una antocianidina

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

A su vez los flavonoles y las flavonas se unen azúcares preferentemente en la posición C3 del anillo A, formando O-glicósidos, siendo la D-glucosa el residuo de azúcar más frecuente. La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de relación estructural de las diversas partes de la estructura química (Martínez et al., 2002e, p. 272).

Los flavonoides presentan una elevada actividad farmacológica debido a la unión a polímeros biológicos, como enzimas, transportadores de hormonas, ácido desoxirribonucleico (ADN); lo

que permite quelar iones metálicos transitorios, tales como Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , catalizar el transporte de electrones y depurar radicales libres. Es por esta razón que actúa como un protector en patologías como, diabetes mellitus, infecciones e inflamaciones (Martínez et al., 2002f, p. 274)

1.2.2. Aprovechamiento de la especie *Artocarpus heterophyllus* Lam

Las hojas y los desechos de la fruta sirven como forraje para el ganado, los cerdos y las cabras; son útiles en furúnculos, fiebre y heridas de la piel, así como la madera es nervina, antidiabética, sedante y es útil en convulsiones (Prakash et al., 2009c, p. 355).

La pulpa de la fruta joven se cuece como un alimento con almidón de igual manera cuando se encuentra madura se consume fresca o se procesa para la obtención de mermelada, jalea y chutney. Esta funciona como aromatizante en helados y bebidas en ese mismo contexto a partir la fermentación de la fruta y su posterior destilación se produce licor alcohólico (Elevitch y Manner, 2006a, p. 10).

El látex se utiliza en oftálmica, trastornos y faringitis además las semillas son diuréticas, las astillas de madera de yaca producen un tinte, el cual permite dar la pigmentación anaranjada a las túnicas de los sacerdotes budistas. De igual forma la corteza, las raíces, las hojas y los frutos, tienen propiedades medicinales. El árbol es una fuente de madera duradera que envejece hasta un color naranja o marrón rojizo, con propiedades anti-termitas (Prakash et al., 2009d, p. 353).

1.2.3. Tamizaje Fitoquímico

El tamizaje o screening fitoquímico es una de las etapas iniciales en el estudio fitoquímico que permite identificar cualitativamente los principales principios activos presentes en la planta, consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y condiciones específicas como presión o calor, esta técnica permite resultados rápidos en base a reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo.

Uno de los métodos de extracción de principios activos es la maceración la cual consiste en poner en contacto la muestra vegetal pulverizada con un solvente determinado, en función a su polaridad, durante un tiempo limitado (Pandey y Tripathi, 2014, p. 117).

El solvente actúa sobre todo el contenido del material vegetal, circulando a través de todas las direcciones y sentidos, transfiriendo los grupos químicos de la planta, hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular. La unión o contacto entre contenido del material vegetal o solvente se protege de la luz, con la finalidad de que no se produzcan reacciones químicas (Carrión y García, 2010, p. 28).

Además, se realiza la técnica sonicación la cual se basa en el uso de ultrasonidos con rango de frecuencias lo que produce permeabilidad de las paredes celulares efectuando cavitación (Pandey y Tripathi, 2014a, p. 117). Los diferentes componentes de interés de la matriz se arrastran por consecuencia de vibraciones mecánicas; este proceso permite una mejor extracción de sustancias fitoquímicas presentes en el contenido del material vegetal (López et al., 2016, p. 116).

1.2.4. Extracto hidroalcohólico y acuoso de *Artocarpus heterophyllus* Lam

Los extractos son aquellas sustancias que se obtienen mediante extracción sólido-líquida a partir las diferentes fracciones de una planta determinada. Se pueden emplear diferentes solventes en este proceso, y pueden ser; agua, alcohol y éter. Se conoce como extracto acuoso al emplear agua como solvente y extracto hidroalcohólico al utilizar una porción de alcohol y agua. Existen diferentes técnicas de extracción, entre las cuales están: infusión, maceración, digestión, percolación, extracción continua y destilación.

La liofilización es un proceso de conservación de extractos, que a través de sublimación se elimina el agua a presiones altas y temperaturas bajas con la finalidad de mantener los componentes volátiles y las propiedades de productos biológicos (Ramirez, 2006, p. 1). La sublimación se produce cuando la presión de vapor y la temperatura de la superficie del hielo se encuentran por debajo del punto triple del agua (Ayala et al., 2010, p. 122). El producto final liofilizado presenta las siguientes características: alta solubilidad, alta porosidad, y condiciones estériles (Carvajal, 2018b, p. 19).

1.3. Efecto hipoglucémico

Se le atribuye al fármaco, sustancia o extracto natural capaz de disminuir los niveles de glucosa en la sangre. Se llevaron a cabo estudios para evaluar la actividad o tolerancia a la glucosa a partir del extracto de agua caliente de yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam), en pacientes normales y pacientes diabéticos en fase inicial; se evidenció un efecto a una dosis de 20 g/kg de solución de extracto, mejorando significativamente la tolerancia a la glucosa avalando que la especie actúa como regulador de glucosa en la sangre (Prakash et al., 2009e, p. 356).

1.3.1. Hiperglucemia

Se considera como hiperglicemia a niveles altos de glucosa en la sangre originada por desórdenes alimenticios y sedentarismo; incluye los siguientes síntomas: visión borrosa, pérdida de peso, polidipsia, polifagia e infecciones. Al no ser controlada la enfermedad presentan las siguientes consecuencias, hiperglucemia con cetoacidosis o el síndrome hiperosmolar no cetósico, retinopatía, nefropatía, amputaciones y articulaciones de Charcot, etc. (American Diabetes Association, 2005, p. S37)

La hiperglucemia crónica como consecuencia de la diabetes no controlada causa una serie de complicaciones en los sistemas y órganos en el transcurso del tiempo y al no ser tratada puede causar pérdida de visión, amputación de extremidades y la muerte (Organización Mundial de Salud, 2020).

1.3.2. Diabetes

La diabetes es una enfermedad crónica que se produce por el mal funcionamiento del páncreas al no producir insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza de manera correcta la insulina que produce, debido a que esta hormona se encarga de regular los niveles de glucosa en la sangre. (Organización Mundial de la Salud, 2020a).

Actualmente la epidemia causada por el SARS-CoV-2 tiene un efecto de mayor complicación en pacientes diabéticos elevando la tasa de mortalidad (Paz, 2020, p. 176). El número de individuos con esta patología aumentó de 108 millones en 1980 a 422 millones en 2014. En este mismo contexto ha provocado la muerte de 2.2 y 1.6 millones de muertes en los años 2012 y 2016 respectivamente, en base a los datos la prevalencia ha aumentado con mayor rapidez en los países subdesarrollados que los de primer mundo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) atribuye a la diabetes una elevada tasa de mortalidad en la población mundial (Organización Mundial de la Salud, 2020b).

Diversos procesos patógenos están involucrados en desarrollo de la diabetes. Estos comienzan desde la destrucción de las células β del páncreas que tiene como efecto la deficiencia hasta la resistencia de la función de la insulina debido a una secreción inadecuada o una disminución de las respuestas de los tejidos en los múltiples conductos de las vías de acción hormonal (American Diabetes Association, 2005a, p. S37)

La diabetes mellitus se clasifica en: diabetes mellitus tipo I, diabetes mellitus tipo II, formas híbridas de diabetes, otros tipos específicos, diabetes no clasificada, hiperglucemia detectada por primera vez durante el embarazo (World Health Organization, 2019, p. 211).

El tratamiento farmacológico inicial para tratar la diabetes mellitus tipo II (DMT2) abarca el uso de antidiabéticos orales; los cuales se citan a continuación: biguanidas, sulfonilureas, glinidas, tiazolidinedionas e inhibidores de α -glucosidasa (Rodríguez et al., 2017, p. 204).

- **Biguanidas**

Las biguanidas son sensibilizadoras de insulina que reducen los niveles altos de azúcar en la sangre, sin embargo pueden producir sobrepeso e hipoglucemia. Además disminuyen las grasas lo que resulta en un efecto protector al sistema circulatorio. La acidosis láctica es un efecto negativo en el paciente diabético. La metformina es la más conocida en este grupo, inhibe la

absorción intestinal de glucosa e incrementa la recaptura de dextrosa por musculo esquelético (Rodríguez et al., 2017a, p. 205).

El transportador de mono aminas de la membrana celular permite la absorción de la metformina en el intestino a su vez es llevada al hígado por la vena portal hepática; su eliminación esta mediada por el transportador de iones orgánicos y se excreta sin ser metabolizada (Rodríguez et al., 2017b, p. 205).

- **Sulfonilureas**

Las sulfonilureas son secretagogos de la insulina promueven la liberación de insulina a largo plazo inhibiendo los canales de potasio sensibles a ATP. La administración en combinación con biguanidas mejora el tratamiento (Rodríguez et al., 2017c, p. 205). Entre los efectos adversos se encuentran hipoglucemia, aumentos de peso, problemas cardiovasculares por lo que se debe suministrar con precaución. Dentro de este grupo la más importante es la glibenclamida, su utilización se dificulta en pacientes poli medicados debido a sus interacciones medicamentosas (salicilatos, sulfonamidas, diuréticos, fibratos, dicumarinicos, corticoides, alopurinol, metotrexato) (Gómez et al., 2018, p. 5).

1.4. Reactivo Biológico

Se conoce como reactivo biológico a un animal estandarizado, es decir que tiene constitución genética y sanitaria concreta, además su pureza debe ser vigilada y controlada, así pues cuidando de cualquier contaminación existente, por tal razón debe ser criado con todos los requerimientos óptimos y necesarios, teniendo en cuenta el ambiente controlado para así respetar las exigencias necesarias de dicha especie, recalando sobre todo el correcto proceder de los principios éticos y de bienestar animal (Hernández, 2006, p. 252).

La utilización de animales con un estado de salud defectuosa, deplorable, conlleva a la obtención de resultados incorrectos. Ya que, al tener resultados erróneos, conllevaría a la repetición de los análisis, teniendo un costo mayor y además desde la misma mirada ética y moral sería una irresponsabilidad debido a que se está trabajando con seres vivos (Hernández, 2006a, p. 252).

Por esta razón con la finalidad de facilitar a los investigadores con animales muy sanos, se han desarrollado animales libres de gérmenes, conocidos como axénicos, con flora bacteriana o vírica conocida (Valverde, 2019, p. 40) y sobre todo libre de gérmenes patógenos específicos conocidos como SPF (Hernández, 2006b, p. 252).

1.4.1. Rata (*Rattus norvegicus*)

Tabla 2-1: Taxonomía de *Rattus norvegicus*.

Reino	Animalia
Phylum	Chordata
Clase	Mammalia
Orden	Rodentia
Familia	Muridae
Género	Rattus
Especie	norvegicus
Nombre Científico	<i>Rattus norvegicus</i> Berkenhout

Fuente: Álvarez, Jorge y Medellín, Rodríguez; 2005

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Al mencionar el género *Rattus*, cabe recalcar que está conformado por alrededor de 56 especies y sobre todo tienen como característica usual el ser un espécimen cosmopolita, es decir, que tienen la capacidad de alimentarse y sobrevivir en un sin número de hábitats. También son animales predilectos para realizar trabajos en el área de la experimentación, visto que se conoce su conducta, alimentación y fisiología (Méndez y Pérez, 2011, p. 128).



Figura 9-1. *Rattus norvegicus*.

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Durante el transcurso de la vida del animal, sus huesos nunca dejan de crecer, en comparación con el ratón. Existe similitud entre la rata y el ratón en la estructura del estómago e intestinos, no obstante, en la rata el páncreas se localiza más propagado entre el tejido mesentérico. Otra de las características es la ausencia de vesícula biliar (Buenaño, 2011, p.45).

En las vísceras se localizan un gran número de glándulas sexuales, lo que incide en una mejor reproducción animal, a su vez los testículos pueden interrelacionarse con la cavidad torácica, a causa de poseer un canal inguinal abierto (Buenaño 2011a, p.45).

Además, la especie tiene glándulas de Harder las cuales excretan una sustancia roja, causando depósitos secos, generalmente esto se produce al someterla a situaciones de tensión cuando se les sujeta incorrectamente o cuando tienen una alteración por coronavirus (Buenaño, 2011b, p.45).

Tabla 3-1: Parámetros fisiológicos de *Rattus norvegicus*.

Parámetro	Valor típico
Número de cromosomas (2n)	40
Temperatura corporal	37 °C
Latidos/min	328(250-600)
Peso corporal de adulto macho	400 g
Peso corporal de adulto hembra	300 g
Peso al nacer	5 g
Ingesta de agua	40 ml/100 g peso corporal/día
Ingesta de alimentos	15-20 g/día
Promedio de vida	2-3 años
Madurez sexual	13 semanas
Ciclo estrual	5 días
Duración del estro	13-15 h
Ovulación	8-10 h después del estro (espontaneo)
Gestación	20-22 días
Vida sexual	1.5 años
Promedio de crías	7-11
Edad destete	21 días
Edad pubertad	2-3 meses
Comienza a comer sólidos	10-12 días

Fuente: Quezada Abraham “Introducción al manejo de animales”, 1997 citado en Buenaño, 2011c, p. 5

Realizado: López, C.; Masabanda, H. 2021.

CAPITULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Lugar de investigación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los siguientes laboratorios:

- **Identificación y certificado del material vegetal:** Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- **Control de calidad del material vegetal:** Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de ciencias de la Escuela de Ciencias Químicas perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- **Tamizaje fitoquímico (análisis cualitativo):** Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Escuela de Bioquímica y Farmacia perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- **Preparación de los extractos y su posterior control de calidad, así como la cuantificación de fenoles y flavonoides (Análisis cuantitativo):** Laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- **Análisis de los extractos en el espectrofotómetro UV:** Laboratorio de análisis instrumental de la Facultad de Ciencias perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- **Liofilización de los extractos:** Laboratorio de toxicología de la Facultad de Ciencias, de la Escuela de Bioquímica y Farmacia perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- **Análisis hipoglucemiante:** Bioterio de la Facultad de Ciencias, de la Escuela de Bioquímica y Farmacia perteneciente a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2. Población de estudio

Concentraciones de 125, 250 y 400 ppm de los extractos hidroalcohólicos y acuosos de las hojas de planta Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam).

Cuarenta y cinco unidades experimentales de Ratas (*Rattus norvegicus*).

2.3. Tamaño de la muestra

Para determinar el tamaño se realizó muestreos aleatorios, adquiriendo aproximadamente 2 kg de hojas de la planta fresca de la especie vegetal Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam).

2.4. Selección de la muestra

Criterios de inclusión: Aquellas hojas que presenten buen estado, vigorosidad, y sobre todo que estén frescas. Teniendo en cuenta que sean plantas jóvenes y que presenten un tamaño adecuado y que sean accesibles (Zurita, 2019, p. 20).

Criterios de exclusión: Hojas que presenten daños por acción de animales o condiciones externas. También aquellas hojas que muestre un deterioro debido al agua o el viento y en proceso de descomposición (Zurita, 2019a, p. 20).

2.5. Tipo de investigación

Este estudio por el método de investigación es cuantitativa debido a que se va a medir los valores glucémicos en biomodelos experimentales y cuantificar la fracción hipoglucémica en los extractos. Según el objetivo esta investigación es de tipo aplicada puesto que a través del conocimiento teórico se pondrá en práctica métodos experimentales con el fin de lograr el objetivo de esta investigación. Según la manipulación de variables es experimental porque se manipulará las variables independientes (extractos hidroalcohólicos y acuosos a sus diferentes concentraciones) para observar sus efectos en la (actividad hipoglucémica en ratas (*Rattus norvegicus*) variable dependiente. Según el nivel de profundización en el objeto de estudio es explicativa debido a que todos los procesos tienen un propósito investigativo. Según el tipo de inferencia es hipotético deductivo porque se podrá evidenciar si los extractos ejercen efectos hipoglucémicos y también comparar cuál de estos tienen una mejor actividad antioxidante.

2.6. Hipótesis

Hipótesis Alternativa:

Los extractos hidroalcohólicos y acuosos en sus diferentes concentraciones de las hojas de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam) tienen efectos hipoglucémicos.

Hipótesis Nula:

Los extractos hidroalcohólicos y acuosos en sus diferentes concentraciones de las hojas de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam) no tienen efectos hipoglucémicos.

2.7. Variables

Variable independiente:

Concentraciones de 125, 250 y 400 ppm del extracto hidroalcohólico de las hojas de Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam).

Concentraciones de 125, 250 y 400 ppm del extracto acuoso de las hojas de Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam).

Variable dependiente

Efectos hipoglucémicos en biomodelos experimentales.

2.8. Diseño Experimental

El diseño experimental consiste en el desarrollo de varios tratamientos en base a niveles de un factor o la combinación niveles de varios factores, de esta manera permite analizar los datos con pruebas estadísticas y ver si hay diferencias significativas entre los tratamientos, lo que conlleva a responder el problema e hipótesis de investigación planteadas por el investigador. Se utilizaron 45 unidades experimentales de ratas (*Rattus norvegicus*), las cuales fueron divididas en 9 grupos, 5 en cada uno, el blanco, control positivo (metformina-glibenclamida), control negativo, tres grupos a los cuales se les administró los extractos hidroalcohólicos a concentraciones de 100, 250 y 400 ppm y tres grupos que se les administró los extractos acuosos a las mismas concentraciones.

2.9. Diseño estadístico

Las técnicas estadísticas utilizadas en esta investigación son, pruebas de normalidad con el objetivo de determinar si la distribución es normal o no normal, el Análisis de Varianza (ANOVA) con el fin de notar si hay significancia estadística entre los grupos experimentales y t-student para muestras independientes para comparar entre sí, y ver si existe diferencias significativas entre dos tratamientos, utilizando como software el SPSS.

2.10. Materiales, equipos y reactivos

2.10.1. Recolección de material Vegetal

Para la realización de este trabajo de investigación se recogieron muestras de las hojas de Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam), en la Provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, en la ciudad de Santo Domingo, parroquia Luz de América, a 327 msnm, con temperatura de entre 23 y 26 °C.

Para proceder con la identificación de la planta, se tomó una muestra que consistió en una pequeña rama con flores y hojas, que posteriormente se colocó en media hoja de papel periódico para su secado, posteriormente la muestra fue llevada al herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo para su identificación a cargo del Ingeniero Jorge Caranqui.

En esta investigación se utilizó la porción aérea de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam), es decir las hojas, estas fueron previamente secadas en una estufa de aire a 40 °C por 48 horas, posteriormente fue fraccionado en un molino marca Arthur H. Tomas C.O hasta que las porciones de las hojas tengan un tamaño de entre 2-3 mm. Esto se efectuó con la intención de determinar el control de calidad que requiere la materia vegetal cruda, para realizar sus posteriores análisis, que consistió en el tamizaje fitoquímico y el análisis cuantitativo de fenoles y flavonoides totales y su posterior ensayo de hipoglucemia en los modelos biogénéticos.

2.10.2. Material Biológico

Para llevar a cabo el estudio in vivo de la actividad antioxidante: Efectos hipoglucémicos a partir de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam), los modelos biogénéticos experimentales empleados fueron ratas (*Rattus norvegicus*).

2.10.2.1. Descripción

- **Lugar de nacimiento:** Bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- **Edad:** 4 - 5 meses
- **Peso promedio:** 300 g
- **Sexo:** Machos

2.10.3. Material Farmacológico

Para el control positivo se empleó Metformina/Glibenclamida 50 mg para la comparación en el estudio realizado para analizar los efectos hipoglucémicos.

2.10.4. Materiales de laboratorio

Tabla 1-2: Representación de los materiales de laboratorio empleados en cada análisis.

Control de calidad del material vegetal
<ul style="list-style-type: none"> • Crisoles de porcelana
<ul style="list-style-type: none"> • Cápsulas de porcelana

• Pinza
• Desecador
• Pipeta de 5 ml
• Piseta
Tamizaje Fitoquímico “screening fitoquímico”
• Frascos ámbar
• Gradilla
• Tubos de ensayo
• Pipeta de 1 ml
• Pipeta de 5 ml
• Pipeta de 10 ml
• Vasos de precipitación de 250 ml
• Piseta
• Trípode
• Papel filtro
• Embudo simple
• Malla
Preparación de los extractos acuoso e hidroalcohólico
• Vidrio reloj
• Tubos de ensayo con tapa de rosca
• Probeta de 10 ml
• Kitasato
• Embudo Buchner
• Manguera
Purificación de los extractos mediante Cromatografía en Columna
• Columna de vidrio de 50 x 3 cm
• Vasos de 50 ml
• Vasos de 100 ml
• Pipetas de 10 ml

Control de calidad de los extractos
• Cápsulas de porcelana
• Pinza
• Desecador
• Pipeta de 5 ml
• Pipeta Pasteur
Cuantificación de fenoles y flavonoides mediante (Espectro UV)
• Balones aforados de 250 ml
• Balón aforado de 100 ml
• Balón aforado de 25 ml
• Probeta de 50 ml
• Micropipeta automática de 1 ml
• Micropipeta automática de 10 ml
• Puntas azules de 1 ml
• Puntas azules de 10 ml
• Tubos de ensayo
• Gradilla
Liofilización de los extractos
• Recipiente de Liofilizador
• Termo
Ensayo Hipoglucemiante
• Tirillas reactivas
• Balones de aforo de 100 ml
• Jeringa de 3 ml
• Lanceted
• Algodón
• Alcohol antiséptico
• Guantes quirúrgicos

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

2.10.5. Equipos

Tabla 2-2: Representación de los equipos de laboratorio empleados en cada análisis.

Análisis	Equipos
Control de calidad del material vegetal	Molino Arthur H. Thomas C.O
	Sonicador Marca Branson 2510
	Reverbero
	Estufa Binder Modelo ED 56 – 57 L
	Horno Mufla de mesa de 1100 °C, Thermo Scientific™, Thermolyne, FB1310M
	Balanza analítica Ohaus Explorer EX1103
Preparación de los extractos acuoso e hidroalcohólico	Vórtex Mixer MRC S1 - 100
	Rotavapor BOECO RVO 400 SD
	Bomba de vacío
Cuantificación de fenoles y flavonoides totales mediante espectrofotometría UV	Espectrofotómetro Thermo Scientific Evolution 220
	Cronómetro
Control de calidad de los extractos	Baño maría
	Estufa Binder Modelo ED 56 – 57 L
	pH-metro
	Refractómetro
	Balanza analítica Ohaus Explorer EX1103
Liofilización de los extractos	Congelador
	Liofilizador
	Bomba de vacío
Espectroscopia infrarroja	Espectrofotómetro infrarrojo Jasco 4100
Ensayo Hipoglucemiante	Balanza Camry
	Balanza analítica Ohaus Explorer EX1103
	Glucómetro

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

2.10.6. Reactivos

Tabla 3-2: Representación de los materiales de laboratorio empleados en cada análisis.

Análisis	Reactivos
Tamizaje fitoquímico	• Reactivo de Fehling
	• Reactivo Baljet
	• Reactivo de Lieberman-Buchard
	• Reactivo de ninhidrina al 2 %
	• Reactivo de Dragendorff
	• Reactivo de Mayer
	• Reactivo de Wagner
	• Carbonato de sodio (Na ₂ CO ₃).
	• Agua destilada
	• Cloroformo
	• Anhídrido acético
	• Ácido sulfúrico concentrado
	• Ácido clorhídrico concentrado
	• Alcohol amílico
	• Tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica
	• Hidróxido de sodio al 5 % en agua
• Magnesio metálico	
• Hidróxido de potasio (5 % en etanol de 95 grados)	
• Cloruro férrico 2 %	
Preparación de los extractos	• Alcohol isopropílico al 70%
	• Agua destilada
	• Hexano
Purificación de los extractos mediante Cromatografía en Columna	• Metanol 98%

	<ul style="list-style-type: none"> • Poliamida
Cuantificación de fenoles totales mediante espectrofotometría UV	<ul style="list-style-type: none"> • Ácido Gálico
	<ul style="list-style-type: none"> • Folin-Ciocalteu 20%.
	<ul style="list-style-type: none"> • Carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 20%
	<ul style="list-style-type: none"> • Agua destilada
Liofilización de los extractos	<ul style="list-style-type: none"> • Nitrógeno líquido
Ensayo Hipoglucemiante	<ul style="list-style-type: none"> • Almidón
	<ul style="list-style-type: none"> • Propilenglicol al 15%
	<ul style="list-style-type: none"> • Metformina/Glibenclamida

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

2.11. Técnicas y métodos

2.11.1. Determinación de los parámetros de control de calidad del material vegetal

Al evaluar el material vegetal, se está identificando y a su vez determinando su calidad o pureza. La calidad del material vegetal viene dada por el conjunto de principios activos que tienen.

Existen varios métodos que me permiten evaluar, entre los cuales están: La microscopia, la percepción, el análisis biológico, y el análisis fisicoquímico. Primero se empieza con el análisis del material vegetal a través de los métodos fisicoquímicos (Miranda, 2006, p. 38-64).

Una vez que se recolecto la muestra, se procedió a determinar por triplicado los parámetros de calidad del material vegetal, cuyos pasos están establecidos en el folleto de Farmacognosia y Productos naturales (Miranda, 2006a, p. 38-64).

2.11.1.1. Determinación del contenido de humedad

Un análisis necesario para determinar la calidad de la materia vegetal es el contenido de humedad, ya que, al presentar un contenido excesivo de agua en la misma, permitiría el aumento del riesgo de contaminación microbiana que provocaría un daño del material vegetal (López, 2016a, p. 9).

En el procedimiento primeramente se pesaron 2g del material seco y pulverizado, esto fue llevado a una capsula de porcelana preliminarmente tarada, para después ser desecado a una temperatura de aproximadamente 105 °C en una estufa de aire por un lapso de 3 horas. Transcurrido el tiempo, la muestra fue trasladada al desecador para evitar contaminación del ambiente por alrededor de 15 minutos (Miranda, 2006b, p. 38-64).

Posteriormente en una balanza analítica se pesó, y se repitió el proceso de secado hasta obtener una masa constante. Mediante la ecuación que se muestra a continuación se procedió a calcular la cantidad de humedad que está presente en la muestra. (Miranda, 2006c, p. 38-64):

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

Donde:

% H = Pérdida en peso por desecación

M = Masa de la capsula vacía.

M₁ = Masa de la capsula con la muestra de ensayo desecada.

M₂ = Masa de la capsula con la muestra de ensayo.

100 = Factor matemático.

2.11.1.2. *Determinación de cenizas totales*

La muestra de estudio contiene una cantidad de minerales, la cual está representada por el valor de las cenizas totales, que, en otras palabras, es el resto inorgánico que sobra tras excluir la materia orgánica de la muestra seca mediante la calcinación, esto se determina de manera gravimétrica (Miranda, 2006c, p. 38-64).

Una vez que la muestra estuvo seca y molida se pesó 2 gramos con una desviación de 0.5g en un crisol de porcelana primeramente tarado. Luego el crisol con los 2 gramos se llevó a un reverbero hasta lograr que la muestra se carbonice totalmente, para posteriormente ser llevada a la mufla para su incineración a 700 °C por 2 horas (Miranda, 2006d, pp. 38-64).

Después de haber transcurrido ese tiempo, con una pinza y con mucho cuidado se sacó el crisol de la mufla y se colocó en un desecador y al cabo de unos minutos se retiró del desecador y se pesó. Cabe recalcar que el proceso se repite hasta que dos pesadas consecuentes no tengan una diferencia en más de 0.5 mg por g. Para poder obtener una masa invariable, debemos recordar que el tiempo entre el calentamiento y el pesaje fue de media hora (Miranda, 2006e, p. 38-64).

Finalmente, se determinó el porcentaje de cenizas totales del material vegetal mediante el cálculo a través de la siguiente ecuación (Miranda, 2006f, p. 38-64):

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

Donde:

%C = porcentaje de cenizas totales.

M = masa del crisol vacío (g)

M₁ = masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M₂ = masa del crisol con la ceniza (g)

2.11.1.3. *Determinación de cenizas solubles en agua*

Este análisis tiene como finalidad determinar la parte de material inorgánico que está presente en las cenizas totales.

Con la porción de las cenizas totales que se obtuvo anteriormente, se le añadió de 15 a 20 ml de agua destilada, el crisol fue cubierto por un vidrio reloj y fue hervido alrededor de 5 minutos. La solución obtenida se filtró a través de un papel filtro. Tanto la solución filtrada como el papel filtro se introdujeron en el crisol inicial; se calcino y posteriormente se llevó a la mufla por un lapso de 2 horas a una temperatura que oscila entre los 700 a 750°C. Después se colocó en un desecador por 15 minutos, luego se pesó. Para la obtención de una masa constante se repitió el proceso de incineración (Miranda, 2006g, p. 38-64).

Para el cálculo del valor en porcentaje de cenizas solubles en agua se utilizó la siguiente ecuación:

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

Donde:

% Ca= Porcentaje de cenizas solubles en agua.

M = Masa del crisol vacío.

M₁ = Masa del crisol con la muestra de ensayo. (g)

M₂ = Masa del crisol con las cenizas totales. (g)

M_a = Masa del crisol con las cenizas insolubles en agua. (g)

100 = Factor Matemático.

2.11.1.4. *Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico*

Este análisis tiene como finalidad establecer el contenido de las sustancias minerales que no son solubles en ácido clorhídrico en la materia vegetal. También la materia arenosa que tiene lugar en el material vegetal es medida mediante las cenizas insolubles en ácido clorhídrico (López, 2016b, p. 29).

De manera gravimétrica se procedió a determinar las cenizas insolubles en ácido clorhídrico, partiendo de las cenizas totales que se obtuvieron anteriormente, a estas se le añadió 2.5 ± 0.5 mL de ácido clorhídrico al 10%, inmediatamente se tapó el crisol con un vidrio reloj y se calentó en un baño maría por 10 minutos (Miranda, 2006h, p. 38-64).

Luego se lavó el vidrio reloj y la solución se mezcló con lo que contenía el crisol. Después se filtró y el residuo retenido se lavó con agua caliente hasta que en la solución filtrada no se evidencio la presencia de cloruros después de añadir tres gotas de AgNO_3 0.1 mol/L (Miranda, 2006i, p. 38-64).

Tanto el filtrado como el material retenido en el papel filtro se secaron a 105°C en una estufa, se trasvaso al crisol inicial y se introdujo en la mufla para su incineración a $700 \pm 50^\circ\text{C}$ por 120 minutos. Luego se introdujo en un desecador hasta llegar a temperatura ambiente y posteriormente se pesó. Este proceso se repitió cada media hora, hasta que las cenizas estén completamente blancas y su masa sea constante (Miranda, 2006j, p. 38-64).

Por último, se calculó las cenizas insolubles en ácido clorhídrico utilizando la siguiente ecuación (Miranda, 2006k, p. 38-64):

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

Donde:

% B = porcentaje de cenizas insolubles en HCl en base hidratada (%)

M = masa del crisol vacío (g)

M₁ = masa del crisol con la muestra seca (g)

M₂ = masa del crisol con las cenizas insolubles en HCl (g)

2.11.2. Tamizaje fitoquímico

La manera en la cual se identifican los metabolitos primarios y secundarios es lo que se conoce como tamizaje fitoquímico o “screening fitoquímico” a través de reacciones de precipitación o coloración. Todas las pruebas que comprenden el screening fitoquímico se especializan por ser rápidas, sencillas y muy selectivas, determinando grupos o clases de compuestos químicos que, mencionando que se emplean un pequeño recurso instrumental de laboratorio.

En cuanto a la preparación de los extractos, tanto hidroalcohólico como acuoso, se usó el método de maceración, el cual consistió en utilizar como solventes agua y alcohol isopropílico al 70 %, el proceso se muestra a continuación en el gráfico 1-2.

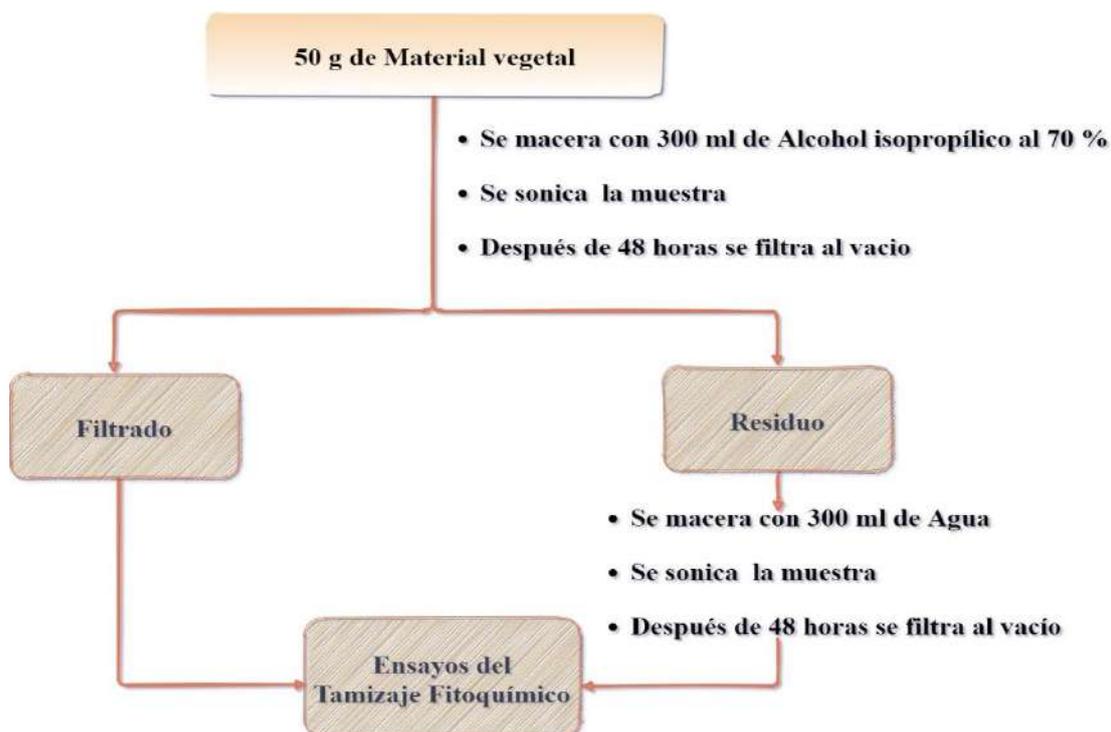


Gráfico 1-2: Preparación de los extractos para el tamizaje fitoquímico

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

2.11.2.1. Extracto Hidroalcohólico

En el siguiente grafico 2-2, se evidencia cada ensayo del tamizaje fitoquímico correspondiente al extracto hidroalcohólico.



Gráfico 2-2: Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico

Fuente: (Miranda, 2006l, p. 38-64).

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

- **Ensayo de Catequinas:** Sobre un pedazo de papel filtro se deja caer una gota del extracto y sobre la mancha que se forma se añade una poca cantidad de carbonato de sodio (Na_2CO_3). Luego se coloca el papel filtro en el Espectrofotómetro UV a 366 nm.
- **Ensayo de Resinas:** Se tomó 2 ml del extracto y se agregó 10 ml de agua destilada, el ensayo se considera positivo si aparece precipitado.
- **Ensayo de Fehling:** Este ensayo permite constatar la presencia de azúcares reductores. Primeramente, se tomó 2 ml del extracto y se evaporó el solvente, y el residuo se redisolvió con 2 ml de agua y se agregó 2 ml del reactivo para finalmente calentar en un baño de agua por 5 minutos.
- **Ensayo de Baljet:** Este ensayo permite reconocer si el extracto presenta compuestos con agrupamiento Lactónico, en especial Cumarinas. Para lo cual se tomó 2 ml del extracto y se evaporó el solvente, a continuación se redisolvió con una cantidad menor de alcohol (1ml), para finalmente adicionar 1 ml del reactivo Baljet.
- **Ensayo de Lieberman-Buchard:** Con este ensayo se evidencia la presencia de triterpenos o esteroides. Se colocó 2 ml del extracto en un tubo de ensayo se procedió a evaporar el solvente, el residuo se disolvió en 1 ml de cloroformo, se agregó 1 ml de anhídrido acético. Por la pared del tubo se dejó caer 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado, teniendo cuidado de no agitar.
- **Ensayo Espuma:** En este ensayo se manifiesta la presencia de saponinas de tipo esférica como triterpénica. Se adiciono 2 ml del extracto y seguidamente 10 ml de agua destilada y se agito la mezcla durante 10 minutos.
- **Ensayo de Cl_3Fe :** Compuestos fenólicos y/o taninos, se reconocen mediante este ensayo, en la cual se añadió 2 ml del extracto en un tubo de ensayo y luego se adiciono 3 gotas de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica.
- **Ensayo de Ninhidrina:** Mediante este ensayo se reconoce la presencia de aminoácidos libres o de aminas. Se tomó 2 ml del extracto y se mezcló con 2 ml de solución al 2 % de ninhidrina en agua, esta mezcla se calentó durante 10 minutos en baño de agua.
- **Ensayo de Borntrager:** A través de este ensayo se reconoce la existencia de quinonas en el extracto. Se colocó en un tubo de ensayo 2 ml del extracto para seguidamente evaporar el solvente, y el residuo se disolvió con 1 ml de cloroformo, para posteriormente adicionar 1 ml de hidróxido de sodio al 5 % en agua, agitamos y se dejó reposar hasta que las fases se separen.

- **Ensayo Medio Alcalino:** Este ensayo permite reconocer los flavonoides. Se tomó 2 ml del extracto y se añadió unas gotas de hidróxido de potasio (5 % en etanol de 95 grados), se tornó de una coloración amarillo naranja, finalmente se adiciono unas gotas de FeCl_3 2 % para tornarse de una coloración azul verdosa.
- **Ensayo de Shinoda:** De igual forma este ensayo permite reconocer flavonoides que están presentes en el extracto, para la cual se tomó 2 ml del extracto y seguidamente se adiciono 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y un pedazo de cinta de magnesio metálico, por alrededor de 5 minutos se lo mantuvo en reposo y se añadió 1 ml de alcohol amílico, se mezclaron las fases y finalmente para evidenciar los resultados se dejó reposar hasta que las fases se separen.
- **Ensayo de Antocianidina:** Con esta prueba se identifican la existencia de estructuras en sucesión $\text{C}_6\text{-C}_3\text{-C}_6$ del grupo de los flavonoides que estén presentes en el extracto vegetal. Para esto se tomó 2 ml del extracto y se llevó a calentar por alrededor de 10 minutos con 1 ml de HCl concentrado, se dejó enfriar y se añadió 1 ml de agua y 2 ml de alcohol amílico, hasta la separación en dos fases.
- **Ensayo de Dragendorff:** Mediante esta prueba se determina la existencia de alcaloides en el extracto, para ello se colocó 2 ml del extracto en un tubo de ensayo y se procedió a evaporar en baño de agua, el residuo se redisolvió con 1 ml de HCl al 1% en agua, y finalmente, se adiciono tres gotas del reactivo.
- **Ensayo de Mayer:** De igual manera este ensayo nos permite reconocer alcaloides. Del extracto se tomaron 2 ml y se evaporo en baño de agua, seguidamente se colocó 1 ml de HCl al 1% en agua, para después añadir una pequeña cantidad de NaCl en polvo y se agito, luego se filtró y se añadió 2 gotas del reactivo.
- **Ensayo de Wagner:** De la misma manera esta prueba permite determinar la presencia de alcaloides. Para llevar a cabo este ensayo se empezó de igual forma que en los casos anteriores de la solución acida, pero ahora al final se añadió 2 gotas del reactivo correspondiente.

2.11.2.2. *Extracto Acuoso*

De igual manera se repiten algunos ensayos, ahora empleando agua como solvente. En el grafico 3-2, se evidencian los ensayos del tamizaje fitoquímico correspondiente al extracto acuoso.

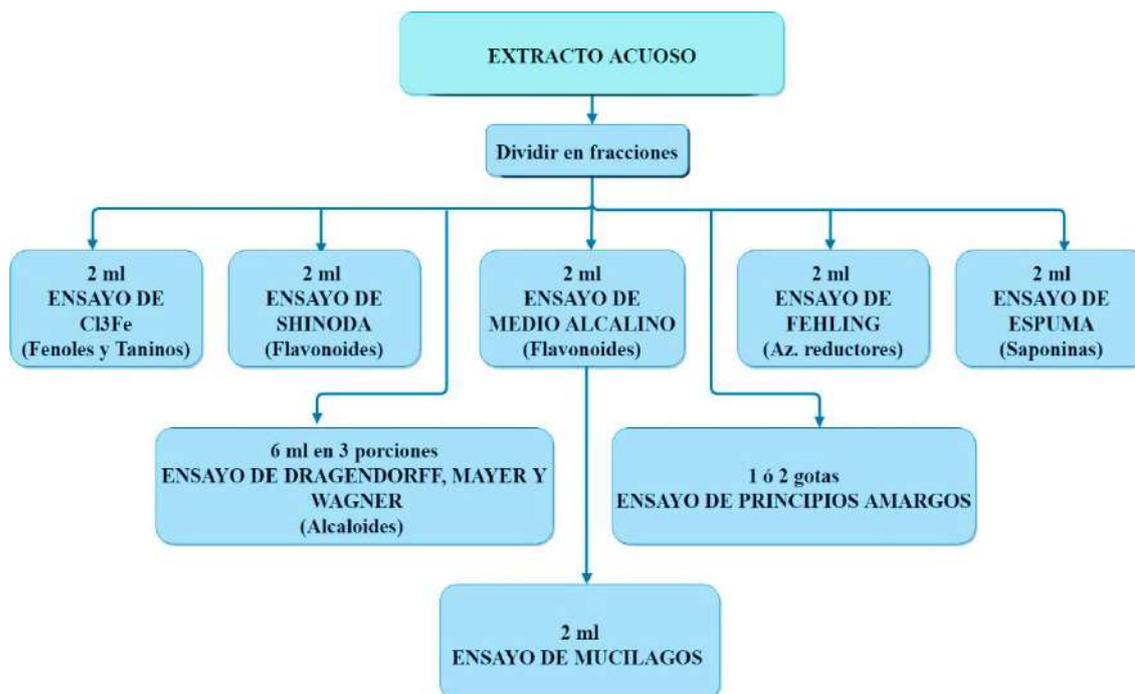


Gráfico 3-2: Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso

Fuente: (Miranda, 2006m, p. 38-64).

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

- **Ensayo de Dragendorff:** Como ya se mencionó anteriormente en el extracto hidroalcohólico, este ensayo permite identificar alcaloides. Se colocó 2 ml del extracto en un tubo de ensayo, y se añadió una gota de HCl concentrado con mucho cuidado, y a continuación se llevó a calentar suavemente y después se dejó enfriar hasta acidez, para finalmente añadir tres gotas de reactivo de Dragendorff.
- **Ensayo Mayer:** De igual forma este ensayo permite evidenciar la presencia de alcaloides. Se procedió como el ensayo anterior. Se añadió 2 ml del extracto en un tubo de ensayo, seguidamente se colocó una gota de HCl concentrado con mucho cuidado, para proceder a calentar suavemente y se dejó enfriar hasta acidez, y por último se añadió tres gotas de reactivo correspondiente.
- **Ensayo de Wagner:** Como ya es de conocimiento, este ensayo también permite identificar alcaloides. Se procedió como el ensayo anterior. Se agregó 2 ml del extracto, y se colocó una gota de HCl concentrado con mucho cuidado, seguidamente se calentó suavemente y se dejó enfriar hasta acidez, y por último se añadió tres gotas del reactivo correspondiente.
- **Ensayo de Cloruro Férrico:** En el extracto acuoso, este ensayo de igual manera me permite identificar fundamentalmente taninos. Se tomó 2 ml del extracto y se añadió acetato de sodio para equilibrar y 3 gotas de una solución de FeCl_3 al 5 % en solución salina fisiológica.

- **Ensayo de Shinoda:** Mediante esta prueba se reconoce flavonoides. Se tomó 2 ml del extracto y se adiciono 1 ml de HCl concentrado y un pedazo de cinta de magnesio metálico, se dejó reposar por 5 minutos para finalmente añadir 1 ml de alcohol amílico, se mezclaron las fases y se dejó reposar hasta que las fases se separasen.
- **Ensayo de Medio Alcalino:** Con esta prueba de igual manera permite determinar la existencia de flavonoides. Se tomó 2 ml del extracto y se añadió unas gotas de hidróxido de potasio (5 % en etanol de 95 grados), luego de esto se tornó de una coloración amarillo naranja, y finalmente se añadió unas gotas FeCl₃ al 2 % para volverse de una coloración azul verdosa.
- **Ensayo de Fehling:** Este ensayo permite demostrar la presencia de azúcares reductores. Se tomó 2 ml del extracto y se añadió 2 ml del reactivo de Fehling y por último se calentó en baño de agua por 5 minutos.
- **Ensayo de Espuma:** Con este ensayo se permite identificar saponinas. Se tomó una alícuota del extracto y se añadió 10 ml de agua y se agito por 10 minutos.
- **Ensayo de Mucilagos:** Mediante esta prueba se permite identificar la presencia de estructuras tipo polisacárido. Se tomó 2 ml del extracto y se llevó al refrigerador a una temperatura de entre 0-5 °C.
- **Ensayo de principios amargos:** Para esta prueba se tomó una gota del extracto y se saboreó reconociendo de esta manera cada uno de los principios que son bien diferenciados al paladar.

2.11.3. Preparación del Extracto Hidroalcohólico y Acuoso de *Artocarpus heterophyllus* Lam para la purificación, cuantificación de fenoles, flavonoides totales y análisis hipoglucémico.

Una vez terminado el tamizaje fitoquímico se procedió a obtener tanto el extracto isopropílico al 70 % (hidroalcohólico) y el extracto acuoso, de *Artocarpus heterophyllus* Lam, para su control de calidad y posterior análisis.

2.11.3.1. Extracto Hidroalcohólico de *Artocarpus heterophyllus* Lam

El extracto hidroalcohólico se llevó a cabo siguiendo el procedimiento que se encuentra citado a continuación y establecido en el trabajo realizado por Andersen y Markham (2006, pp.1-10).

Procedimiento

Para la elaboración del extracto se comenzó pesando 1 g del material vegetal seco y molido, esta

se añadió en un tubo de ensayo con tapa de rosca y se colocó 10 ml de alcohol isopropílico al 70 % y 10 ml de hexano, para llevarlo al agitador vórtex durante 15 minutos. Una vez terminado este proceso se lo llevo a un matraz Kitasato para su posterior filtrado mediante el uso de una bomba de vacío, el residuo se lavó así mismo con 10 ml de alcohol isopropílico y 10 ml de hexano, este proceso se lo realiza hasta completar 10 g (Andersen y Markham, 2006a, pp. 1-10).

De la solución que se obtiene de los 10 g del material vegetal se procedió a separar la fase hexánica del extracto hidroalcohólico, mediante un embudo de separación. Y finalmente el extracto hidroalcohólico se concentró a $\frac{1}{4}$ de su volumen inicial (Andersen y Markham, 2006b, p. 1-10).

2.11.3.2. *Extracto acuoso de Artocarpus heterophyllus Lam*

El extracto acuoso se realizó siguiendo el mismo procedimiento que el extracto hidroalcohólico, y que obviamente se encuentra citado a continuación y establecido en el trabajo realizado por Andersen y Markham (2006c, p.1-10).

Procedimiento

Para la preparación del extracto se empezó de igual manera pesando 1 g del material vegetal obviamente seca y molida, esta se añadió en un tubo de ensayo con tapa de rosca y se colocó 10 ml de agua y 10 ml de hexano, para llevarlo al agitador vórtex por 15 minutos. Una vez terminado este paso se lo llevo a un matraz Kitasato para su posterior filtrado mediante la utilización de una bomba de vacío, el residuo se lavó así mismo con 10 ml de agua y 10 ml de hexano, este proceso se lo realiza hasta completar 10 g (Andersen y Markham, 2006d, p. 1-10).

De los 10 g de material vegetal se obtuvo una solución, el cual se procedió a separar el extracto acuoso de la fase hexánica mediante un embudo de separación, Y finalmente el extracto acuoso se concentró a $\frac{1}{4}$ de su volumen inicial (Andersen y Markham, 2006e, p. 1-10).

Después de obtener el extracto hidroalcohólico como el extracto acuoso se procedió a purificar la porción flavonica mediante cromatografía en columna de los dos extractos, utilizando como soporte poliamida y como fase móvil metanol absoluto (98.8 %). Una vez colocada la columna en el soporte, se eluyo el extracto seguido de la fase móvil. Al final se recolecto la solución metanólica que se eluyo de la columna en un vaso de precipitación para finalmente concentrar en el rotavapor (Andersen y Markham, 2006f, p. 1-10).

2.11.4. Control de calidad del extracto hidroalcohólico y acuoso de *Artocarpus heterophyllus* Lam.

2.11.4.1. Requisitos Organolépticos

- Determinación del color: En un tubo de ensayo, seco y limpio, se procedió a llenar hasta las tres cuartas partes con la muestra del extracto, se observó el color, si presenta transparencia, si existen partículas y separación de capas (Miranda, 2006n, p. 56-60).
- Determinación del olor: Se utilizó una tira de papel de aproximadamente 10 cm de largo por 1 cm de ancho, y se introdujo una parte del papel en la muestra del extracto, se procedió a oler y determinar las características (Miranda, 2006o, p. 56-60).

2.11.4.2. Determinación de densidad relativa

Se conoce por densidad relativa a la relación que hay entre la masa de un volumen de la sustancia analizar a temperatura de 25 °C y la masa de un volumen igual de agua con similar temperatura (Miranda, 2006p, p. 56-60):

Para la obtención de la densidad relativa, inicialmente se pesó el picnómetro vacío y seco, después se llenó con la parte de ensayo conservándolo a una temperatura de 25 °C durante unos minutos. Seguidamente se ajustó el líquido al nivel utilizado y se secó por el exterior para finalmente ser pesado. Este análisis se lo realizo por triplicado. Para calcular la densidad relativa de los extractos se procede a utilizar la siguiente ecuación (Miranda, 2006q, p. 56-60):

$$D = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Donde:

D: Densidad relativa

M: Peso del picnómetro vacío (g)

M₁: Peso del picnómetro con la muestra (g)

M₂: Peso del picnómetro con el agua (g)

2.11.4.3. Medición de pH

El pH está representado por un índice numérico que se emplea para manifestar la alta o baja acidez de una solución expresada en función de sus iones hidrogeno (Miranda, 2006r, p. 56-60).

Para la medición del pH de los extractos se utilizó un instrumento llamado pH-metro, previamente

calibrado con una solución buffer o amortiguadora de pH. Cabe recalcar que este procedimiento se lo realizo por triplicado (Miranda, 2006s, p. 56-60).

2.11.4.4. *Índice de refracción*

Una característica primordial de cada sustancia es el índice de refracción, el cual está representada por la relación que existe entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción por el cual la luz pasa oblicuamente a través del medio (Miranda, 2006t, p. 56-60).

Para realizar este análisis, primeramente se ajustó el equipo colocando sobre el prisma una gota de agua de destilada seguidamente se colocó una gota tanto del extracto hidroalcohólico y después una gota del extracto acuoso, cabe recalcar que el equipo pasa a medir inmediatamente. Esta determinación de igual forma se lo realizo por triplicado.

2.11.4.5. *Determinación de solidos totales*

Este análisis consiste en la alteración de la masa a causa de la eliminación de sustancias volátiles a través de un proceso de evaporación de la fracción de ensayo para finalmente secar el residuo en una estufa.

Esta determinación consistió en tomar 5 mL del extracto y colocarlo en una capsula de porcelana previamente tarada, se evaporó en un equipo de baño maría para después llevar la capsula con la muestra de ensayo a una estufa con una temperatura de 105 °C por un tiempo de 3 horas. Luego se trasladó la capsula al desecador hasta alcanzar una temperatura ambiente y se procedió a pesar. El análisis se lo realizo por triplicado, finalmente para calcular la cantidad de sólidos totales se utilizó la siguiente ecuación (Miranda, 2006u, pp. 56-60).

$$ST = \frac{Pr - P}{V} \times 100$$

Donde:

ST: Sólidos Totales

Pr: Masa de la cápsula más el residuo (g).

P: Masa de la cápsula vacía (g).

V: Volumen de la porción de ensayo.

100: Factor matemático para el cálculo.

2.11.5. Análisis infrarrojo

Para obtener el espectro infrarrojo, se colocó una pequeña cantidad del extracto hidroalcohólico, después una pequeña porción del extracto acuoso mediante una pipeta Pasteur.

2.11.6. Liofilización de los extractos

Para poder conservar de una mejor manera las propiedades de los extractos, y evitar que con el pasar de los días se comience a degradar por estar en estado líquido, se procedió a liofilizar cada uno de ellos, a través del vacío y a baja temperatura.

Cada extracto se añadió en los frascos correspondientes al equipo Liofilizador y se colocó por debajo de cada frasco un recipiente de espuma Flex que sirvió para añadir el nitrógeno líquido, que permitió obtener esa baja temperatura y con la bomba de vacío secar a totalidad los extractos.

2.11.7. Cuantificación de fenoles totales

Mediante espectrometría UV, se procedió a medir la concentración de fenoles totales tanto del extracto hidroalcohólico como del acuoso a través del método de Folin-Ciocalteu, basándose en una reacción colorimétrica de óxido-reducción, donde este reactivo tiene la función de ser un agente oxidante.

Primeramente, se preparó una solución madre de 1000 ppm del estándar comercial (ácido gálico), el cual tenía una pureza de 99.5 %, a continuación, se tomaron alícuotas para preparar estándares de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm para realizar la curva de calibración.

Cabe recalcar que, para realizar la curva de calibración, es decir con los estándares y medir las muestras el procedimiento fue el mismo. Se tomaron 2 ml y se colocaron en tubos de ensayo y se adiciono 0.5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu al 20 %. Después de a ver transcurrido 5 minutos, se colocó 0.5 ml de carbonato de sodio " Na_2CO_3 " al 20%, y se añadió 5 mL de agua destilada, por último, se dejó reposar en la oscuridad por 1 hora (Huang y Lean, 2011, p. 11150- 11159). Transcurrido el tiempo en la oscuridad, primero se procedió a medir los estándares para trazar la curva de calibración (Concentración vs Absorbancia), empleando el Espectrofotómetro UV con una longitud onda de 765 nm (Huang y Lean, 2011a, p. 11150- 11159). Después se procedió a medir las muestras del extracto hidroalcohólico y acuoso por triplicado, preparando una dilución factor 10.

Tanto los estándares como las muestras de los extractos presentaron una coloración azul, evidenciando de esta manera la veracidad del análisis.

2.11.8. Cuantificación de flavonoides totales

Mediante espectrofotometría usando AlCl_3 se llevó a cabo la cuantificación de flavonoides totales presente en el extracto. El procedimiento fue igual para el extracto hidroalcohólico como para el acuoso.

Se colocó 1 ml del extracto en un tubo de ensayo, a continuación se adicionó 4 ml de agua destilada, seguidamente 0.3 ml de NaNO_2 al 5 %, se esperó por 5 minutos y se agregó 0.3 ml de AlCl_3 al 10 %. Luego de 6 minutos se añadió 2 ml de NaOH a una concentración de 1M. Una vez mezclado se dejó reposar por 5 minutos en la oscuridad y a temperatura ambiente. La lectura de la absorbancia se llevó a cabo a una longitud de onda de 510 nm.

Para la medición de la concentración de flavonoides presentes en los extractos, se utilizó una curva de calibración realizada por López Estefanía en el estudio realizado de la “Evaluación de la actividad antiinflamatoria y citotoxicidad in vitro de *Bidens andicola*” (López, 2016c, p. 29).

2.11.9. Determinación de la actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico y acuoso de *Artocarpus heterophyllus* Lam en ratas (*Rattus norvegicus*).

2.11.9.1. Condiciones ambientales y periodo de adaptación de ratas (*Rattus norvegicus*).

En la investigación se llevó a cabo el periodo de ambientación a todos los grupos en general a las mismas condiciones que se presentan a continuación:

- **Humedad relativa:** 50 ± 10 %
- **Temperatura:** 22 ± 2 °C
- **Iluminación:** 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad
- **Lecho:** Cambio de viruta cada 72 horas (viruta estéril)
- **Alimentación:** Balanceado de roedor (pellets) 25 g / 100 g al día y agua purificada *ad libitum*.

2.11.9.2. Protocolo del análisis experimental

La población fue de 45 ratas (*Rattus norvegicus*), quedando los grupos establecidos de la siguiente manera:

Tabla 4-2: Diseño experimental para el análisis hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico y acuoso de *Artocarpus heterophyllus* Lam.

CAJA	GRUPO	TRATAMIENTO	NUMERO DE ANIMALES
1	Blanco	Ningún tratamiento	5
2	Control Negativo	Sobrecarga de almidón	5
3	Control Positivo	Sobrecarga de almidón + Metformina/Glibenclamida	5
4	Dosis baja del Extracto hidroalcohólico a 125 ppm	Sobrecarga de almidón + 2 mL del extracto	5
5	Dosis media del Extracto hidroalcohólico a 250 ppm	Sobrecarga de almidón + 2 mL del extracto	5
6	Dosis alta del extracto hidroalcohólico a 400 ppm	Sobrecarga de almidón + 2 mL del extracto	5
7	Dosis baja del Extracto acuoso a 125 ppm	Sobrecarga de almidón + 2 mL del extracto	5
8	Dosis media del Extracto acuoso a 250 ppm	Sobrecarga de almidón + 2 mL del extracto	5
9	Dosis alta del Extracto acuoso a 400 ppm	Sobrecarga de almidón + 2 mL del extracto	5

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

2.11.9.3. Preparación del vehículo para la administración de almidón, extractos y fármaco.

Para la administración vía oral tanto de las soluciones de almidón, extractos y fármaco, se utilizó propilenglicol al 15 % como vehículo.

2.11.9.4. Inducción a la hiperglucemia

Las ratas (*Rattus norvegicus*) fueron alimentados con almidón disuelto en propilenglicol al 15 % a una dosis de 2000 ppm (mg/Kg) de peso corporal.

2.11.9.5. Ayuno

Para la medición de los niveles de glucosa en la sangre de los animales de experimentación, se realiza previamente el ayuno de 12 horas antes de comenzar con la administración.

2.11.9.6. *Período de la investigación*

La Investigación tuvo una duración de 30 días.

2.11.9.7. *Descripción del análisis hipoglucemiante*

Cada caja donde están los animales de investigación consta de 5 ratas (*Rattus norvegicus*). La caja número 1 perteneciente al grupo blanco, no se le administró ningún tratamiento, únicamente una alimentación normal. La Caja 2 concerniente al control negativo se dispuso solamente una solución de almidón.

Por otra parte, la caja número 3 referente al control positivo, de igual forma se le administró una solución de almidón más una solución del comprimido de Metformina/Glibenclamida a una concentración de 5 ppm. Para las cajas número 4, 5 y 6 pertenecientes a los grupos del extracto hidroalcohólico, de igual forma se le administró primero una solución de almidón seguido del extracto a una concentración de 125, 250 y 400 ppm respectivamente.

Por consiguiente, las cajas número 7, 8 y 9 correspondientes a los grupos del extracto acuoso, igualmente se dispuso una dieta con una solución de almidón seguido del extracto a una concentración de 125, 250 y 400 ppm correspondientemente.

2.11.9.8. *Medición de glucosa*

La medición de los niveles de glucosa se llevó a cabo a través de un glucómetro marca Prodigy, extrayendo una gota de sangre de la cola del animal y colocando en las tirillas reactivas para que el glucómetro pase a leer la cantidad de glucosa. Así pues, la sangre se recogió en intervalos de tiempo de 30, 60 y 120 minutos seguido de la alimentación (Tiwari et al., 2011, p. 1-8).

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS

3.1. Control de calidad de la materia vegetal

Los resultados de cada una de las determinaciones cuantitativas realizadas en el material vegetal se presentan a continuación en la siguiente tabla.

Tabla 1-3: Resultados de la determinación de los parámetros de calidad de hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam.

Parámetro (%)	<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam	Valores de referencia de acuerdo con la Real Farmacopea Española 2002
Humedad	7.72	14
Cenizas totales	9.88	5
Cenizas solubles en H ₂ O	1.11	1
Cenizas insolubles en HCl	0.77	2

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

El contenido de humedad (agua libre) que presento las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam fue de 7.72% esto denoto estabilidad (ausencia de microorganismos, reacciones enzimáticas y reacciones químicas), asegurando que la composición química no se vea afectada y no exista degradación de los metabolitos secundarios presentes y necesarios en la investigación. Mera y Murillo (2018a) en su estudio determino una humedad que varía entre el 6.34% al 6.45% en hojas secas lo que muestra concordancia con el resultado obtenido.

La evaluación de cenizas totales en la muestra fue de 9.88% que se encontraron dentro de lo establecido, esto indica la presencia de materia inorgánica (sales y elementos minerales) después de la combustión o incineración de la materia orgánica. De igual manera Mera y Murillo (2018b) en este parámetro determinaron un porcentaje que oscila entre el 9.26% al 9.76% esto dedujo una homogeneidad con lo expuesto anteriormente.

El porcentaje obtenido de cenizas solubles en agua fue 1.11% se encontraron en el límite permitido esto indico presencia de sales solubles en la muestra. Por último con el valor de cenizas insolubles en ácido clorhídrico que fue de 0.77% se reflejó la presencia de oxalatos o carbonatos dentro del límite permitido. Se dedujo con estas determinaciones que no existió contaminación por materias extrañas en el material vegetal (López, 2016c, p. 52). Así mismo Mera y Murillo (2018c) determinaron un valor de 1.97 % de minerales que no son ingestables.

3.2. Tamizaje Fitoquímico

Para el tamizaje fitoquímico o “screening fitoquímico” se realizó una maceración utilizando como solventes alcohol isopropílico y agua, de esta manera nos permitió la extracción y la identificación cualitativa de compuestos tanto lipófilos como hidrófilos obteniendo de esta manera los siguientes resultados.

Tabla 2-3: Resultados del tamizaje fitoquímico de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam.

Metabolito	Ensayo	Extracto Hidroalcohólico	Extracto Acuoso
Alcaloides	Mayer	+++	+
	Dragendorff	+++	+
	Wagner	+++	+++
Flavonoides	Shinoda	+++	+++
	1/2 Alcalino	++	+++
Fenoles y Taninos	Cloruro Férrico (Cl ₃ Fe)	+	+
Resinas	Resinas	NA	NA
Azucares Reductores	Fehling	+	+++
Lactonas	Baljet	NA	NA
Triterpenos-Esteroides	Liebermann-Bucharl	NA	NA
Catequinas	Catequinas	NA	NA
Saponinas	Espuma	+	+
Aminoácidos	Ninhidrina	+	NA
Quinonas	Bontrager	+++	NA
Antocianos	Antocianidina	+	NA
Principios Amargos	Principios Amargos	NA	NA
Mucilagos	Mucilagos	NA	NA

+ (Escaso), ++ (Moderado), +++ (Abundante), NA (No aplica)

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

En virtud de los resultados del screening fitoquímico de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam se denotó la presencia de compuestos fenólicos mediante el ensayo de cloruro férrico; flavonoides a través de los ensayos de Shinoda y medio alcalino, en ambos extractos; estos metabolitos son relevantes para la investigación. Además se obtuvo azúcares reductores, saponinas en el extracto acuoso, mientras en el extracto hidroalcohólico se encontró aminoácidos, antraquinonas, antocianos, azúcares reductores y saponinas. No obstante, no existen esteroides, glucósidos cardiotónicos, entre otros metabólicos secundarios.

Publicaciones como las de Carvajal (2018c) y Meriño (2019a) las cuales analizaron fitoquímicamente las hojas y pulpa de la *Artocarpus heterophyllus* Lam respectivamente mostraron la presencia de fenoles y flavonoides, estos resultados se mostraron concomitantes a los determinados en el presente estudio ratificando que la especie analizada indudablemente tiene la presencia de estos compuestos.

Mera y Murillo (2018d) en su estudio “Evaluación del efecto normoglicemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam en ratones diabéticos” identifica la presencia de flavonoides y fenoles avalando el uso de la especie con un efecto antioxidante. De igual manera Alvarado (2019a) en su investigación en extractos acuoso, etanólico con y sin tratamiento en las hojas obtuvo similares resultados en la presencia de metabolitos secundarios. Cabe señalar que todos los estudios citados no son comparables en su totalidad debido, a que las condiciones experimentales son diferentes en el método de extracción, solventes utilizados y condiciones no controladas.

3.2. Control de calidad del extracto hidroalcohólico y acuoso de *Artocarpus Heterophyllus* Lam.

Después de haber obtenido los dos extractos por medio de solventes como el alcohol isopropílico al 70% y agua, con una totalidad de 10 gr de materia vegetal seca (hojas pulverizadas), sometidos a concentración. Se realizó el control de los parámetros de calidad de estos: los resultados obtenidos se presentan en la tabla 3-3.

Tabla 3-3: Determinación de los parámetros de calidad de los extractos hidroalcohólico y acuoso de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam.

Parámetro	Extracto Hidroalcohólico (alcohol Isopropílico al 70%)	Extracto Acuoso
Características Organolépticas		
Olor	Dulce	Dulce
Color	Naranja intenso	Naranja
Aspecto	Líquido	Líquido
Características Fisicoquímicas		
pH	7,65 ± 0,03	6,95 ± 0,03
Índice de refracción	1,342 ± 0,000	1,344 ± 0,000
Densidad relativa	0,907 ± 0,004	0,949 ± 0,02
Sólidos Totales (%)	2.48 %	2.54 %

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Basado en el proceso efectuado y después de los resultados obtenidos, el pH tanto del extracto hidroalcohólico como el del acuoso fueron ligeramente ácidos esto se debe a la planta de estudio, los solventes, el método de extracción.

Estos resultados indicaron que los dos extractos tienen una apreciable cantidad de compuestos fenólicos en su composición y por ende se reafirmó el hecho de la investigación en cuanto a la utilización de *Artocarpus heterophyllus* Lam (López, 2016c, p. 53).

De igual forma se evidenció que el valor del índice de refracción y sólidos totales, indicaron que los diferentes compuestos fitoquímicos presentaron una buena solubilidad en los solventes utilizados; es decir la transferencia química de compuestos en la interrelación materia vegetal-solvente fue efectiva y permitió el desarrollo de la investigación.

Por último, en este control de calidad se tuvo un valor de densidad relativa, (0,907 ± 0,02) y (0,949 ± 0,02) para los extractos hidroalcohólico y acuoso respectivamente, se denotó la presencia de sustancias con capacidad de interrelacionarse por medio de enlaces de hidrógeno (López, 2016d, p. 53).

3.3. Análisis infrarrojo

3.3.1. Extracto hidroalcohólico

Se llevó a cabo el análisis del extracto hidroalcohólico en espectroscopia infrarrojo, obteniendo los siguientes resultados de los grupos funcionales.

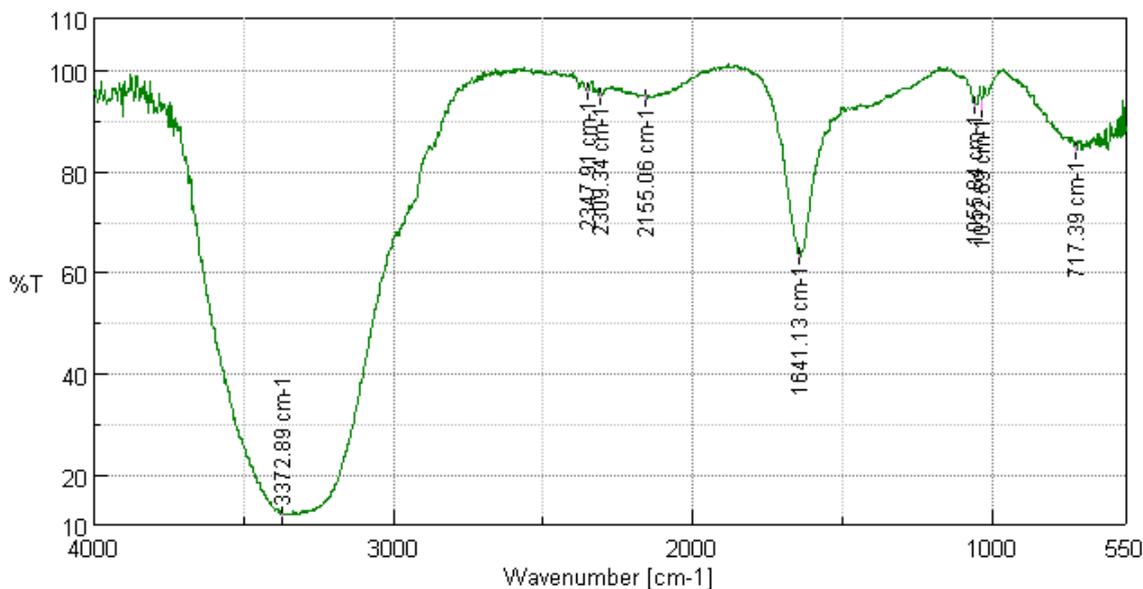


Gráfico 1-3. Espectro IR del extracto hidroalcohólico.

Realizado por: López y Masabanda, 2021.

Los datos obtenidos en el espectro infrarrojo se presentan a continuación en la tabla 4-3, donde se evidencia el número de onda (cm^{-1}), % transmitancia y el grupo funcional perteneciente a cada pico.

Tabla 4-3: Número de onda y % de transmitancia del extracto hidroalcohólico.

Número de onda [cm^{-1}]	% Transmitancia	Estructura
3372.89	11.7658	O-H
2309.34	94.3706	$\text{C}\equiv\text{N}$ o sales de Diazonio
2155.06	94.1646	$\text{C}=\text{C}=\text{O}$
1641.13	62.9628	$\text{C}=\text{C}$
1055.84	92.8533	C-O
1032.69	91.8593	Ciclo alcano
717.39	83.8299	$(\text{CH}_2)_n$

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

3.3.2. Extracto Acuoso

De la misma forma se llevó a cabo el análisis del extracto acuoso en espectroscopia infrarrojo, obteniendo los siguientes resultados de los picos pertenecientes a cada grupo funcional.

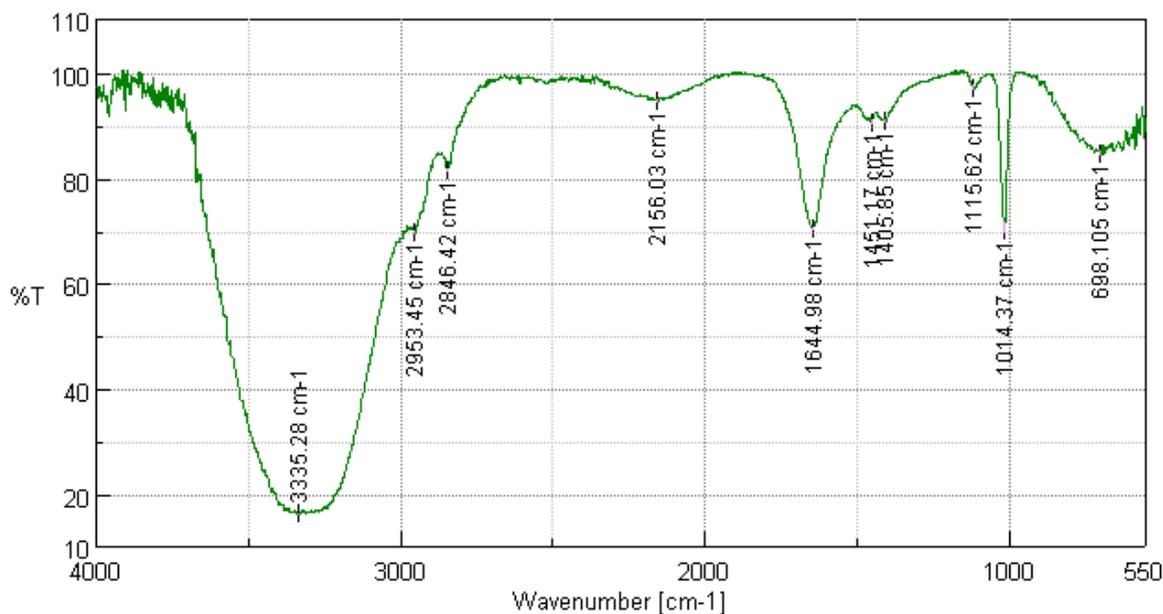


Gráfico 2-3. Espectro IR del extracto acuoso.

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Los datos obtenidos en el espectro infrarrojo se presentan a continuación en la tabla 5-3, donde se evidencia el número de onda (cm^{-1}), % transmitancia y el grupo funcional perteneciente a cada pico.

Tabla 5-3: Numero de onda y % de transmitancia del extracto acuoso.

Número de onda [cm^{-1}]	%Transmitancia	Estructura
3335.28	16.1734	H-O-H
2953.45	69.4168	-CH ₃
2846.42	81.1547	-CH ₂
2156.03	94.4537	> C=C=O (ceteno)
1644.98	70.3047	C=C
1451.17	90.3635	(CH ₂) _n cíclico
1115.62	96.7969	Aromático sustituido
1014.37	69.9338	Aromático sustituido
698.105	84.3918	Aromáticos

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

La espectrofotometría infrarroja se fundamenta en la interacción entre radiación infrarroja y la materia, produciendo bandas de absorción con ciertos niveles de energía dentro de la zona del

infrarrojo, su fin es determinar la presencia de grupos funcionales en la muestra de forma cualitativa a través de la intensidad de las vibraciones moleculares originadas por la tensión o flexión de los átomos. Los espectros infrarrojo presentados tanto del extracto hidroalcohólico como el acuoso, presentaron vibraciones con una mayor o menor intensidad esto fue debido a los diferentes tipos de movimientos vibracionales.

En el espectro hidroalcohólico, claramente se puede observar una banda a 3372.89 cm^{-1} , característica del grupo alcohol además es marcada la intensidad de absorción; existe la presencia de cadenas de CH_2 que aparecen entre los $730\text{-}710\text{ cm}^{-1}$ una zona marcada por la denominada huella digital propia de cada estructura. A los 1600 cm^{-1} se mostraron la presencia de dobles enlaces; por otra parte también existió la presencia de la unión C-O o C=C=O; se dedujo la presencia de grupos funcionales que es consecuente al solvente utilizado en la preparación del extracto.

Mientras tanto se presenta la señal característica del agua que bordea entre los 3000 cm^{-1} , existió la presencia de grupos metilo y metileno que oscilan entre los 2000 cm^{-1} , aromáticos sustituidos y alquenos en el extracto correspondiente al medio acuoso.

Los espectros mostraron la presencia de diferentes grupos funcionales; a partir de este análisis se pueden utilizar diversas técnicas espectroscópicas que permitan determinar exactamente que sustancia se encuentra en la muestra.

3.4. Cuantificación de fenoles totales de los extractos hidroalcohólico (alcohol isopropílico al 70%) y acuoso mediante espectrofotometría UV-vis.

La cuantificación de fenoles totales basado en la reacción de Folin–Ciocalteu en las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam, arrojaron los siguientes resultados.

Tabla 6-3: Cuantificación de fenoles totales por espectroscopia UV-visible en extractos hidroalcohólico y acuoso de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam.

Extractos	Fenoles totales (mg de ácido gálico/ kg de planta)	Porcentaje
Hidroalcohólico FD10	$3256,30 \pm 183,35$	$0,326 \pm 0,018$
Acuoso FD10	$1439,12 \pm 133,41$	$0,144 \pm 0,013$

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

El porcentaje de fenoles totales en el extracto hidroalcohólico (alcohol isopropílico 70%) dedujo una cantidad moderada de compuestos fenólicos, esto puede deberse al método de extracción y purificación al que fue sometido el extracto, a la cantidad de materia vegetal y solvente utilizados y a factores externos o condiciones ambientales no controladas. Esto permitió confirmar que la especie *Artocarpus heterophyllus* Lam contiene estos principios activos que ejercen una actividad antioxidante con relación al efecto hipoglucémico.

En ese mismo contexto el valor de fenoles totales en el extracto acuoso resulta menor esto se debe a que el solvente arrastra una menor cantidad de los principios activos, o a condiciones del proceso antes mencionadas; no obstante, existió la presencia de estos metabolitos secundarios en la especie; en virtud de los resultados de ambos extractos se avaló el estudio en biomodelos experimentales.

La curva de calibración mostro una ecuación de la recta de $y: -0,051 + (0,010) C$ y un coeficiente de correlación positivo $r^2:0,998$ lo que significó la correcta preparación de las soluciones estándares de ácido gálico, reactivo de Folin–Ciocalteu y carbonato de sodio al 20%, al igual que la inocuidad de estas sustancias.

3.5. Cuantificación de flavonoides totales en extractos hidroalcohólico (alcohol isopropílico al 70%) y acuoso mediante espectrofotometría UV-vis.

La cuantificación de flavonoides totales en las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam, presenta los siguientes resultados.

Tabla 7-3: Cuantificación de flavonoides totales en extractos hidroalcohólico y acuoso de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam.

Extractos	Flavonoides totales (mg de Quercetina/ kg de planta)	Porcentaje
Hidroalcohólico	1739,14 ± 805.05	0,211 ± 0,002
Acuoso	645,16 ± 105.34	0,101 ± 0,003

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

La cantidad de flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico es superior a la del extracto acuoso, ciertamente debido a que el contenido presentado en la cuantificación de fenoles es mayor. Esto depende del método de extracción, solvente utilizado, purificación del extracto, en base a lo expuesto los dos extractos tiene estos compuestos fitoquímicos que son responsables de la actividad antioxidante de la *Artocarpus Heterophyllus* Lam, así esto permite su aplicación en las unidades puestas a experimentación.

La curva de calibración mostro una ecuación de la recta de $y: 0,0218 + 0,0012x$ y un coeficiente de correlación igual a 0,99, lo expuesto indica que las muestras preparadas han sido analizadas correctamente en el espectrofotómetro Uv-visible.

3.6. Actividad hipoglucémica en biomodelos experimentales (*Rattus novergicus*).

3.6.1. Análisis de glucemia del día 1 de experimentación.

Una vez sometido los animales de experimentación a una dieta con almidón por 15 días a cada grupo correspondiente, se llevó a cabo el análisis en el primer día de experimentación, arrojando los siguientes resultados establecidos en cuanto a la cantidad de glucemia expresada en mg/dl versus tiempo en el gráfico 3-3, que se muestra a continuación.

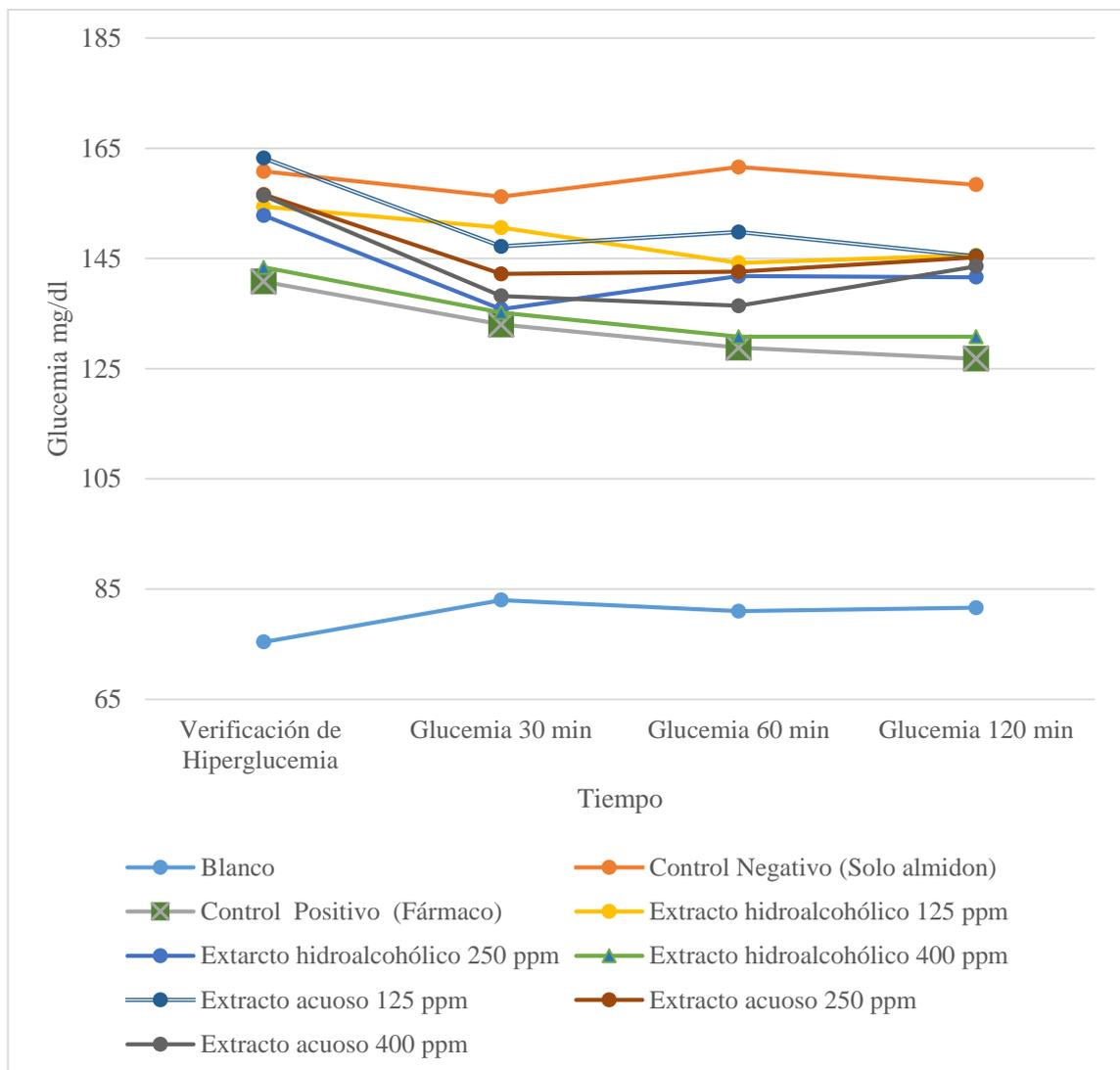


Gráfico 3-3. Niveles de Glucemia Día 1.

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Las 45 unidades experimentales fueron divididas en 9 grupos; a excepción del grupo blanco todos fueron sometidos a una dieta con una solución de almidón a una concentración de 2000 ppm durante 15 días, posteriormente se tomaron muestras de sangre para constatar la inducción a la hiperglucemia; seguidamente, se ha sometido al tratamiento con los extractos acuosos e hidroalcohólicos a diferentes concentraciones y el fármaco; a su vez en tiempos de 30, 60 y 120 minutos fueron medidos los valores de glucemia en mg/dl.

De acuerdo al Gráfico 1-3 se mostró que los 8 grupos alcanzaron valores que se encuentran en un rango entre 140 y 165 mg/dl con lo que se confirmó la inducción a la patología; el grupo blanco presentó valores de hasta 85mg/dl debido a que no ha sido sometido a la patología mientras el grupo control negativo no evidenció cambios mayores, esto se debe a que solo se le administró almidón, y sus valores fluctuaron entre 160 y 156 mg/dl; el grupo control positivo presentó una ligera disminución de glucemia en los diferentes tiempos; los grupos extractos acuoso de 125 ppm, 250 ppm y 400 ppm siguen la tendencia de disminución de glucosa sin una diferencia marcada por ser el primer día de experimentación, de manera similar los grupos de extractos hidroalcohólico de 125 ppm, 250 ppm y 400 ppm disminuyen sus valores glucémicos, siendo un efecto mayor a concentraciones de 250 ppm y 400 ppm. El primer día de experimentación se observó la disminución de la glucemia de los grupos en tratamiento respecto a los valores iniciales de hiperglucemia y al control negativo, sin embargo no con diferencias notorias; por otro lado la dispersión de los valores glicémicos por cada grupo en intervalos de tiempo también no fue significativa debido al corto periodo de experimentación.

3.6.2. Análisis de glucemia del día 7 de experimentación.

En el siguiente gráfico 4-3, se puede evidenciar los resultados obtenidos en cuanto a la cantidad de glucemia expresada en mg/dl versus tiempo, en el día 7 de experimentación.

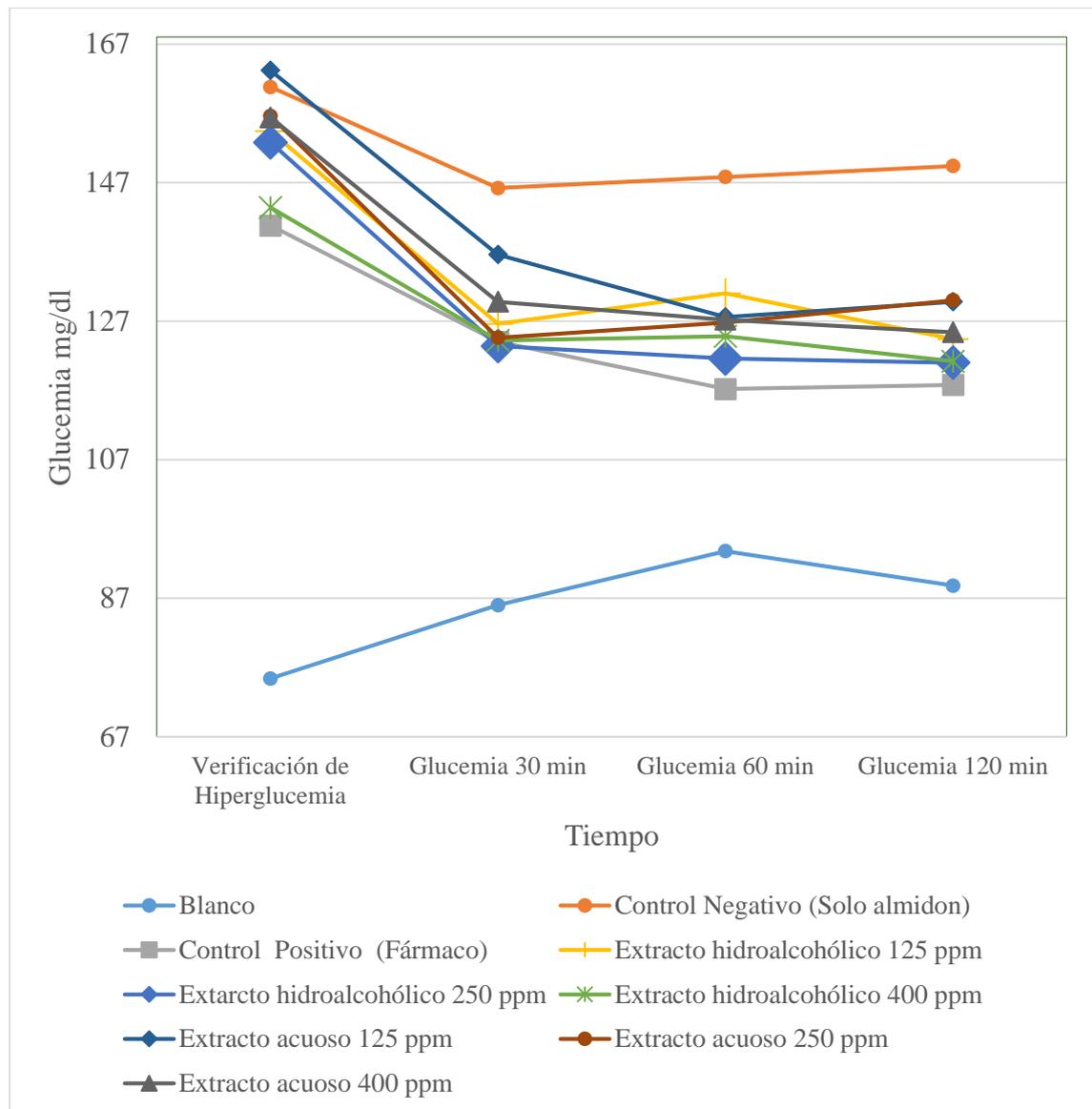


Gráfico 4-3. Niveles de Glucemia Día 7.

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

En el gráfico 2.3 se observa los resultados de la experimentación al cabo del tercer día, en el cual el grupo blanco no presenta una diferencia sustancial en comparación con el primer día, ya que los animales están en condiciones normales de alimentación.

El grupo perteneciente al control negativo mostró valores en el rango de 145 a 150 mg/dl, el cual en comparación con el primer día de la experimentación, tiende a disminuir debido a que el organismo de los animales empieza a eliminar el polisacárido de manera natural.

El control positivo mostró una disminución minoritaria, pero aún no representa un valor significativo en comparación al blanco, en el cual se debe determinar la eficiencia del fármaco el último día de la experimentación. Con respecto a los extractos, la glucemia va disminuyendo, mínimamente, pero aún no se evidencia su grado hipoglucémico, el cual se determinará su eficiencia al finalizar la experimentación.

3.6.3. Análisis de glucemia del día 15 de experimentación

En el gráfico 5-3, se puede evidenciar los resultados obtenidos en cuanto a la cantidad de glucemia expresada en mg/dl versus tiempo, al cabo del día 15 de experimentación, efectuado en sus 3 mediciones luego de haber administrado los debidos tratamientos.

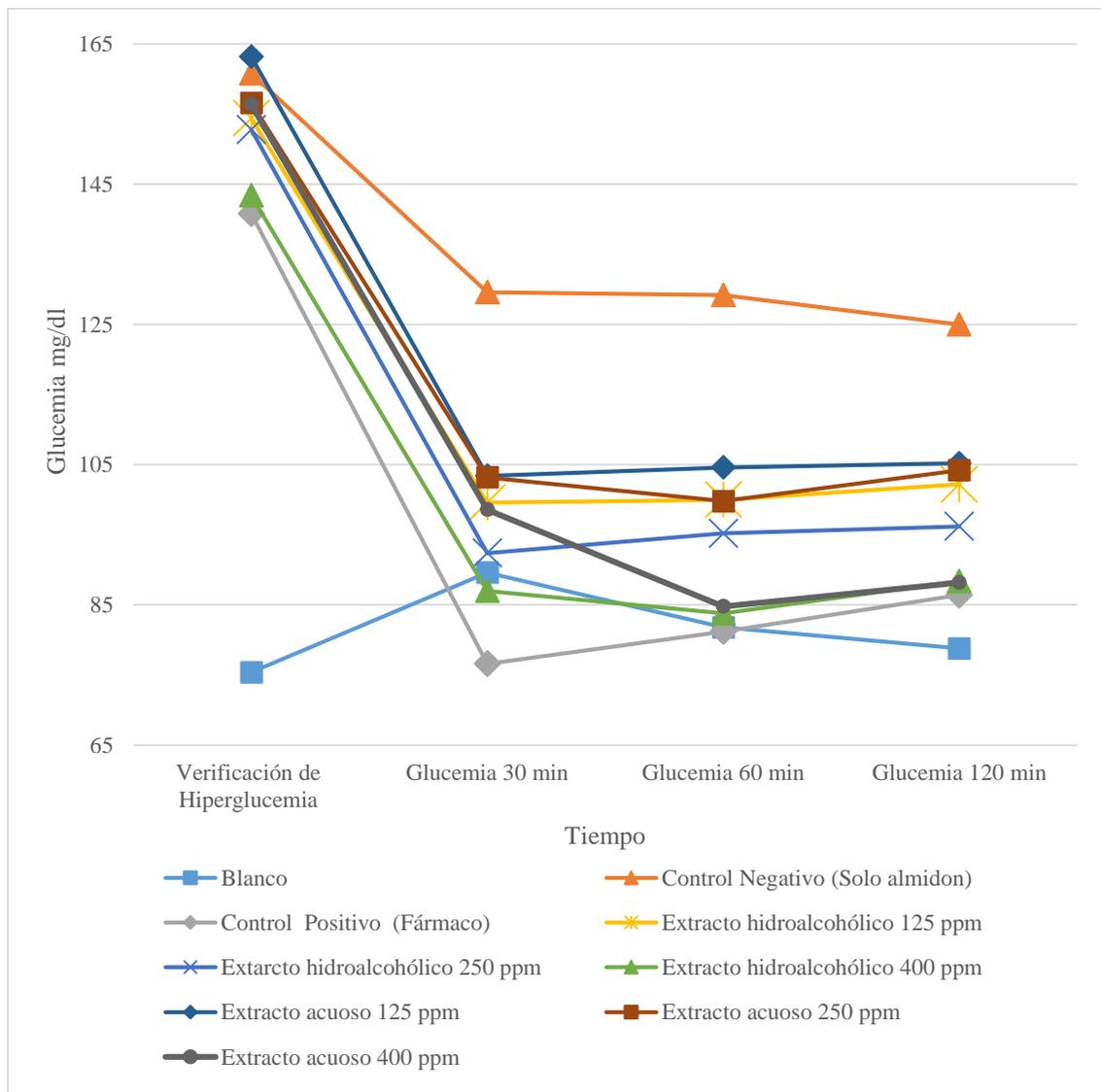


Gráfico 5-3. Niveles de Glucemia Día 15.

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Al final de la experimentación el gráfico 5-3 mostró que el grupo blanco no tiene diferencias mayores con respecto a los otros días ya que han sido alimentados de manera normal; el grupo de control negativo tiende a una reducción normal puesto que al transcurrir el tiempo el polisacárido digerible se comienza a eliminar de forma natural y espontánea, sin embargo se mantuvo la hiperglucemia en valores entre 129 y 125 mg/dl. El control positivo disminuye casi a los valores normales de glucemia del blanco esto determinó su efecto como antidiabético oral al inhibir la absorción y captación de glucosa en el organismo.

Los extractos acuoso e hidroalcohólico de 125 ppm y 250 ppm denotó que la glucemia es menor en comparación con el resto de los días de tratamiento, por el contrario no alcanzaron valores similares a los del fármaco y el blanco, esto se debe a que el contenido de los principios activos no es suficiente en estas concentraciones. El extracto acuoso y hidroalcohólico de 400 ppm, son los que mostraron una mejor actividad hipoglucémica debido a que los valores de glucosa en la sangre al final de la experimentación están entre los 88 mg/dl, datos similares al fármaco y con una diferencia mínima con respecto al blanco.

Estudios como Alvarado (2019b) mostraron el efecto hipoglucémico de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus Lam*) a partir del extracto hidroalcohólico a una dosis de 250 ppm pero sin diferencias estadísticas significativas mientras a una dosis de 500 ppm se determinó la baja de los niveles de glucosa en sangre y estos se mantuvieron estables en los diferentes tiempos en que se tomaron la muestras de sangre. Estos resultados concuerdan con el presente estudio puesto que a partir de la dosis de 250 ppm tienden a la reducción de niveles glucémicos.

Investigaciones tales como Omar (2011a), Chackrewarthy et al. (2010a) y Shahin (2012a) con la extracción y aplicación de extractos hidroalcohólicos, de una fracción de acetato de etilo y acuosos respectivamente, avalan el efecto hipoglucémico de las hojas de *Artocarpus heterophyllus Lam*, a través de la inhibición de enzimas pancreáticas. El presente estudio concuerda con estas publicaciones en la actividad antioxidante a concentraciones parecidas de los extractos; además en los tiempos o días en que se tomó la muestra de sangre para el análisis siempre existe una tendencia a la reducción de glucemia al igual que el presente estudio esto ratifica el poder antioxidante de los extractos debido a su contenido de compuestos fenólicos. Sin embargo no se encontró concordancias en los valores de confirmación de hiperglucemia, esto se debe a que utilizan como sustancia de inducción la estreptozotocina la cual produce alteración mayor en los niveles de glucosa.

3.6.4. Representación de los niveles de glucemia de cada grupo en el último día experimentación.

En el siguiente grafico se expresa los resultados de los niveles de glucemia de cada grupo en el último de experimentación.

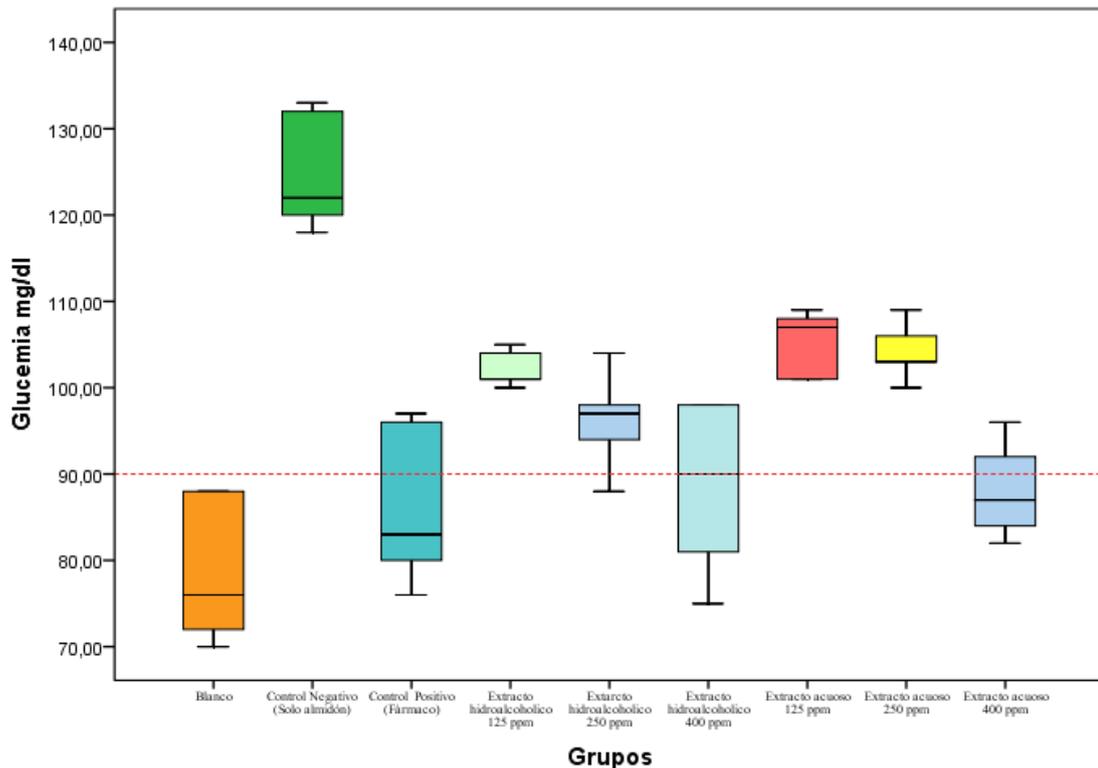


Gráfico 6-3. Niveles de Glucemia por grupos.

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Al finalizar con la experimentación, el grupo blanco se mantuvo con valores de glucemia menores a 90 mg/dl, lo cual es evidencia de que los animales utilizados no presentaban una hiperglucemia al iniciar con la experimentación y al finalizar, lo cual puede ser constatado con lo establecido que confiere valores menores a 90 mg/dl para una glucemia normal.

En el control negativo se pudo evidenciar que los animales de experimentación obtuvieron una hiperglucemia marcada, valores que oscilaron entre 160 mg/dl al iniciar con la experimentación. Y al finalizar, debido al tiempo transcurrido y causas normales de alimentación, su valor de hiperglucemia bajo alrededor de 130 mg/dl, lo cual es constancia de hiperglucemia, pero ya no tan marcada.

El grupo perteneciente al control positivo, presento una disminución en la glucemia con valores entre los 90 mg/dl, debido al fármaco utilizado (Metformina/Glibenclamida).

Con respecto a los extractos, se evidencio la aproximación o similitud del extracto hidroalcohólico de 400 ppm al control positivo y una menor proporción del extracto acuoso de 400 ppm. Constatando de esta manera que el extracto hidroalcohólico de 400 ppm es tan bueno como el fármaco.

3.6.5. Significancia estadística

Para determinar los valores de significancia entre las diferentes hipótesis se realizará las pruebas de normalidad para las variables cuantitativas.

Tabla 8-3: Pruebas de normalidad.

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Glucosa basal (Día 1)	0,988	40	0,938**
Verificación de hiperglucemia	0,982	40	0,765**
Valor glucemia Día 1	0,829	45	0,000
Valor glucemia Día 7	0,937	45	0,017
Valor glucemia Día 15	0,969	45	0,278**

* Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a Corrección de significación de Lilliefors.

** Indica distribución normal.

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Conclusión: Mediante la prueba de normalidad a través del test de Shapiro-Wilk, indico una distribución normal tomando como referencia el día 15 de experimentación.

- **Hipótesis 1**

H_0 : No existen diferencias estadísticamente significativas de los valores de la glucosa basal inicial y su verificación hiperglucémica.

IC= 95%

Error= 0,05

Decisión= Si p es menor a 0,05 se rechaza H_0

Prueba

Tabla 9-3: T student muestras relacionadas H1

		Diferencias emparejadas				t	gl	Sig.
	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
				Inferior	Superior			
Glucosa basal (Día 1) - Verificación de								
Par 1 hiperglucemia	-72,7	14,1425	2,23613	-77,22299	-68,17701	32,51	39	0,00

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Conclusión: El valor de significancia fue menor a 0,05 ($p=0,00$) por tanto se rechaza H_0 y se afirma que existen diferencias estadísticamente significativas de los valores de la glucosa basal inicial y su verificación hiperglucémica.

- **Hipótesis 2**

H_0 : No existen diferencias estadísticamente significativas de los valores glucémicos en los diferentes grupos de las unidades experimentales.

IC= 95%

Error= 0,05

Decisión= Si p es menor a 0,05 se rechaza H_0

Prueba

Tabla 10-3: ANOVA H2

Glucemia Día 15					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	7627,378	8	953,422	20,44	0,00
Dentro de grupos	1679,2	36	46,644		
Total	9306,578	44			

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Conclusión: El valor de significancia fue menor a 0,05 ($p=0,00$) por tanto se rechaza H_0 y se afirma que existen diferencias estadísticamente significativas de los valores glucémicos en los diferentes grupos de las unidades experimentales.

- **Hipótesis 3**

H₀: No existen diferencias estadísticamente significativas entre los extractos hidroalcohólicos y acuosos de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam mediante la verificación de niveles glicémicos obtenidos de los biomodelos experimentales.

IC=95%

Error= 0,05

Decisión: Si p es menor a 0,05 se rechaza H₀

Prueba

Tabla 11-3: ANOVA H3

Glucemia Día 15					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1486	5	297,2	8,728	0,00
Dentro de grupos	817,2	24	34,05		
Total	2303,2	29			

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Conclusión: El valor de significancia fue menor a 0,05 (p=0,00) por tanto se rechaza H₀ y se afirma existen diferencias estadísticamente significativas entre los extractos hidroalcohólicos y acuosos de las hojas mediante la verificación de niveles glicémicos obtenidos de los biomodelos experimentales.

- **Hipótesis 4**

H₀: No existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores glucémicos del extracto hidroalcohólico de 400 ppm de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam y el control positivo.

IC=95%

Error= 0,05

Decisión: Si p es menor a 0,05 se rechaza H₀

Prueba

Tabla 12-3: Prueba de T Student para muestras independientes H4

Prueba de Levene de igualdad de varianzas				Prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
Glucemia	Se asumen varianzas iguales	0,01	0,922	0,319	8	0,758	-2	6,27057	-16,45995	12,45995
Día 15	No se asumen varianzas iguales			-	7,9					
				0,319	6	0,758	-2	6,27057	-16,47272	12,47272

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Conclusión: El valor de significancia fue mayor a 0,05 ($p=0,758$) por tanto acepto H_0 y se concluye que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores glucémicos del extracto hidroalcohólico de 400 ppm de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam y el control positivo

- **Hipótesis 5**

H_0 : No existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores glucémicos del extracto acuoso de 400 ppm de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam y el control positivo.

IC=95%

Error= 0,05

Decisión: Si p es menor a 0,05 se rechaza H_0

Prueba

Tabla 13-3: Prueba de T Student para muestras independientes H5

Prueba de Levene de igualdad de varianzas				Prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
Glucemia	Se asumen varianzas iguales	0,01	0,922	-	8	0,758	-2	6,27057	-16,45995	12,45995
Día 15	No se asumen varianzas iguales			0,319						
						-0,319	7,96	0,758	-2	6,27057

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Conclusión: El valor de significancia fue mayor a 0,05 ($p=0,758$) por tanto se aceptó H_0 y se concluye que no existen diferencias estadísticamente significativas entre valores glucémicos del extracto acuoso de 400 ppm de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam y el control positivo.

• **Hipótesis 6**

H₀: No existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores glucémicos del extracto acuoso e hidroalcohólico de 400 ppm de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam.

IC=95%

Error= 0,05

Decisión: Si p es menor a 0,05 se rechaza H₀

Prueba

Tabla 14-3: Prueba de T Student para muestras independientes H6

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		Prueba t para la igualdad de medias			Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilatera l)			Inferior	Superior
Glucemia Día 15	Se asumen varianzas iguales	2,70	0,139	0,038	8	0,971	0,2	5,26308	-11,93668	12,33668
	No se asumen varianzas iguales			0,038	6,2	0,971	0,2	5,26308	-12,53375	12,93375

Realizado por: López, C.; Masabanda, H. 2021.

Conclusión: El valor de significancia fue mayor a 0,05 (p=0,971) por tanto se aceptó H₀ y se concluye que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores glucémicos del extracto acuoso e hidroalcohólico de 400 ppm de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam.

3.6.5.1. Interpretación del Análisis Estadístico

Los valores glicémicos obtenidos presentaron una distribución normal a través de la Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. Por lo tanto para la aceptación o rechazo de hipótesis se efectuó del análisis de varianza unidireccional (ANOVA) y T-student para muestras independientes.

Los resultados mostraron que existieron efectos hipoglucémicos de los extractos acuosos y hidroalcohólicos, porque hubo diferencias significativas respecto al control negativo con un valor de (p < 0,05) mediante el test de ANOVA para datos agrupados con un intervalo de confianza del 95%. Además existió diferencias significativas entre los extractos acuosos e hidroalcohólicos con valor de p=0,00; mientras que por el contrario no hay diferencias entre el extractos acuoso e hidroalcohólico de 400 ppm, lo que indicó que tienen un igual efecto hipoglucémico.

Alvarado (2019c) en su estudio demostró valores estadísticamente significativos con un valor de (p<0,05) a partir de una dosis de 500 mg/kg, esto se debe a la inhibición de enzima de la α-amilasa

mientras que una dosis de 250 mg/kg hubo una disminución de glicemia durante los tiempos de experimentación sin embargo no fue significativa. Por último a una dosis de 1000 ppm no existe efecto hipoglucémico de la *Artocarpus heterophyllus* Lam. En la investigación realizada por Shahin et al (2012b) con extractos de *Artocarpus heterophyllus* Lam con dosis de 250 y 500 mg/kg, mediante el análisis de varianza unidireccional, con un valor de significancia ($p < 0,01$) se demostró la actividad antidiabética en biomodelos experimentales. Omar et al (2011a) y Chackrewarthy et al (2010b) avalaron la actividad hipoglucémica en ratas inducidas por estreptozotocina a partir de extractos alcohólicos de 200 mg/kg y una fracción de acetato de etilo respectivamente de las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam con un valor de significancia ($p < 0,05$), esta actividad se denota debido a la presencia de compuestos fenólicos.

Así el presente estudio mostró semejanza con los estudios antes citados mostrando la reducción de los niveles de glucosa a concentraciones similares a las expuestas.

CONCLUSIONES

En este trabajo se caracterizó las hojas de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam) mediante un tamizaje fitoquímico identificando fenoles y flavonoides mismos que ejercen una actividad hipoglucémica, corroborando además la presencia de otros metabolitos secundarios como azúcares reductores, saponinas, aminoácidos, antroquinonas y antocianos, basados en reacciones de coloración, precipitación y opalescencia

Se valoró los fenoles y flavonoides totales mediante la espectroscopia Uv-vis, la cantidad de fenoles totales en el extracto hidroalcohólico y acuoso fue de $3256,30 \pm 183.35$ mg de ácido gálico/kg de planta y $1439,12 \pm 133,41$ mg de ácido gálico/kg de planta respectivamente mientras que la cantidad de flavonoides totales fue de $1739,14 \pm 805.05$ mg de Quercetina /kg de planta y $645,16 \pm 105.34$ mg de Quercetina/kg de planta respectivamente. Esto permitió ratificar la presencia de la fracción activa con efecto hipoglucemiante en las hojas de Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam).

Se identificó los grupos químicos presentes en el extracto hidroalcohólico y acuoso a través de la técnica espectrofotometría infrarroja, en donde se observó la presencia de picos correspondientes a cadenas carbonadas, alcoholes y anillos aromáticos esto dedujo la presencia de compuestos aromáticos.

Se comparó los efectos hipoglucémicos de los extractos hidroalcohólicos y acuosos a sus diferentes concentraciones respectivamente, demostrando que el extracto hidroalcohólico y acuoso de 400 ppm ejercen la reducción de niveles de glucosa en sangre en ratas inducidas por almidón.

En esta investigación se evaluó la actividad antioxidante: efectos hipoglucémicos a partir de extractos hidroalcohólicos y acuosos de las hojas de la Yaca (*Artocarpus Heterophyllus* Lam). Siendo trascendente la actividad hipoglucémica en biomodelos experimentales, abriendo la posibilidad de futuras investigaciones en el desarrollo de un producto natural teniendo como base los extractos de esta planta.

RECOMENDACIONES

Al presentar alcaloides mediante el tamizaje fitoquímico de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam), se recomienda que para futuros trabajos se analice los efectos antiinflamatorios.

Se recomienda que para estudios futuros se considere realizar un conjunto de pruebas más amplias con los extractos hidroalcohólico y acuoso de 400 ppm, con el fin de determinar cuál es el que mejor propiedad conserva una vez procesado.

Mediante la comprobación hipoglucémica de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam) se recomienda realizar estudios de identificación y purificación química del principio activo.

Llevar a cabo un análisis de toxicidad de la Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam) con el propósito de tener seguridad sobre su uso.

GLOSARIO

Ácido gálico: Estándar utilizado para la cuantificación de fenoles.

Almidón: Sustancia de inducción a hiperglucemia a determinada dosis.

Compuestos fenólicos: Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios importantes para el desarrollo y reproducción de plantas, debido a esto regulan el metabolismo y síntesis de la lignina, son sintetizados a partir de la fenilalanina por la vía del Shikímato.

Cuantificación: Proceso que permite medir con exactitud la cantidad de sustancias químicas en extractos.

Diabetes: Es una enfermedad crónica que se produce por el mal funcionamiento del páncreas al no producir insulina suficiente o cuando el organismo no la utiliza de manera correcta de esta manera es causante de serias afectaciones hasta llegar a la muerte si no se la controla mediante el adecuado tratamiento.

Dosis: Cantidad de administración de extractos para que ejercen una actividad antioxidante.

Flavonoides: Los flavonoides son compuestos fenólicos que se encuentran en los vegetales en forma de pigmentos naturales, se encargan de proteger al organismo de agentes oxidantes como, los rayos ultravioleta, sustancias químicas etc. Se encuentran distribuidos en plantas, frutas, verduras y bebidas.

Glibenclamida: Agente glucémico que permite la disminución de valores de glucosa en la sangre.

Glucosa basal: Valores de glucosa en la sangre en ayunas.

Hiperglucemia: Niveles altos de glucosa en la sangre causado por diversos factores.

Inducción: Procedimiento por el cual se genera determinada patología a un organismo vivo mediante sustancias químicas.

Insulina: Es la hormona que se encarga de regular los niveles de glucosa en la sangre.

Liofilización: Técnica que permite el paso de un estado líquido a sólido mediante la eliminación de agua. Utilizada en extractos vegetales, conservación de frutas, alimentos.

Maceración: Técnica de extracción de principios activos en donde entra en contacto la planta con el solvente en un tiempo igual o mayor a 48 horas.

Metabolitos secundarios: Sustancias químicas de carácter heterogéneo, propios del reino vegetal, de bajo peso molecular, no son sintetizadas por el hombre y ejercen una función protectora sobre la salud humana en dosis significativas.

Purificación: Proceso que permite un porcentaje mayor de extracción de principios activos de interés, el cual se realiza mediante técnicas cromatográficas.

Tamizaje fitoquímico: Técnica cualitativa que permite la identificación de compuestos fitoquímicos presentes en la materia vegetal mediante ensayos preestablecidos.

BIBLIOGRAFÍA

ALVARADO, V. "Evaluación de la eficacia hipoglicemiante del extracto natural de *Artocarpus heterophyllus* (Jackfruit) en ratas hiperglicémicas". *Pro Veritatem* [en línea], 2019, vol. 5, no. 5, pp. 107- 129. [Consulta 8 de febrero del 2021]. Disponible en: <https://revistas.uia.ac.cr/index.php/proveritatem/article/view/115>

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. "Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus". *Diabetes care* [en línea], 2005, vol. 28, no. S37, pp. S37- S42. [Consulta: 11 de enero del 2021]. Disponible en: https://care.diabetesjournals.org/content/diacare/28/suppl_1/s37.full.pdf

AYALA, A. et al. "Liofilización de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*)". *Vitae* [en línea], 2010, vol. 17, no. 2, pp. 121- 127. [Consulta: 8 de febrero del 2021]. ISSN 0121-4004. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169815396002>

BUENAÑO, V., *Bioquímica farmacéutica* [en línea]. S.l.: [En línea] Escuela Superior Politécnica del Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2011. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/1578>.

CARRATÙ, B. y SANZINI, E. "Sostanze biologicamente attive presenti negli alimenti di origine vegetale". *Ann Ist Super Sanità* [en línea], 2005, vol. 41, no. 1, pp. 7- 16. [Consulta: 1 de febrero del 2021]. Disponible en: http://www.sefap.it/farmacovigilanza_news_200507/1.pdf

CARRIÓN, A. y GARCÍA, C., *Preparación de extractos vegetales: Determinación de la eficiencia de metódica . (Trabajo de Titulación) (Tesis de pregrado)*. [en línea]. S.l.: Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Cuenca-Ecuador. 2010. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/2483/1/tq1005.pdf>.

CARVAJAL, S., *Optimización del método de extracción de la fracción activa con efecto hipoglucemiante presente en las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam (Trabajo de Titulación) (Tesis de pregrado)*. [en línea]. S.l.: Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas. Quito-Ecuador. 2018. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/14328>.

CHACKREWARTHY, S. et al. "Evaluation of the hypoglycemic and hypolipidemic effects of an ethylacetate fraction of *Artocarpus heterophyllus* (jak) leaves in streptozotocin-induced diabetic rats". *Pharmacognosy Magazine* [en línea], 2010, vol. 6, no. 23, pp. 186- 190. [Consulta: 8 de febrero del 2021]. DOI 10.4103/0973-1296.66933. Disponible en:

<https://dx.doi.org/10.4103%2F0973-1296.66933>

CRANE, J. y BALERDI, C. "La Jaca en Florida". Horticultural Sciences [en línea], 2000, pp. 1-8. [Consulta: 10 de enero del 2021]. Disponible en: <https://edis.ifas.ufl.edu/pdf/HS/HS28300.pdf>

ELEVITCH, C. y MANNER, H. "Artocarpus heterophyllus (jackfruit)". Species Profiles for Pacific Island Agroforestry [en línea], 2006, vol. 10, pp. 1- 25. [Consulta: 9 de noviembre del 2020]. Disponible en: <https://www.growables.org/information/TropicalFruit/documents/Jackfruit.pdf>

GÓMEZ, R. et al. "Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 en el paciente anciano". Revista Clínica Española [en línea], 2018, vol. 218, no. 1, pp. 1- 15. [Consulta 16 de enero del 2021]. ISSN 0014-2565. DOI <https://doi.org/10.1016/j.regg.2017.12.003>. Disponible en: <https://www.sci-hub.ren/10.1016/j.rce.2017.12.003>

GRACIA, M. "Cuantificación de Fenoles y Flavonoides Totales en Extractos Naturales". Rev ACAD [en línea], 2006, vol. 1, pp. 1- 4. [Consulta 19 de noviembre del 2020]. ISSN 03788741. Disponible en: https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1UAQGarciaNava.pdf

HERNÁNDEZ, S. "El modelo animal en las investigaciones biomédicas". Biomedicina [en línea], 2006, vol. 2, no. 3, pp. 252- 256. [Consulta: 22 de enero del 2021]. ISSN 1510-9747. Disponible en: <http://www.um.edu.uy/docs/revistabiomedicina/2-3/Año2 No3 Dic2006.pdf#page=52>

LÓPEZ, Á. et al. "Implementación de una extracción dinámica con disolvente asistida por sonicación (DSASE) en matrices de hoja de *Erythroxylum coca* para el posterior análisis de cocaína por cromatografía de gases con detector de ionización de llama (CG FID)". Scientia Chromatographica, 2016, vol. 8, no. 2, pp. 115- 120. [Consulta: 8 de enero del 2021]. DOI 10.4322/sc.2016.022.

LÓPEZ, E., *Evaluación de la actividad antiinflamatoria y citotoxicidad in vitro de Bidens andicola* [en línea]. S.l.: [En línea] Escuela Superior Politécnica del Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2016. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/5795/1/56T00667.pdf>.

LUNA, G. et al. "La Yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam) Un Fruto De Exportación". Agro Productividad [en línea], 2013, vol. 6, no. 5, pp. 65- 70. [Consulta: 9 de noviembre del 2020].

Disponible en: <http://www.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/486>

MARTÍNEZ, S. et al. "Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes". *Nutricion Hospitalaria* [en línea], 2002, vol. 17, no. 6, pp. 271- 278. [Consulta: 19 de noviembre del 2020]. ISSN 0212-1611. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Javier_Gonzalez_Gallego/publication/10961859_Flavonoids_Properties_and_antioxidizing_action/links/0deec52a6b0057f327000000/Flavonoids-Properties-and-antioxidizing-action.pdf

MÉNDEZ, F. y PÉREZ, A. "Del laboratorio al campo abierto: El uso de protocolos de adaptación y socialización en *Rattus norvegicus*". *Suma Psicológica* [en línea], 2011, vol. 18, no. 1, pp. 127- 129. [Consulta: 22 de enero del 2021]. ISSN 21459797. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/sumps/v18n1/v18n1a12.pdf>

MERA, J. y MURILLO, M., *EVALUACIÓN DEL EFECTO NORMOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE JACKFRUIT (Artocarpus heterophyllus Lam.) EN RATONES DIABÉTICOS. (Trabajo de titulación) (Tesis de pregrado)* [en línea]. S.l.: Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Químicas. Guayaquil-Ecuador. 2018. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/28405>.

MERIÑO, C., *Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos de Jackfruit (Artocarpus heterophyllus Lam.) obtenidos mediante solventes de diferente polaridad* [en línea]. S.l.: Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. Cuenca-Ecuador. 2019. Disponible en: <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/17931>.

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA. "Diabetes mellitus tipo 2. Guía de Práctica Clínica" [en línea], 2017, [Consulta: 2 de noviembre del 2020]. Disponible en: https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/05/Diabetes-mellitus_GPC.pdf

MIRANDA, M. *Farmacognosia y productos naturales: Normas Ramales de drogas crudas y extractos y tinturas.* 2006. La Habana - Cuba: F. Varela: s.n.

OMAR, H.S. et al. "Antioxidant activity of *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Jack Fruit) leaf extracts: Remarkable attenuations of hyperglycemia and hyperlipidemia in streptozotocin-diabetic rats". *TheScientificWorldJournal*, 2011, vol. 11, pp. 788-800. ISSN 1537744X. DOI 10.1100/tsw.2011.71.

OPS/OMS ECUADOR. *La diabetes, un problema prioritario de la salud pública en el Ecuador y la región de las Américas* [blog] [Consulta: 22 de Octubre del 2020]. Disponible en:

<https://www.paho.org/es/ecuador>

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. "Diabetes". [en línea], 2020. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.

PANDEY, A. y TRIPATHI, S. "Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug". *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* [en línea], 2014, vol. 2, no. 5, pp. 115- 119. [Consulta: 8 de enero del 2021]. Disponible en: [file:///C:/Users/HP/Downloads/Standardization \(4\).pdf](file:///C:/Users/HP/Downloads/Standardization%20(4).pdf)

PAZ, J. "Manejo de la diabetes mellitus en tiempos de COVID-19". *Acta Me Perú* [en línea], 2020, vol. 37, no. 2, pp. 176- 185. [Consulta: 11 de enero del 2021]. DOI <https://doi.org/10.35663/amp.2020.372.962>. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v37n2/1728-5917-amp-37-02-176.pdf>

PORRAS, A. y LÓPEZ, A. "Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos". *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* [en línea] [en línea], 2009, vol. 3, no. 1, pp. 121- 134. [Consulta: 19 de noviembre del 2020]. Disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf)

PRAKASH, O. et al. "Artocarpus heterophyllus (Jackfruit)". *PHCOG REV.* [en línea], 2009, vol. 3, no. 6, pp. 353- 358. [Consulta: 10 de enero del 2021]. Disponible en: <http://www.phcogrev.com/sites/default/files/PhcogRev-3-6-353.pdf>

RAMIREZ, J., *Liofilización de los alimentos* [en línea]. Cali-Colombia: Revista ReCiTeIA. 2006. Disponible en: https://books.google.es/books?id=hNckTLfmPI4C&dq=RAMÍREZ-NAVAS,+Juan+Sebastián.+Liofilización+de+alimentos.+Revista+ReCiTeIA,+2006.&lr=&hl=es&source=gbs_navlinks_s.

RODRÍGUEZ, N. et al. "Hipoglucemiantes orales para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2: uso y regulación en México". *Rev Hosp Jua Mex* [en línea], 2017, vol. 84, no. 4, pp. 203- 211. [Consulta: 16 de enero del 2021]. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/juarez/ju-2017/ju174e.pdf>

SHAHIN, N. et al. "Pharmacognostical Standardisation and Antidiabetic activity of Artocarpus Heterophyllus Leaves Lam.". *International Journal of Drug Development and Research* [en línea], 2012, vol. 4, no. 1, pp. 346-352. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/279582435_Pharmacognostical_Standardisation_and_Antidiabetic_activity_of_Artocarpus_Heterophyllus_Leaves_Lam

TIWARI, A.K. et al. "Influence of antioxidant rich fresh vegetable juices on starch induced postprandial hyperglycemia in rats". *Food and Function*, 2011, vol. 2, no. 9, pp. 521- 528. [Consulta: 12 de enero del 2021]. ISSN 20426496. DOI 10.1039/c1fo10093a.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. "Classification of diabetes mellitus 2019". [en línea], 2019,pp. 1- 37. [Consulta 10 de febrero del 2021]. DOI 10.5005/jp/books/12855_84. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325182/9789241515702-eng.pdf>

ZURITA, B., *DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LA PLANTA Roupala montana Aubl. MEDIANTE INHIBICIÓN DE EDEMA PLANTAR INDUCIDO POR CARRAGENINA EN RATONES (Mus musculus)* [en línea]. S.l.: [En línea] Escuela Superior Politécnica del Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2019. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/handle/123456789/13801>.

ANEXOS

ANEXO A. Certificado de reconocimiento de *Artocarpus heterophyllus* Lam por parte del Herbario de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

**HERBARIO POLITECNICA CHIMBORAZO (CHEP)**
ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL CHIMBORAZO
Panamericana sur Km 1, fono: (03) 2 998-200 ext. 700123, jcaranqui@yahoo.com
Riobamba Ecuador

Ofc.No.020.CHEP.2020

9 de diciembre del 2020

A QUIEN CORRESPONDA

Reciba un atento y cordial saludo, por medio de la presente certifico que el señores López Manobanda Cristian Jonny con CI: 172617094-5 y Masabanda Carrillo Hector Fernando con CI: 180518715-8, tesisistas de Química, se identificó la especie: *Artocarpus heterophyllus* Lam.. Esta especie es exótica cultivada, que se revizó en el herbario y se archivarà en un año para los fines pertinentes. Es todo cuanto puedo decir en honor a la verdad y el interesado puedo usar el presente certificado como crea conveniente.

Atte.


Ing. Jorge Caranqui Msc.
RESPONSABLE
HERBARIO ESPOCH



ANEXO B. Recolección y preparación del material vegetal para análisis cualitativo.



Árbol de *Artocarpus heterophyllus* Lam



Recolección del material vegetal



Limpieza del material vegetal



Secado del material vegetal



Molienda del material vegetal



Pesaje del material vegetal para preparación del extracto hidroalcohólico



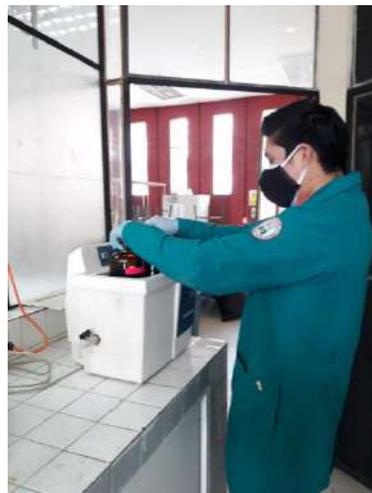
Pesaje del material vegetal para preparación del extracto acuoso



Adición del solvente hidroalcohólico



Adición del solvente acuoso



Proceso de Sonicación



Maceración por 48 horas



Filtrado del extracto hidroalcohólico



Filtrado del extracto acuoso



Reactivos para tamizaje

ANEXO C. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico.

	
<p>Ensayo de Catequinas</p>	<p>Ensayo de resinas</p>
	
<p>Ensayo de Fehling</p>	<p>Ensayo de Baljet</p>



Ensayo de Lieberman-Buchard



Ensayo de Espuma



Ensayo de Cl_3Fe



Ensayo de Ninhidrina



Ensayo de Borntrager



Ensayo de Shinoda



Ensayo de Medio Alcalino



Ensayo de Antocianidina



Ensayo de Dragendorff



Ensayo de Mayer

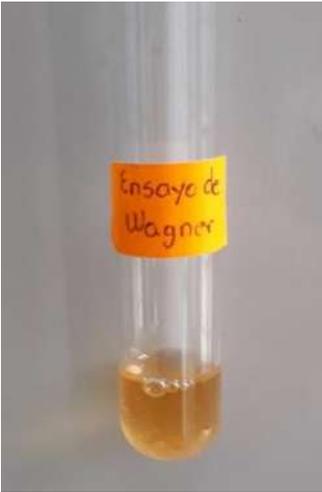


Ensayo de Wagner



Resultado final

ANEXO D. Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso.

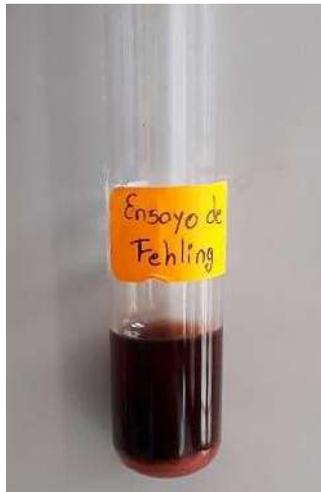
	
<p>Ensayo de Dragendorff</p>	<p>Ensayo de Mayer</p>
	
<p>Ensayo de Wagner</p>	<p>Ensayo de Cl_3Fe</p>



Ensayo de Shinoda



Ensayo de Medio Alcalino



Ensayo de Fehling



Ensayo de Espuma



Ensayo de Mucílagos



Resultado final

ANEXO E. Preparación de extractos, purificación y cuantificación de fenoles y flavonoides de *Artocarpus Heterophyllus* Lam.

PRIMERA PARTE: EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

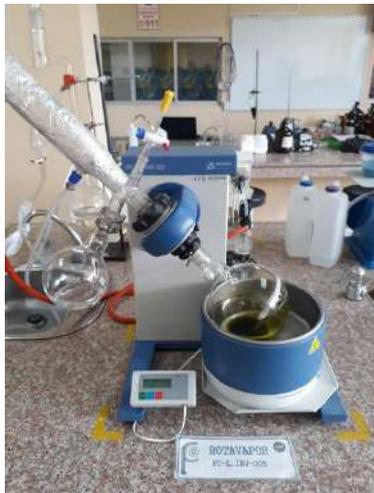
	
<p>Pesaje del material vegetal para preparación del extracto hidroalcohólico</p>	<p>Adición de los 10 ml de hexano y 10 de alcohol isopropílico al 70 %</p>
	
<p>Agitación en el vórtex</p>	<p>Lavado del residuo con 10 ml de hexano y 10 de alcohol isopropílico al 70 %</p>



Filtrado de la solución



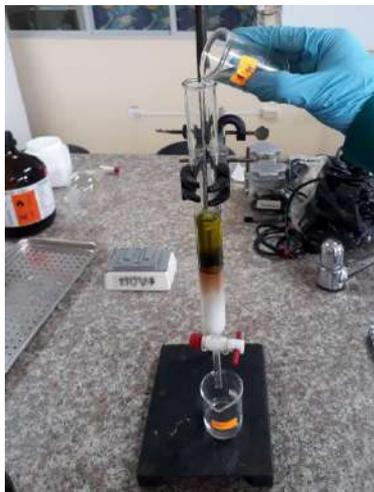
Separación de la fase hidroalcohólico de la hexánica



Concentración del extracto a $\frac{1}{4}$ del volumen inicial



Preparación de la fase móvil para cromatografía en columna



Cromatografía en columna del extracto acuoso



Reactivos y materiales para cuantificación de fenoles



Estándares de fenoles para preparar la curva de calibración



Dilución 10 de la muestra del extracto hidroalcohólico



Reactivos para cuantificación de flavonoides



Cuantificación en el UV

SEGUNDA PARTE: EXTRACTO ACUOSO



Pesaje del material vegetal para preparación del extracto acuoso



Adición de los 10 ml de hexano y 10 de agua



Agitación en el vórtex



Lavado del residuo con 10 ml de hexano y 10 de agua



Filtrado de la solución



Separación de la fase acuosa de la hexánica



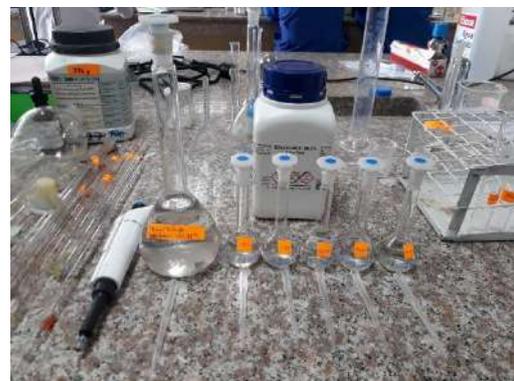
Concentración del extracto a $\frac{1}{4}$ del volumen inicial



Preparación de la fase móvil para cromatografía en columna



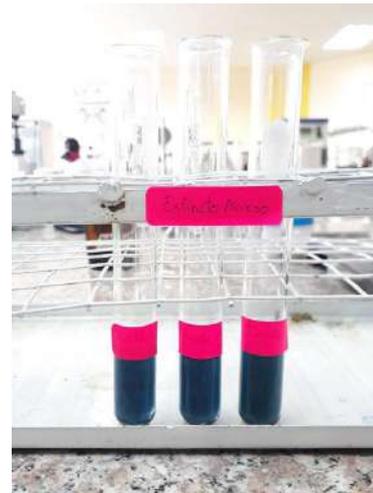
Cromatografía en columna del extracto acuoso



Reactivos y materiales para cuantificación de fenoles



Estándares de fenoles para preparar la curva de calibración



Dilución 10 de la muestra del extracto acuoso



Reactivos y materiales para cuantificación de flavonoides



Cuantificación en el UV

ANEXO F. Control de calidad del material vegetal y de los extractos.

	
<p>Materiales para el control de calidad del material vegetal</p>	<p>Estufa con las capsulas para la determinación del contenido de humedad</p>
	
<p>Capsula con la muestra trasladada al desecador</p>	<p>Capsulas en el desecador</p>



Carbonización de las muestras para determinación de cenizas totales



Crisoles en la mufla



Crisoles en el desecador



Adición de 15 ml de agua a las C.T. para determinación de cenizas solubles en agua



Crisoles cubiertos por un vidrio reloj en el proceso de cenizas solubles en agua



Crisoles en el desecador para el proceso de cenizas solubles en agua



Mufla a 700 °C para la determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico



Crisoles en el desecador para la determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico



Baño maría para la determinación de sólidos totales



Capsulas en el desecador en la determinación de sólidos totales.

ANEXO G. Cálculos y evidencia del control de calidad del material vegetal.

Determinación del contenido de humedad

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

Donde:

%H = Pérdida en peso por desecación

M = Masa de la capsula vacía (g).

M₁ = Masa de la capsula con la muestra de ensayo desecada (g).

M₂ = Masa de la capsula con la muestra de ensayo (g).

100 = Factor matemático.



$$\%H \text{ muestra}_1 = \frac{46.2880 \text{ g} - 46.1336 \text{ g}}{46.2880 \text{ g} - 44.2872 \text{ g}} \times 100 = 7.72\%$$

$$\%H \text{ muestra}_2 = \frac{49.2594 \text{ g} - 49.1061 \text{ g}}{49.2594 \text{ g} - 47.2579 \text{ g}} \times 100 = 7.65\%$$

$$\%H \text{ muestra}_3 = \frac{47.1034 \text{ g} - 46.9489 \text{ g}}{47.1034 \text{ g} - 45.1020 \text{ g}} \times 100 = 7.73\%$$

De los valores obtenidos se procede a realizar una media.

$$\%H = \frac{7.72 \% + 7.65 \% + 7.73 \%}{3} = 7.72 \%$$

Determinación de cenizas totales

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

Donde:

%C = porcentaje de cenizas totales.

M = masa del crisol vacío (g)

M₁ = masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M₂ = masa del crisol con la ceniza (g)



$$\%C \text{ muestra}_1 = \frac{36.6371 \text{ g} - 36.4410 \text{ g}}{38.4421 \text{ g} - 36.4410 \text{ g}} \times 100 = 9.79 \%$$

$$\%C \text{ muestra}_2 = \frac{41.1508 \text{ g} - 40.9554 \text{ g}}{42.9652 \text{ g} - 40.9554 \text{ g}} \times 100 = 9.72 \%$$

$$\%C \text{ muestra}_3 = \frac{38.1041 \text{ g} - 37.9096 \text{ g}}{39.9134 \text{ g} - 37.9096 \text{ g}} \times 100 = 10.14 \%$$

De los valores obtenidos se procede a realizar una media.

$$\%C = \frac{9.79 \% + 9.72 \% + 10.14 \%}{3} = 9.88 \%$$

Determinación de cenizas solubles en agua

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

Donde:

%Ca = Porcentaje de cenizas solubles en agua.

M = Masa del crisol vacío (g).

M₁ = Masa del crisol con la muestra de ensayo. (g)

M₂ = Masa del crisol con las cenizas totales. (g)

Ma = Masa del crisol con las cenizas insolubles en agua. (g)

100 = Factor Matemático.



$$\%Ca \text{ muestra}_1 = \frac{36.6371 \text{ g} - 36.6103 \text{ g}}{38.4421 \text{ g} - 36.4410 \text{ g}} \times 100 = 1.33 \%$$

$$\%Ca \text{ muestra}_2 = \frac{41.1508 \text{ g} - 41.1287 \text{ g}}{42.9652 \text{ g} - 40.9554 \text{ g}} \times 100 = 1.09 \%$$

$$\%Ca \text{ muestra}_3 = \frac{38.1041 \text{ g} - 38.0717 \text{ g}}{39.9137 \text{ g} - 36.4410 \text{ g}} \times 100 = 0.93 \%$$

De los valores obtenidos se procede a realizar una media.

$$\%Ca = \frac{1.33 \% + 1.09 \% + 0.93 \%}{3} = 1.11 \%$$

Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

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

Donde:

% B = porcentaje de cenizas insolubles en HCl en base hidratada (%)

M = masa del crisol vacío (g)

M₁ = masa del crisol con la muestra seca (g)

M₂ = masa del crisol con las cenizas insolubles en HCl (g)



$$\%B \text{ muestra}_1 = \frac{38.1210 \text{ g} - 38.1043 \text{ g}}{40.1243 \text{ g} - 38.1043 \text{ g}} \times 100 = 0.82 \%$$

$$\%B \text{ muestra}_2 = \frac{42.0007 \text{ g} - 41.9867 \text{ g}}{44.0347 \text{ g} - 41.9867 \text{ g}} \times 100 = 0.68 \%$$

$$\%B \text{ muestra}_3 = \frac{38.0044 \text{ g} - 37.9877 \text{ g}}{40.0277 \text{ g} - 37.9877 \text{ g}} \times 100 = 0.83 \%$$

De los valores obtenidos se procede a realizar una media.

$$\%B = \frac{0.82 \% + 0.68 \% + 0.83 \%}{3} = 0.77 \%$$

ANEXO H. Cálculos y evidencia del control de calidad del extracto hidroalcohólico.

Medición de pH

Al realizar la medición de pH del extracto hidroalcohólico, se obtuvo los siguientes resultados.



De los valores obtenidos se procede a obtener una media.

$$\text{pH} = \frac{7.87 + 7.58 + 7.50}{3} = 7.65$$

Índice de refracción

Al medir el índice de refracción del extracto hidroalcohólico, se obtuvo los siguientes resultados.



De los valores obtenidos se procede a obtener una media.

$$\text{pH} = \frac{1.342 + 1.342 + 1.342}{3} = 1.342$$

Determinación de densidad relativa

$$D = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Donde:

D: Densidad relativa

M: Peso del picnómetro vacío (g).

M₁: Peso del picnómetro con la muestra (g).

M₂: Peso del picnómetro con el agua (g).



$$D \text{ muestra}_1 = \frac{26.316 - 17.091}{27.302 - 17.091} = 0.903$$

$$D \text{ muestra}_2 = \frac{26.757 - 17.558}{27.701 - 17.558} = 0.907$$

$$D \text{ muestra}_3 = \frac{26.801 - 17.623}{27.688 - 17.623} = 0.912$$

De los valores obtenidos se procede a obtener una media.

$$\%D = \frac{0.903 + 0.907 + 0.912}{3} = 0,907$$

Determinación de solidos totales

$$ST = \frac{Pr - P}{V} \times 100$$

Donde:

ST: Solidos totales

Pr: Masa de la cápsula más el residuo (g).

P: Masa de la cápsula vacía (g).

V: Volumen de la porción de ensayo.

100: Factor matemático para el cálculo.



$$ST \text{ muestra}_1 = \frac{87.9743g - 87.8996g}{3 \text{ ml}} \times 100 = 2.49 \%$$

$$ST \text{ muestra}_2 = \frac{85.9387g - 85.8641g}{3 \text{ ml}} \times 100 = 2.48 \%$$

$$ST \text{ muestra}_3 = \frac{105.3333g - 105.2584g}{3 \text{ ml}} \times 100 = 2.49 \%$$

De los valores obtenidos se procede a obtener una media.

$$\%ST = \frac{2.49 \% + 2.48 \% + 2.49 \%}{3} = 2.48 \%$$

ANEXO I. Cálculos y evidencia del control de calidad del extracto acuoso.

Medición de *pH*

Al realizar la medición de *pH* del extracto acuoso, se obtuvo los siguientes resultados.



De los valores obtenidos se procede a obtener una media.

$$\text{pH} = \frac{7.88 + 7.75 + 7.67}{3} = 6.95$$

Índice de refracción

Al medir el índice de refracción del extracto acuoso, se obtuvo los siguientes resultados.



De los valores obtenidos se procede a obtener una media.

$$IR = \frac{1.346 + 1.345 + 1.346}{3} = 1.346$$

Determinación de densidad relativa

$$D = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Donde:

D: Densidad relativa

M: Peso del picnómetro vacío (g).

M₁: Peso del picnómetro con la muestra (g).

M₂: Peso del picnómetro con el agua (g).



$$D \text{ muestra}_1 = \frac{25.951 - 16.535}{26.454 - 16.535} = 0.949$$

$$D \text{ muestra}_2 = \frac{25.617 - 16.206}{26.098 - 16.206} = 0.951$$

$$D \text{ muestra}_3 = \frac{25.613 - 16.276}{26.120 - 16.276} = 0.948$$

De los valores obtenidos se procede a obtener una media.

$$\%D = \frac{0.949 + 0.951 + 0.948}{3} = 0,949$$

Determinación de sólidos totales

$$ST = \frac{Pr - P}{V} \times 100$$

Donde:

Pr: Masa de la cápsula más el residuo (g).

P: Masa de la cápsula vacía (g).

V: Volumen de la porción de ensayo.

100: Factor matemático para el cálculo.



$$ST \text{ muestra}_1 = \frac{107.4934g - 107.4169g}{3 \text{ ml}} \times 100 = 2.55 \%$$

$$ST \text{ muestra}_2 = \frac{99.3084g - 99.2315g}{3 \text{ ml}} \times 100 = 2.56 \%$$

$$ST \text{ muestra}_3 = \frac{95.5759g - 95.5002g}{3 \text{ ml}} \times 100 = 2.52 \%$$

De los valores obtenidos se procede a obtener una media.

$$\%ST = \frac{2.55 \% + 2.56 \% + 2.52 \%}{3} = 2.54 \%$$

ANEXO J. Liofilización y análisis en el espectrofotómetro IR de los extractos.



Proceso de liofilización



Liofilizado del extracto hidroalcohólico



Liofilizado del extracto acuoso



Análisis de los extractos en el espectrofotómetro IR

ANEXO K. Periodo de adaptación y análisis hipoglucemiante en *Rattus norvegicus*.

	
<p>Pesaje de las ratas para clasificación en los grupos para posterior análisis</p>	<p>Clasificación de las ratas de acuerdo a su peso</p>
	
<p>Cambio de viruta cada 72 horas</p>	<p>9 grupos de 5 ratas para el análisis</p>



Colocación de agua ad libitum para cada caja



25g de comida/día para cada rata



Cuidado y verificación diaria de cada especie



Dilución del almidón con propilenglicol al 15%



Soluciones de almidón para cada grupo



Uso de jeringa con cánula para administración



Manipulación de *Rattus norvegicus*



Administración de la solución de almidón



Glucómetro con tirillas para medición de glucosa



Extracción de sangre de la cola de *Rattus norvegicus*



Medición de glucosa



Preparación de las soluciones de los extractos empleando propilenglicol al 15%



Soluciones del extracto hidroalcohólico a concentraciones de 125, 250 y 400 ppm



Soluciones del extracto acuoso a concentraciones de 125, 250 y 400 ppm



Fármaco (Metformina/Glibenclamida) a una concentración de 5 ppm.



Administración del fármaco



Administración del extracto hidroalcohólico



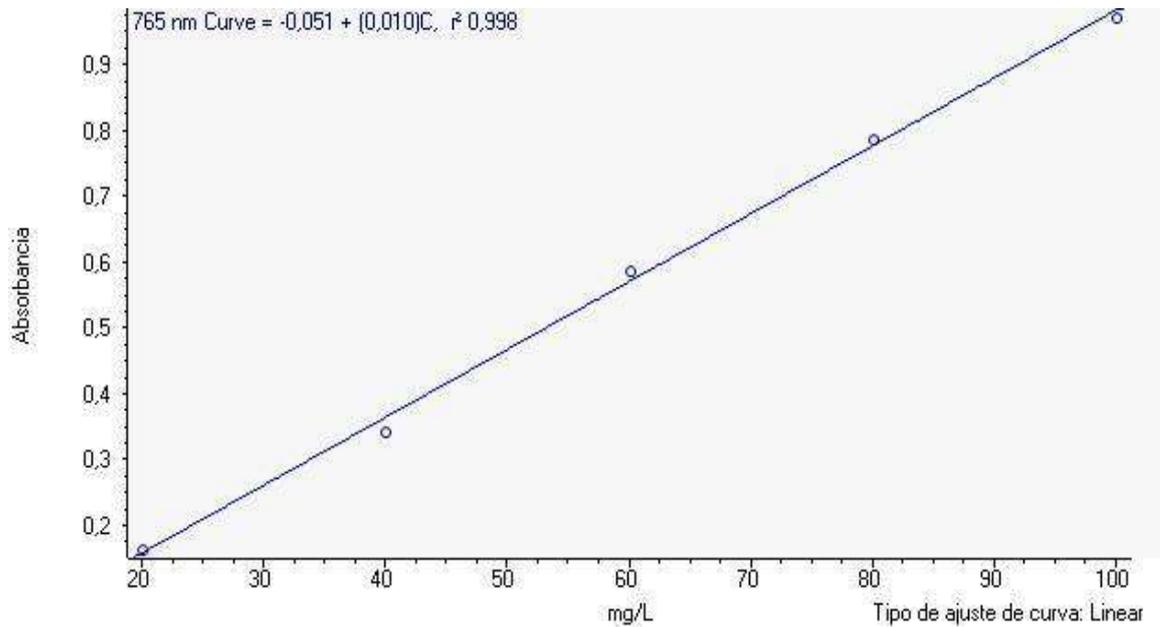
Administración del extracto acuoso

ANEXO L. Cuantificación de Fenoles totales

Información de configuración

Elemento	Valor
Archivo de libro	C:\Documents and Settings\Pc\Escritorio\lab investigacion\LOPEZ FENOLESSES\2020_12_02_Cuantificación.iwbk
Accesorios	Accesorio: Detector estándar
Software	INSIGHT: 2.1.133
microprograma, software inalterable	3.0.0.109
Nombre del método	Cuantificación
Tipo de método	Curva estándar
Tipo de ajuste de curva	Lineal
Longitud de onda del análisis	765 nm
Ecuacion de Curva	-0,051 + (0,010)C
r ²	0,998
Corrección de análisis	Ninguno
Longitud de recorrido	10 mm

Estándar	Fecha & Hora	mg/L	Usado	Avg Abs.	#1
1	12/01/2021 6:18	20	Sí	0,16	0,16
2	12/01/2021 6:19	40	Sí	0,34	0,34
3	12/01/2021 6:20	60	Sí	0,585	0,585
4	12/01/2021 6:21	80	Sí	0,785	0,785
5	12/01/2021 6:21	100	Sí	0,97	0,97



Lectura de las muestras.

#	ID de muestra	Fecha y hora	Analito 1 (mg/L)	Abs 765 (AU)
1	Muestra1 fd10	13/01/2021 6:23	42,809	0,391
2	Muestra2 fd10	13/01/2021 6:25	45,862	0,422
3	Muestra3 fd10	13/01/2021 6:26	41,581	0,378
4	acuoso-1	13/01/2021 15:38	55,168	0,518
5	acuoso-1 fd 10	13/01/2021 15:39	54,938	0,516
6	acuoso-2 fd 10	13/01/2021 15:40	60,482	0,573
7	acuoso-3 fd 10	13/01/2021 15:41	50,632	0,471

