

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Efecto normoglucémico del extracto etanólico de las hojas *de Bixa orellana*
L. (achiote) en ratas normales

Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico

Autores:

Ruiz Noriega Percy Recaredo
Vásquez Monzón Vanessa Mirelly

Asesor

Torres Solano, Carol Giovanna
(Código ORCID: 0000-0002-2313-3039)

Chimbote – Perú

2022

INDICE DE CONTENIDOS

INDICE DE TABLAS	i
1. Palabras Clave	ii
2. Título	iii
3. Resumen	iv
4. Abstract	v
5. Introducción.....	1
Justificación.....	13
Problema.....	15
Hipótesis	16
Objetivos	16
6. Metodología.....	16
a) Tipo y Diseño de investigación.....	16
b) Población y muestra	17
c) Técnicas e instrumentos de investigación.....	17
d) Procesamiento y análisis de la información.....	20
7. Resultados	21
8. Análisis y Discusión	25
9. Conclusiones y recomendaciones	26
Recomendaciones	26
10. Referencias Bibliográficas.....	27
11. Agradecimiento.....	31
12. ANEXOS	32

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Identificación fitoquímica cualitativa del extracto etanólico de las hojas de Bixa orellana L	22
Tabla 2	Valores promedio de glucosa en sangre por grupo experimental a los 0 minutos según el test de tolerancia oral a la glucosa	23
Tabla 3	Valores promedio de glucosa en sangre por grupo experimental a los 0 minutos según el test de tolerancia oral a la glucosa	24
Tabla 4	Valores promedio de glucosa en sangre por grupo experimental a los 0 minutos según el test de tolerancia oral a la glucosa	25

1. Palabras Clave

Tema	Fitoterapia
Especialidad	Farmacia y Bioquímica

Keywords:

Subject	Phytotherapy
Speciality	Pharmacy and Biochemistry

Línea de investigación	Estudios etnobotánicos de recursos naturales terapéuticos
Área	Ciencias médicas y de la salud
Subárea	Medicina básica
Disciplina	Farmacia y Bioquímica

2. Título

Efecto normoglucémico del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L.
(achiote) en ratas normales

3. Resumen

En la presente investigación se planteó el objetivo de evaluar el efecto normoglicémico del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* (achiote) en ratas normales. La investigación fue de tipo experimental, se utilizaron hojas de achiote y 36 ratas cepa Holtzman divididas en seis grupos de 6 ratas cada grupo, uno de los grupos recibió solución salina fisiológica 2 mL/kg, otro glibenclamida 5 mg/kg, otro insulina 4 UI/Kg y los tres grupos restantes recibieron dosis de extracto de 100, 200 y 400 mg/kg respectivamente, antes de aplicar los tratamientos a todos los grupos se les administró glucosa 500 mg/kg por vía oral. Según el test de Tolerancia a la glucosa se midió la concentración de glucosa en sangre a los 0, 60 y 120 minutos. El extracto demostró mantener los niveles de glicemia, encontrando una mayor actividad hipoglicemiante con un valor promedio de la glicemia de 77.33 mg/dL con extracto a dosis de 400 mg/kg, también se puede afirmar que los valores de glicemia obtenidos con las otras concentraciones del extracto se encuentran dentro de los valores normales de glicemia. Se concluye que el extracto de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) mantiene los niveles de glicemia dentro de los parámetros normales en ratas normales.

Palabras clave: Normoglicemia, *Bixa orellana* L., achiote, test de tolerancia oral a la glucosa.

4. Abstract

In the present investigation, the objective was to evaluate the normoglycemic effect of the ethanolic extract of *Bixa orellana* (achiote) leaves in normal rats. The research was of an experimental type, achiote leaves and 36 Holtzman strain rats were used, divided into six groups of 6 rats each group, one of the groups received physiological saline solution 2 mL/kg, another glibenclamide 5 mg/kg, another insulin 4 IU/Kg and the three remaining groups received extract doses of 100, 200 and 400 mg/kg respectively, before applying the treatments to all groups glucose 500 mg/kg was administered orally. According to the glucose tolerance test, the blood glucose concentration was measured at 0, 60 and 120 minutes. The extract proved to maintain blood glucose levels, finding greater hypoglycemic activity with an average blood glucose value of 77.33 mg/dL with extract at a dose of 400 mg/kg, it can also be stated that the blood glucose values obtained with the other concentrations of the extract are within normal glyceemic values. It is concluded that the extract of the leaves of *Bixa orellana* L. (annatto) maintains glycemia levels within normal parameters in normal rats.

Keywords: Normoglycemia, *Bixa orellana* L., achiote, oral glucose tolerance test.

5. Introducción

Antecedentes y fundamentación científica

Pillai et al. (2018), mediante una revisión sistemática acerca de *Bixa orellana* L. resalta los usos etnofarmacológicos, farmacológicos y cosmeceúticos del achiote no solo de la literatura científica sino también de documentos de patentes. La revisión del estado de la técnica de los fitoconstituyentes muestra que *B. orellana* contiene una amplia variedad de compuestos biológicamente activos como bixina, norbixina, β -caroteno, luteína, tocotrienol, tocoferoles, sesquiterpenos, monoterpenos, etc. La revisión farmacológica reveló que esta planta es útil como agente antiinflamatorio, antiasmático, antibacteriano, antidiabético, anticonvulsivo, hepatoprotector, antifúngico, anticancerígeno.

Raddatz-Mota (2017), luego de una revisión de literatura científica sobre la etnobotánica y farmacología del achiote mencionan que es un arbusto que tiene pigmentos colorantes naturales. Se utiliza en la formación de colorantes alimentarios, aditivos y también labiales. Mencionan que tradicionalmente se emplea para tratar la diabetes y obesidad. Puede usarse en el tratamiento de tumores, cáncer, afrodisíaco, ictericia, gonorrea, hepatitis, antidisentérico y antipirético. También lo consideran bueno para el sistema digestivo y para el tratamiento de enfermedades hepáticas.

Del mismo modo, Karmakar (2018), luego de una revisión de estudios de investigación en achiote afirma que varios extractos de sus hojas de exhiben actividades antioxidantes, antimicrobianas amplias (antibacterianas y antifúngicas), antiinflamatorias, analgésicas, hipoglucémicas y antidiarreicas. Se han realizado y publicado pocos estudios en humanos utilizando preparaciones de hojas de achiote. Se han realizado y publicado más estudios que involucran a extractos de semillas que con extractos de hojas. No se han realizado estudios de seguridad subcrónica (toxicidad) en animales. Sin embargo, se necesitan estudios adicionales

de seguridad y eficacia controlados en humanos y animales. Además, se requieren análisis químicos detallados para establecer relaciones estructura-función.

Específicamente sobre su actividad hipoglucemiante, recientemente Keita et al. (2021), extrajeron y purificaron bixina de las semillas de *Bixa orellana* y evaluaron su actividad hipoglucemiante *in vivo*. Encontraron que la administración oral de Bixin (10 mg/kg) redujo significativamente su nivel de glucosa en ratas diabéticas inducidas por aloxano. De los resultados obtenidos se puede inferir que Bixin presenta características hipoglucemiantes, lo cual fue confirmado por los resultados obtenidos en las pruebas *in vivo* e *in silico*; sin embargo, se necesitan más estudios sobre la actividad y toxicidad de Bixin para evaluar su uso clínico adicional.

Béjar (2018), demostró el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las semillas del achiote en un estudio experimental con 48 ratas de la cepa Holtzman midiendo la glucosa en sangre (mg/gL) luego de inducirles diabetes con aloxano. Ensayó distintas dosis del extracto entre 100 y 400 mg/kg de peso del animal, encontrando que a 200 mg/kg el efecto hipoglucemiante es significativo por lo que concluyó que las semillas de achiote tienen efecto hipoglucemiante.

Ramos y Cisneros (2018), demostró el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas de *Sida Rhombifolia* (angulla) en ratas normales. Identificó la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos a los que les atribuye sus propiedades hipoglucemiantes. Así mismo los extractos ensayados demostraron tener las propiedades de mantener los valores normales de glicemia, sobre todo con el extracto a concentraciones de 500 mg/kg. Por tanto, se concluye que el extracto de angulla tiene efecto hipoglicemiante en ratas con inducción de hiperglicemia, mediante el método de test de tolerancia oral a la glucosa.

Plasencia (2019), evaluó el zumo de *Passiflora tripartita* sobre la hiperglicemia con adrenalina en ratas albinas, posterior a una semana de tratamiento se obtuvo niveles de glucosa de 107.7 y 116.1 mg/mL a 15 y 30 minutos,

concluyendo que el zumo de *Passiflora tripartita* tiene efecto antihiperглиcemiante en rata diabéticas inducidas con adrenalina.

Los animales diabéticos tratados con achiote mostraron niveles de glucosa en sangre significativamente más bajos que los diabéticos no tratados. La reducción más significativa de la glucosa en sangre se produjo dos horas después de la administración del fármaco y el efecto se evaluó durante 12 horas en las que el resultado se mantiene.

Cueto (2018), evaluó el efecto del extracto hidroalcohólico del tallo de tuna los niveles de glucemia en ratas, comparado con glibenclamida en un estudio experimental, analítico y comparativo en 64 ratas macho a los que previamente se les indujo diabetes con aloxano. Los resultados demuestran una reducción rápida de glucosa en sangre con el extracto de achiote en comparación con la glibenclamida que la redujo de manera más lenta por lo que concluyó que el extracto hidroalcohólico de achiote disminuye los niveles de glucosa en ratas al igual que el fármaco metformina.

Busso y Vicente et al. (2019), determinaron el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas de *Schkuhria pinnata* (canchalagua) en ratas, el estudio fitoquímico mostró la presencia de antraquinonas, flavonoides, alcaloides y taninos y la determinación de toxicidad aguda fue 2000 mg/Kg. la diabetes fue inducida con estreptozotocina 60 mg/Kg, utilizando 42 ratas. Se encontró que al día 28 de administración de tratamientos el extracto a dosis de 1000 mg/kg posee una actividad menor, pero a la vez cercana al estándar farmacológico glibenclamida, por tanto, se concluye que el extracto de *Schkuhria pinnata* (canchalagua) tiene efecto hipoglicemiante.

Origen y distribución del achiote

El origen del achiote o también conocido como *Bixa orellana* se encuentra en el suroeste amazónico. Hoy, prospera en los trópicos de los países del Viejo y Nuevo Mundo. Desde la época precolombina, especialmente en Perú, Costa Rica,

Ecuador, Venezuela y México, Panamá, Colombia. En México toma su nombre del náhuatl *achiyotl*, de *achi*, grano o semilla, aunque también recibe otros nombres según la etnia (Kang et al., 2016).

Uso del achiote como colorante y toxicidad

En América central y del sur, los pueblos aborígenes ya usaban el achiote como colorante facial y corporal como parte de sus ceremonias religiosas, contra picaduras de insecto e incluso para curar heridas porque es un pigmento inocuo para los organismos vivos. Reconocido por su cero toxicidad, actualmente se recomienda como alternativa a los tintes sintéticos. La dosis diaria permitida y recomendada por la Organización Mundial de la Salud es de 0,065 mg/kg de peso. Reconocido por su cero toxicidad, actualmente se recomienda como alternativa a los tintes sintéticos (Kang et al., 2016).

El rojo es el color característico del achiote debido a la presencia de carotenoides, especialmente apocaroteno, en las semillas de achiote. Bixin se ha convertido en el compuesto más valioso con el código industrial E-160b. Annatto ha reemplazado a los colorantes sintéticos para colorear una variedad de alimentos, como queso, mantequilla, arroz, fideos, dulces, dulces y más. Incluso se puede utilizar en platos típicos como condimento, y también se utiliza para teñir madera, tela, marfil, cuero, laca, jabón (Kang et al., 2016).

A nivel mundial se está comercializando en diferentes sectores; por ejemplo en la industria farmacéutica se usa como colorante para los esmaltes, pomadas y como aceite de cabello; en el sector doméstico lo utilizamos para colorar y sazonar los alimentos; en el sector de la industria general se usan para colorantes de jabones, en la carpintería como laca o barnices, y como colorante en ceras que es para piso; por último, en el sector más importante que es la industria alimentaria se usa en los embutidos como colorante, también en queso, manteca, pescado procesado, para snacks, cereales y dulces con la misma finalidad (Huerta, 2017).

Clasificación taxonómica del achiote (Kang et al., 2016).

División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Sub Clase	: Dilleniidae
Orden	: Violales
Familia	: Bixaceae
Género	: <i>Bixa</i>
Especie	: <i>Bixa Orellana</i> L.
Nombre Vulgar	: “achiote”

Descripción botánica del achiote

Es un arbusto de 2 a 6 metros de altura, un arbusto perenne de copa baja y extendida, tallos marrones y ramas ligeramente por encima del suelo. Las hojas son lisas, verde claro y grandes. Las flores están dispuestas en racimos y, según la variedad, son de color blanco a rosa. El fruto de 2 a 6 centímetros de largo es una cápsula con cerdas tupidas que pueden ser de color verde oscuro a morado (dependiendo de la variedad), tornándose marrón rojizo oscuro cuando maduran (López et al., 2018).

Los frutos miden $4,6 \pm 0,37$ cm de largo y $3,3 \pm 0,35$ cm de ancho, mientras que el fruto con semillas pesó $3,3 \pm 0,46$ g y el número de semillas por fruto fue de $35 \pm 6,59$. Las semillas miden $0,5 \pm 0,02$ cm de largo y $0,4 \pm 0,02$ cm de ancho. El peso medio de la semilla es de 0.044 g y contenidas en el fruto pueden llegar a 1.55 g. Las flores son rosadas (Akshatha et al., 2015).

Hay un número aproximadamente variable de semillas (10-50, dependiendo del tamaño del saco) en cada valva. La semilla está comprimida, mide 5 mm de largo

y está cubierta con una espesa sustancia viscosa roja. El pigmento se encuentra como una cubierta resinosa en la superficie de las semillas, compuesta principalmente de carmín, con trazas de carotenoides como norsaflorina y carmín dimetil éster. (López S, Caicedo E, Gil A y Pazos A, 2018).

Composición Química del achiote

Se puede encontrar en las hojas ishwarano que es aceite esencial, bixageno, también mono y sesquiterpenos; proteínas; celulosa; azúcares; grasas; flavonoides: 7-bisulfato de aspigenina, hipoaletina, cosmosiina, diterpenos: farnesilacetona, geraniol, geranil, formato, vestigios, ácido gálico, ácido alfitólico y entre otros (Barriga, 2018).

Las semillas contienen un alto contenido de lo que es fosforo y también un bajo contenido de calcio. Las semillas contienen un alto contenido de proteínas, niveles moderados de triptófano y lisina, pero tiene un nivel bajo de metionina, isoleucina, fenilalanina, leucina y teonina. También podemos encontrar provitamina A expresados como carotenoides (bixa, metilbixina, betabixina, bixinato de sodio, achiota y entre otros) (Barriga, 2018).

Propiedades terapéuticas y usos del achiote en la medicina popular

Los curanderos y comunidades indígenas tuvieron muchas utilidades curativas y lo implementaban en prácticas ya sean culturales o medicinales aplicando la semilla mezclada con resina de “caucho –masha” en la fontaneta de lactantes para protegerlos del susto o espíritus. También fue utilizado como cataplasma para el dolor de cabeza, también para las quemaduras utilizando la pulpa de esta misma, es utilizado como antídoto frente al envenenamiento por *Manihot esculenta*. Algunos curanderos lo utilizaron para la inflamación e infección colocando las hojas frescas exprimidas del Achiote en los ojos (Véliz, 2017).

Acción farmacológica del achiote

Como resultado de estudios realizados en animales, es posible demostrar el efecto de Achiote en los episodios de hipoglucemia debido a un aumento de la insulina plasmática y una mayor unión del receptor a la insulina debido a un aumento en la afinidad de los dos. También demostró actividad diurética e hipoglucemiante, así como la capacidad de reducir la actividad motora. Estos estudios se refieren a: propiedades diuréticas, antidisentéricas, antientéricas, hipoglucemiantes y antiinflamatorias prostáticas (Véliz, 2017).

Diabetes

Esta enfermedad suele aparecer por falta de producción de insulina o no se suele tener un uso adecuado. La insulina producida por el páncreas permite que los alimentos ingresen a cada célula del cuerpo, donde se usará como energía para el funcionamiento de todos los músculos y tejidos. Los diabéticos no absorben bien la glucosa y por lo tanto la sangre queda circulando por el torrente sanguíneo, y provoca daño en todos los tejidos del cuerpo. La diabetes mellitus se considera también un síndrome causado por hiperglucemia crónica debido a la ausencia total o parcial de insulina. Los síntomas de la diabetes son: astenia, falta de energía, polifagia, poliurea, polidipsia, cetonemia, pérdida de peso y glucosuria (Banday et al., 2020).

Fisiopatología de la diabetes

Es una condición patológica en la que se mantiene el aumento de la glucosa, por lo tanto, provoca un desorden metabólico que afectará diferentes órganos, por eso puede llegar a complicarse. La hiperglucemia causa daño a través del daño incontrolado en muchos órganos, lo que conduce al desarrollo de muchas complicaciones de salud incapacitantes y es muy peligrosa para la salud, como enfermedades cardiovasculares, neuropatía, enfermedad renal o posiblemente retinopatía y ceguera (Banday et al., 2020).

Diagnóstico de la diabetes

La diabetes se genera como una enfermedad crónica cuando son altos los niveles de glucosa y el cuerpo deja de producir insulina en cantidad suficiente o el propio cuerpo no puede usar efectivamente esta hormona. Son varios los criterios para su diagnóstico (Petersmann et al., 2019):

- Síntomas diabéticos como poliuria, polidipsia y pérdida de peso, incluyendo glucosa en sangre ocasional mayor o igual a 200 mg/dl medida en plasma venoso.
- Glicemia en ayunas en plasma venoso igual o superior a 126 mg/dl durante al menos 8 horas.
- Glucosa en sangre mayor o igual a 200 mg/dl (11,1 mmol/l) en plasma venoso medida según el test de tolerancia a la glucosa luego de dos horas.
- En personas asintomáticas, los resultados adicionales de glucosa en sangre deben ser mayores o iguales a 126 o 200 mg/dl. Si no se puede observar la presencia de DM, se recomienda un control periódico hasta que la situación se estabilice.

Clasificación de la diabetes

La diabetes se divide en dos categorías según los Expertos de la asociación Estadounidense de Diabetes: diabetes tipo 1 o diabetes insulino dependiente y diabetes tipo 2 no insulino dependiente, clasificación aceptada por la Organización Mundial de la Salud. Pero esta clasificación ha cambiado con el tiempo porque se basa en el tratamiento de los pacientes más que en la naturaleza clínica de la enfermedad (Petersmann et al., 2019).

❖ **Diabetes Mellitus Insulino dependiente o Tipo 1:**

El origen no está muy claro pero el síntoma característico es que el cuerpo no produce la insulina que precisa. Esta enfermedad suele afectar a diversas edades tanto en adultos como jóvenes y niños. Para su control se precisa la aplicación de grandes cantidades de insulina

diariamente. Entre sus síntomas destacan la sed inusual, boca seca, micción frecuente, fatiga, pérdida de peso, pérdida de apetito, visión borrosa, infecciones recurrentes y cicatrización deficiente (Petersmann et al., 2019).

❖ **Diabetes Mellitus no Insulino dependiente o Tipo 2**

En este caso la acción de la insulina se ve bloqueada por la hormona de crecimiento y/o el glucagón; así como a largo plazo existe una deficiente secreción de somatostatina durante el tránsito intestinal, lo que a menudo retrasa la absorción de la glucosa. Este tipo de diabetes se puede manejar con actividad física y manejo nutricional además del uso de hipoglucemiantes orales solos o combinados con insulina (Petersmann et al., 2019).

❖ **Diabetes Gestacional**

Ocurre porque la insulina está bloqueada, posiblemente debido a que la placenta produce ciertas hormonas que inducen a la sensibilidad a la insulina. Esta diabetes se desarrolla entonces cuando el feto ya está bien desarrollado y continúa creciendo. En las mujeres la diabetes gestacional llega a desaparecer después del nacimiento. Pero aquellas mujeres que tuvieron diabetes gestacional son más propensas a tener nuevamente diabetes gestacional o pueda desarrollar luego diabetes tipo 2 en la adolescencia o adultez. Las mujeres con este tipo de diabetes tienen que controlar y vigilar sus niveles de glucosa en sangre para evitar riesgos en el bebé. Se desarrolla en un 2 - 5% de todos los casos de embarazos gestacionales. También suele influir la obesidad ya que es un factor de riesgo muy significativo. Cerca del 40% de mujeres embarazadas desarrollan diabetes (Petersmann et al., 2019).

❖ **Otros tipos de diabetes:**

Puede ocurrir debido a alteraciones genéticas en las células beta, cirugía, infecciones, drogas tóxicas, enfermedades pancreáticas y,

finalmente, otras enfermedades como el síndrome de Down, Turner, Cranfair especial (Petersmann et al., 2019).

Efectos perjudiciales de la diabetes sobre la salud

En las personas con diabetes tipo 1 y tipo 2, el estómago tarda más de lo habitual en vaciarse. Los síntomas son: acidez estomacal, náuseas, regurgitación de alimentos no digeridos, distensión abdominal temprana al comer y calambres en el revestimiento del estómago. Debido a la pérdida de sensibilidad y mala circulación, las personas con diabetes suelen sufrir trombosis cerebral, lesiones en los pies e incluso infartos. La diabetes suele ir acompañada de sobrepeso, presión arterial alta, colesterol elevado y triglicéridos elevados. Las investigaciones han demostrado que el daño causado por la presión arterial alta y valores altos de colesterol equivalen a un aumento del azúcar en la sangre (Petersmann et al., 2019).

Factores que aumentan el riesgo de padecer diabetes

- Edad, cuanto mayor sea, mayor será su riesgo para el tipo 2
- Antecedentes familiares de enfermedades
- Sobrepeso y/o vida sedentaria
- Presión arterial alta
- Bajos niveles de HDL
- Altos niveles de triglicéridos
- Mujeres con diabetes durante el embarazo

El páncreas y la insulina

Además de liberar el jugo pancreático (exocrino), el páncreas como glándula mixta secreta insulina (endocrino) en el torrente sanguíneo (Gonzales, 2015):

- Las células alfa sintetizan y secretan la hormona glucagón (20 %).
- Las células beta sintetizan y secretan insulina (75%).
- Las células gamma sintetizan y secretan somatostatina (5 %).

A continuación, se enumera una variedad de características importantes de la insulina (Gonzales, 2015):

- Estructura: consta de dos cadenas de polipéptidos, la cadena A de 21 aminoácidos y la cadena B de 30 aminoácidos, estas cadenas están unidas por dos enlaces disulfuro intermoleculares. El peso molecular es de 5800 Daltons (Gonzales, Gea. 2015).
- Síntesis: en los islotes pancreáticos se sintetiza la insulina por las células beta como una preprohormona que luego se traduce y se convierte en una molécula activa. La proinsulina es el precursor de la insulina y es una cadena polipeptídica de 9000 Dalton (Gonzalez, 2017).
- Secreción: La liberación de la insulina está controlada con el fin de alcanzar las demandas metabólicas, las células beta detectan estos cambios de glicemia y liberan la cantidad adecuada de insulina. Para la detección del estado nutricional las células beta se encuentran agrupadas en islote los cuales se están conectados con los vasos sanguíneos. Los islotes forman una densa red con los vasos sanguíneos pequeños y reciben 10 veces más flujo sanguíneo que el tejido exocrino circundante. Además, la glucosa, ciertos aminoácidos y ácidos grasos pueden también regular la secreción de insulina. La secreción de insulina se realiza mediante dos mecanismos: relacionado con los canales de potasio dependientes de ATP y otro independiente de los canales mencionados (Gonzales, 2017).
- Función (Gonzales, 2017): Actúa principalmente al mando de regular los niveles de la glucosa en sangre y ante una hiperglucemia. La insulina también tiene funciones involucradas con la síntesis de lípidos y actividad enzimática. Mantener la glucosa dentro de sus valores normales 70 – 110 mg/dL es la principal función de la insulina.

Otras acciones de la insulina:

- Carbohidratos: para obtener energía facilita la entrada de la glucosa a las células además promueve su almacenamiento en los músculos e hígado

como glucógeno, y también combate el exceso de glucosa en las grasas y su acumulación en las células grasas (Castrejón et al., 2015).

- Grasas y Proteínas: Promueve la lipogénesis, inhibe la lipólisis y facilita el transporte de aminoácidos a las células basales para la formación de proteínas (Castrejón et al., 2015).
- Glucosa: los niveles altos de glucosa en la sangre pueden elevar el colesterol en sangre, así como los triglicéridos dañando los vasos sanguíneos elevando la presión y alterando la visión hasta producir ceguera (Castrejón et al., 2015).

Funciones de la insulina

- Obtención de energía: La glucosa al ingresar al organismo, es absorbida por las células. Es donde ocurre una conversión pasando a ser molécula de ATP. Esta molécula será la encargada de proveer energía adecuada todo el organismo (Castrejón et al., 2015).
- Reserva: En los seres humanos la glucosa se almacena en forma de glucógeno en el hígado y músculos (Castrejón et al., 2015).

Valores normales de la insulina en sangre

Un valor normal de glucosa en sangre en ayunas es de 70-110 mg/dL. Los niveles normales de azúcar en la sangre aumentan a 140-200 mg/dL después del consumo de alimentos. Los valores de glucosa en diabéticos alcanzan concentraciones de 300-1200 gr/dL, provocando muchos cambios en el organismo (Quesada et al., 2015).

Tratamiento de la Diabetes

Son necesarios en el caso de diabetes Tipo 2 para reducir el azúcar en la sangre el empleo de medicamentos porque la terapia dietética no es lo suficientemente efectiva. En estos casos, la terapia dietética se inicia con ejercicio físico, y si no hay una respuesta favorable posterior, se recomienda iniciar la terapia con medicamentos antidiabéticos orales. Los hipoglucemiantes orales incluyen

cuatro familias de fármacos bien definidas: tiazolidinedionas, sulfonilureas, inhibidores de la alfa-glucosidasa y biguanidas (Vinces et al., 2019).

Las biguanidas

Están compuestos por 2 moléculas de guanidina, los fármacos de esta clase son: buformina, benzformina y metformina. La metformina solo puede eliminarse por los riñones, tiene una vida media corta de 2 a 4 horas y tiene una pequeña afinidad por las biopelículas. La metformina se usa más comúnmente porque se asocia con un menor riesgo de acidosis láctica. Inhibe la gluconeogénesis y reduce la absorción de glucosa a nivel gastrointestinal, así como en la célula estimula la captación de glucosa (Vinces et al., 2019).

Tratamientos de la diabetes no farmacológicos

- Ejercicio físico: aumentar la utilización de la glucosa por los músculos de los pacientes insulino dependientes, y mejorar la absorción de la insulina por los depósitos del tejido subcutáneo. La cantidad adecuada de actividad física es de 30 minutos al día, lo cual es importante para todas las personas con diabetes (Vinces et al., 2019).
- Educación para la salud: La tarea básica de un médico es brindar información y enseñar a los pacientes los conceptos básicos de la diabetes y así como detectar los síntomas y signos asociados con una reacción hipoglucémica o hiperglucémica (Vinces et al., 2019).

Justificación

Teórica

La investigación se justifica a nivel teórico debido a que, un gran número de personas recurren a la medicina tradicional para superar las complicaciones y los obstáculos de la enfermedad, y las deficiencias del tratamiento farmacológico, como las interacciones farmacológicas. En ese sentido se debe validar los conocimientos

etnobotánicos asociados a las actividades terapéuticas del achiote como su acción hipoglucemiante.

Metodológica

A nivel metodológico la investigación se justifica debido al método empleado para validar la actividad hipoglucemiante mediante un modelo de tolerancia oral a la glucosa y en la práctica porque en Perú se ha implementado la Red de Atención de Salud EsSalud en los Centros Nacionales de Atención Complementaria de Salud para atender a personas con enfermedades crónicas, entre ellas la diabetes, para lo cual actualmente se busca una alternativa de tratamiento farmacológico eficaz de esta planta para controlar los niveles de hiperglucemia y prevenir complicaciones.

Social

El presente trabajo de investigación se justifica a nivel social porque busca demostrar y comprender tratamientos alternativos para las personas con diabetes, ya que la enfermedad presenta una alta morbimortalidad a nivel mundial y en Perú, la Federación Internacional de Diabetes (FID) estima que alrededor de 1.143.000 personas tienen diabetes, lo que genera complicaciones como ceguera, enfermedad renal crónica y amputaciones. Considerando que las complicaciones no pueden ser superadas por los tratamientos convencionales, es necesario desarrollar nuevos tratamientos, como la medicina alternativa y complementaria utilizando Bixa orellana, que tiene muchas ventajas frente a la medicina convencional, como su efecto hipoglucemiante, bajo costo y bajo riesgo de efectos adversos.

Problema

¿El extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) tiene efecto normoglucémico en ratas normales según el modelo de test de tolerancia oral a la glucosa?

Conceptuación y Operacionalización de las variables

Definición conceptual de la variable	Dimensiones	Indicadores	Tipo de escala de medición
Efecto normoglucémico: es el efecto de una sustancia para devolver dentro de la normalidad (70 a 110 mg/dL) el nivel de azúcar en sangre (Ibañez, 2018).	Glucosa en sangre	Nivel de glucosa en sangre que se restablece a valores normales	Numérica expresada en mg/dL
Extracto etanólico de hojas de achiote: Sustancia muy concentrada que se obtiene de una planta por extracción con etanol a 96° (Rivas et al., 2016)	Identificación fitoquímica cualitativa	Presencia de flavonoides, antocianinas, alcaloides, compuestos fenólicos, esteroides, saponinas)	Ordinal por viraje de color (abundante, regular, trazas o ausencia)
	Dosis del extracto	Cantidad del extracto por kg de peso del animal (100, 200 y 400)	Numérica expresada en mg/kg

Hipótesis

H1: El extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. tiene efecto normoglicémico en ratas normales según el test de tolerancia oral a la glucosa

H0: El extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. no tiene efecto normoglicémico en ratas normales según el test de tolerancia oral a la glucosa.

Objetivos

Objetivo general:

- Evaluar el efecto del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L sobre la glicemia en ratas normales según el test de tolerancia oral a la glucosa.

Objetivos específicos:

1. Identificar cualitativamente la presencia de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L.
2. Evaluar la dosis de 100mg/kg, 200mg/kg y 400mg/kg del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L sobre la glicemia en ratas normales según el test de tolerancia oral a la glucosa.

6. Metodología

a) Tipo y Diseño de investigación

Tipo:

La investigación es básica por que buscamos ampliar el conocimiento con una identificación cualitativa de metabolitos.

Diseño:

El diseño del estudio fue de tipo experimental, pre-clínico *in vivo*.

La presente investigación sigue el siguiente diseño experimental:

Grupo	Tratamientos
I	Solución suero fisiológico 2 mL/Kg
II	Glibenclamida 5 mg/Kg
III	Insulina 4 UI/Kg
IV	Extracto etanólico achiote 100 mg/Kg
V	Extracto etanólico achiote 200 mg/Kg
VI	Extracto etanólico achiote 400 mg/Kg

b) Población y muestra

Población:

- Población vegetal: *Bixa orellana L.* (achiote).
- Población animal: *Rattus rattus var. albinus*

Muestra:

- 02 kilogramos de hojas de *Bixa orellana L.* (achiote).
- 36 individuos de *Rattus rattus var. albinus* cepa Holtzman.

c) Técnicas e instrumentos de investigación

La técnica utilizada fue la observación y se utilizó como instrumento de evaluación una ficha de recolección de datos.

Procesamiento experimental:

Adquisición de la muestra vegetal

En el centro poblado de Cascajal, departamento de Ancash, provincia de Santa, distrito de Chimbote-Perú se recolectaron las hojas de *Bixa orellana L.* (achiote).

Obtención del extracto

Para preparar el extracto etanólico de hojas de achiote se recogieron, lavaron y secaron, luego se deshidrataron a temperatura ambiente por 36 horas, luego se pulverizaron en un molino de mano hasta obtener un polvo fino, el cual se trituro. El polvo obtenido se maceró en alcohol a 96° durante 7 días, luego se filtró y el

filtrado se secó en estufa a 40°C hasta peso constante. El residuo seco, denominado extracto etanólico, se almacenó a 4°C en un frasco color ámbar, y el residuo se reconstituyó con polisorbato de sodio 80° como agente tensioactivo (CYTED, 1995).

Análisis fitoquímico cualitativo del extracto etanólico de achiote

Para los estudios fitoquímicos del extracto etanólico de hojas de *Bixa orellana* L. (achiote), se prepararon soluciones etanólicas de los extractos y se colocaron en muestras de 1 mL. En probetas de 10 mL, las reacciones realizadas permiten la determinación cualitativa de los principales grupos químicos presentes en extractos vegetales, obtenidos con solventes apropiados, y aplicados con reacciones de coloración y precipitación (Lock de Ugaz, 2016), las siguientes reacciones son:

a) Identificación de Alcaloides

Test de Dragendorf

En un tubo de ensayo se colocó 1 ml de extracto, luego se agregó 3 gotas de reactivo de Dragendorff y un precipitado rojo ladrillo es positivo.

Test de Meyer

Coloque 1 ml de extracto en un tubo de ensayo, luego agregue 3 gotas de reactivo de Mayer y un precipitado blanco forma un positivo.

Test de Wagner

En un tubo de ensayo se colocó 1 ml de extracto, luego se agregó 3 gotas de reactivo de Wagner y un precipitado marrón forma un positivo.

b) Identificación de Flavonoides

Ensayo de shinoda

Tome 1 mL del extracto y colóquelo en un tubo de ensayo, agregue chips de magnesio y luego agregue 3 gotas de ácido

clorhídrico concentrado, observe, si la reacción es de color rojo oscuro, es positiva.

c) Identificación de compuestos fenólicos y/o taninos

Ensayo de Cloruro Férrico (FeCl₃)

Coloque 1 mL de extracto en un tubo de ensayo, luego agregue 3 gotas de reactivo FeCl₃ al 10%, un color verde oscuro es positivo.

d) Identificación de triterpenoides y/o esteroides

Ensayo de Liebermann-Burchard

Colocar 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, agregar 5 gotas de ácido acético, luego 5 gotas de anhídrido acético, luego 1 gota de ácido sulfúrico, el color rojo es la presencia de un anillo verde para triterpenos, marrón y esteroide positivo .

e) Identificación de Quinonas

Ensayo de Borntrager

Colocar 1 mL de extracto en un tubo de ensayo, luego agregar 5 gotas de reactivo de Borntrager y observar, si la reacción es rojo oscuro o rosa oscuro es positiva.

f) Identificación de Azúcares reductores

Coloque 1 mL de extracto en un tubo de ensayo y mezcle Fehling A + Fehling B antes de agregar a la muestra. Un precipitado rojo se consideró positivo.

g) Identificación de Saponinas

Coloque 1 mL de extracto en un tubo de ensayo, diluya 5 volúmenes con agua y se agitó vigorosamente la mezcla durante dos minutos. Considere una espuma de 2 mm de altura en la superficie y con una duración superior a 2 minutos.

Evaluación del efecto normoglicémico del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) en ratas normales

Se aplicó la metodología propuesta por Arroyo y Cisneros (2012). Para evaluar el efecto sobre los niveles de glucosa en sangre en ratas normales, se utilizaron un total de 36 ratas macho albinas de la cepa Holtzmann, adquiridas a los Institutos

Nacionales de Salud, con un peso corporal promedio de 180 ± 20 g, las cuales fueron acondicionadas en el laboratorio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Trujillo durante 48 horas, considerando personas con libre acceso a agua y alimentos, en un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas.

Los experimentos incluyeron la determinación del efecto de las plantas en ratas normales sometidas a carga de glucosa oral (prueba de tolerancia a la glucosa). Divididos al azar en seis grupos, 8 animales en cada grupo, a cada grupo se le administró SSF 2 mL/kg, al segundo grupo se le administró 5 mg/kg de glibenclamida, al tercer grupo se le administró insulina 4 UI/Kg, al cuarto y quinto grupos Y el sexto grupo recibió 50 extractos, respectivamente, 250 y 500 mg/kg, cada grupo recibió glucosa oral 500 mg/kg antes de la administración, y los parámetros de evaluación fueron las concentraciones de glucosa en sangre a los 0, 60 y 120 minutos, y la sangre. se recolectó de la punta de la cola y utilizó el medidor digital de glucosa en sangre ONE TOUCH ULTRA.

d) Procesamiento y análisis de la información

Para la evaluación de los datos obtenidos se compararon los grupos en la evaluación de la glucemia mediante el análisis de la varianza. Se utilizó estadística descriptiva, mostrando medias, errores estándar, intervalos de confianza del 95%, utilizando el programa estadístico IBM SPSS versión 26.

7. Resultados

7.1. Identificación fitoquímica cualitativa en el extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L.

Tabla 1.

*Identificación fitoquímica cualitativa del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L.*

Metabolito Secundario	Reacción de identificación	cantidad
Taninos	Gelatina	+++
aminoácidos libres	Ninhidrina	(-)
flavonoides	Shinoda	+++
alcaloides	Dragendorff	++
compuestos fenólicos	tricloruro férrico	+++
esteroides triterpenicos	lieberman	+
glicósidos	Vainillin sulfúrico	+

LEYENDA:

(+++)=ABUNDANTE CANTIDAD ; (++) = REGULAR CANTIDAD O POSITIVO; (+) = POCA CANTIDAD O TRAZAS; (-) = AUSENCIAS.

Observamos todos los metabolitos encontrados y su respectiva reaccion de identificacion y la cantidad calificada que nos brinda desde la abundante cantidad hasta la ausencia de metabolitos.

7.2. Evaluación de la dosis del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L sobre la glicemia en ratas normales según el test de tolerancia oral a la glucosa

a. Glicemia a los 0 minutos después de la administración de la glucosa

Tabla 2

Valores promedio de glucosa en sangre por grupo experimental a los 0 minutos según el test de tolerancia oral a la glucosa

Grupo	Glucosa (mg/dL)	Desv.
Extracto <i>Bixa</i> 100 mg/Kg	90.00 a	1.67
Insulina 4 UI/Kg	93.33 ab	5.35
Suero fisiológico 2 mL/Kg	95.33 bc	4.27
Extracto <i>Bixa</i> 200 mg/Kg	98.17 cd	4.49
Glibenclamida 5 mg/Kg	99.83 cd	3.19
Extracto <i>Bixa</i> 400 mg/Kg	102.00 d	2.10

Nota. Promedios unidos por la misma letra son estadísticamente similares al 95% de confiabilidad según el Test de Duncan

Como se aprecia en la Tabla 2 los valores son muy similares entre los grupos y aunque diferentes estadísticamente previo al tratamiento se aprecia que la varianza medida a través de la desviación estándar es mínima con valores que oscilan entre 1.67 y 5.35 considerados dentro del rango de error del 5%.

b. Glicemia a los 60 minutos después de la administración de la glucosa

Tabla 3

Valores promedio de glucosa en sangre por grupo experimental a los 0 minutos según el test de tolerancia oral a la glucosa

Grupo	Glucosa (mg/dL)	Desv.
Insulina 4 UI/Kg	55.67 a	5.75
Extracto <i>Bixa</i> 400 mg/Kg	84.00 b	2.45
Glibenclamida 5 mg/Kg	87.50 b	7.26
Extracto <i>Bixa</i> 100 mg/Kg	97.17 c	2.56
Extracto <i>Bixa</i> 200 mg/Kg	104.00 c	9.80
Suero fisiológico 2 mL/Kg	122.17 d	8.42

Nota. Promedios unidos por la misma letra son estadísticamente similares al 95% de confiabilidad según el Test de Duncan

A los 60 minutos luego de administrada la glucosa los grupos experimentales se diferencian según el análisis de varianza y el Test de Duncan (Tabla 3). Se aprecia que, en primer lugar, el grupo tratado con Insulina presenta el menor valor de glucosa basal, seguido del extracto de *Bixa* de 400 mg/kg y la Glibenclamida 5 mg/kg. Son similares al suero fisiológico y por lo tanto no disminuyen la glucosa a la par de los fármacos los grupos con dosis de 100 y 200 mg/kg de extracto de achiote.

c. Glicemia a los 120 minutos después de la administración de la glucosa

Tabla 4

Valores promedio de glucosa en sangre por grupo experimental a los 0 minutos según el test de tolerancia oral a la glucosa

Grupo	Glucosa (mg/dL)	Desv.
Insulina 4 UI/Kg	60.50 a	4.59
Glibenclamida 5 mg/Kg	73.17 ab	5.56
Extracto <i>Bixa</i> 400 mg/Kg	77.33 abc	34.02
Extracto <i>Bixa</i> 200 mg/Kg	90.67 bc	1.63
Extracto <i>Bixa</i> 100 mg/Kg	95.17 c	1.17
Suero fisiológico 2 mL/Kg	115.00 d	5.80

Nota. Promedios unidos por la misma letra son estadísticamente similares al 95% de confiabilidad según el Test de Duncan

A los 120 minutos luego de administrada la glucosa los grupos experimentales se diferencian según el análisis de varianza y el Test de Duncan (Tabla 4). Se aprecia que, en primer lugar, el grupo tratado con Insulina presenta el menor valor de glucosa basal en similitud estadística con el extracto de *Bixa* de 400 mg/kg y la Glibenclamida 5 mg/kg. También disminuyen la glucosa los grupos con dosis de 100 y 200 mg/kg de extracto de achiote. El grupo control con suero fisiológico presenta valores de glucosa elevados y diferenciados de los demás grupos experimentales.

8. Análisis y Discusión

Como se aprecia en la **Tabla 1**, el estudio fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote), evidenciaron la presencia de los metabolitos secundarios: taninos, flavonoides y compuestos fenólicos en abundante cantidad, alcaloides en regular cantidad, esteroides triterpénicos y glicósidos en menor cantidad (tabla 1). El mismo queda corroborado con el estudio de Álvarez (2016), donde en su estudio evalúa la propiedad hipoglucemiante del achiote (*Bixa orellana*) para el tratamiento de la diabetes, donde mediante el estudio fitoquímico se evidenció la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos, atribuyéndose a estas sustancias la actividad hipoglucemiante.

Como se aprecia en las **Tablas 2,3 y 4**, los resultados demostraron que el extracto de achiote posee mayor efecto hipoglicemiante dosis dependiente a 120 minutos siendo sus valores promedios de 95.17 (Dosis 100 mg/Kg), 90.67 (Dosis 200 mg/Kg), 77.33 (400 mg/Kg), así mismo se evidenció los valores promedio de glicemia con glibenclamida 73.17 según el test de tolerancia oral a la glucosa, que es un método utilizado para evaluar el metabolismo de carbohidratos relacionándolo con el tiempo de absorción y su metabolismo en un paciente normal, en el presente estudio se administró 500 mg/Kg de glucosa por vía oral y se administró tratamientos para evaluar su eficacia hipoglicemiante y para tal fin se evaluó el efecto hipoglicemiante del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote), comparando su efecto con los estándares farmacológicos glibenclamida e insulina.

Los resultados encontrados en el presente estudio se ven reforzados con los trabajos de Béjar (2017) y Ramos y Cisneros (2018), quienes demostraron el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” en ratas albinas. Plasencia (2019), demostró el impacto de las hojas de achiote en los niveles de glucosa en sangre en un modelo experimental de diabetes mellitus. Cueto (2018), demostró el efecto del extracto hidroalcohólico de la *Bixa Orellana* “achiote” comparado con glibenclamida sobre niveles de glicemia en *Rattus rattus*”.

Dentro de los antecedentes comparados se puede afirmar que el extracto de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) posee efecto hipoglicemiante, donde sus valores de glicemia se encuentran dentro de los valores normales de glicemia, permitiendo afirmar que posee también efecto normoglicemiante en ratas normales.

9. Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

- El extracto etanólico las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) contiene los siguientes metabolitos secundarios: taninos, flavonoides y compuestos fenólicos en abundante cantidad, alcaloides en regular cantidad, esteroides triterpénicos y glicósidos en menor cantidad.
- A dosis de 400 mg/kg en condiciones experimentales se demostró mayor efecto hipoglicemiante del extracto etanólico de las hojas *Bixa orellana* L. (achiote). También se demostró que los valores de glicemia se mantuvieron dentro de los parámetros normales dentro de 60 min y 120 minutos, por tanto, podemos concluir que el extracto de achiote posee efecto normoglicémico en ratas normales.

Recomendaciones

- Estudiar otras partes de la planta diferentes a las hojas ya que la concentración de los metabolitos puede variar.
- Evaluar el efecto normoglucémico, utilizando extractos cuyos solventes son de diferentes polaridades.
- Evaluar el efecto de los extractos por diferentes vías de administración.
- Evaluar la toxicidad aguda y crónica de los extractos.

10. Referencias Bibliográficas

- Akshatha, V., Giridhar, P., & Ravishankar, G. (2015). Morphological diversity in *Bixa orellana* L. and variations in annatto pigment yield. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*.
- Arroyo, J., Cisneros, B. (2012). Modelos Experimentales de Investigación Farmacológica. Primera Edición, Editorial Asdimor, Lima-Perú, 121-3.
- Banday, M. Z., Sameer, A. S., & Nissar, S. (2020). Pathophysiology of diabetes: An overview. *Avicenna Journal of Medicine*, 10(04), 174-188.
- Béjar, M. (2018). Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las semillas de *Bixa Orellana* L "achiote" en ratas albinas Ayacucho.
- Busso Dávila, A. A., & Vicente Huaney, J. C. (2019). Actividad hipoglicemiante del extracto acuoso de las hojas de *schkuhria pinnata* l. "canchalagua" en ratas albinas inducidas con estreptozotocina.
- Cadena, D. (2018). Efecto de la harina de achiote (*bixa orellana*) sobre la pigmentación a la canal e inmunoglobulinas en pollos de engorde. Universidad técnica de Ambato.
- Carvajal, E. (2018). Optimización del método de extracción de la fracción activa con efecto hipoglucemiante presente en las hojas de *Artocarpus heterophyllus* Lam. Universidad Central del Ecuador Facultad Ciencias Químicas.
- Córdova, N. (2019). Especificación de la porción letal media (DL50) de la. *Chimbote - Peru: Universidad San Pedro*.
- Cronquist, A. (1988). *The evolution and classification of flowering plants*. New York: The New York Botanical Garden, 555.
- Cueto Galarza, A. P. S. (2018). Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso del tallo de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) en ratas diabéticas inducidas por Aloxano.
- CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. (1995). Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. *Manual de técnicas de investigación*, 220.
- Du Vigneaud, V., Karr, W. G. (1925). Carbohydrate utilization. Rate of disappearance of D-glucose from the blood. *J Biol Chem*, 66, 281-300.
- García, M. (2016). Efecto del extracto hidroalcohólico de la *Bixa Orellana* "achiote" comparado con metformina sobre niveles de glicemia en *Rattus rattus*. Trujillo.

- Gómez, Z. (2020). Efecto de la temperatura de secado y evaluación de la capacidad antioxidante de la hoja de achiote (*Bixa orellana* L.) para la utilización en la elaboración de filtrante en la provincia de coronel portillo. Pucallpa - Perú: Universidad Nacional de Ucayali.
- Huamán, O. (2017). Efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote), en la secreción gástrica de ratas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Huerta. J (2017). Estudio de prefactibilidad de una empresa productora y comercializadora de Bixina dirigido al mercado de Japón. Obtenido de <http://tesis.pucp.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/123456789/5380/HUERTA>
- Ibáñez Felipe, J. (2018). *Estudio de la dinámica de los niveles de glucosa de un paciente sano mediante el modelo de Dalla-Mann* (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València).
- Karmakar, Reino Unido, Sultana, S., Nishi, S., Biswas, NN, Hossain, L. y Sheikh, S. (2018). Actividad antioxidante, analgésica, antimicrobiana y antihelmíntica de las semillas secas de *Bixa orellana* (L). *Revista Internacional de Farmacia*, 8 (1), 150-163.
- Kang, E., Campbell, R., Bastian, E., & Drake, M. (2016.). *Lexicón de Fauna y Flora. Ciudad de La Habana, Cuba: Lourido PérezI, Hetzel de la C; Martínez Sánchez, Gregorio.*
- Keita, H., Dos Santos, C. B. R., Ramos, M. M., Padilha, E. C., Serafim, R. B., Castro, A. N., ... & Carvalho, J. C. T. (2021). Assessment of the hypoglycemic effect of Bixin in alloxan-induced diabetic rats: in vivo and in silico studies. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(3), 1017-1028.
- Lock de Ugaz, O. (1994). *Investigación Fitoquímica. Métodos de estudios de productos naturales. 2º Edición. Lima: Fondo Editorial PUCP.*
- López, S., Caicedo, M., Gil, A., & Pazos, A. (2018). Morfometría de fruto y semilla de *Bixa orellana* L. “achiote”. Trujillo: Vol. 21 Núm. 2.
- López-Hernández, A. (2020). Aplicación de un extracto de achiote (*Bixa orellana*) en una formulación de un sistema modelo oleoso. Universidad Tecnológica de Tabasco.

- Mostacero, J., López, S., Yabar, H., & Cruz, D. L. (2017). Preserving Traditional Botanical Knowledge: The Importance of Phytogeographic and Ethnobotanical Inventory of Peruvian Dye Plants. *Plants* 6(4): 63.
- Motta, R. (2019). Toxicidad oral a 30 días del extracto etanólico de las hojas. CHIMBOTE - PERU: UNIVERISIDAD SAN PEDRO. Obtenido de Toxicidad oral a 30 días del extracto etanólico de las hojas.
- Oscar, H. (2016). Efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de Bixa orellana (achiote), en la secreción gástrica de ratas. Universidad César Vallejo.
- Plasencia, J. L. (2019). Efecto del zumo de Passiflora tripartita var. mollissima “purpur” sobre la acción hiperglucemiante de la adrenalina en Rattus rattus var. albinus.
- Petersmann, A., Müller-Wieland, D., Müller, U. A., Landgraf, R., Nauck, M., Freckmann, G., ... & Schleicher, E. (2019). Definition, classification and diagnosis of diabetes mellitus. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 127(S 01), S1-S7.
- Pillai, S., Soni, S., Dhulap, S., & Hirwani, R. R. (2018). Pharmacological and cosmeceutical applications of Bixa Orellana L.: A review of the scientific and patent literature.
- Raddatz-Mota, D., Pérez-Flores, L. J., Carrari, F., Mendoza-Espinoza, J. A., de León-Sánchez, F. D., Pinzón-López, L. L., Godoy-Hernández, G., & Rivera-Cabrera, F. (2017). Achiote (Bixa orellana L.): a natural source of pigment and vitamin E. *Journal of food science and technology*, 54(6), 1729–1741. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2579-7>
- Ramírez, M. (2001). Evaluación de la Actividad hipoglicemiante del extracto Acuoso de las hojas de Bixa Orellana "Achiote". Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. 23-26,29-31.
- Ramos, C., Cisneros, C. (2018). Efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de las hojas de sida rhombifolia l.(Angulla) en ratas: Cesia Vanesa Castillo Ramos y César Braulio Cisneros Hilario. *Conocimiento para el desarrollo*, 9(1), 137-144.
- Rivas-Morales, C., Oranday-Cárdenas, M. A., & Verde-Star, M. J. (2016). *Investigación en plantas de importancia médica*. OmniaScience.

- Sepúlveda, R., Ciro, G. (2016). Extracción de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de hojas de *Bixa orellana* L. (achiote). Scielo.
- Tatiana, S. (2021). Cinética de la degradación térmica de compuestos fenólicos de hojas de achiote (*Bixa orellana* L.) y su efecto sobre la actividad antioxidante. Ciencia y tecnología de los alimentos.
- Véliz, R. (2017). Determinación del Incremento Medio Anual (IMA) e Índice de Sitio de Diferentes Especies Forestales en el Bosque protector Prosperina-ESPOL. Obtenido de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/11018/3/VELIZ%20PI>
- Zambrano, G. (2017). Uso de disoluciones de *Bixa Orellana* (achiote) como revelador natural de placa dental frente a revelador convencional estandarizado. Repositorio Digital.

11. Agradecimiento

Quisiéramos dar las gracias a nuestra familia que a estado siempre a nuestro lado apoyándonos en esta tarea de emprender un nuevo reto.

A los amigos de toda la vida y que el destino puso en nuestro camino y que nos acompañamos en esta etapa universitaria.

A nuestros maestros aquellos que con una palabra una clase nos brindaron una enseñanza para la vida.

Y a nuestra universidad san pedro por albergarnos estos años de estudio.

Gracias a dios a la vida y al karma.

12. ANEXOS

Anexo 1

Autorización de la institución donde se va a realizar la recolección de los datos



Trujillo, 29 de abril 2022

AUTORIZACION DE REALIZACION DE PROYECTO DE INVESTIGACION

Autores:

Br. Ruiz Noriega Percy Recaredo

Br. Vásquez Monzón Vanessa Mirelly

De mi mayor consideración:

Me dirijo a usted para comunicarle que los bachilleres antes mencionados de la escuela de farmacia y bioquímica de la UNIVERSIDAD SAN PEDRO, se les concedió la debida autorización para hacer uso de un ambiente en el laboratorio de farmacología de la UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO. Para que pueda realizar su proyecto de investigación: **Efecto normoglucémico del extracto etanólico de las hojas de *Bixa orellana* L. (achiote) en ratas normales**, para optar el Grado de Químico Farmacéutico, realizado entre los meses de marzo y abril del 2022.

Sin otro particular, les saluda atentamente.



Dr. Q.F. IVAN MIGUEL QUISPE DIAZ
Facultad de farmacia y bioquímica UNT
Área de farmacología

Anexo 2

Ficha de recolección de datos (instrumento)

Nro	Tratamientos	Valores de glucosa mg/dL		
		0 min	60 min	120 min
1				
2				
3	Suero fisiologico 2 mL/Kg			
4				
5				
6				
7				
8				
9	Glibenclamida 5 mg/Kg			
10				
11				
12				
13				
14				
15	Insulina 4 UI/Kg			
16				
17				
18				
19				
20				
21	Bixa 100 mg/Kg			
22				
23				
24				
25				
26				
27	Bixa 200 mg/Kg			
28				
29				
30				
31				
32				
33	Bixa 400 mg/Kg			
34				
35				
36				

Anexo 3

Matriz de consistencia

Problema	VARIABLES	Objetivos	Hipótesis	Metodología
¿El extracto etanólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. (achiote) tiene efecto normoglucémico en ratas normales según el modelo de test de tolerancia oral a la glucosa?	Efecto normoglucémico	<p>Objetivo general:</p> <p>Evaluar el efecto del extracto etanólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L sobre la glicemia en ratas normales según el test de tolerancia oral a la glucosa.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Identificar cualitativamente la presencia de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. 2. Evaluar la dosis de 100mg/kg, 200mg/kg y 400mg/kg del extracto etanólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L sobre la glicemia en ratas normales según el test de tolerancia oral a la glucosa. 	<p>H1: El extracto etanólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. tiene efecto normoglicémico en ratas normales según el test de tolerancia oral a la glucosa.</p> <p>H0: El extracto etanólico de las hojas de <i>Bixa orellana</i> L. no tiene efecto normoglicémico en ratas normales según el test de tolerancia oral a la glucosa</p>	<p>Tipo de Investigación: Básica</p> <p>Diseño de Investigación: Experimental</p> <p>Población y Muestra: Técnica e Instrumento de recolección de datos: Se utilizó la técnica de la observación y como instrumento una Ficha de recolección de datos.</p>
	Extracto etanólico de las hojas de <i>Bixa Orellana</i> (achiote)			

Anexo 4

Base de datos

Nro	Tratamientos	Valores de glucosa mg/dL		
		0 min	60 min	120 min
1	Suero fisiologico 2 mL/Kg	99	109	114
2		94	132	118
3		98	128	108
4		91	119	123
5		90	118	109
6		100	127	118
7	Glibenclamida 5 mg/Kg	95	97	80
8		102	91	77
9		99	83	76
10		101	78	72
11		98	83	69
12		104	93	65
13	Insulina 4 UI/Kg	90	59	58
14		92	45	63
15		101	56	61
16		88	60	55
17		90	54	58
18		99	60	68
19	Bixa 100 mg/Kg	92	99	97
20		89	95	94
21		90	93	95
22		88	99	96
23		89	98	94
24		92	99	95
25	Bixa 200 mg/Kg	90	105	91
26		100	87	88
27		100	108	90
28		102	99	91
29		96	111	93
30		101	114	91
31	Bixa 400 mg/Kg	101	84	9
32		103	85	98
33		101	82	81
34		103	88	96
35		99	84	92
36		105	81	88

Anexo 7

Constancia de similitud emitida por vicerrectorado de investigación

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

El que suscribe, Vicerrector de Investigación
de la Universidad San Pedro:

HACE CONSTAR

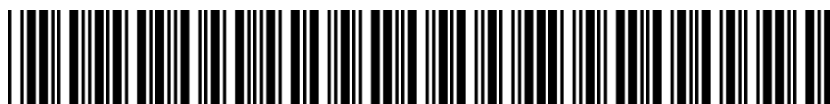
Que, de la revisión del trabajo titulado **“Efecto normoglucémico del extracto etanólico de las hojas de Bixa orellana L. (achiote) en ratas normales”** del (a) estudiante: **Percy Recaredo Ruiz Noriega**, identificado(a) con **Código N° 1314200004**, se ha verificado un porcentaje de similitud del 26%, el cual se encuentra dentro del parámetro establecido por la Universidad San Pedro mediante resolución de Consejo Universitario N° 5037-2019-USP/CU para la obtención de grados y títulos académicos de pre y posgrado, así como proyectos de investigación anual Docente.

Se expide la presente constancia para los fines
pertinentes.

Chimbote, 31 de Agosto de 2022



UNIVERSIDAD SAN PEDRO
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
Dr. CARLOS URBINA SANJINES
VICERRECTOR



NOTA:

Este documento carece de valor si no tiene adjunta el reporte del Software TURNITIN.