



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD

CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA**

TEMA:

“OBTENCIÓN DE UN EXTRACTO ACUOSO CON PROPIEDAD
HIPOGLUCEMIANTE A PARTIR DE LAS SEMILLAS DEL ACHIOTE (*Bixa orellana*
Linn) PARA EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES, Machala 2014”

AUTORA:

Valeria Alejandra Sánchez Alvarez

TUTOR

Dr. Segundo García Ledesma Mg. Sc.

MACHALA – EL ORO - ECUADOR

2015

CERTIFICACIÓN

El presente Trabajo de Titulación “OBTENCIÓN DE UN EXTRACTO ACUOSO CON PROPIEDAD HIPOGLUCEMIANTE A PARTIR DE LAS SEMILLAS DEL ACHIOTE (*Bixa orellana Linn*) PARA EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES, Machala 2014”, realizado por la Autora Valeria Alejandra Sánchez Alvarez, Egresada de la Carrera de Bioquímica y Farmacia, de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, de la Universidad Técnica de Machala, ha sido dirigido y revisado, por lo tanto autorizo su presentación previo a la obtención del Título de Bioquímica Farmacéutica.

Dr. Segundo Francisco García Ledesma, Mg.Sc

TUTOR

CESIÒN DE DERECHOS

Yo, Valeria Alejandra Sánchez Alvarez, con Cédula de Identidad 1105123267, Egresada de la Carrera de Bioquímica y Farmacia de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud, de la Universidad Técnica de Machala, responsable del Presente Trabajo de Titulación, cuyo Tema es: “OBTENCION DE UN EXTRACTO ACUOSO CON PROPIEDAD HIPOGLUCEMIANTE A PARTIR DE LAS SEMILLAS DEL ACHIOTE (*Bixa orellana Linn*) PARA EL TRATAMIENTO DE LA DIABETES, Machala 2014”, Certifico que la responsabilidad de la Investigación, Resultados y Conclusiones del presente Trabajo pertenecen exclusivamente a mi autoría; una vez que ha sido aprobada por mi Tribunal de Sustentación autorizando su presentación. Deslindo a la Universidad Técnica de Machala de cualquier delito de plagio y cedo mis derechos de Autor a la misma para ella proceda a darle el uso que crea conveniente.

Valeria Alejandra Sánchez Alvarez

C.I 1105123267

AUTORA

RESPONSABILIDAD

El presente trabajo de Investigación: Resultados, Conclusiones y Recomendaciones son de responsabilidad única y exclusiva de la autora.

Valeria Alejandra Sánchez Alvarez

C.I 1105123267

AUTORA

DEDICATORIA

El presente Trabajo de Titulación lo dedico primeramente a Dios quien inspiro mi espíritu para la conclusión de esta tesis.

A mis padres Juan Orfilio y Dolores María por todo el esfuerzo y sacrificio para brindarme todo el amor, comprensión, confianza y el apoyo incondicional en cada momento de mi vida.

A mis hermanas Jassmin, Julieth y María del Cisne, que más que ser su ejemplo son mi inspiración.

A mi Ángel Rosa Ayala que siempre estuvo presente durante todo este periodo a pesar de su ausencia física me enseñó a tener coraje frente a las adversidades. Para ti Mamita con todo el Amor del Mundo.

AGRADECIMIENTO

“La gratitud debería ser un acto constante cada hora, de cada día, de toda la vida”

Nancy Leigh DeMoss

Sencillo no ha sido este proceso, pero gracias a las enseñanzas de seriedad, responsabilidad y perseverancia, he logrado importantes objetivos.

Quiero Agradecer a mis Padres por ser mis eternos consejeros.

A mi Tutor Dr. Segundo García por haberme ayudado con el Tema de Tesis y guiarme durante este periodo de Aprendizaje.

A mis Compañeras Dra. Carmita Jaramillo y Dra. Luisa Rojas de Astudillo, PhD; por su paciencia y motivación, por transmitirme sus conocimientos que han sido importantes para mi formación como Investigadora.

Y por último pero no menos importante al Ingeniero Humberto Ayala, por ser un apoyo durante este proceso, por su confianza y tiempo.

Eternamente Agradecida

Valeria Alejandra Sánchez Alvarez

ÍNDICE

CERTIFICACIÓN	ii
CESIÒN DE DERECHOS	iii
RESPONSABILIDAD	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xiii
INTRODUCCIÒN	xv
PROBLEMA	xvi
JUSTIFICACIÒN	xviii
OBJETIVOS	xix
Objetivo General	xix
Objetivos Específicos.....	xix
Preguntas de Investigaciòn.....	xix
VARIABLES	xix
Variable Independiente	xix
Variable Dependiente.....	xx
Actividad Hipoglicemiante.	xx
HIPOTESIS	xx
Hipòtesis Alternativa.....	xx
Hipòtesis Nula.....	xx
1. MARCO TEÒRICO	1
1.1. ACHIOTE (<i>Bixa orellana L</i>)	1
1.1.1. Clasificaciòn Taxonòmica	2
1.1.2. Descripciòn Morfològica	2
1.1.3. Composiciòn fisicoquímica de las Semillas de Achiote.	4
1.1.4. Usos de las Semillas del Achiote.	5
1.1.5. Propiedades Medicinales.	5
1.1.5.1 Sustancias Antioxidante de las Semillas del Achiote.	5

1.1.5.2.	Parte Utilizada.....	5
1.1.5.3.	Principios Activos.....	6
1.1.5.4.	Acción Farmacológica.....	6
1.2.	ENSAYOS MORFOLÓGICOS, ANATÓMICOS Y ORGANOLÉPTICOS.....	6
1.2.1	Análisis Organoléptico.....	6
1.2.2	Análisis macroscópico.....	7
1.2.3	Análisis microscópico.....	7
1.3	ENSAYOS FÍSICO – QUÍMICOS CUALITATIVOS Y CUANTITATIVOS.....	7
1.3.1.	Ensayos Cualitativos.....	7
1.3.2.	Ensayos Cuantitativos.....	8
1.3.2.1	Análisis Cromatográfico.....	8
1.3.2.2.	Cromatografía en Capa Fina (CCF).....	8
1.3.2.4.	Espectro infrarrojo.....	9
1.3.2.5.	Espectro ultravioleta.....	9
1.4	DIABETES.....	9
1.4.1	TIPOS DE DIABETES.....	9
1.4.1.1	Diabetes Tipo 1.....	9
1.4.1.2	Diabetes Tipo 2.....	10
1.4.1.3	Diabetes Gestacional.....	10
1.4.2.	CAUSAS PARA CONTRAER DIABETES.....	11
1.4.1.	Efectos Nocivos en la Salud.....	12
1.4.1.1.	Efectos a corto plazo.....	13
1.5.	PRUEBAS IN VIVO.....	13
1.5.1.	Animales Utilizados para Realizar Pruebas In Vivo.....	14
1.5.1.1.	Ratas Wistar.....	15
1.6.	METFORMINA.....	15
1.6.1.	Mecanismo de Acción.....	15
1.6.2.	Farmacocinética.....	16
2.	METODOLOGIA.....	17
2.4.	LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	17
2.4.2.	Diseño Experimental.....	18
2.5.	PRUEBAS PARA CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA.....	18

2.3.1. Características Organolépticas de la Droga Cruda de Semillas de Achiote (<i>Bixa orellana</i> Linn).	18
2.3.2.1. Determinación del Contenido de Humedad. Método Gravimétrico.	19
2.3.2.2. Determinación De Cenizas Totales. Método de Incineración.	19
2.3.2.3. Determinación de Cenizas Solubles en Agua. Método Gravimétrico.	20
2.3.2.4. Determinación de Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico.	21
2.3.2.5. Determinación de Sustancias Solubles de la Droga Cruda de Semillas de Achiote.	21
2.3.2.6. Tamizaje Fotoquímico de la Droga Cruda de Hojas de Semillas de Achiote.	22
2.4. REACCIONES DE CARACTERIZACIÓN	25
2.4.1. Ensayo de Sudán	25
2.4.2. Ensayo de Dragendorff	25
2.4.3. Ensayo de Mayer	25
2.4.4. Ensayo de Wagner	26
2.4.5. Ensayo de Baljet	26
2.4.6. Ensayo de Borntrager	27
2.4.7. Ensayo de Lieberman – Buchard.	27
2.4.8. Ensayo de Resinas	28
2.4.9. Ensayo de Fehling	28
2.4.10. Ensayo de Espuma	28
2.4.11. Ensayo del Cloruro Férrico	29
2.4.12. Ensayo de Shinoda	29
2.4.13. Ensayo de Kedde	30
2.4.14. Ensayo de Muclagos	30
2.4.15. Ensayo de Antocianidinas.	30
2.4.16. Ensayo de Principios Amargos y Astringentes.	31
2.5. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ACHIOTE.	31
2.5.1. Método de Percolación	31
2.6. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO DE ACHIOTE	31
2.6.1. Determinación de los Requisitos Organolépticos del Extracto de Achiote. Método Sensorial	31
2.6.2. Determinación del pH	32
2.6.3. Determinación de la Densidad Relativa	32

2.6.4.	Determinación de Sólidos Totales	33
2.6.5.	Análisis Capilar	34
2.7.	PROCESO EXPERIMENTAL	35
2.7.1.	Desarrollo del Trabajo para El Estudio de la Actividad Hipoglucemiante	35
2.7.2.	Procedimiento para el Estudio de la Actividad Hipoglucemiante	35
2.7.3.	Extracción de Sangre, Administración De las Muestras Objeto de Estudio y Lectura de Valores de la Glucosa.	36
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
3.3.	CARACTERIZACIÓN DE LAS SEMILLAS DE ACHIOTE	37
3.3.1.	Características Organolépticas de la Droga Cruda de Semillas de Achiote.	37
3.3.2.	Parámetros Físicos – Químicos de la Droga Cruda (Semillas de Achiote).	38
3.3.2.1.	Sustancias Solubles	38
2.3.1.1.	Refractometría	39
2.3.1.2.	Tamizaje Fitoquímico de la Droga Cruda de las Semillas de Achiote	40
2.3.1.5.	Análisis Capilar del Extracto Acuoso de Las Semillas de Achiote Estudio Hipoglucemiante del Extracto Acuoso de las Semillas de Achiote.	42
3.	CONCLUSIONES	44
4.	RECOMENDACIONES	45
	Bibliografía	46
	ANEXOS	54

RESUMEN

La diabetes es un gran y creciente reto para los sistemas de salud, según los expertos. Las consecuencias de la diabetes pueden dañar el corazón, los vasos sanguíneos, ojos, riñones y nervios. La diabetes se encuentra entre las principales causas de insuficiencia renal. En los pacientes con diabetes el riesgo de muerte es al menos dos veces mayor que en las personas sin diabetes. Se considera que esta Enfermedad está creciendo constantemente al punto de convertirse en una Epidemia que amenaza a países en vías de desarrollo como el nuestro. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS). Considerando el ritmo de vida que se lleva hoy en día, la mala alimentación incluyendo el abuso de medicamentos han generado una serie de enfermedades entre ellas la diabetes. Desde este punto justifica la necesidad de desarrollar nuevos medicamentos de origen natural que no afecten al organismo, pero que cumplan con su función principal; que es reducir el nivel de glucosa en la sangre. Es por ello que en esta investigación se elaboró un extracto acuoso a partir de las semillas del achiote (*Bixa orellana Linn*) con propiedad hipoglucemiante, para el tratamiento de pacientes con diabetes. Se utilizaron las semillas de achiotes debido a que estudios anteriores se le atribuyen diferentes propiedades terapéuticas, tales como: astringente, antiséptico, emoliente, antibacterial, antioxidante, expectorante, cicatrizante, febrífugo, estomáquico y antidisentérico, diurético y antigonorreico, purgante, desinflamatorio e hipoglicemiante. De los resultados al realizar los ensayos de humedad se estableció que se encuentra dentro de los Parámetros establecidos. En cenizas se comprobó que no existía ningún tipo de contaminación con materias extrañas, puesto que se encuentran dentro de los rangos establecidos. El extracto Acuoso de Semillas de Achiote tiene: pH 6,3, Densidad 1,032 g/ml y Solidos Totales 11,71%. El ensayo de sustancias solubles permite conocer en que solvente se obtiene mayor porcentaje de metabolitos responsables de la actividad hipoglucemiante, en este caso se obtuvo mayor porcentaje en el extracto acuoso. Al realizar la evaluación de las semilla de achiote (*Bixa orellana Linn*) Taxológicamente se verificó, mediante la caracterización, que corresponde a la Planta de la misma Familia y Especie, esto permitió continuar con la elaboración del trabajo de investigación. Las sustancias solubles del extracto de semillas de achiote, para la dosificación y administración en las

ratas Wistar se convalidó mediante estudio comparativo de un producto existente en el mercado. Mediante el Tamizaje Fitoquímico se identificó los flavonoides y compuestos fenólicos como sustancias responsables de la actividad hipoglucemiante. La hipótesis planteada fue comprobada al administrarles a las Ratas Wistar en dosis de 500 mg. Demostrando el descenso de los niveles de glucosa en sangre antes inducida la hiperglucemia con una solución de glucosa al 40%.

ABSTRACT

Diabetes is a large and growing challenge for health systems, according to experts. The consequences of diabetes can damage the heart, blood vessels, eyes, kidneys and nerves. Diabetes is among the leading causes of kidney failure. In patients with diabetes the risk of death is at least two times higher than in people without diabetes. It is considered that this disease is steadily growing to the point of becoming an epidemic that threatens developing countries like ours. According to the World Health Organization (WHO). Considering the pace of life that takes today, including poor diet drug abuse have generated a number of illnesses including diabetes. From this point justifies the need to develop new drugs of natural origin that do not affect the body, but to fulfill their main function; that is reducing the level of blood glucose. That is why in this research an aqueous extract was made from the seeds of the annatto (*Bixa orellana* Linn) with hypoglycemic property, for the treatment of patients with diabetes. Astringent, antiseptic, emollient, antibacterial, antioxidant, expectorant, healing, febrifuge, stomachic and anti-dysentery, and antigonorreico diuretic, laxative, anti-inflammatory and hypoglycemic: Achiote seeds because previous studies are attributed to different therapeutic properties, such as were used . From the results when moisture tests established that falls within the parameters established under the Rules. Ash was found that there was no contamination by foreign material, as are within established ranges. Aqueous extract the Achiote seeds have: pH 6.3, density 1.032 g / ml and 11.71% Total Solids. Solubles test identifies how higher percentage of solvent metabolites responsible hypoglycemic activity, higher percentage in this case was obtained in the aqueous extract. When assessing the seed of Achiote (*Bixa orellana* Linn) Taxológicamente verified through characterization, corresponding to the same plant family and species, this allowed to continue with the development of the research. The soluble substances annatto seed extract, for dosing and administration in Wistar rats were validated by comparative study of an existing product on the market. By Phytochemical Screening flavonoids and phenolic compounds as responsible for hypoglycemic activity substances are identified. The hypothesis was tested by administering to Wistar rats at doses of 500 mg.

demonstrating the decline in blood glucose levels induced hyperglycemia before a glucose solution 40%.

INTRODUCCIÓN

La glucosa es la mayor fuente de energía para las células del organismo humano. El nivel de glucosa es la cantidad de glucosa (azúcar) que contiene la sangre, también se denomina glucosa en suero o glucemia y se mide en milimoles por litro (mmol/L) o en miligramos por decilitro (mg/dL).

En condiciones fisiológicas, la concentración de glucosa plasmática no debe sobrepasar los 11 mmol/L, incluso tras la ingesta de grandes cantidades de hidratos de carbono. Tras la ingesta de alimentos, la absorción intestinal de carbohidratos hace que las concentraciones de glucosa en sangre aumenten con rapidez y ello estimula la secreción pancreática de insulina. Gracias a la actividad hormonal, los adipocitos, las células musculares y los hepatocitos captan la glucosa sanguínea. La insulina controla el consumo y la movilización de compuestos energéticos en el estado postprandial, gracias a sus diversos efectos sobre las células sensibles a la hormona. Su efecto central es permitir la entrada de glucosa a las células, en particular del hígado, tejido graso y músculo, para su utilización ya sea en la vía oxidativa, en la cual da lugar a energía, agua y dióxido de carbono, o no oxidativa, en la que la glucosa es almacenada como glucógeno hepático o muscular. La diabetes mellitus 2 (tipo 2) es un desorden metabólico crónico, caracterizado por niveles persistentemente elevados de glucosa en sangre, como consecuencia de una alteración en la secreción y/o acción de la insulina, que afecta además al metabolismo del resto de los hidratos de carbono, lípidos y proteínas.

La diabetes sacarina es un trastorno metabólico que tiene causas diversas; se caracteriza por hiperglucemia crónica y trastornos del metabolismo de los carbohidratos, las grasas y las proteínas como consecuencia de anomalías de la secreción o del efecto de la insulina. Con el tiempo, la enfermedad puede causar daños, disfunción e insuficiencia de diversos órganos. La dieta saludable, la actividad física regular, el mantenimiento de un peso corporal normal y la evitación del consumo de tabaco pueden prevenir la diabetes de tipo 2 o retrasar su aparición (WHO & de Bode, La Diabetes es una Enfermedad Crónica, 2015).

PROBLEMA

Se estima que en América del Sur y el Caribe que 24,1 millones de personas, o el 8% de la población adulta, tienen diabetes. Para 2035, se espera que la cifra aumente en casi un 60% hasta unos 38,5 millones de personas. Por otra parte, las estimaciones actuales indican que otros 22,4 millones de personas, o el 7,4% de la población adulta, tienen TAG (Federación Internacional de Diabetes, 2013).

En el Ecuador el año 2013 se registraron 63.104 defunciones generales, las principales causas de muerte son la Diabetes mellitus y enfermedades hipertensivas, con 4.695 y 4.189 casos respectivamente, según la información del Anuario de Nacimientos y Defunciones publicado por el Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC, 2014).

A nivel mundial, la Organización Mundial de la Salud estima que más de 346 millones de personas tienen diabetes, y se estima que el dato se duplicará para el año 2030 si la tendencia actual continúa.

La diabetes está fuertemente ligada al sobrepeso y a la obesidad, que van también en aumento en las Américas y el mundo. Las estadísticas muestran también que la obesidad y el sobrepeso están aumentando en personas de todas las edades: entre el 7% y 12% en niños menores de 5 años y uno de cada cinco adolescentes en América son obesos. Los porcentajes de sobrepeso y obesidad en adultos se aproximan al 60% (UPNUDE, 2012).

Si no se controla, la diabetes puede causar daño en los ojos, en los riñones, y puede también dañar los nervios. La diabetes también incrementa los riesgos de infarto, enfermedades del corazón e insuficiencia de flujo de sangre hacia las piernas. Estudios muestran que el buen control del metabolismo previene o demora dicha enfermedad (UPNUDE, 2012).

Las personas que tienen Diabetes deben tener cuidados coordinados y probados los cuales promuevan el rol importante entre el paciente y los familiares. Para Hospedales “La educación y el involucramiento del paciente son absolutamente claves para promover un

mejor auto-manejo de la diabetes”. Esto incluye un auto-monitoreo del nivel de glucosa en la sangre, así como estar alerta a señales de posibles complicaciones (Hospedales, 2012).

Las consecuencias de la diabetes puede dañar el corazón, los vasos sanguíneos, ojos, riñones y nervios. La diabetes aumenta el riesgo de cardiopatía y accidente vascular cerebral. Un 50% de los pacientes diabéticos mueren de enfermedad cardiovascular (OMS, 2014).

La neuropatía diabética se debe a lesión de los nervios a consecuencia de la diabetes, y puede llegar a afectar a un 50% de los pacientes. Aunque puede ocasionar problemas muy diversos, los síntomas frecuentes consisten en hormigueo, dolor, entumecimiento o debilidad en los pies y las manos (OMS, 2014).

JUSTIFICACIÓN

La diabetes es una enfermedad que afecta a la mayoría de población a nivel mundial como lo reconoce la Sociedad Española de Diabetes además organismos como Federación Internacional de Diabetes. Se considera que esta Enfermedad está creciendo constantemente al punto de convertirse en una Epidemia que amenaza a países en vías de desarrollo como el nuestro.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS). Considerando el ritmo de vida que se lleva hoy en día, la mala alimentación incluyendo el abuso de medicamentos han generado una serie de enfermedades entre ellas la diabetes.

Desde este punto justifica la necesidad de desarrollar nuevos medicamentos de origen natural que no afecten al organismo, pero que cumplan con su función principal; que es reducir el nivel de glucosa en la sangre.

También la prevención es igual de importante. Para ayudar a prevenir la diabetes tipo 2 y sus complicaciones, las personas deben, alcanzar y mantener un peso corporal saludable y de esta manera estar físicamente activas, con un mínimo de 30 minutos diarios de actividades de intensidad moderada la mayor cantidad de días posible Tengan una dieta saludable, incluyendo de tres a cinco raciones de frutas o vegetales diarios y reducir el consumo de azúcar y grasas saturadas Evitar el uso del tabaco, que aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares Tomar menos alcohol (OPS, 2012).

OBJETIVOS

Objetivo General

- Elaborar un extracto acuoso a partir de las semillas del achiote (*Bixa orellana Linn*) con propiedad hipoglucemiante, para el tratamiento de pacientes con diabetes.

Objetivos Específicos

- Caracterizar la materia prima (semillas de achiote), en función de parámetros de Calidad Farmacognósticos y Químicos.
- Preparar un extracto acuoso a partir de las Semillas de Achiote, de acuerdo al estudio etnográfico.
- Evaluar el efecto hipoglucemiante del achiote (*Bixa orellana L*), en ratas de laboratorio.

Preguntas de Investigación

¿Cuáles son los metabolitos secundarios presentes en las semillas de achiote (*Bixa orellana L*)?

¿Cuáles son los métodos de obtención de extractos de acuerdo al estudio etnográfico?

¿En qué consisten las pruebas in vivo?

¿En qué consiste el efecto hipoglucémico?

VARIABLES

Variable Independiente

Concentración de metabolitos secundarios presentes en las semillas de achiote son responsables de actividad hipoglucemiante.

Variable Dependiente

Actividad Hipoglicemiante.

HIPOTESIS

Hipótesis Alternativa

El Extracto acuoso a partir de semillas de achiote (*Bixa orellana L*), posee efecto hipoglucemiante en ratas Wister de laboratorio.

Hipótesis Nula

El Extracto acuoso a partir de semillas de achiote (*Bixa orellana L*), no posee efecto hipoglucemiante en ratas Wister de laboratorio.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. ACHIOTE (*Bixa orellana L*)

Es un arbusto o árbol pequeño, perennifolio, de 2 a 5 m (hasta 10 m) de altura, con un diámetro a la altura del pecho de 20 a 30 cm; sus hojas simples, alternas, grandes y lustrosas, ovadas, de punta larga en el ápice, con pecíolos delgados y largos, acorazonadas en la base; el tronco es cilíndrico, las ramas jóvenes son delgadas y la corteza externa es de color café claro, algo fisurada, y se desprende fácilmente en largas tiras; internamente amarilla o amarillo anaranjada, con savia del mismo color, pegajosa y ligeramente amarga (Bonilla, 2009).

Flores grandes, vistosas, dispuestas en corimbos terminales, llevando los pedúnculos de 2 a 4 flores de color rosado, rojizo o blanco, de 4 a 5.5 cm de diámetro; cáliz de 5 sépalos, verde castaño que pronto se caen; corola de 5 pétalos, anchos y redondeados (Ocampo, 1994).

Raíz Sistema radical pivotante y muy largo (Ocampo, 1994).

El fruto es una cápsula roja, de 2 a 6 cm de largo, con pelos gruesos espinosos, dehiscente, verdosa oscura a morada (según variedades), que al madurar pasa a pardo rojizo oscuro. En cada valva hay semillas en número variable (10-50, en relación con el tamaño capsular). La semilla es comprimida, de 5 mm de largo, con tegumento recubierto de una sustancia viscosa rojiza intensa (Lafarga, 2014).

1.1.1. Clasificación Taxonómica

Tabla 1 Clasificación Taxonómica del Achiote

Reino	Plantae (vegetal)
Subreino	Tracheobionta
División	Embriofita
Subdivisión	<i>Diplodialia</i>
Sección	<i>Espermatofita (fanerógamas)</i>
Subsección	<i>Angiosperma</i>
Clase	<i>Magnoliopsida (Dicotiledónea)</i>
Subclase	<i>Arquiclamídea</i>
Orden	<i>Violales (Parietales)</i>
Familia	<i>Bixaceae</i>
Genero	<i>Bixa</i>
Especie	<i>Bixa Orellana L. /</i>

Fuente: (Gonzales, 1992)

1.1.2. Descripción Morfológica

Bixa es un árbol de 2-10 m de altura, con copa piramidal, redondeada o irregular y ramificación dicotómica. La corteza del tallo es lisa o poco fisurada, de color pardo-rojizo, pardo-oscuro, pardo-verdoso o pardo-grisáceo, con pocas o muchas lenticelas de color pardo claro o amarillento. Las hojas son simples, dorsiventrales, alternas, de textura cartácea, forma deltoide, cordiforme o lanceolada, lámina simétrica o asimétrica y pubescentes (Rivera & Flores, 1988).

Figura 1. Árbol de achiote en su fase de fructificación.



Fuente: Infojardin, 2014.

Las flores se producen en panículas terminales de 10-25 cm de longitud, con 5-60 primordios florales. Los pétalos son imbricados y su color varía de blanco a rosado intenso; los sépalos son cóncavos, de color pardo-rojizo o pardo-verdoso, con 5 glándulas basales persistentes aún en el fruto maduro (Flores & Rivera, 1988).

La época de floración y madurez del achiote varía según la latitud y según la temperatura de la zona, siendo más temprana en las regiones cálidas y húmedas. La floración dura entre 3 y 4 meses y no es sincronizada (Perez, Cuen, & Becerra, 2003).

Figura 2. Semillas del Achiote



Fuente: (Becerra & Perez Sandy Y Cuen , 2003)

1.1.3. Composición fisicoquímica de las Semillas de Achiote.

Las semillas de Achiote están principalmente constituidas por Bixina representando un 80% de los pigmentos presentes, lo cual facilita su extracción; los componentes principales de la semilla del achiote son: Bixina (materia colorante roja) (80%); Resina; Orellina (materia colorante amarilla); Aceite Volátil y aceite Graso (Cordoba, 1987) (Jaramillo & Muñoz, 1992) (Mosquera P., 1989).

Según Cordoba, (1987); Jaramillo & Muñoz, (1992) la Humedad oscila entre 8 -13 %, Proteína 13 -14,24 %; Celulosa 13,8 %; Fibra Cruda 18,48 %; Almidones 11,45 %; Carbohidratos Totales 39,91 %; Ceniza 4,50 - 7,97 %; Energía 54 kcal (Cordoba, 1987; Jaramillo & Muñoz, 1992).

Según Bolt (2009) El análisis de las semillas de achiote ha dado como resultado lo siguiente: 40% - 45% de celulosa; 3.5% - 5.5% sacarosa; 0.3% - 0.9% aceite esencial; 3% aceite fijo; 4.5% - 5.5% pigmentos y de 13% - 16% proteína (Bolt, 2009).

1.1.4. Usos de las Semillas del Achiote.

La bixina es una sustancia cristalina de color rojo oscuro, soluble en alcohol, aceites y grasas e insoluble en agua. También se encuentran pequeñas cantidades de isobixina y norbixina; esta última, de color amarillo y soluble en agua e insoluble en grasas, también es un colorante con valor comercial (Becerra & Perez Sandy Y Cuen , 2003).

1.1.5. Propiedades Medicinales.

Se le atribuyen diferentes propiedades terapéuticas: astringente, antiséptico, emoliente, antibacterial, antioxidante, expectorante, cicatrizante, febrífugo, estomáquico y antidisentérico, diurético y antigonorreico, purgante, desinflamatorio e hipoglicemiante (Holguin & Lara, 2011).

La semilla molida es utilizada para tratar sarampión, viruela, afecciones estomacales, enfermedades del riñón, disentería y febrífugo, astringente y ligero purgante (Holguin & Lara, 2011).

Los frutos y semillas en infusión controlan el dolor de cabeza. También tiene propiedades cicatrizantes (Holguin & Lara, 2011).

1.1.5.1 Sustancias Antioxidante de las Semillas del Achiote.

1.1.5.2. Parte Utilizada.

Se utiliza las Semillas las cuales se encuentran dentro de una cápsula.

1.1.5.3. Principios Activos.

Las semillas enteras contienen además: 17,5% de Lípidos; 10,6% de Aminoácidos. Además, la semilla aporta 6 de los 8 aminoácidos esenciales contemplados en el patrón ideal de la OMS. Es una fuente rica de hierro y zinc (Lawrence & Hogg, 1973).

1.1.5.4. Acción Farmacológica.

Semillas: en estudios en animales, los extractos de la semilla han mostrado actividad diurética e hipoglucemiante, así como su capacidad de disminuir la actividad motora (Galeon, 2001).

Cicatrizante: La vitamina A, se usa en el tratamiento de lesiones dérmicas, favoreciendo la curación de heridas mediante aplicación local (Informatorium Medicamentorum, 1965).

Antibacteriana: El extracto etanólico de la hoja demuestra actividad antibacteriana sobre *Salmonella typhi* y *S. flexneri* (Cáceres, 1996)

Antifungi: En plantas de *Bixa o.* de América latina se encontró una actividad antifungal (Freixa, y otros, 1998)

1.2. ENSAYOS MORFOLÓGICOS, ANATÓMICOS Y ORGANOLÉPTICOS.

Estos ensayos sirven para confirmar la identidad de la planta o droga, da una idea de su conservación, y detectas posibles adulteraciones o falsificaciones.

1.2.1 Análisis Organoléptico.

Los caracteres organolépticos incluyen olor, color, sabor y textura.

Olor. Muchas plantas y drogas poseen olores característicos a la Especie.

Color. Uniforme o no. Cuando la droga viene en polvo, el color por ejemplo puede dar una idea de la parte de la planta de que se trate.

Sabor. Dulce, amargo, astringente, ácido, salino, punzante, nauseabundo, aromático.

1.2.2 Análisis macroscópico.

Las características macroscópicas se pueden observar a simple vista o con la lupa. Se observan caracteres como forma, dimensiones, pilosidad, nerviación, superficie, fractura, sección, grosor y dureza de la planta entera o partes de la planta.

Semillas. Tamaño, color, forma (Palomino, 2001).

1.2.3 Análisis microscópico.

Las características microscópicas y cortes histológicos son importantes. Observan al microscopio elementos celulares como pelos, vasos, esclereidas, estomas, y acelulares, como cristales y granos de almidón. Son necesarios para descartar la presencia de adulteraciones.

Drogas pulverizadas. Se observan en el microscopio los contenidos celulares, los elementos celulares (Palomino, 2001).

1.3 ENSAYOS FÍSICO – QUÍMICOS CUALITATIVOS Y CUANTITATIVOS.

Son ensayos cualitativos o cuantitativos que permiten conocer la composición de la droga o planta, caracterizar principios activos y reconocer falsificaciones.

Se realizan con una finalidad de identificar sustancias y Cuantificar su concentración (Palomino, 2001).

1.3.1. Ensayos Cualitativos.

Reacciones de identificación. Coloreadas, de precipitación, fluorescencia, microsублиmación, etc, que permiten detectar los constituyentes característicos de una planta (Palomino, 2001).

1.3.2. Ensayos Cuantitativos.

Humedad, Cenizas, Residuo seco, Materia extraíble, Parámetros físicos como: densidad, poder rotatorio, índice de refracción; Índices químicos como: acidez, saponificación, sobre todo para aceites esenciales; Índices de hinchamiento; Índices de espuma. (Palomino, 2001).

1.3.2.1 Análisis Cromatográfico.

Las técnicas cromatográficas se basan en la separación de las sustancias presentes en una mezcla compleja al poner ésta en contacto con una fase móvil (líquido o gas) y otra estacionaria (sólida o líquida) que permanece fija. Los tres tipos más comunes son la cromatografía en capa fina (CCF), cromatografía de gases (CGL) y la de líquidos (HPLC) (Palomino, 2001).

1.3.2.2. Cromatografía en Capa Fina (CCF).

Se emplea en controles de todo tipo de productos naturales, habiéndose establecido como método analítico muy importante en las farmacopeas modernas. Permite identificar de forma rápida y bajo coste los componentes presentes en un determinado material vegetal. También se puede emplear como método semicuantitativo (Palomino, 2001).

1.3.2.3. Métodos espectrofotométricos.

Muchos principios activos se pueden caracterizar químicamente a partir de los datos de cromatografía de gases y los espectros de masas tal como se anotó anteriormente, pero

cuando existen dudas de tal caracterización se recurre a los métodos espectrales como Infrarrojo, Ultravioleta y Resonancia Magnética Nuclear (Palomino, 2001).

1.3.2.4. Espectro infrarrojo.

El espectro infrarrojo permite detectar la presencia de grupos hidroxilo, carbonilo, anillos aromáticos, enlaces dobles C=C, etc. Para determinar el espectro basta con colocar una gota del componente en una celda de NaCl e introducirla en el espectrofotómetro. El Espectro IR de una molécula es como su “DNI”, característico de ella, sólo, y se puede comparar con una base de datos de espectros (Palomino, 2001).

1.3.2.5. Espectro ultravioleta.

En general, la espectrofotometría ultravioleta tiene una utilidad limitada en el estudio de la gran mayoría de los aceites esenciales terpénicos, ya que pocos terpenos tienen grupos cromóforos (Palomino, 2001).

1.4 DIABETES

La diabetes es una enfermedad crónica que aparece cuando el cuerpo no puede producir suficiente insulina o no puede usar la insulina eficazmente. La insulina es una hormona producida en el páncreas que permite que la glucosa de los alimentos entre en las células del cuerpo, donde se convierte en la energía necesaria para que funcionen los músculos y los tejidos (Federación Internacional de Diabetes, 2013).

1.4.1 TIPOS DE DIABETES

1.4.1.1 Diabetes Tipo 1

La diabetes tipo 1 es causada por una reacción autoinmune, en la que el sistema de defensa del cuerpo ataca las células beta productora de insulina en el páncreas. Como resultado, el cuerpo ya no puede producir la insulina que necesita.

Las personas con este tipo de diabetes necesitan insulina todos los días para controlar los niveles de glucosa en sangre (Federación Internacional de Diabetes, 2013).

La diabetes tipo 1 suele desarrollarse repentinamente y puede producir síntomas tales como: Sed anormal y sequedad de boca; Micción frecuente; Falta de energía, cansancio extremo; Hambre constante; Pérdida repentina de peso; Heridas de cicatrización lenta; Infecciones recurrentes; Visión borrosa (Federación Internacional de Diabetes, 2013).

Las personas con diabetes tipo 1 pueden llevar una vida normal y saludable a través de una combinación de terapia de insulina diaria, vigilancia estrecha, una dieta saludable y ejercicio físico regular. (Federación Internacional de Diabetes, 2013).

1.4.1.2 Diabetes Tipo 2

En la diabetes tipo 2, el cuerpo puede producir insulina, pero o bien esto no es suficiente o bien el cuerpo no puede responder a sus efectos, dando lugar a una acumulación de glucosa en sangre.

Aunque todavía no se conocen las causas del desarrollo de la diabetes tipo 2, hay varios factores de riesgo importantes.

1.4.1.3 Diabetes Gestacional.

La condición se produce debido a que la acción de la insulina es bloqueada, probablemente por las hormonas producidas por la placenta, provocando insensibilidad a la insulina (Federación Internacional de Diabetes, 2013).

Dado que la diabetes gestacional normalmente se desarrolla tarde en el embarazo, el feto ya está bien formado, pero sigue creciendo. Por tanto, el riesgo inmediato para el bebé no es

tan grave como en el caso de que la madre tenga diabetes tipo 1 o diabetes tipo 2 antes del embarazo. Sin embargo, la diabetes gestacional no controlada puede tener graves consecuencias, tanto para la madre como para el bebé (Federación Internacional de Diabetes, 2013).

La diabetes gestacional en las mujeres normalmente desaparece después del nacimiento. Sin embargo, las mujeres que han tenido diabetes gestacional tienen un mayor riesgo de desarrollar diabetes gestacional en embarazos posteriores y de desarrollar diabetes tipo 2 más adelante en la vida (Federación Internacional de Diabetes, 2013).

Los bebés que nacen de madres con diabetes gestacional también tienen un mayor riesgo de obesidad y diabetes tipo 2 en la adolescencia o en la edad adulta temprana (Federación Internacional de Diabetes, 2013).

Las mujeres con diabetes gestacional tienen que vigilar y controlar sus niveles de glucosa en sangre para reducir al mínimo los riesgos para el bebé (Federación Internacional de Diabetes, 2013).

1.4.2. CAUSAS PARA CONTRAER DIABETES.

La diabetes gestacional (DG) se origina por una insuficiente adaptación a la insulinoresistencia que se produce durante el embarazo (Arboleda, 2007).

La obesidad de la madre durante la gestación contribuye a aumentar las complicaciones antes mencionadas, si está presente al inicio del embarazo el riesgo es mayor. El propósito de la investigación fue determinar el estado nutricional de la mujer embarazada con diagnóstico de DG y relacionarlo con las características de su gestación y del recién nacido (González, Rodríguez, Ortega, & Oliveras, 2012).

Las personas que han sido diagnosticados con diabetes tienen un mayor riesgo de enfermedades tales como enfermedad cardíaca, accidente cerebrovascular, enfermedad renal, neuropatía y daño nervioso, afecciones de los pies, y la ceguera. Es de suma importancia para controlar la diabetes con el fin de evitar la aparición de estas enfermedades más graves y en ocasiones mortales (Yanez, 2014).

1.4.1. Efectos Nocivos en la Salud

El exceso continuado de glucosa en la sangre puede afectar a diversos órganos y tejidos. Aumenta la probabilidad de padecer problemas en dientes y encías: gingivitis, periodontitis, infecciones. La glucosa elevada en la sangre, la hipertensión arterial y la elevación en sangre de colesterol y triglicéridos pueden causar lesiones en los vasos sanguíneos grandes y pequeños y con ello alterar los ojos, reduciendo la visión y conduciendo en ocasiones a la ceguera. Del mismo modo, pueden lesionarse las células y los vasos sanguíneos de los riñones, afectando a la capacidad de filtración y pudiendo producir, en algunos casos, mal funcionamiento del riñón (Martín, 2006).

Es frecuente que en los diabéticos, tanto tipo 1 como tipo 2, el estómago tarde más de lo habitual en vaciarse. Pueden aparecer, por tanto, ardor de estómago, náuseas, regurgitación de alimentos no digeridos, una sensación temprana hinchazón en la barriga al comer y espasmos de la pared del estómago (Martín, 2006).

Los diabéticos también tienen un aumento en el riesgo de padecer infartos del corazón, trombosis cerebral y lesiones en los pies debidos a la mala circulación y a la pérdida de la sensibilidad (Martín, 2006).

La diabetes es una enfermedad que muchas veces también se acompaña de exceso de peso, hipertensión arterial y elevación del colesterol y los triglicéridos entre otras las complicaciones. Muchos estudios han demostrado que el perjuicio que producen la tensión arterial y valores de colesterol elevados es similar al que tiene la propia elevación de la glucosa. También hay que añadir que, en la medida en que la glucosa está elevada, esta a su vez puede elevar los valores de triglicéridos y perjudicar a la coagulación (Martín, 2006).

Sin olvidar el importante papel que desempeñan el sobrepeso y la obesidad en las complicaciones, dado, además, que un 75% de los pacientes diabéticos tipo 2 presentan obesidad (Sociedad Española de Diabetes, 2014).

1.4.1.1. Efectos a corto plazo

- La cetoacidosis un desorden metabólico consecuencia de los altos niveles de azúcar y cetonas en sangre, que puede producir confusión, malestar, sed extrema, cansancio o dificultades respiratorias. Este efecto puede provocar un coma y, si no se trata, puede ser fatal.
- Infecciones recurrentes.-cuando el nivel de glucosa en sangre es alto, las defensas contra las infecciones son reducidas.
- Pérdida de peso.- el cuerpo empieza a quemar las proteínas y las grasas en vez de glucosa.

Si no se controla, la diabetes puede producir graves complicaciones a largo plazo. Las más importantes son:

- Enfermedades oculares, que pueden desembocar en ceguera.
- Nefropatía (lesiones renales), que pueden tener como resultado un fallo total de los riñones.
- Neuropatías (lesiones nerviosas), que, en combinación con los problemas de circulación sanguínea, pueden producir úlceras de las piernas y de los pies y también gangrena, que por su parte puede desembocar en una amputación.
- Enfermedades cardiovasculares, que afectan al corazón y a los vasos sanguíneos y que pueden producir complicaciones fatales tales como la enfermedad coronaria cardíaca (que producen infartos de miocardio) y eventos cerebrales (una causa común de incapacidad y muerte entre las personas con diabetes) (Federacion Internacional de Diabetes, 2008).

1.5. PRUEBAS IN VIVO

Los estudios pre-clínicos se realizan en animales y modelos fisiológicos en el laboratorio, analizando las propiedades físico-químicas y el comportamiento del compuesto “in vivo” e “in vitro”. El propósito primario sigue siendo la evaluación de la actividad biológica.

En esta etapa, las moléculas se ensayan en dos o más especies de animales, debido a que una droga puede afectarlas en forma diferente. Estos estudios pre-clínicos evalúan un gran rango de parámetros de la molécula, e incluyen estabilidad, niveles plasmáticos, tisulares y propiedades farmacocinéticas. Se realizan estudios de toxicidad aguda y crónica y sobre el efecto en la reproducción y su progenia, los efectos a largo plazo (toxicidad crónica) son siempre los que implican más esfuerzo de investigación: los animales deberán ser mantenidos por más tiempo, se consumirá más droga, se requerirá más trabajo de técnicos y profesionales especializados, etc. Es interesante saber que estos estudios son de crucial importancia para los pacientes y la sociedad, se analizan posibles efectos teratogénicos, mutagénicos, carcinogénicos y otros de largo plazo, es inusual que los estudios crónicos en animales se extiendan por más de 6 meses de exposición a la droga. Y los humanos los recibirán por toda la vida (Politi, 2007).

Basado en los resultados de esta etapa, se evalúa el desarrollo de formulaciones para estudios clínicos y se proponen evaluaciones farmacológicas más extensas. Estos estudios duran un promedio de 3,5 años para un compuesto exitoso, pero sólo 1 de 1 000 compuestos avanza a la siguiente etapa, que comprende a los estudios clínicos en seres humanos. Si estos complejos estudios preliminares son prometedores, normalmente el propietario solicita la patente del compuesto. En este momento se decide si se solicita un permiso al FDA (EEUU) o EMEA (Europa) para desarrollar la droga y comenzar con los estudios en seres humanos, solicitando el correspondiente IND (Revista Médica de Chile, 2001).

1.5.1. Animales Utilizados para Realizar Pruebas In Vivo

La medicina científica nace con la observación y la experimentación en animales. Desde las experiencias de William Harvey, que comparó el latido cardiaco en distintas especies, los datos obtenidos mediante experimentos en animales han sido tema permanente de interés científico.

El ratón es el modelo animal más usado en la actualidad para el análisis de enfermedades humanas de origen genético, ya que permite un control adecuado de la base genética del

organismo y de las posibles alteraciones genéticas que acompañan el desarrollo de la enfermedad. Por tanto, la importancia de estos modelos es enorme para el estudio *in vivo* de la función de ciertos genes en el desarrollo de la enfermedad, para la identificación de nuevas moléculas diana y para el ensayo preclínico de nuevas terapias dirigidas a estas moléculas. Su estudio es clave para decidir si una determinada estrategia terapéutica es efectiva o supone riesgos secundarios en la salud de los pacientes (Rodríguez, 2007).

1.5.1.1. Ratas Wistar

Las ratas Wistar son una de las cepas más populares y utilizadas cotidianamente para la investigación en el laboratorio sirviendo como una importantes herramienta de investigación, por lo que, exige el control estricto de variables como la edad, el sexo y el peso corporal, y de esta forma poder extrapolar los resultados al modelo humano (Cossio, Gómez, Vargas, Tadeu, & de Arruda, 2013).

1.6. METFORMINA

La metformina es un agente antihiperlipémico de la familia de las biguanidas, derivado de la guanidina (Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría. Pedriamécum, 2012).

Es el fármaco de primera elección solo o combinado, para el tratamiento inicial de la gran mayoría de los pacientes diabéticos tipo II o no insulino dependientes. Se obtienen efectos no inmediatos como las sulfonilureas, pero ya a las 48-72 h se puede evaluar los resultados iniciado el tratamiento. Numerosos estudios han demostrado que su uso asociado a medidas que cambian el estilo de vida pueden disminuir la proporción de personas con intolerancia a los glúcidos que de otra manera evolucionarían a una diabetes, además de su eficacia en el enfermo en sí (Álvarez & Rodríguez, 2009) (García, León, & Martínez, 2009).

1.6.1. Mecanismo de Acción

Su mecanismo de acción no se conoce con exactitud, aunque se ha observado que sus efectos en la disminución de la glucosa sanguínea se producen por múltiples vías: reduce el aporte de glucosa a la sangre, mejora la utilización periférica de glucosa, reduce la hiperinsulinemia en ayunas, la ganancia de peso, mejora el perfil lipídico y reduce la actividad trombótica, además de mejorar la mineralización ósea (Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría.Pedriamécum, 2012).

1.6.2. Farmacocinética

Absorción: Se absorbe lenta e incompletamente en el tracto gastrointestinal, especialmente en el intestino delgado y la absorción se completa a las seis horas.

Se obtiene una biodisponibilidad del 50 al 60% después de administrar entre 0.5 y 1.5 g.

Distribución: Se distribuye rápidamente en tejidos y fluidos, particularmente en el tracto gastrointestinal, luego le sigue riñón, hígado y glándulas salivares.

Metabolismo: La metformina no es metabolizada en el hígado y no se excreta por bilis.

Excreción: La eliminación se hace fundamentalmente por vía renal. Circula sin unirse a las proteínas plasmáticas, posee una solubilidad baja en lípidos y no sufre biotransformación, eliminándose casi por completo por orina en su forma activa (el 90% de una dosis oral en 12 horas). Su semivida de eliminación plasmática es de 2 a 4 horas, por lo que debe administrarse 2o 3 veces al día (Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría.Pedriamécum, 2012).

2. METODOLOGIA

2.4. LOCALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación se desarrolló en el Bioterio Piloto y Planta Piloto de Farmacia de la Unidad Académica de Ciencias Químicas y de la Salud de la Universidad Técnica de Machala, con coordenadas: 3° 17' 9.01'' S 79° 54' 46.45'' O.

2.4.1. Tipo de Investigación

Descriptiva

Es el tipo de Investigación concluyente que tiene como objetivo principal describir características de Semillas de Achiote (*Bixa Orellana L*), extracto obtenido y de Solventes utilizado en la obtención del mismo.

Experimental

En esta investigación se manipulará las variables independientes (tipo de solvente y concentración de las semillas de achiote), para controlar el aumento o disminución de esas variables y su efecto en las conductas observadas. Dicho de otra forma, el experimento se cambiara el valor de las variables, y observar su efecto en otra variable dependiente (Concentración de Extracto).

2.4.2. Diseño Experimental

Desarrollo Experimental

Selección de la especie a trabajar:

Se realizó en primera instancia la selección de la especie de achiote que se cultiva en la provincia de El Oro.

Figura 3. Diagrama de flujo de la obtención del extracto de achiote



Fuente: Sánchez, 2015.

2.5. PRUEBAS PARA CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA.

2.3.1. Características Organolépticas de la Droga Cruda de Semillas de Achiote (*Bixa orellana* Linn).

A las Semillas le fueron analizados los parámetros organolépticos, tomando en cuenta sus características como color, su forma, textura, olor, los resultados obtenidos se detallaron en las Tablas.

2.3.2. Parámetros Físico-Químicos de la Droga Cruda.

2.3.2.1. Determinación del Contenido de Humedad. Método Gravimétrico.

A las Semillas de Achiote pulverizadas se pesan 2 g, se transfieren a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105 °C por 4 horas, tiempo en el que se logra peso constante de la masa (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Expresión de los resultados:

$$\%H = \frac{M2-M1}{M2-M} \times 100$$

Donde:

%H= Porcentaje de humedad (%)

M2= Masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

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

M= Masa de la cápsula vacía.

100= Factor matemático (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.3.2.2. Determinación De Cenizas Totales. Método de Incineración.

Se determina la masa de 2 g de la muestra de ensayo en un crisol de porcelana previamente tarado; incinerar en un horno mufla a temperaturas de 700 a 750 °C durante 2 horas. Se enfria el crisol en una desecadora y se pesa (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Expresion de resultados

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

C= Porcentaje de cenizas totales en base hidratada

M₂= Masa del crisol con la ceniza (g)

M₁= Masa del crisol con la porción del ensayo (g)

M= Masa del crisol vacío (g)

100= Factor matemático (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.3.2.3. Determinación de Cenizas Solubles en Agua. Método Gravimétrico.

A las cenizas totales obtenidas en el ensayo anterior, se le añaden de 15 a 20 mL de agua. El crisol se tapa y se hierve suavemente a la llama del mechero durante 5 minutos. La solución se filtra a través del papel filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfieren al crisol inicial, se carboniza en un mechero y luego se incinera en un horno mufla de 700 – 750 °C, durante 2 horas. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Expresión de los resultados

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

Donde:

Ca= Porcentaje de cenizas solubles en base hidratada

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

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

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

M= Masa del crisol vacío (g)

100= Factor matemático (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.3.2.4. Determinación de Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico.

Se determina la masa de 2 g de la muestra de ensayo en un crisol de porcelana previamente tarado; incinerar en un horno mufla a temperaturas de 700 a 750 °C durante 2 horas. Se enfria el crisol en una desecadora y se pesa. Se le añaden de 2 - 3 ml de ácido clorhídrico al 10%. El crisol se tapa con un vidrio reloj y se calienta sobre un baño de agua hirviente durante 10 minutos. Se lava el vidrio con 5 ml de agua caliente y se une al contenido del crisol.

La solución se filtra a través de un papel filtro libre de cenizas; se lava el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico no muestre presencia de cloruros cuando se le añade una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0.1 mol/L. El filtrado con el residuo se deseca de 100 a 105 °C, se transfiere al crisol inicial y se incinera en un horno mufla a una temperatura de 700 – 750 °C durante 2 horas. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Expresión de los resultados:

$$\%B = \frac{M2 - M}{M1 - M} \times 100$$

Donde:

%B= Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

M= Masa del crisol vacío. (g)

M1= Masa del crisol con la porción de ensayos (g)

M2= Masa del crisol con la ceniza (g)

100= Factor matemático (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.3.2.5. Determinación de Sustancias Solubles de la Droga Cruda de Semillas de Achiote

Se basa en la extracción de las sustancias solubles en agua, alcohol o mezclas hidroalcohólicas, mediante maceración y evaporación hasta sequedad de una alícuota del extracto (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Se pesan exactamente 5 g de Droga Cruda y Pulverizada y se transfieren a un Erlenmeyer de 250 ml; se añaden 100 ml del disolvente, se tapa y se agita durante 6 horas, dejándose en reposo hasta el día siguiente; se agita 30 min, se deja reposar alrededor de media hora más y se filtra por papel. Se toma una alícuota de 20 ml que se transfiere a una cápsula previamente tarada. Se evapora sobre baño de agua, se deseca en estufa a 105 °C durante 3h, se enfría y se pesa (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Expresión de los resultados.

$$Ss = \frac{R \cdot 500 \cdot 100}{M(100 - H)}$$

Ss= Sustancias solubles (%)

H= Humedad de la muestra (%)

500 y 100= Factores matemáticos para los cálculos.

R= Residuo de la muestra (g)

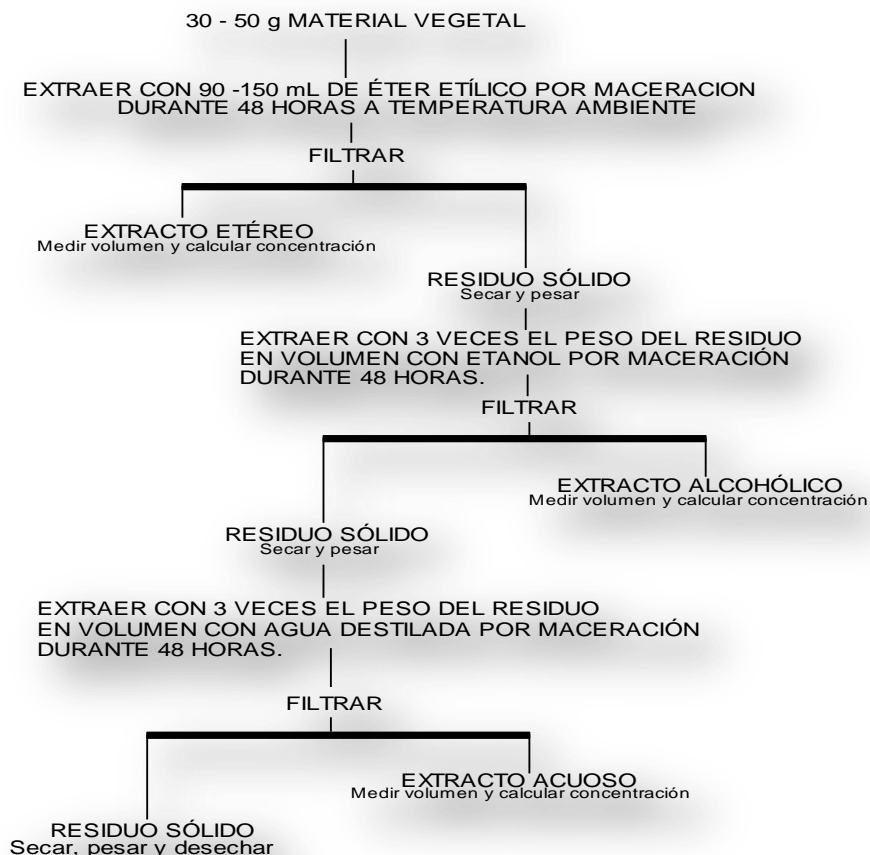
M= Masa de la muestra (g) (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.3.2.6. Tamizaje Fotoquímico de la Droga Cruda de Hojas de Semillas de Achiote.

Las Semillas de Achiote pulverizadas son sometidas a tres extracciones sucesivas, a cada extracto en agua, alcohol y éter obtenido se mide el volumen y se calcula su concentración, esto es, gramos de sustancia extraída por ml de extracto. Para ello se toma una alícuota de 5 ml y se transfiere a una cápsula previamente tarada, se evapora a sequedad en baño de agua

y se pesa el residuo obtenido. Posteriormente se procede a realizar cada tamizaje por separado siguiendo los Figura 5, 6 y 7 (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Figura 4. Extracción sucesiva del material vegetal para la aplicación de técnicas de



Tamizaje Fitoquímico.

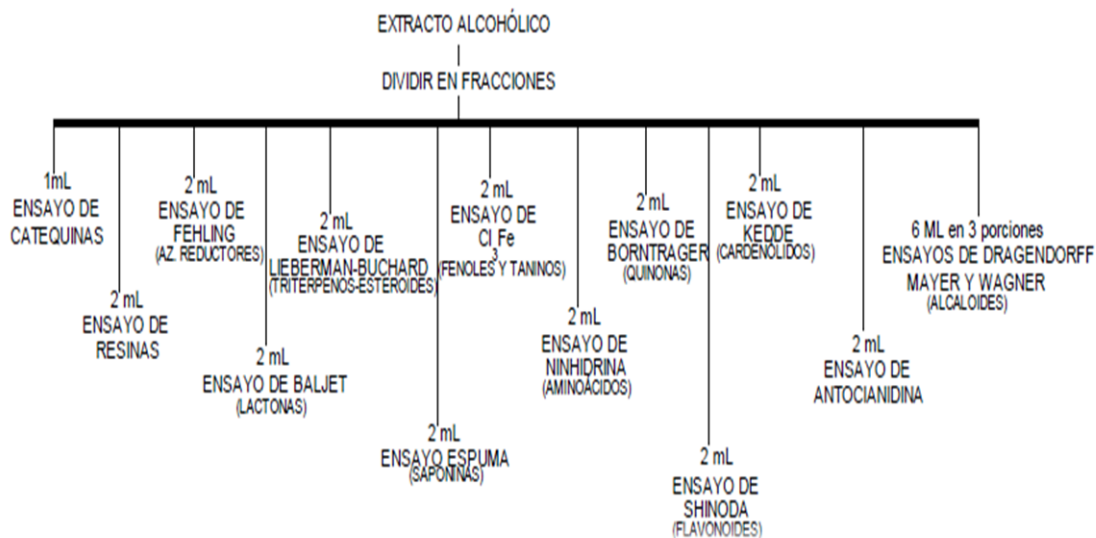
Fuente: (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Figura 5. Esquema de reacciones a realizar en el Extracto de Éter Etílico



Fuente: (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Figura 6. Esquema de reacciones a realizar en el Extracto Alcohólico



Fuente: (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Figura 7. Esquema de reacciones a realizar en el extracto acuoso.



Fuente: (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4. REACCIONES DE CARACTERIZACIÓN

2.4.1. Ensayo de Sudán

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, para ello, a la alícuota de la fracción en el solvente de extracción, se le añade 1 ml de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayo respectivamente (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.2. Ensayo de Dragendorff

Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello, si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de ácido clorhídrico al 1 %. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++) (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.3. Ensayo de Mayer

Proceda de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Añada una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 o 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, si se observa opalescencia (+), Turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++) (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Observación: En el caso de alcaloides cuaternarios y/o amino-óxidos libres, éstos solo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++) o (+++), en todos los casos, ya que un resultado (+), puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.4. Ensayo de Wagner

Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 o 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.5. Ensayo de Baljet

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1 ml). En estas condiciones se adiciona 1 ml del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++) y (+++) respectivamente (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.6. Ensayo de Borntrager

Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de cloroformo. Se adiciona 1 ml de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5 % en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++) (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.7. Ensayo de Lieberman – Buchard.

Si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 ml de cloroformo. Se adiciona 1 ml de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayos se dejan resbalar 2 - 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001):

- 1- Rosado - azul muy rápido.
- 2- Verde intenso - visible aunque rápido.
- 3- Verde oscuro – negro - final de la reacción (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material

evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

La reacción de Liebermann - Burchard se emplea también para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.8. Ensayo de Resinas

Para detectar este tipo de compuesto, adicione a 2 ml de la solución alcohólica, 10 ml de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.9. Ensayo de Fehling

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 - 2 ml de agua. Se adicionan 2 ml del reactivo y se calienta en baño de agua 5 - 10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.10. Ensayo de Espuma

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroideal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5

veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5 - 10 minutos (Miranda & Cuellar, Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.11. Ensayo del Cloruro Férrico

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9 % en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

- Desarrollo de una coloración rojo - vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.12. Ensayo de Shinoda

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico.

Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.13. Ensayo de Kedde

Permite reconocer en un extracto la presencia de glicósidos cardiotónicos. Una alícuota del extracto en etanol se mezcla con 1 mL del reactivo y se deja reposar durante 5-10 minutos. Un ensayo positivo es en el que se desarrolla una coloración violácea, persistente durante 1-2 horas (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.14. Ensayo de Mucílagos

Permite reconocer en los extractos de vegetales la presencia de esta estructura tipo polisacárido, que forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua donde se extrae. Para ello una alícuota del extracto en agua se enfría a 0 - 5 °C y si la solución toma una consistencia gelatinosa el ensayo es positivo (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.15. Ensayo de Antocianidinas.

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C₆-C₃-C₆ del grupo de los flavonoides. Se calientan 2 mL del extracto

etanólico 10 min con 1 mL de HCl concentrado. Se deja enfriar y se adiciona 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, es indicativa de un ensayo positivo (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.4.16. Ensayo de Principios Amargos y Astringentes.

El ensayo se realiza saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal y reconociendo el sabor de cada uno de estos principios, bien diferenciados al paladar (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.5. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ACHIOTE

2.5.1. Método de Percolación

1. Pesar 10 g de droga cruda (polvo pulverizado con tamaño de partícula de 2 mm diámetro)
2. Pasar a un percolador de laboratorio la droga.
3. Adicionar agua caliente 100 ml, dejar en maceración por 12 horas.
4. Recoger en un recipiente de PVC color ámbar el extracto con un flujo de 60 gotas por minuto 100 ml de extracto de concentración de 1 mL/g.
5. Tapar herméticamente y poner en refrigeración hasta su uso (Jaramillo C. , 2008).

2.6. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO DE ACHIOTE

2.6.1. Determinación de los Requisitos Organolépticos del Extracto de Achiote. Método Sensorial

- **Determinación del olor.** Se tomó una tira de papel filtro de 1cm de ancho por 10 cm de largo y se introdujo un extremo en la muestra de ensayo (extracto acuoso), y se procedió a percibir el olor (Jaramillo C. 2008).
- **Determinación del color.** En un tubo de ensayo limpio y seco se colocó la muestra ensayo hasta las 3/4 partes, y se observó el color, transparencia, presencia de partículas y su aspecto (Jaramillo C. 2008).
- **Determinación del sabor.** El sabor se determinó probando una pequeña cantidad del extracto al paladar. (Jaramillo C. 2008)

2.6.2. Determinación del pH

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno (Jaramillo C. , 2008).

El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógenos. Se calcula teóricamente mediante la ecuación (Jaramillo C. , 2008):

$$PH = - \log [H^+]$$

$$[H^+] = \text{actividad de los iones hidrogeno}$$

En la práctica la medición del pH se lleva a cabo por medio de la lectura de pH en la escala de un instrumento medidor de pH, ya sea igual o analógico. Esta lectura está en función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH, una solución reguladora del mismo. Se ajusta el equipo (pHchímetro marca Rhermo Star A329) con la solución reguladora de pH adecuada al rango en que se realizará la determinación. Posteriormente se determina el valor del pH de la muestra. (Jaramillo C. , 2008)

2.6.3. Determinación de la Densidad Relativa

Se toma un picnómetro de 10 ml limpio y seco y se pesa vacío, luego se llena de agua destilada y se determina su peso, a continuación se desecha el agua y el picnómetro se enjuaga con el solvente que se utilizó como menstruo para el extracto, se escurre bien y se llena con la muestra de ensayo y se determina el peso (Jaramillo C. , 2008).

Expresión del resultado:

$$D_{25} = \frac{M1 - M}{M2 - M}$$

Donde:

D₂₅= Densidad relativa a 25 °C

M= Masa del crisol vacío. (g)

M1= Peso del picnómetro con la muestra (g)

M2= Peso del picnómetro más agua (g)

2.6.4. Determinación de Sólidos Totales

Del extracto se transfieren 5 ml a una cápsula de porcelana limpia, seca y previamente tarada, la que se coloca en un baño de agua y se evapora la muestra de ensayo hasta que el residuo esté aparentemente seco. Luego se pone la cápsula con el residuo en la estufa a 105 °C, durante 3 horas. Se saca de la estufa, se deja enfriar en desecadora y se pesa. El proceso se repite desde la colocación en la estufa, a intervalos de 30 minutos hasta obtener peso constante (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Expresión de los resultados

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

Donde:

St= Porcentaje de sólidos totales (%)

Pr= Masa de la cápsula mas el residuo (g)

P= Masa de la cápsula vacía (g)

V= Volumen de la porcion de ensayo (g)

100= Factor matemático (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.6.5. Análisis Capilar

Este método se basa en los fenómenos de absorción y repartición de sustancias en materiales colorantes a través de los espacios capilares del material inerte que constituye el papel de filtro de poros finos (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Se coloca 20 mL del extracto en un vaso de precipitación de 100 mL, luego se lo ubica dentro de la Cámara, se introduce una tira papel filtro verticalmente de manera que su extremidad inferior esté sumergida dentro de la muestra, pero que esta no toque el fondo ni las paredes del vaso (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Se cierra la cámara y se deja transcurrir dos horas, al cabo de este tiempo se retirará el papel y se deja secar. Una vez seco se procederá a su inspección visual y caracterización (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

Los resultados se interpretan según la coloración o tonalidad que toma el papel filtro, su altura, descripción de las diferentes partes y el tipo de franja que forma (Miranda & Cuellar, Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales, 2001).

2.7. PROCESO EXPERIMENTAL

2.7.1. Desarrollo del Trabajo para El Estudio de la Actividad Hipoglucemiante

- ✓ **Modelo animal:** El ensayo se realizó en una especie roedora (Rata) perteneciente a la línea Wistar.
- ✓ **Animales por grupo:** Mínimo de 5 animales por grupo
- ✓ **Sexo:** Machos y Hembras.
- ✓ **Peso:** promedio de 200 g.
- ✓ **Aclimatación:** Las ratas se mantuvieron en condiciones de cuarentena y climatización según lo establecido.
- ✓ **Agua y alimentación:** El acceso de agua y comida fue ad libitum.
- ✓ **Distribución de los grupos:** Las ratas fueron distribuidas de forma aleatoria dentro de los diferentes grupos.

2.7.2. Procedimiento para el Estudio de la Actividad Hipoglucemiante

- ✓ A las ratas se les retirara el alimento la noche anterior al experimento.
- ✓ Se pesara a todas las ratas para poder calcular de manera independiente la dosis administrada de cada muestra.
- ✓ Se realizara una determinación de las concentraciones de glucosa en mg/dL, antes de comenzar el ensayo.
- ✓ Se confeccionaran 4 grupos de 5 animales:

Grupo I: Animales que no recibirán tratamiento alguno.

Grupo II: Animales con administración de solución de glucosa 40%.

Grupo III: Animales con administración de Metformina en dosis de 500 mg/kg y solución de glucosa al 40%.

Grupo IV: Animales con administración de Extracto acuoso de *Bixa orellana* Linn en dosis de 500 mg/kg y solución de glucosa al 40%.

2.7.3. Extracción de Sangre, Administración De las Muestras Objeto de Estudio y Lectura de Valores de la Glucosa.

1. Antes de comenzar el tratamiento se extrajo la sangre de la cola mediante una ligera punción en la misma para proceder a la lectura de glucosa. El animal deberá estar ligeramente anestesiado empleando éter dietílico.
2. Toda vez que se determinara que las ratas estén normales (se considera como tal aquellos animales que se encuentren entre 60 y 135 con una media de 75 mg/dl (Ernest D. Olfert, Brenda M. Cross, & McWilliam, 1998). Se administró por vía oral 500mg/kg de peso corporal del animal de Metformina en volumen de 1mL/200g al grupo III y el extracto de las semillas de Achiote en dosis de 500mg/kg (volumen 1mL/200g) al grupo IV.
3. A los 60 minutos, después de la aplicación de los tratamientos se les administró 400mg/mL de solución de glucosa (40%) por vía intraperitoneal a todos los grupos a excepción del grupo I.
4. Se procedió a realizar las lecturas de glucosa a todos los grupos de ensayo a los 15, 30, 60 y 120 minutos con un glucómetro marca con las correspondientes tiras.
5. Los resultados obtenidos de las concentraciones de glucosa en sangre se describieron en tablas y se procesaron estadísticamente (CYTED, 2001).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3. CARACTERIZACIÓN DE LAS SEMILLAS DE ACHIOTE

3.3.1. Características Organolépticas de la Droga Cruda de Semillas de Achiote.

Las características organolépticas del extracto de semillas de achiote no deben contener olores, ni sabores desagradables, de tal forma que sea aceptada en su totalidad por las ratas y este tenga el efecto deseado. A continuación, en la tabla 2 se muestran las características organolépticas de las semillas de achiote.

Tabla 2. Características organolépticas de las semillas de achiote

Forma	Polvo fino
Textura	Homogénea
Color	Rojo
Olor	Característico a la planta
Sabor	Amargo

Fuente: Sánchez, 2015.

Las características organolépticas de las semillas de Achiote son Polvo Fino, Textura Homogénea, Color Rojo característico, Olor Característico a las Semillas y de Sabor Amargo los cuales le agregan Calidad en su Control.

3.3.2. Parámetros Físicos – Químicos de la Droga Cruda (Semillas de Achiote).

Tabla 3. Contenido de humedad y cenizas en la droga cruda de semillas de achiote

ENSAYO	RESULTADO (%)
Humedad	10.64
Cenizas Totales	4.41
Cenizas Solubles en Agua	4.09
Cenizas Insolubles en HCl	0.43

Fuente: Sánchez, 2015

Al realizar los ensayos de humedad se estableció que se encuentra dentro de los Parámetros establecidos según las Normas (León J. , 2011).

En Cenizas se comprobó que no existía ningún tipo de contaminación con materias extrañas, puesto que se encuentran dentro de los rangos establecidos.

3.3.2.1. Sustancias Solubles.

Tabla 4. Sustancias Solubles del Extracto

ENSAYO	RESULTADO %
Agua	32.51
Alcohol 30	30.44

Alcohol 50	29,82
Alcohol 70	25,21

Fuente: Sánchez, 2015

El ensayo de Sustancias solubles permite conocer en que solvente se obtiene mayor porcentaje de Metabolitos responsables de la Actividad Hipoglucemiante, en este caso y como lo explica la tabla se obtuvo mayor porcentaje en el Extracto Acuoso, seguido por el Extracto Hidroalcohólico 30% los cuales no representan una diferencia significativa.

2.3.1.1.Refractometría.

Tabla 5. Ensayos Extracto Acuoso

Ensayo	Valores
Índice de Refracción	1,3414 nD
°Brix	5,76 % m/m
Fructosa	5,38 % m/m
Glucosa	5,78 % m/m
Azúcar Invertido	5,82 % m/m
Proteínas	3,43 % m/vol
Solidos Totales	11,71 % m/vol
Densidad	1,0302 g/ml

Fuente: Sánchez, 2015

En este caso realizó el estudio de refractometría obteniendo resultados Índice de Refracción 1,3414 nD, °Brix 5,76%, Fructosa 5,38 %, Glucosa 5,78 %, Azúcar Invertido 5,82 %, Proteinas 3,43 %, Solidos Totales 11,71 %, Densidad 1,0302 g/ml.

2.3.1.2. Tamizaje Fitoquímico de la Droga Cruda de las Semillas de Achiote.

Tabla 6. Tamizaje Fitoquímico de la Droga Cruda de Semillas

Ensayo	Tipo de Compuesto	Extracto Etéreo	Extracto Alcohólico	Extracto Acuoso
Sudán	Compuestos grasos	-		
Dragendorff	Alcaloides	+++	-	+++
Mayer	Alcaloides	++	-	+++
Wagner	Alcaloides	-	-	+++
Catequinas			-	
Baljet	Cumarinas	++	-	
Borntrager	Quinonas		-	
Liebermann- Burchard	Triterpenos y esteroides		+++	
Antocianidinas	Antocianidinas		-	
Resinas	Resinas		+	
Fehling	Azucares reductores		-	+
Espuma	Saponinas		-	
Cloruro Férrico	Compuestos fenólicos		+	++
Shinoda	Flavonoides		++	++
Ensayo de Kedde	Glicósidos cardiotónicos		-	
Antocianidinas	Flavonoides		+	++

Mucílagos	Mucílagos		-	+
Principios Amargos y Astringentes	Principios amargos y astringentes		-	+

Fuente: Sánchez, 2015

Al realizar el Tamizaje Fitoquímico determinamos la presencia cualitativa de Metabolitos secundarios, y comprobamos la presencia de Flavonoides y compuestos fenólicos que nos interesan para el ensayo, a quienes se les atribuye la Actividad Hipoglucemiante.

2.3.1.3. Determinación de los Requisitos Organolépticos del Extracto Acuoso de las Semillas de Achiote.

Tabla 7. Requisitos Organolépticos del Extracto Acuoso

Color	Caramelo
Olor	Característico a la planta
Sabor	Insípido
Aspecto	Líquido

Fuente: Sánchez, 2015

En la determinación de requisitos organolépticos del extracto Acuoso se analizó Color Caramelo, Olor Característico a la Planta, Sabor Insípido con estos se aprobó para la administración a las Ratas Wister, Aspecto Liquido.

2.3.1.4. Determinación del pH y Densidad.

Tabla 8.

ENSAYO	RESULTADO
pH	6,3
Densidad	1,032 g/ml

Determinación de pH y Densidad

CARACTERÍSTICA		RESULTADO
Fuente: Sánchez, De	Forma de la franja superior	Regular
	Tonalidad	Coloreada
	Altura	12,3 cm

2015
acuerdo
a la Tabla N° 8 muestra los análisis de pH y Densidad realizados a las Semillas de Achiote los cuales son 6,3 y 1,032 g/ml respectivamente.

2.3.1.5. Análisis Capilar del Extracto Acuoso de Las Semillas de Achiote Estudio Hipoglucemiante del Extracto Acuoso de las Semillas de Achiote.

Tabla 9. Efecto hipoglucemiante de las semillas del achiote

Fuente: Sánchez, 2015

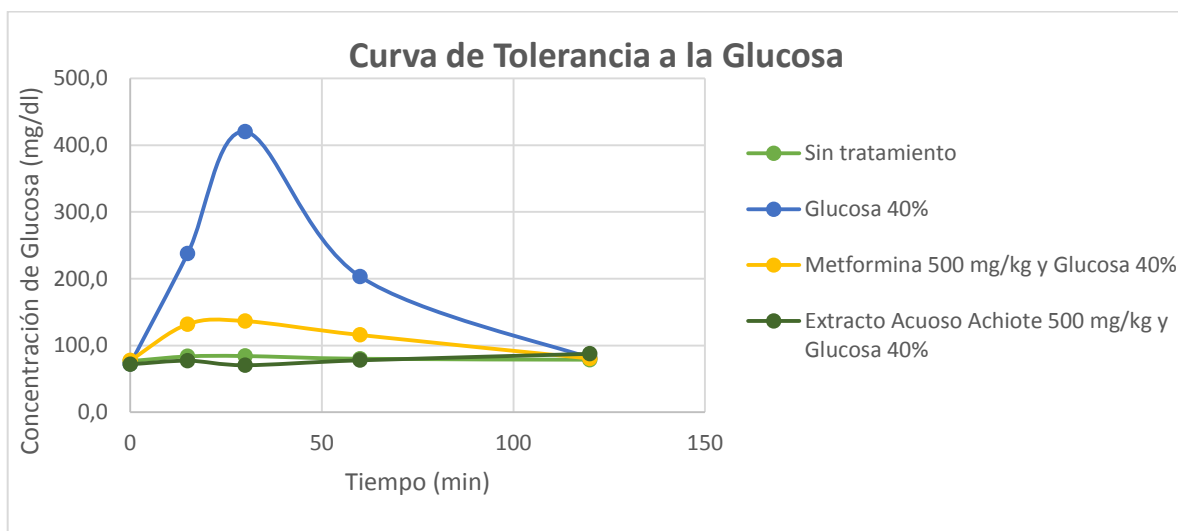
En la tabla N° 9 se muestra la capilaridad del Extracto Acuoso tiene una Franja superior de Regular, Tonalidad Coloreada; y una Altura de 12,3 cm.

2.3.1.6. Resultados de la Determinación de Lecturas de Glucosa en Sangre.

GRUPO DE ANIMALES		LECTURAS DE GLUCOSA EN SANGRE (mg/dL)				
N°	Tratamiento	Tiempo (minutos)				
		0	15	30	60	120

Tabla 10. Resultados de la determinación de glucosa en sangre de Ratas Wister

Ilustración 1 Curva de Tolerancia a la Glucosa



I	Sin Tratamiento	76,6	83,6	84,2	80,1	78,7
II	Glucosa 40%	72,2	237,8	420,2	203,2	81,3
III	Metformina 500 mg/kg y glucosa al 40%	77,6	131,9	136,5	115,7	80,5
IV	Extracto acuoso Achiote 500 mg/kg y solución de glucosa al 40%	71,8	77,2	70,5	77,8	87,5

Fuente: Sánchez, 2015

Al realizar la administración parenteral en las ratas Wister de la solución acuosa de semillas de achiote y determinar la concentración sérica en tiempos t_1 0 min, t_2 15 min, t_3 30 min, t_4 60 min y t_5 120 min. y al comparar con los resultados obtenidos con administración de glucosa al 40% y Metformina, se deduce que los resultados del preparado en la curva de tolerancia a la glucosa con los obtenidos a los sin tratamiento son sin mucha variación, en relación a los obtenidos con solución de glucosa al 40% y a los de Metformina.

3. CONCLUSIONES

El presente trabajo de Investigación se realizó con el fin de Comprobar la Actividad Hipoglucemiante del Extracto de Semillas de Achiote (*Bixa orellana Linn*) para lo cual se

utilizó el estudio pre-clínico en Ratas de Laboratorio Wistar induciéndoles hiperglucemia con una solución de Glucosa al 40%; obteniendo los siguientes resultados:

- ✓ Al realizar la evaluación de las Semilla de Achiote (*Bixa orellana* Linn) Taxológicamente se verificó, mediante la caracterización, que corresponde a la Planta de la misma Familia y Especie, esto permitió continuar con la elaboración del trabajo de investigación.
- ✓ Las sustancias solubles del extracto de semillas de achiote, para la dosificación y administración en las ratas Wistar se convalidó mediante estudio comparativo de un producto existente en el mercado.
- ✓ Mediante el Tamizaje Fitoquímico se identificó los flavonoides y compuestos fenólicos como sustancias responsables de la actividad hipoglucemiante.
- ✓ La hipótesis planteada fue comprobada al administrarles a las Ratas Wistar en dosis de 500 mg. Demostrando el descenso de los niveles de glucosa en sangre antes inducida la hiperglucemia con una solución de glucosa al 40%, comparándola con un medicamento reconocido y de eficacia para regular los niveles de glucosa Metformina obteniendo resultados mucho mejores con el extracto.

4. RECOMENDACIONES

Continuar con las investigaciones de este extracto de semillas de achiote, en las que se priorice los estudios toxicológicos del mismo.

Sugerir la no administración en infusión de manera indiscriminada, hasta tanto sea validada por cánones farmacéuticos para el consumo humano.

Bibliografía

1. Álvarez, D., & Rodríguez, Y. (2009). *Historia de la diabetes mellitus (cronología)*. Obtenido de http://articulos.sld.cu/diabetes/files/2009/07/cronologia_de_la_diabetes_mellitus.pdf
2. Arboleda, C. (2007). manual práctico de Nutrición en Pediatría. *Comité de Nutrición de la AEP*, Pág. 113.
3. Barrera -Hernandez, G. W., & y Wong, C. (1996). Phylorizin or vanate tretment reverses impaired expression of albumin and hepatocyte nuclear factor 1 in diabetic rat. *Diabetes*, 45: 1217-1222.
4. Becerra, R., & Perez Sandy Y Cuen, M. (2003). *Conabio El Achiote*. Recuperado el 18 de Septiembre de 2014, de www.biodiversidad.gob.mx/Biodiversitas/Articulos/biodiv46art2.pdf
5. Blair, P. K. (1999). Dietary thiamin levels of its diphosphate form and thiamin-dependent enzymic activities of rat liver. *Journal Nutrition*, 641-648.
6. Bolt, A. (2009). *Plantas Medicinales*. Recuperado el 18 de Septiembre de 2014, de www.cenaturaleza.org/.../1328225810_Plantas%20Medicinales%20área...
7. Bonilla, J. (9 de Abril de 2009). *Manual del cultivo de achiote. Proyecto de desarrollo de la cadena de valor y conglomerado agrícola*. Obtenido de <http://www.cenida.una.edu.ni/relectronicos/RENF01B715mc.pdf>
8. Cáceres, A. (1996). Plantas de uso medicinal en Guatemala. Guatemala.
9. Chemicals, L. (s.f.). Recuperado el 19 de Septiembre de 2014, de www.linear.es/ficheros/archivos/40_1129005C.pdf
10. Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría. *Pedriamécum*. (2012). *Metformina*. Obtenido de <http://www.pediamecum.es>
11. Cordoba, V. J. (1987). “El Achiote : Cultivo, Beneficio y posibilidades de exportación”. *ESSO Agrícola*, Vol. 34. No. 1. pp. 3-7.
12. Cossio, M., Gómez, R., Vargas, R., Tadeu, R., & de Arruda, M. (2013). Curvas de referencia para valorar el crecimiento físico de ratas machos Wistar. *Nutrición Hospitalaria*, 2151.
13. Council, A. D. (2010). *Control del Nivel de Glucosa en Sangre*. Recuperado el 19 de Septiembre de 2014, de <https://www.diabetesaustralia.com.au/PageFiles/19728/blood%2520glucose%2520-%2520Spain.pdf+%&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=es>

14. CYTED. (2001). Estudio Hipoglucemiante en Ratas utilizando solución de Glucosa al 40%. . En P. I. Desarrollo..
15. Ernest D. Olfert, D., Brenda M. Cross, D., & McWilliam, y. A. (1998). Manual sobre el cuidado y uso de los animales de experimentación.
16. Federacion Internacional de Diabetes. (2008). Obtenido de Diabetes una Epidemia Global:
https://www.fundaciondiabetes.org/activ/diamundial/dmd02/dmd02_guia.pdf
17. Federación Internacional de Diabetes. (2013). *Federación Internacional de Diabetes*, Pag. 64.
18. Federación Internacional de Diabetes, 2. (2013). *Atlas de la Diabetes de la FID*. Recuperado el 18 de Septiembre de 2014, de www.idf.org/diabetesatlas
19. Flores, D., & Rivera, E. (1988). Recuperado el 17 de Septiembre de 2014, de www.ots.ac.cr/rbt/attachments/volumes/.../25_Rivera_Bixa_orellana.pdf
20. Freixa, B., Vila , R., Vargas , L., Lozano , N., Adzet , T., & Ca. (1998). Screening for antifungal activity in nineteen Latin American plants. *Phytotherapy Research*. .
21. Galeon. (9 de marzo de 2001). *Galeon.Com Hispavista*. Recuperado el 31 de mayo de 2014, de <http://prodivin.galeon.com/productos813125.html>
22. García , C., León , R., & Martínez , V. (Nov de 2009). Métodos analíticos necesarios para el desarrollo de tabletas de metformina 500 mg. Obtenido de http://scielo.sld.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152009000300005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
23. Gonzales, A. (1992). *Folia Amazónica N° 4*.
24. González, S. M., Rodríguez, F. A., Ortega, Q. V., & Oliveras, V. L. (Diciembre de 2012). Estado nutricional de mujeres con diabetes gestacional y características del recién nacido. *Scielo*. Recuperado el 19 de Septiembre de 2014, de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0004-06222012000400001&script=sci_arttext
25. Hidaka, S. K. (1999). Streptozocin treatment upregulates uncoupling protein 3 expression in the rat heart. *Diabetes*, 430-435.
26. Holguin, W., & Lara, H. (5 de julio de 2011). *Blogspot*. Recuperado el 31 de mayo de 2014, de <http://efectobolivia.blogspot.com/2011/05/bixa-orellana.html>

27. Hospedales, J. (2012). La diabetes muestra una tendencia ascendente en las Américas. (pág. 1). Washintong: Organización Mundial de la Salud.
28. INEC. (2014). *Diabetes y enfermedades hipertensivas entre las principales causas de muerte en el 2013*. Quito: Ecuador Ama la Vida.
29. Informatorium Medicamentorum. (1965). Documentatie en informatie dienst van de KMNP. Holanda.
30. Jaramillo, C. (2008). Estudio farmacognóstico y evaluación farmacológica preliminar de hojas de *Cnidocolus aconitifolius*. Tesis de Maestría,. Cuba: Universidad de Habana Cuba.
31. Jaramillo, M. C., & Muñoz, M. O. (1992). Extracción de colorante de Achiote. *Universidad Nacional. Facultad Nacional de Minas. Departamento de Procesos Químicos*.
32. Lafarga, J. (2014). *Farmacia Germana*. Recuperado el 31 de mayo de 2014, de <http://www.farmaciegermana.com/index.php/blog/medicina-natural/74-plantas-de-la-amazonia-urucum-bixa-orellana>
33. Lawrence, B. M., & Hogg, J. W. (1973). Ishwarane in *Bixa orellana* leaf oil. *Phytochemistry*, Pág. 1.
34. León, J. (2011). Efecto Hipoglucemiante del Extracto de las Hojas de Frutipan (*Artocarpus altilis*) en Ratas con Hiperglucemia Inducida. En E. S. Chimborazo. Riobamba.
35. León, J. (2011). Efecto Hipoglucemiante del Extracto de las Hojas de Frutipan (*Artocarpus altilis*) en Ratas con Hiperglucemia Inducida. . Riobamba : Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. .
36. Like, A. A., & Rossini, A. A. (1976 Jul 30). Like AA, Rossini AA. Streptozotocin-induced pancreatic insulinitis: new model of diabetes mellitus. *Science. US National Library of Medicine*, 415–417.
37. Liliana Saldariaga, C. J. (6 de Diciembre de 2002). *Planta Piloto para Obtener Colorante de la Semilla Del Achiote*. Recuperado el 18 de Septiembre de 2014, de publicaciones.eafit.edu.co/index.php/revista-universidad-eafit/.../805
38. Martín, P. R. (2006). Actualización en Técnicas, Procedimientos, Cuidados Normativa para Enfermería en el Ámbito Hospitalario y de Atención Primaria. *Programa del Adulto. Cuidadosde Enfermería a personas con Procesos Crónicos: Obesidad, Hipertensión Arterial (HTA), EPOC, Diabetes*, Pág. 7.

39. Miranda , M., & Cuellar, A. (2001). *Manual de Prácticas de Laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales*. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos.
40. Miranda, M. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales. En M. Miranda. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos.
41. Miranda, M. (2002). Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.
42. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). En *Manual de Prácticas de Laboratorio Farmacognosia y Productos Naturales* (pág. Pág. 42). Ciudad Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos.
43. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). En *Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales* (pág. Pág. 47). La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos.
44. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.
45. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos.
46. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos.
47. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos.
48. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos.
49. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). *Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales*. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos.
50. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.

51. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. En M. Miranda. Ciudad Habana.
52. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.
53. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.
54. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.
55. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos.
56. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana: Instituto de Farmacia y Alimentos.
57. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.
58. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.
59. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.
60. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.
61. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.
62. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.
63. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.
64. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.
65. Miranda, M., & Cuellar, A. (2001). Manual de Prácticas de Laboratorio. Farmacognosia y Productos Naturales. La Habana.

66. Mosquera P., J. (1989). Factibilidad Técnica e Industrial de la Extracción de Colorante del Achiote. *Universidad de Antioquia. Facultad de Ingeniería*. Recuperado el 19 de Septiembre de 2014
67. Ocampo, R. (1994). *Conabio*. Recuperado el 14 de Junio de 2014, de www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/.../13-bixac1m.PDF
68. OMS. (2014). *Organizacion Mundial de la Salud*. Recuperado el 7 de agosto de 2014, de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
69. OPS. (14 de Noviembre de 2012). *Organizacion Panamericana de la Salud*. Recuperado el 7 de Agosto de 2014, de http://www.paho.org/chi/index.php?option=com_content&view=article&id=467:la-diabetes-muestra-tendencia-ascendente-americas&Itemid=300
70. Palomino, O. (2001). Métodos analíticos para la identificación de Plantas Medicinales. Apuntes Apuntes del Curso de la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI).
71. Patton, J., Dinh, D., & Mao, S. (1982). Phospholipid enhances triglyceride qualitation using an enzyme kit method. 125-128.
72. Perez, S., Cuen, M., & Becerra, M. (2003). *Conabio*. Recuperado el 18 de Septiembre de 2014, de www.biodiversidad.gob.mx/Biodiversitas/Articulos/biodiv46art2.pdf
73. Politi, M. I. (2007). Desarrollo de nuevos medicamentos: desde la invención hasta la farmacia. *Farmacología clínica*.
74. Revista Médica de Chile. (2001). Investigación y desarrollo de nuevos medicamentos: de la molécula al fármaco. *Scielo*.
75. Rivera, D., & Flores, E. M. (1988). Morfología floral del achiote, *Bixa ore llana* L. (Bixaceae). *Rev. Biol. Trop.* 36, Pág. 500.
76. Rodríguez , S., & Mejía , P. (Agosto de 2006). *Diabetes Mellitus tipo II. Boletín de Práctica Médica Efectiva. Arq Bras Endocrinol Metab*. Obtenido de Rodríguez SJ, Mejía PB. Diabetes Mellitus tipo II. Boletín de Práctica Médica Efectiva. Arq Bras Endocrinol Metab [serie en Internet]. Ago 2006 [citado 31 May 2010]. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_issuetoc&pid=0004-273020060002&
77. Rodriguez, E. (2007). Ética de la Investigación en Modelos Animales de Enfermedades Humanas. *Scielo*, Pág. 2.

78. Rodríguez, Y. E. (2007). Ética de la Investigación en Modelos Animales de Enfermedades Humanas. *Scielo*, Pág. 2.
79. Sociedad Española de Diabetes. (2014). *¿Qué alteraciones produce la diabetes en el organismo?* Obtenido de <http://www.sediabetes.org/gestor/upload/pdf%20dkv/3Qu%C3%A9%20alteraciones%20produce%20la%20diabetes%20en%20el%20organismo.pdf>
80. Union Industrial Argentina. (2006). Esencias y Extractos Vegetales. *Debilidades y Desafios Tecnicos del Sector Productivo*.
81. UPNUDE. (14 de Noviembre de 2012). Obtenido de <http://www.paho.org/nutricionydesarrollo/?p=1615>
82. *Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales*. (s.f.). Recuperado el 2014 de Septiembre de 2014, de www.unicordoba.edu.co/.../uso%20de%20extractos%20vegetales%20en...
83. WHO. (2011). Obtenido de Geneva: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/h1791e/h1791e.pdf>
84. WHO, & de Bode, C. (2015). *La Diabetes es una Enfermedad Crónica*. Obtenido de <http://www.who.int/diabetes/es/>
85. WHO, World Health Organization. (1998). Updated edition of Quality control methods for medicinal plant materials. En *Quality control methods for medicinal plant materials* - .
86. Yanez, J. (2014). *Adelgazarte.net*. Recuperado el 19 de Septiembre de 2014, de <http://adelgazarte.net/681-diabetes-causas-todos-los-tipos-de-diabetes-sus-causas-y-prevencion.html>

ANEXOS

Secado, Molienda y Tamizaje de la Droga Cruda

Anexo 1 Secado



Fuente: Sánchez, 2015. Bioterio Piloto-UACQS

Anexo 2 Molienda



Fuente: Sánchez, 2015. Bioterio Piloto-UACQS

Anexo 3 Tamizaje y Conservación



Fuente: Sánchez, 2015.PPF-UACQS

ANALISIS REALIZADOS

Análisis a Droga Cruda de Semillas de Achiote

Anexo 4 Proceso de Identificación de Contenido de humedad



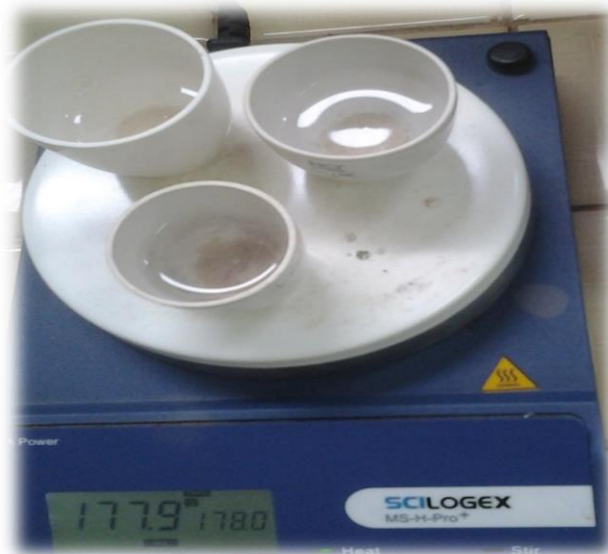
Fuente: Sánchez, 2015.PPF-UACQS

Anexo 5 Determinación de Cenizas Totales



Fuente: Sánchez, 2015.PPF-UACQS

Anexo 6 Determinación de Cenizas solubles en Agua



Fuente: Sánchez, 2015.PPF-UACQS

Anexo 7 Determinación de Cenizas Insolubles en HCl



Fuente: Sánchez, 2015.PPF-UACQS

Anexo 8 Tamizaje Fitoquímico



Fuente: Sánchez, 2015.PPF-UACQS

Proceso de Administración de Glucosa al 40 %, Metformina y Extracto Acuoso de Semillas de Achiote a Animales de Ensayo (Ratas Wistar)

Anexo 9 Extracto Acuoso



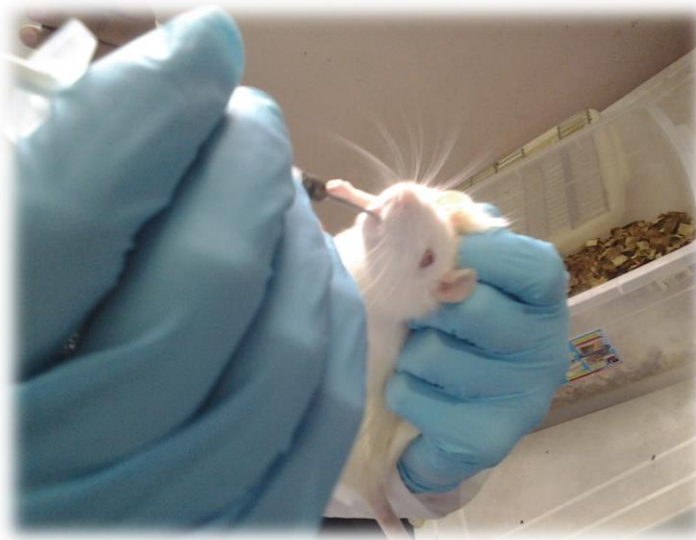
Fuente: Sánchez, 2015.PPF-UACQS

Anexo 10 Animales de Ensayo



Fuente: Sánchez, 2015. Bioterio Piloto-UACQ

Anexo 11 Administración de Extracto Acuoso



Fuente: Sánchez, 2015. Bioterio Piloto-UACQS

Anexo 12 Administración de Glucosa al 40 %



Fuente: Sánchez, 2015. Bioterio Piloto-UACQS

Anexo 13 Medición de los Niveles de Glucosa en Sangre



Fuente: Sánchez, 2015. Bioterio Piloto-UACQS

