

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL  
DE HUAMANGA**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**Efecto citoprotector del extracto hidroalcohólico de  
las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”.  
Ayacucho 2018.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**Presentado por el:  
Bach. AUCCATOMA CRUZ, José Luis**

**AYACUCHO – PERÚ  
2019**

A mis padres Braulio y Martina que fueron el medio que Dios me dio la vida, mis hermanos Juan, Esperanza y Epifanía que sin percatarse representaron un invaluable apoyo en el desarrollo de mi profesión.

## **AGRADECIMIENTO**

A mi *Alma Mater* Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, por haberme albergado cinco años en sus aulas y por ser forjador de excelentes profesionales al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud y a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, a los excelentes docentes que en ella laboran, quienes contribuyeron en mi formación brindándome las herramientas necesarias para mi desenvolvimiento profesional.

Un agradecimiento especial a mi asesor Dr. QF. TINCO JAYO Johnny Aldo, por permitirme recurrir a su capacidad y experiencia para que sea posible realizar y culminar esta investigación.

A sí mismo a todas las personas por el apoyo brindado en la ejecución de mi trabajo de investigación.

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. Marco conceptual	9
2.2.1. Metabolito secundario	9
2.2.2. Extractos vegetales	10
2.2.3. Maceración	10
2.2.4. Concepto de cromatografía	10
2.2.5. Análisis Histopatológico	11
2.2.6. Citoprotección gástrica	11
2.2.7. Factor de Retardo (Rf)	13
2.3. <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”	13
2.3.1. Clasificación taxonómica	13
2.3.2. Nombres comunes	13
2.3.3. Descripción botánica	14
2.3.4. Distribución geográfica	14
2.3.5. Usos en medicina tradicional	14
2.3.6. Composición química	15
2.4. Úlcera péptica	18
2.4.1. Tipos de úlcera péptica	19
2.4.2. Epidemiología	19
2.4.3. Patogenia	20
2.4.4. Manifestaciones clínicas y complicaciones	20
2.4.5. Diagnostico	21
2.4.6. Tratamiento	21
III. MATERIALES Y MÉTODOS	23

3.1.	Ubicación del trabajo de investigación	23
3.2.	Definición de la población y muestra	23
3.2.1.	Población	23
3.2.2.	Muestra	23
3.3.	Metodología y recolección de datos	23
3.3.1.	Recolección y desecación del material botánico	23
3.3.2.	Obtención del extracto hidroalcohólico	23
3.4.	Tipo y diseño de investigación	28
3.5.	Análisis de datos	29
IV.	RESULTADOS	31
V.	DISCUSIÓN	39
VI.	CONCLUSIONES	47
VII.	RECOMENDACIONES	49
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
	ANEXOS	55

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Compuestos bioactivos Aislados de <i>Annona muricata</i> . L. "guanábana"	17
Tabla 2. Distribución de grupos para la evaluación del efecto citoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. "guanábana". Ayacucho 2018	26
Tabla 3. Escala de Alada <i>et al</i> modificada	27
Tabla 4. Screening fitoquímico de metabolitos secundarios presentes en extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. "guanábana". Ayacucho 2018.	33
Tabla 5. Caracterización y análisis cromatográfico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. "guanábana". Ayacucho 2018.	34

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Niveles de protección de la pared gástrica	12
Figura 2. Mecanismos de lesión y protección en el estómago	18
Figura 3. Índice de ulceración gástrica según la escala de Alada, por efecto de la administración de indometacina, omeprazol y extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”. Ayacucho 2018	35
Figura 4. Porcentaje de inhibición de ulceración gástrica, según la escala de Alada, por efecto de la administración de omeprazol y extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”. Ayacucho 2018	36
Figura 5. Análisis de los cortes histológicos del estómago de los cobayos, por efecto de la administración de indometacina 80mg/kg, omeprazol 10mg/kg y extractos hidroalcohólicos de 20mg/kg, 40mg/kg y 80mg/kg de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”. Ayacucho 2018	37

## ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Certificado de identificación botánica de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana” Ayacucho 2018	57
Anexo 2. Flujograma del procedimiento para la obtención del extracto hidroalcohólico y determinación del efecto citoprotector de <i>Annona muricata</i> L “guanábana”. Ayacucho 2018	58
Anexo 3. Flujograma del tamizaje fitoquímico para la identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”. Ayacucho 2018	59
Anexo 4. Identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”. Ayacucho 2018	60
Anexo 5. Separación o recorrido cromatográfico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”. Ayacucho 2018	61
Anexo 6. Gráfica de las lecturas espectrales realizado en el espectrofotómetro Genesys 6. UV/VIS del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”. Ayacucho 2018	62
Anexo 7. Secuencia de la evaluación del efecto citoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”. Ayacucho 2018	63
Anexo 8. Imágenes de los estómagos extirpados del grupo blanco, suero fisiológico 2 ml/kg de peso. Ayacucho 2018	64
Anexo 9. Imágenes de los estómagos extirpados del grupo control con agente gastrolesivo Indometacina 80 mg/kg de peso	65
Anexo 10. Imágenes de los estómagos extirpados del grupo con omeprazol a dosis de 10 mg/kg como terapia citoprotectora	66
Anexo 11. Imágenes de los estómagos extirpados del grupo con E.H. <i>Annona muricata</i> L. a dosis de 20 mg/kg como terapia citoprotectora	67
Anexo 12. Imágenes de los estómagos extirpados del grupo con E.H. <i>Annona muricata</i> L. a dosis de 40 mg/kg como terapia citoprotectora	68

Anexo 13.	Imágenes de los estómagos extirpados del grupo con E.H. <i>Annona muricata</i> L. a dosis de 80 mg/kg como terapia citoprotectora	69
Anexo 14.	Índice de ulceración en los cobayos según la escala de Alada, por efecto de la administración de indometacina, omeprazol y extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”. Ayacucho 2018.	70
Anexo 15.	Porcentaje de inhibición de la formación de úlceras gástricas según a escala de Alada, por efecto de la administración de omeprazol y extractos de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”. Ayacucho 2018	71
Anexo 16.	Prueba de Kruskal Wallis del índice de ulceración por efecto de la administración de los extractos de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”, omeprazol e indometacina. Ayacucho 2018	72
Anexo 17.	Análisis de varianza del porcentaje de inhibición de la formación de úlceras gástricas por efecto de la administración de por efecto de la administración de los extractos de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”. Ayacucho 2018	73
Anexo 18.	Prueba de comparaciones múltiples HSD Tukey del porcentaje de inhibición de formación de úlceras gástricas por efecto de la administración de los extractos de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”. Ayacucho 2018	74
Anexo 19.	Matriz de consistencia	75

## RESUMEN

Las especies de *Annona*, entre ellas *Annona muricata* L. “guanábana” han sido utilizadas por mucho tiempo como hierbas medicinales tradicionales por los pueblos nativos en determinadas áreas tropicales. Estudios de sus extractos en análisis fitoquímico han caracterizado a esta planta como antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatorio, insecticida, larvicida y citotóxico para células cancerosas, gracias a su contenido en alcaloides, fenoles y acetogeninas. Los fenoles han demostrado marcada actividad citoprotectora, por ello el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto citoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” contra modelos de lesiones gástricas inducidas por indometacina en cobayos. El estudio se llevó a cabo en los laboratorios de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga mediante un diseño de tipo prospectivo experimental. Se determinó los metabolitos secundarios del extracto mediante tamizaje fitoquímico con reactivos específicos. Para la evaluación del efecto citoprotector, se empleó el modelo de inducción de úlceras gástricas con indometacina según O'Brien y descrita por Arroyo et al, se administró el extracto a dosis de 20, 40 y 80 mg/kg, y omeprazol 10 mg/kg como fármaco estándar. La evaluación macroscópica fue mediante la escala de Alada et al modificada. Para el estudio histopatológico, los tejidos se conservaron en formol al 10% y la tinción fue con hematoxilina-eosina. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” según el tamizaje fitoquímico dio positivo para fenoles, flavonoides cumarinas, saponinas, alcaloides, azúcares reductores, catequinas y quinonas. El tratamiento con el extracto produjo una inhibición de las úlceras gástricas de 71,43 % y 85,71 % a dosis de 40 y 80 mg/kg respectivamente con un  $p=0,001$ ; respecto al estándar omeprazol que produjo una inhibición de la formación de úlcera de 76,19 %. En el estudio histopatológico se observó edema en la capa submucosa con una descamación de células de la mucosa hasta la muscular de la mucosa en el grupo control, mientras que el grupo de extracto de 80 mg/kg presentó mayor protección que en los grupos de 20 y 40 mg/kg, donde se observó una mucosa normal con células cilíndricas compactas y ordenadas, submucosa con arterias normales. Concluyendo que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” fue efectivo como agente citoprotector en un modelo de inducción de úlceras gástricas por indometacina en las condiciones experimentales del estudio.

**Palabras clave:** *Annona muricata* L., indometacina, úlceras gástricas, actividad citoprotectora.

## I. INTRODUCCIÓN

La úlcera péptica se define como la pérdida de la integridad de la mucosa del estómago o del duodeno que produce un defecto local o excavación<sup>1</sup>, como resultado de un desequilibrio entre los factores agresivos y defensivos de la mucosa gastroduodenal<sup>2,3</sup>, es decir cuando se produce una alteración de los mecanismos defensivos de la barrera mucosa por factores agresivos exógenos tales como alcohol, tabaco, café, comidas irregulares, falta de sueño y estrés<sup>2</sup>.

Así mismo la infección por *Helicobacter pylori* y los antiinflamatorios no esteroideos son las causas subyacentes más importantes de la úlcera péptica<sup>4</sup>. La prevalencia de la úlcera péptica a lo largo de la vida se aproxima a 12% en varones y 10% en mujeres y que afecta significativamente la calidad de vida al alterar el bienestar general del paciente y contribuye en grado sustancial al ausentismo laboral<sup>1</sup>. De acuerdo con los informes oficiales las enfermedades digestivas ocupan el tercer lugar en el gasto total por enfermedad y producen un sufrimiento importante, gastos personales para su tratamiento, disminución de productividad y pérdida de días laborables<sup>5</sup>. En el Perú hasta el año 2000 las enfermedades digestivas ocupaban el segundo lugar como causa de mortalidad y dentro de éstas la úlcera gástrica se encontraba entre las cinco primeras con una tasa de mortalidad de 1,27 por cada 100 000 habitantes<sup>6</sup>. en la actualidad según un estudio publicado este año la tasa de mortalidad estandarizada disminuyó a 0,7 por cada 100 000 habitantes<sup>7</sup>, probablemente por el avance de la medicina científica y el apego a la medicina tradicional, ya que hace años atrás la OMS consciente de la importancia del rol que desempeña el uso de plantas medicinales en la Atención Primaria de Salud, recomendó el uso de la medicina tradicional y alternativa siempre en cuando se haya demostrado el beneficio y la existencia de mínimo riesgo para el paciente con el objetivo de beneficiar a la población en general, y específicamente a la población con bajos recursos económicos<sup>8</sup>. Por ello con la presente investigación se busca contribuir

a seguir disminuyendo la tasa de mortalidad y solucionar este problema de salud, promoviendo la búsqueda de plantas medicinales y de sus preparados con propiedades citoprotectores (antiulcerosas), más aún en nuestra región que posee variedad de flora con múltiples propiedades medicinales.

Sobre esta base, investigaciones recientes han reportado que dichas plantas medicinales contienen compuestos con reconocidas capacidades citoprotectoras como los flavonoides y taninos. Existen evidencias de que los flavonoides muestran actividad frente a la úlcera péptica, reduciendo las lesiones de la citoarquitectura del estómago, vale decir, el índice de ulceración y la intensidad del daño de la mucosa, mediados por distintos mecanismos<sup>9, 10</sup>.

*Annona muricata* L. “guanábana” es una especie de amplio uso tradicional cuyo contenido de compuestos fenólicos está reportado ampliamente en innumerables trabajos de investigación farmacológica<sup>11-14</sup>. Es por ello que sabiendo su composición y el efecto de dichos metabolitos el trabajo se basó en demostrar el efecto citoprotector de *Annona muricata* L. “guanábana” en un modelo experimental *in vivo*. Por otro lado, busca ser un aporte en los avances de la medicina tradicional, ya que la validación del efecto citoprotector de *Annona muricata* L. “guanábana” permitirá incluirla en la atención primaria de salud para la población de menos acceso al tratamiento, dado que el cultivo de esta especie es habitual en nuestro país. De lo anteriormente señalado se desprenden los siguientes objetivos

#### **Objetivo general**

Demostrar el efecto citoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L “guanábana” en cobayos.

#### **Objetivos específicos**

- Identificar la presencia de los metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”.
- Caracterizar mediante análisis cromatográfico el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”.
- Realizar análisis histopatológicos de la citoarquitectura de los estómagos extirpados.
- Determinar la dosis con mayor efecto citoprotector de las hojas de *Annona muricata* L. comparado con el Omeprazol.

H<sub>1</sub>: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” tiene efecto citoprotector.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes del estudio

Existen diversos estudios tanto *in vitro* como *in vivo* sobre las propiedades medicinales de *Annona muricata* L., es así que estudios *in vitro* han demostrado que los extractos y análisis fitoquímico de *Annona muricata* L. presentan actividades tales como: antimicrobianos, antiinflamatorios, antiprotozoarios, antioxidantes, insecticidas, larvicidas y citotóxicos para las células tumorales. Estudios *in vivo* de extractos crudos y compuestos aislados de *Annona muricata* L. demostraron poseer actividades ansiolíticas, antiestrés, antiinflamatorias, anticonceptivas, antitumorales, antiulcerosas, cicatrizantes, hepatoprotectoras, antiúcticas, hipoglucémicas e hipolipemiente<sup>13,14</sup>. Dichos estudios nos sirven como antecedentes para realizar la presente investigación sobre el efecto citoprotector de *Annona muricata* L.

Romo M, y Guillén, H<sup>15</sup>. Evaluaron la actividad citoprotectora de los extractos acuoso e hidroalcohólico de la corteza de *Azadirachta indica* A. Juss a diferentes dosis. Se usó un modelo de inducción ulcerogénica por ingesta de etanol a 90% por vía de administración oral seguido por el estudio macroscópico en estómago de ratones se conformaron 10 grupos de 5 animales cada uno. La evaluación reveló la citoprotección gástrica de los extractos acuoso e hidroalcohólico a dosis de 1000 mg/kg de peso presentando índices de inhibición ulcerogénica de 77,5 y 90 %; a 500 mg/kg de 70 y 65 % y a 250 mg/kg de 15 y 55 %, mientras que los grupos controles con omeprazol y ranitidina presentaron porcentajes de 87,5 y 85 % respectivamente. Estos hallazgos sugieren que los extractos acuosos e hidroalcohólico de corteza de *Azadirachta indica* A. Juss, ejercen acción citoprotectora protegiendo a la mucosa gástrica.

Un estudio realizado por Florence *et al*<sup>16</sup>, tuvo como objetivo evaluar las actividades antidiabéticas, antioxidantes y la posible toxicidad del extracto acuoso de *Annona muricata* en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina.

A concentraciones de 100 mg/kg y 200 mg/kg con un tratamiento a largo plazo de 28 días consecutivos. Obteniendo como resultado que la administración única del extracto redujo significativamente los niveles de glucosa en sangre en un 75 % y 58,22 % respectivamente a la dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg. Estos diferentes resultados muestran que la actividad antidiabética del extracto acuoso de *Annona muricata* puede explicarse por su efecto hipolipidémico, su acción antioxidante y protectora sobre las células  $\beta$  pancreáticas, que a su vez mejora el metabolismo de la glucosa.

Patricia Vit *et al*<sup>17</sup>, compararon la composición proximal y la actividad antioxidante de la pulpa, las hojas frescas y secas, y las semillas de la guanábana. Los mayores contenidos de proteínas (14,77 g/100 g) y de grasa (25,75 g/100 g) se encontraron en las semillas. La pulpa mostró el mayor contenido de humedad (86,32 g/100 g) y las hojas secas el mayor contenido de cenizas (7,17 g/100 g). La actividad antioxidante de las fracciones estudiadas fue mayor en extractos etanólicos que en extractos metanólicos, al igual que el contenido de flavonoides y polifenoles. Los mayores valores de actividad antioxidante en los extractos etanólicos fueron de 306,0; 280,2 y 131,2  $\mu$ mol equivalentes Trolox/100 g en la pulpa, hojas secas y semillas respectivamente. La pulpa de guanábana presentó el mayor contenido de flavonoides (574,0 mg EQ/100 g) y de polifenoles (941,4 mg EAG/100 g).

Ancheta, J, y Guzmán, M<sup>18</sup>. Determinaron el efecto citoprotector del extracto acuoso de hojas de *Bixa orellana* (achiote) en úlceras gástricas inducidas por indometacina en un modelo de ratones. El modelo de inducción de úlceras por indometacina, con una dosis de 40 mg/Kg de peso, con resultados óptimos de úlceras en las muestras histopatológicas de la mucosa gástrica. Los cambios de pH observados en los diferentes grupos, dio un parámetro de respuesta del estómago a la hora de un estímulo nocivo; los valores de pH gástrico normales del ratón son 2,98 a 4,04, viendo un pH ácido cercano a valores normales en el grupo de achiote, inclusive valores más cercanos y con una desviación estándar menor que con el grupo de PPI (inducción de ulcera gástrica con indometacina + omeprazol v.o). De esta manera se afirma que el uso de achiote permite mantener un ambiente en la luz gástrica cerca del normal, y así poder disminuir el efecto lesivo de la indometacina. A la hora del análisis de las muestras enviadas a patología, se pudo ver que las lesiones causadas por AINEs 2

fueron GIII, mientras que las que se ocasionaron AINEs 1 y Sham (grupo control de ligadura pilórica) fueron GII igual que las de achiote, viendo lesiones similares a las encontradas en el grupo PPI, por lo que dice que el uso del achiote disminuyó las lesiones gástricas, protegiendo la mucosa.

Zamudio, Y<sup>19</sup>. Realizó el estudio *in vitro* de la capacidad inhibitoria de radicales libres de fruto de la *Annona muricata* L. “guanábana”. El estrés oxidante, generado por los radicales libres es uno de los factores que promueve el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas; por lo que el consumo de antioxidantes naturales coadyuva a minimizar sus efectos negativos. El presente estudio evaluó la concentración de polifenoles y flavonoides totales contenidos en la pulpa de guanábana “*Annona muricata* L.” y la capacidad antioxidante y de inhibición de especies reactivas de oxígeno (ERO) inducidas por peróxido de hidrógeno, en cultivo celular de fibroblastos, mediante pruebas de viabilidad. También, se determinó la actividad anti proliferativa en línea celular tumoral. Los resultados mostraron que el contenido de fenoles totales en la pulpa de guanábana fue de 178 mg equilibrio de ácido gálico/100 g y de 55 mg/100 g para flavonoides. Ácido gálico y la catequina, fueron los compuestos mayoritarios respectivamente. La capacidad de inhibición de radicales libres *in vitro* fue de 86%. Los compuestos polifenólicos mostraron capacidad protectora al daño oxidativo en fibroblastos; sin embargo, no se observó capacidad anti proliferativa en células tumorales de cáncer cervicouterino.

En un estudio realizado por Arroyo *et al*<sup>20</sup>, se plantearon como objetivo evaluar el efecto hipolipemiente del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” en pacientes. El estudio fue clínico, aleatorio, grupo paralelo, doble ciego realizado en el servicio de Medicina Interna del Hospital I EsSalud, Tingo María (Huánuco). Formulándose cápsulas conteniendo 180 mg del extracto, administrados a 110 pacientes voluntarios con diagnóstico de dislipidemias, distribuidos en once grupos de diez casos cada uno; Se evaluó los niveles de perfil lipídico, evidenciándose disminución del colesterol al recibir una (16,9 %) y tres cápsulas (13,7 %), disminución de triglicéridos (18,1 %) y LDL (21,7 %) al recibir una cápsula día, en pacientes con hipercolesterolemia mixta; además de incremento de HDL (3,7 %) en pacientes con hipertrigliceridemia a dos cápsulas día. Concluyendo que las cápsulas de guanábana reducen el perfil lipídico en los pacientes con dislipidemia.

En un estudio realizado por Arroyo *et al*<sup>21</sup>, se plantearon como objetivo determinar el efecto gastroprotector y antisecretor del extracto etanólico de las hojas de matico (*Piper aduncum*) en modelos animales. Para la evaluación del efecto gastroprotector se utilizó el modelo de inducción de úlceras gástricas con indometacina, la gastroprotección se determinó a través de tres aspectos: inflamación, número de bandas hemorrágicas y número de úlceras. La antisecreción se realizó con el ensayo de ligazón pilórica los resultados para la gastroprotección, los extractos de diclorometano, cloroformo, hexano y metanol, lograron una disminución de la inflamación de más del 66 % ( $p < 0,05$ ); el extracto etanólico presenta una actividad de 100 % para disminuir el número de bandas hemorrágicas ( $p < 0,05$ ); el extracto clorofórmico presenta una actividad antiulcerosa de 75 % ( $p < 0,05$ ). Respecto a la antisecreción, el fitofármaco en cápsulas conteniendo el extracto etanólico logró un 72 % de reducción del volumen de la secreción gástrica ( $p < 0,01$ ) y un incremento del pH en 104,3 % ( $p < 0,01$ ). En condiciones experimentales los extractos etanólico, sus fracciones y su fitofármaco son gastroprotectores en ratones y antisecretores en ratas.

Poma *et al*<sup>22</sup>. Se plantearon como objetivo realizar el estudio fitoquímico y actividad antiinflamatoria de la *Annona muricata* L. “guanábana” de cuzco, obteniendo como resultado la presencia de carbohidratos, alcaloides, taninos, compuestos polifenólicos y flavonoides, se clasificó al extracto acuoso como no tóxico según el método de dosis límite a 2000 mg y 3000 mg de extracto, así mismo para evaluar la actividad antiinflamatoria se empleó el método del edema plantar en ratas inducido por  $\lambda$ -carragenina, demostrándose que el extracto acuoso a una concentración de 1,5 mg/kg posee actividad antiinflamatoria significativa ( $p < 0,05$ ) comparado con indometacina 5 mg/kg. Concluyéndose que en las condiciones experimentales *Annona muricata* L. presenta actividad antiinflamatoria con efectos tóxicos nulos.

Delgado, R<sup>23</sup>. Evaluó el efecto gastroprotector del extracto liofilizado de *Capsicum annum* L en ratas a dosis de 10, 100 y 1000 mg/kg y ranitidina 50 mg/kg utilizando dos modelos. En el modelo de úlcera gástrica inducida por indometacina (primer grupo), los animales fueron tratados con indometacina 75 mg/kg y luego de ocho horas los estómagos fueron removidos y se examinaron determinándose la valoración de la úlcera gástrica y el porcentaje de inhibición de la lesión ulcerosa. En el modelo de úlcera gástrica inducida por ligamento pilórico (segundo grupo), los animales fueron sometidos a ligamiento pilórico y

tratados vía intraduodenal; seis horas después se extrajeron los estómagos y se determinó el volumen y pH del contenido estomacal, la valoración de la úlcera gástrica y el porcentaje de inhibición de la lesión ulcerosa. Los resultados del primer modelo muestran que con *Capsicum annum L* a las concentraciones de 10 mg/Kg y 100 mg/Kg se obtuvo un porcentaje de inhibición de la lesión ulcerosa de 60,4 % y 66,7 % respectivamente, presentándose la mayor eficacia antiulcerosa con ranitidina (95,8 %). En el segundo modelo, *Capsicum annum L* no presentó diferencias significativas en el volumen ni en el pH gástrico ( $p < 0,05$ ); sin embargo, las concentraciones de 100 y 1000 mg/Kg protegieron la mucosa gástrica obteniéndose un porcentaje de inhibición de la lesión ulcerosa de 75,59 y 81,63 % respectivamente, inclusive mayores que con ranitidina (75,51 %). En conclusión, queda demostrado que el extracto liofilizado del fruto de *Capsicum annum L* tiene efecto gastroprotector en los dos modelos de úlcera gástrica inducido en ratas.

Palomino, C<sup>24</sup>. Determinó el efecto hipoglucemiante en ratas diabéticas del extracto etanólico de *Annona muricata L.* “guanábana” en ratas inducidas con aloxano. La diabetes fue inducida en ratas por aloxano 130 mg/kg hasta alcanzar nivel de glucosa, mayor de 250 mg/dL, en todos los animales excepto al grupo normal. Se administraron (blanco, control aloxano, 200, 400 y 600 mg/kg) y glibenclamida 5 mg/kg diariamente durante 5 días también se midió la insulina mediante método de Sándwich según Gonzales y Col. *et al.* También se realizó el estudio histopatológico de hígado riñón y páncreas. Los resultados, al administrar 200 mg/kg del extracto etanólico se observó mayor efecto hipoglucemiante ( $p < 0,05$ ) y mejor protección de los órganos (páncreas, hígado y riñón dañado aloxano según estudio histopatológico). Los hallazgos posiblemente justifican porque los alcaloides podrían inducir secreción de insulina; los flavonoides libres actuarían como barredores de especies reactivas de oxígeno y los compuestos fenólicos que estarían ligados a receptores proliferadores de peroxisomas.

Arroyo *et al*<sup>5</sup>. Determinaron la eficacia y seguridad de cápsulas de extracto etanólico de hojas de *Annona muricata L.* “guanábana” más glibenclamida para un mejor control de los niveles glicemia comparado con la administración de glibenclamida sola, en pacientes con diabetes mellitus tipo II. Realizo estudio clínico, aleatorio, grupo paralelo, doble ciego. En el Servicio de Medicina Interna, Hospital I EsSalud, ciudad de Tingo María, Departamento de Huánuco. en

Pacientes con diagnóstico de diabetes mellitus tipo II, tratados con glibenclamida. Las intervenciones se hicieron entre mayo y setiembre de 2007, 60 pacientes fueron asignados a 6 grupos de manera aleatoria; 3 grupos recibieron cápsulas conteniendo 180 mg de extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. [CEAM] más 5 mg de glibenclamida y los otros 3 grupos continuaron solo con glibenclamida. En los resultados evaluaron los niveles de glicemia. El rango de edad de los pacientes estuvo entre 38 y 54 años de edad. Se encontró disminución del nivel de glicemia, siendo mayor el efecto en aquellos que recibieron guanábana más glibenclamida. Se concluyeron que el uso de las cápsulas conteniendo extracto etanólico de *Annona muricata* L. más glibenclamida durante 30 días produjo una mayor disminución de los niveles de glicemia en diabéticos tipo II.

Huachaca<sup>26</sup>, en 2017 en tesis titulada actividad gastroprotectora y antisecretora de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Juglans neotropica* Diels “nogal” en cobayos, utilizó siete grupos de ocho animales cada uno: grupo blanco, grupo control, dos grupos tratados con omeprazol y sucralfato, y tres grupos que recibieron respectivamente dosis de 0,5 mg/kg; 1,0 mg/kg y 2,0 mg/kg de compuestos fenólicos de hojas de “nogal”, el modelo experimental fue *in vivo* úlcera gástrica inducida por etanol 96 %. La dosis con mayor actividad gastroprotectora fue al 2,0 mg/kg con un porcentaje de inhibición de un 96,8 % e índice de ulceración media de 0,3, según escala Maruenda, se concluye que los compuestos fenólicos de las hojas de *Juglans neotropica* Diels “nogal” únicamente tiene actividad gastroprotectora.

Cordova<sup>27</sup>, el 2015 en la tesis titulada la actividad antiulcerosa de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Rumex crispus* L. “romaza”, utilizó el método de inducción de úlceras gástricas por acción del etanol y se comparó con ranitidina y omeprazol en un modelo experimental en cobayos en el estudio se evaluó a 35 animales con siete grupos de cinco animales cada uno, aplicándoles en ayunas dosis de 5 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg de compuestos fenólicos aislados de las hojas de “romaza”; 10 mg/kg de omeprazol, 100 mg/kg de ranitidina. Después de una hora se administró por vía orogástrica 1 mL de etanol, la evaluación macroscópica fue mediante escala Maruenda. Los resultados muestran que el pretratamiento de compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Rumex crispus* L. “romaza” redujo significativamente las lesiones ulcerosas con necrosis hemorrágica inducida con etanol presentando 24,13 %;

68,97 % y 86,21 % respectivamente. Mientras que omeprazol y ranitidina presentaron un efecto antiulcerogénico de 93,10 % y 89,66 % respectivamente. Se concluye que los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Rumex crispus* L. “romaza” tiene actividad antiulcerogénica sobre el tejido gástrico dañado. Donde la dosis de 20 mg/kg muestra mejor actividad.

Quispe<sup>28</sup>, en el 2015 con tesis titulada efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote”, el método usado fue inducción de ulcera gástrica inducida por etanol absoluto en cobayos, los grupos tratados fueron: basal; control etanol 96%; patrón omeprazol y dosis de extracto de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg. la evaluación macroscópica fue mediante escala Maruenda. Los resultados muestran que a dosis de 400 mg/kg el extracto mostró un índice de ulceración de 0,4 que indica la casi ausencia del daño gástrico. Concluyendo que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. “achiote” a dosis de 400 mg/kg presentan un efecto antiulceroso.

Meneses<sup>29</sup>, en el 2012 con tesis titulado efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico del fruto de *Carica papaya* L. “papaya”, la ulceración gástrica fue inducida por etanol absoluto y como tratamiento concentraciones de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg del extracto hidroalcohólico, agua destilada como control y ranitidina 150 mg como patrón. Según escala Maruenda se encontró mayor protección a 400 mg/kg y un porcentaje de inhibición de 83,33 % en comparación con el patrón que obtuvo un alto porcentaje de inhibición de ulcera gástrica con un 91,67 %. Concluyendo que el extracto hidroalcohólico del fruto de *Carica papaya* L. “papaya” tiene efecto antiulceroso frente al daño inducido por etanol absoluto.

## **2.2. Marco conceptual**

### **2.2.1. Metabolito secundario**

Estos compuestos derivados del metabolismo secundario se denominan metabolitos secundarios, se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros<sup>30</sup>.

Las plantas producen alrededor de 100.000 moléculas de bajo peso molecular conocidas como metabolitos secundarios, los cuales se diferencian de los primarios porque no son esenciales para la vida de los vegetales, pero permiten la defensa en situaciones de estrés como el ataque de microorganismos,

insectos y otros animales. Los metabolitos secundarios utilizan tres rutas biosintéticas para su obtención como son: la ruta del ácido sikímico y de los poliacetatos, ruta del ácido mevalónico y la ruta del metabolismo del nitrógeno. Entre los metabolitos secundarios existe una gran variedad de sustancias aromáticas, la mayoría son fenoles o sus derivados de oxígenos sustituidos. Debido a que los metabolitos secundarios protegen a la planta frente al ataque de microorganismos, generan sustancias antimicrobianas de gran importancia, en la actualidad. Se conoce un porcentaje muy pequeño de los compuestos naturales con actividad antibacteriana, estas sustancias pueden utilizarse directamente o como base de síntesis para nuevos principios útiles en el tratamiento de infecciones<sup>30, 31</sup>.

### **2.2.2. Extractos vegetales**

Se define como extracto vegetal el producto líquido obtenido a partir de plantas o parte de ellas con varios procedimientos y con varios solventes. La extracción sólido-líquido es una operación que está presente prácticamente en todos los procesos tecnológicos relacionados con la industria química y médico-farmacéutica; dentro de ésta, los métodos de extracción por maceración y la percolación o lixiviación son los más utilizados<sup>30</sup>.

### **2.2.3. Maceración**

Material crudo previamente triturado se pone en contacto duradero con cantidad suficiente de solvente, en un tanque cerrado a temperatura ambiente durante 2-14 días hasta el agotamiento de la droga vegetal. Puede utilizarse agitación. Posterior a este tiempo la mezcla es filtrada, el material insoluble es lavado con el mismo solvente y los filtrados se mezclan para concentrar y obtener el extracto<sup>30</sup>. Los extractos obtenidos por maceración dependen del solvente utilizado, del vegetal si es seco o es fresco y tenemos:

- a) Alcohólicos
- b) Hidroalcohólicos

### **2.2.4. Concepto de cromatografía**

La cromatografía es la ciencia y el arte de separar entre sí los componentes de una sustancia. La separación se consigue a través de una gran variedad de técnicas cuyas bases moleculares tienen diferencias diversas (separación de moléculas según su carga, tamaño, masa molecular, potencial redox, disposición de enlaces). La cromatografía encuentra fundamento en el equilibrio de los componentes los cuales se encuentran, presentes en dos fases que no son

miscibles entre sí. La fase móvil puede ser gas, líquido o fluido supercrítico, se encarga del transporte del analito (muestra) a través de la fase estacionaria. En la superficie de la fase estacionaria, suceden varias interacciones químicas con el analito, las cuales van a depender de la naturaleza de la fase estacionaria y de la fase móvil. Como fase estacionaria, se pueden utilizar minerales, polímeros orgánicos e inorgánicos o sólidos recubiertos de líquidos<sup>30</sup>.

#### **2.2.2.1. Cromatografía de capa fina**

La cromatografía en capa fina es un método en la que se emplea una capa plana y relativamente delgada de un material que a la vez es el soporte, o bien cubre una superficie de vidrio, plástico o metal. La fase móvil se desplaza por la fase estacionaria por acción capilar, la cromatografía en capa fina tiene un amplio uso en los laboratorios y es la estructura de apoyo de muchos estudios bioquímicos y biológicos<sup>30</sup>.

Aquellos componentes que son fuertemente retenidos por la fase estacionaria se mueven lentamente con el flujo de la fase móvil; por el contrario, los componentes que se unen débilmente a la fase estacionaria, se mueven con rapidez. Como consecuencia de la distinta movilidad, los componentes de la muestra se separan en bandas o zonas discretas que pueden analizarse cualitativa y/o cuantitativamente<sup>30</sup>.

#### **2.2.5. Análisis Histopatológico**

Histopatología se dedica al estudio de las células, de los tejidos y de los órganos alterados. Por tanto la histopatología es el estudio de los cambios microscópicos u anomalías en los tejidos como resultado de una lesión o enfermedad. Análisis histopatológico se realiza en las muertes naturales y no naturales (violentas)<sup>32</sup>. El estudio microscópico de los tejidos se hace posterior al examen a simple vista de los órganos, en tal sentido con el estudio al microscopio lo que se hace es confirmar, modificar o descartar lo observado macroscópicamente, dando mayor solidez científica al estudio. Con las características histológicas del tejido se puede determinar el tiempo de evolución de la lesión. Para esto último examinamos en el tejido presencia o no e intensidad de infiltrado inflamatorio agudo/crónico, macrófagos, edema, angiogénesis, depósito de colágeno, fibrosis, hemorragia y hemosiderina<sup>32, 33</sup>.

#### **2.2.6. Citoprotección gástrica**

Se define como la propiedad de ciertos fármacos de proteger la parte de la mucosa gástrica localizada bajo el epitelio, más que al propio epitelio, y evitar la

aparición de lesiones hemorrágicas o necróticas tras la exposición a diferentes agentes nocivos, sin que ello comporte necesariamente ningún cambio en la actividad secretora gástrica<sup>34</sup>.

El estómago, encargado de digerir los alimentos, es el primer punto de contacto prolongado del tubo digestivo para los alimentos y por ello posee importantes mecanismos de defensa frente a la agresión exógena (alimentos, agentes tóxicos como alcohol, fármacos)<sup>34</sup>.

La barrera mucosa gástrica mantiene la integridad del epitelio superficial. Desde un punto de vista conceptual y didáctico los mecanismos de defensa se pueden clasificar en aquellos localizados a nivel preepitelial, epitelial y postepitelial<sup>34</sup>. En cada uno de estos niveles existen importantes mecanismos encaminados a mantener la homeostasis de la mucosa:

- Nivel preepitelial. Secreción de moco y bicarbonato.
- Nivel epitelial. Resistencia del epitelio, prostaglandinas y factores de crecimiento.
- Nivel postepitelial. Flujo sanguíneo gástrico

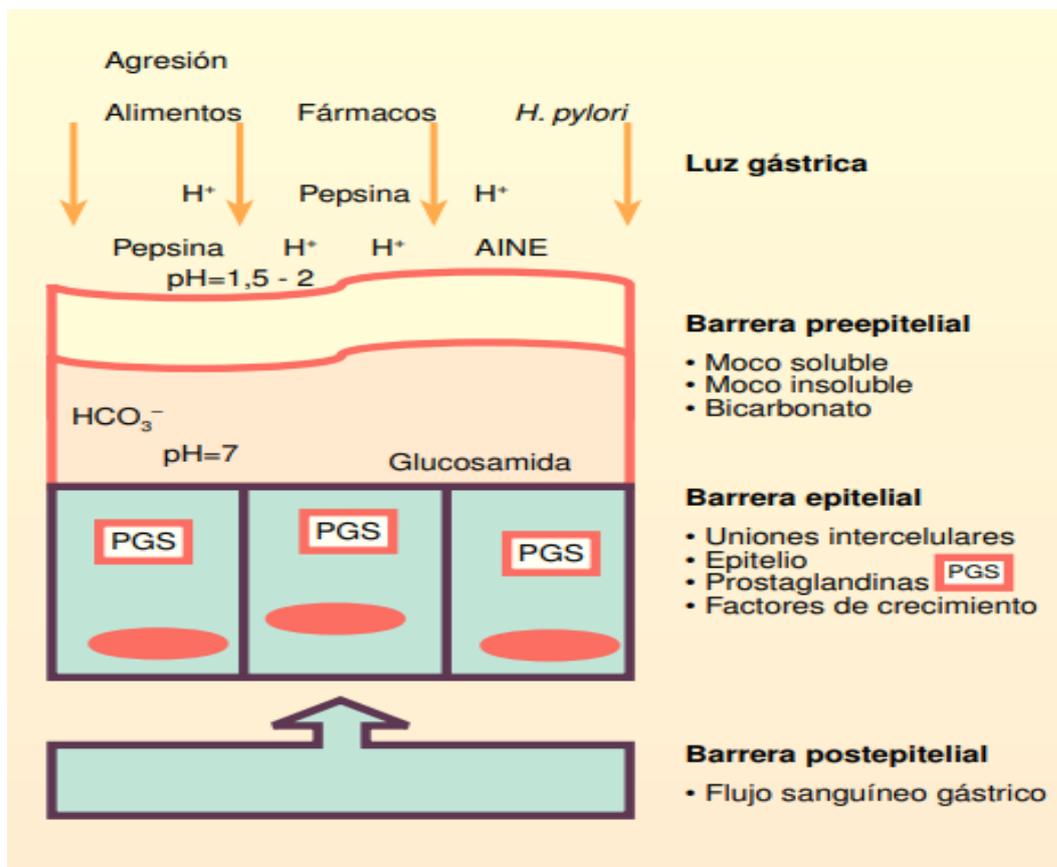


Figura 1. Niveles de protección de la pared gástrica<sup>34</sup>.

### 2.2.7. Factor de Retardo (Rf)

Se define como la distancia que recorre la muestra desde el punto de aplicación hasta el frente del solvente, Este movimiento es constante y característico para cada sustancia en un sistema cromatográfico determinado y a una Temperatura determinada. El Rf, al ser un cociente, nos permite medir el desplazamiento de cada sustancia, con un valor independiente del tiempo o las dimensiones de la placa o distancia de desarrollo. De la definición resulta que el valor de Rf va de 0 a 1, siendo 0.5 un valor medio. A menor Rf la sustancia queda más retenida en la fase estacionaria (FE), a mayor Rf la sustancia no está unida con fuerza a la FE y es arrastrada por la fase móvil (FM) <sup>35</sup>.

$$Rf = \frac{a}{b}$$

Dónde:

*a*: Distancia que recorre la muestra desde el punto de aplicación

*b*: Distancia que recorre el disolvente hasta el frente del eluyente.

### 2.3. *Annona muricata* L. “guanábana”

#### 2.3.1. Clasificación taxonómica según el sistema de Cronquist. A. 1988.

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUBCLASE	:	MAGNOLIIDAE
ORDEN	:	MAGNOLIALES
FAMILIA	:	ANNONACEAE
GENERO	:	<i>Annona</i>
ESPECIE	:	<b><i>Annona muricata</i> L.</b>
N.V.	:	“guanábana”

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas (Anexo 1)

#### 2.3.2. Nombres comunes

La *Annona muricata* L. recibe diferentes nombres comunes que varían de acuerdo al idioma, la localidad o el país.

*Annona muricata* L. tiene su origen en América Central, las Antillas o el norte de América del Sur, donde se lo conoce como "guanábana". En algunos otros países recibe los siguientes nombres: graviola y curassol (Portugal), anona (México), soursop (EE. UU), sauersack (Alemania), cachiman épineux, corossol (Francia), Huanábano, Masasamba, Chirimoya brasilera<sup>14</sup>.

### **2.3.3. Descripción botánica**

Árbol perenne, terrestre, erecto que alcanza 5 a 8 m de altura y presenta un dosel abierto, redondeado con hojas grandes, brillantes y de color verde oscuro, alternas y simples, más pálidas en el envés; tienen forma oblonga o elípticas, de 6 a 20 cm de longitud y 2.5 a 6 cm de anchura, puntiagudas en el ápice y en la base. Sus flores hermafroditas son solitarias, amarillentas y con pedúnculos cortos; pueden aparecer en cualquier lugar del tronco, ramas o ramitas, pero principalmente en las ramas viejas, presenta frutos compuestos, grandes, de 15 a 20 cm de largo, y cuando se desarrollan todos los carpelos es de forma oblonga, acorazonada, y pueden pesar hasta 4,5 a 6,8 kg. La piel es de color verde, cuando el fruto está maduro, y tiene numerosas prolongaciones parecidas a espinas blandas y dirigidas hacia el ápice. El interior es blanco, con bandas de carne blanda algodonosa, que contiene muchas semillas negras<sup>13, 14</sup>.

### **2.3.4. Distribución geográfica**

*Anona muricata* L. es nativa de las áreas tropicales más cálidas de América del Sur y del Norte y ahora se encuentra ampliamente distribuida en partes tropicales y subtropicales del mundo, incluidas India, Malasia y Nigeria<sup>14</sup>.

En América Latina, la guanábana es popular en México, América Central, Cuba y varios países de América del Sur. México, Venezuela y Brasil son los principales países productores<sup>14</sup>.

### **2.3.5. Usos en medicina tradicional (efectos farmacológicos)**

*Anona muricata* L. es ampliamente utilizado en la medicina tradicional para tratar enfermedades tales como diarrea, disentería y fiebre, dolor, enfermedades respiratorias y de la piel, parásitos internos y externos, infecciones bacterianas, hipertensión, inflamación, diabetes y cáncer. Las decocciones de corteza, raíz, semilla u hoja son las preparaciones más ampliamente utilizadas. Los estudios *in vitro* e *in vivo* respaldan la mayoría de los usos pero carecen de validación clínica. Entre los usos que aún no han demostrado la validación científica se encuentran la efectividad en el tratamiento del tracto respiratorio, las afecciones cardíacas y renales, el tratamiento de mordeduras y picaduras de animales y los tratamientos contra la obesidad<sup>36</sup>.

La fruta se utiliza como medicina natural para el dolor artrítico, la neuralgia, la artritis, diarrea, disentería, fiebre, malaria, parásitos, antiulceroso, reumatismo, y también se consume para elevar la leche materna después del parto<sup>13, 14</sup>. Las hojas se emplean para tratar cistitis, diabetes, dolores de cabeza e insomnio. Se

crea que las semillas trituradas tienen actividades antihelmínticas contra gusanos y parásitos externos e internos<sup>14</sup>.

Otros estudios farmacológicos muestran que *Annona muricata* L. posee propiedades antidiabéticas e hipolipidémicas.

### **2.3.6. Composición química**

Se han reportado doscientos doce compuestos bioactivos en *Annona muricata* L. Los compuestos predominantes son acetogeninas seguidas de alcaloides, fenoles<sup>11</sup> y otros compuestos. Las hojas y las semillas son los principales órganos vegetales estudiados, probablemente porque son los más utilizados tradicionalmente<sup>12</sup>. La Tabla 1 enumera alguno de los compuestos bioactivos<sup>37</sup>. También se han reportado varios otros compuestos tales como carbohidratos, aceites esenciales y proteínas<sup>11</sup> así mismo minerales importantes, como K, Ca, Na, Cu, Fe y Mg<sup>14</sup>.

#### **2.3.6.1. Alcaloides**

Son compuestos naturales que contienen átomos de nitrógeno básicos. Los más abundantes en *Annona muricata* L. (Tabla 1) son reticulina y coreximina, siendo las hojas las que contienen la mayor concentración de alcaloides, aunque también se han encontrado en raíces, tallos y frutos. Estudios anteriores han demostrado que los alcaloides aislados de las especies de *Annona* poseen una afinidad por los receptores 5-HT<sub>1A</sub> *in vitro* y participan en la biosíntesis de dopamina. Por lo tanto, se ha propuesto que los alcaloides derivados de *Annona* podrían inducir efectos similares a los antidepresivos y actividad citotóxica. También se han informado efectos neurotóxicos para algunos alcaloides, y sugirieron que la muerte neuronal se produjo por apoptosis<sup>37</sup>.

#### **2.3.6.2. Acetogeninas**

Poseen una cadena alifática larga de 35 a 38 carbonos unida a un anillo de lactona, sustituido terminalmente por un metilo insaturado, con uno o dos tetrahidrofuranos (THF) ubicados a lo largo de la cadena de hidrocarburo y un número determinado de grupos de oxígeno (hidroxilo, acetoxilos, cetonas, epoxi). Las encontradas en *Annona muricata* L. contienen un anillo de THF, aunque también se han informado acetogeninas con dos anillos de THF adyacentes o no adyacentes. La anonacina es la acetogenina más abundante en hojas como en frutos de *A. muricata*, pero también en semillas y raíces.

Las acetogeninas se consideran los principales compuestos bioactivos de la familia Annonaceae. Algunos estudios han demostrado que las acetogeninas

son más citotóxicas que los alcaloides y la rotenona, un compuesto citotóxico sintético. Acetogeninas y alcaloides son ampliamente estudiados en una forma controvertida, debido a su potencial terapéutico frente a la actividad neurotóxica<sup>12, 36</sup>.

### **2.3.6.3. Compuestos fenólicos**

Son moléculas que poseen un anillo aromático que lleva uno o más grupos hidroxilo y varían desde moléculas simples hasta polímeros de alta masa molecular, son grupos de fitoquímicos más ampliamente difundidos. Tienen importantes funciones fisiológicas en las plantas, actuando como fitoalexinas, antialérgicos y atrayentes para polinizadores, y funcionando como protector solar contra la luz UV, propiedades beneficiosas para la salud, ejemplo, como antioxidantes y protegiendo contra enfermedades crónicas como cáncer, disfunción cerebral y aterosclerosis)<sup>37</sup>.

Los compuestos fenólicos importantes que se encuentran en las hojas de *A. muricata* incluyen la quercetina y el ácido gálico. Los compuestos fenólicos se consideran los principales fitoquímicos responsables de la actividad antioxidante<sup>11</sup>.

Moghadamtousi *et al*<sup>14</sup>. Señalaron en su estudio que la Extracto de acetato de etilo de hojas de *Annona muricata* mostró efecto gastroprotector, el cual ocurrió gracias al efecto antioxidante de esta especie precisamente por su contenido en flavonoides.

Según, Bento *et al*<sup>88</sup>. Las hojas de *Annona muricata*. L. tiene las siguientes clases de metabolitos secundarios: taninos, flavononas, flavonoides, flavonas y alcaloides que posiblemente actúen en sinergia para activar factores de defensa de la mucosa gástrica, haciendo este extracto prometedor para el desarrollo nuevas terapias para combatir la gastropatía asociada a los AINEs y la enfermedad de úlcera péptica.

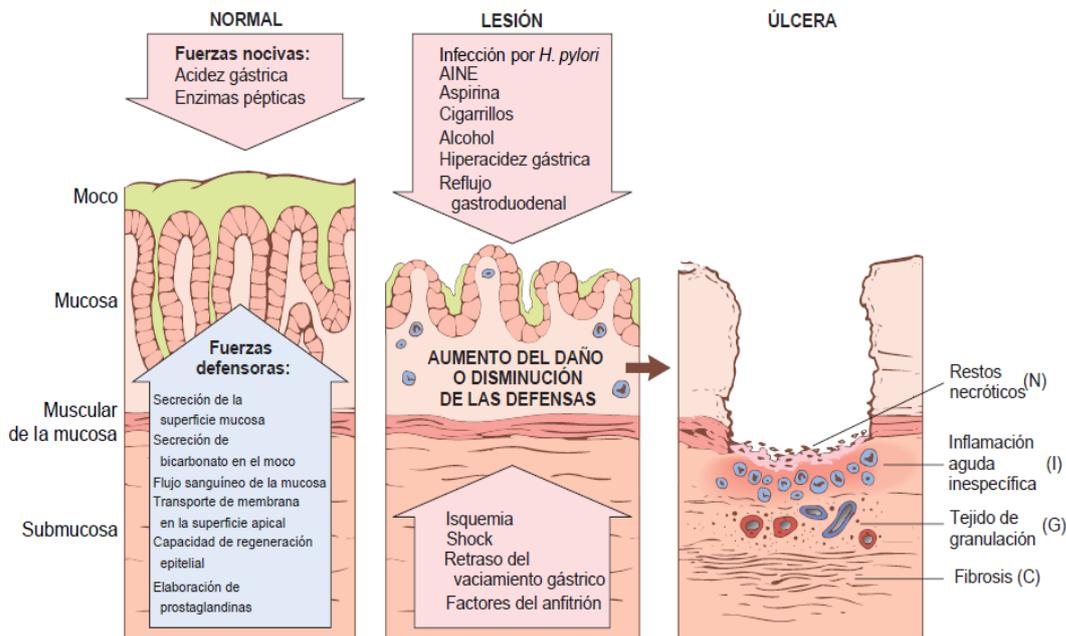
**Tabla 1.** Compuestos bioactivos Aislados de *Annona muricata*. L. "guanábana".

Nombre químico	Parte de la planta	Tipo	Bioactividad	Referencias
<b>Alcaloides</b>				
<b>Anonaina</b>	Fruto, hoja	Aporfina	Antidepresivo	Hasrat et al. 1997 Fofana et al. 2011
<b>Annonamine</b>	Hoja	Aporfina	Citotóxica	Matsushige et al. (2012)
<b>Coreximine</b>	Hoja, raíz	Protoberberina	Neurotóxico	Leboeuf et al. 1981
<b>Reticuline</b>	Hoja Tallo	Isoquinolina	Neurotóxico	Leboeuf et al. 1981
<b>Isoboldine</b>	Hoja	Aporfina	Antipalúdico	Fofana et al. 2012
<b>Isolaureline</b>	Hoja	Aporfina	Citotóxica	Fofana et al. 2011
<b>Acetogeninas</b>				
<b>Sabadelin</b>	Raíz Pulpa	Epoxi Mono, 1 carbonilo	Citotóxica	Gleye et al. 1999 Ragasa et al. 2012
<b>Annocatalin</b>	Hoja	Mono THF, 4OH	Citotóxica	Liaw et al. 2002
<b>Annohexocin</b>	Hoja	Mono THF, 6OH	Citotóxica	Zeng et al. 1996
<b>Annomontacin</b>	Semilla	Mono THF, 4OH	Citotóxica	Liaw et al. 2002
<b>Javoricin</b>	Semilla	Mono THF, 4OH	Citotóxica	Rieser et al. 1996
<b>Longifolicin</b>	Semilla	Mono THF, 3OH	Citotóxica	Chang y Wu 2001 Nakanishi et al. (2003)
<b>Montanacin</b>	Hoja	Mono THF, 5OH	Citotóxica	Champy et al. 2009
<b>Fenoles</b>				
<b>El ácido cinámico</b>	Hoja	El ácido cinámico	NR	George et al. 2014
<b>Argentinine</b>	Hoja	Flavonoide	Antioxidante	Nawwar et al. 2012
<b>Catequina</b>	Hoja	Flavonoide	Antioxidante	Nawwar et al. 2012
<b>Epicatequina</b>	Hoja	Flavonoide	Antioxidante	Nawwar et al. 2012
<b>Kaempferol</b>	Hoja	Flavonoide	Antioxidante	Nawwar et al. 2012
<b>Morin</b>	Pulpa	Flavonoide	Antioxidante	Correa-Gordillo et al. 2012
<b>Miricetina</b>	Pulpa	Flavonoide	Antioxidante	Correa-Gordillo et al. 2012
<b>Quercetina</b>	Hoja	Flavonoide	Antioxidante	George et al. 2012
<b>Robinetin</b>	Hoja	Flavonoide	Antioxidante	George et al. 2012
<b>Tangeretina</b>	Hoja	Flavonoide	NR	George et al. 2014
<b>Ácido gentísico</b>	Hoja	Hidroquinona	Antimicrobiano	TDRG 2002
<b>El ácido gálico</b>	Hoja	Tanino		George et al. 2012 y Nawwar

Fuente: Coria A, Montalvo E, Yahia E, Obledo E. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. 2016.

## 2.4. Úlcera péptica

La úlcera péptica se define como la pérdida de la integridad de la mucosa del estómago o del duodeno que produce un defecto local o excavación a causa de inflamación activa<sup>1</sup>, atribuible a una serie de factores que, de forma aislada o en combinación, actúan produciendo un desequilibrio entre los elementos agresivos y defensivos de la mucosa gastroduodenal que conlleva a la aparición de lesiones<sup>3</sup>. Es decir, cuando se produce una alteración de los mecanismos defensivos de la barrera mucosa por factores agresivos exógenos tales como alcohol, tabaco, café, comidas irregulares, falta de sueño, estrés, hiperacidez, reflujo gastrointestinal, etc<sup>2, 4</sup>. Así mismo La infección por *Helicobacter pylori* y los AINEs son las causas subyacentes más importantes de la úlcera péptica<sup>4, 39</sup>. En la figura 1 se muestra la progresión desde las formas más leves de lesión a la ulceración que pueden presentarse con la gastritis aguda o crónica. Las úlceras comprenden capas de necrosis (N), inflamación (I) y tejido de granulación (G), pero la cicatriz fibrótica (C), que tarda tiempo en desarrollarse, sólo aparece en las lesiones crónicas.



**Figura 2.** Mecanismos de lesión y protección en el estómago<sup>4</sup>.

La úlcera péptica puede presentarse en cualquier porción del tubo digestivo expuesta a los jugos ácidos gástricos, pero es más frecuente en el antro gástrico y primera porción del duodeno, también puede presentarse en el esófago como consecuencia de la enfermedad de reflujo gastroesofágico (ERGE) o de la secreción de ácido por la mucosa gástrica ectópica<sup>4, 5</sup>. Cerca del 10% de la

población tendrá o tiene úlcera péptica. Las úlceras duodenales son cinco veces más frecuentes que la úlcera gástrica, pueden presentarse en cualquier edad y son comunes en los adultos jóvenes, las úlceras gástricas son más frecuentes en edades mayores y tienen una incidencia pico entre los 55 y 70 años. Ambos tipos de úlcera son tres a cuatro veces más frecuentes en varones<sup>5</sup>.

Las úlceras pépticas son solitarias en más del 80 % de los pacientes. Las lesiones menores de 0,3 cm de diámetro tienden a ser superficiales, mientras que las que tienen más de 0,6 cm son más profundas<sup>4</sup>. presentándose solo en la superficie de la mucosa o extenderse hacia las capas del musculo liso, pudiendo penetrar hasta la capa externa<sup>5</sup>.

#### **2.4.1. Tipos de úlcera péptica**

La enfermedad de la úlcera péptica abarca las úlceras tanto gástricas como duodenales

##### **2.4.1.1. Úlcera gástrica**

Las úlceras gástricas son lesiones que penetran la totalidad de la mucosa gástrica. El cráter de la úlcera con frecuencia está rodeado por una porción de mucosa inflamada pero íntegra, lo cual sugiere que la gastritis constituye una lesión predisponente para el desarrollo de la úlcera gástrica. La mayor parte de las úlceras gástricas se presenta en la curvatura menor del estómago<sup>39</sup>.

La úlcera gástrica es uno de los principales trastornos gastrointestinales con mayor incidencia y prevalencia a nivel mundial. El consumo excesivo de alcohol, el tabaquismo, los antiinflamatorios no esteroideos y *Helicobacter pylori* contribuyen a la úlcera gástrica. La úlcera gástrica se caracteriza por necrosis, secreción de mediadores inflamatorios, infiltración de neutrófilos e inducción de oxidación<sup>40</sup>.

##### **2.4.1.2. Úlcera duodenal**

La úlcera duodenal son lesiones que penetran la totalidad de la mucosa duodenal las cuales se dan con frecuencia o aparecen a pocos centímetros de la válvula pilórica y afectan a la pared duodenal anterior<sup>4</sup>.

#### **2.4.2. Epidemiología**

La úlcera péptica es frecuente y ocupa el cuarto puesto entre las visitas médicas anuales y también en los costes de todas las enfermedades digestivas<sup>4</sup>. El riesgo de desarrollar a lo largo de la vida una úlcera se aproxima a 12% en varones y 10% en mujeres estas últimas se afectan durante o después de la menopausia. Afecta significativamente la calidad de vida al alterar el bienestar general del paciente y contribuye en grado sustancial al ausentismo laboral<sup>1</sup>.

### **2.4.3. Patogenia**

Los desequilibrios entre las defensas de la mucosa y las fuerzas nocivas que provocan la gastritis crónica son responsables de producir úlcera péptica. Es por ello que la úlcera péptica se desarrolla sobre la base de una gastritis crónica. No se sabe por qué algunas personas desarrollan solamente gastritis crónica, mientras que otras desarrollan la úlcera péptica<sup>4</sup>.

La infección por *Helicobacter pylori* y los AINEs<sup>3</sup> son las causas subyacentes más importantes de la úlcera péptica y ambos comprometen las defensas de la mucosa a la vez que provocan su lesión. Aunque más del 70 % de los sujetos con úlcera péptica están infectados por *Helicobacter pylori*, menos del 20 % de las personas infectadas desarrolla una úlcera péptica<sup>4</sup>. Los cofactores más frecuentes para la ulceración son el uso crónico de AINEs, que causan una irritación química directa a la vez que suprimen la síntesis de prostaglandinas necesarias para la protección de la mucosa, el consumo de cigarrillos, que deteriora el flujo sanguíneo y la cicatrización de la mucosa y el consumo de corticoesteroides de dosis altas, que suprimen la síntesis de prostaglandinas y deterioran la cicatrización<sup>3,39</sup>.

El principal mecanismo de agresión de la mucosa es mediante el contacto directo con el HCl cuya producción depende de la enzima ATP-asa de H<sup>+</sup> quien transporta el H<sup>+</sup> intracelular fuera de la célula a los canalículos intracelulares y transfiere el ion K<sup>+</sup> extracelular al interior de la célula, las proteínas transportadoras llevan ión K<sup>+</sup> y ión Cloruro Cl<sup>-</sup> al exterior de la célula hacia los canalículos extracelulares, en consecuencia se secreta Cl<sup>-</sup> y H<sup>+</sup> separados en la luz de los canalículos intracelulares para combinarse en HCl<sup>41</sup>.

### **2.4.4. Manifestaciones clínicas y complicaciones**

Las principales manifestaciones clínicas de la úlcera péptica no complicada son las molestias y el dolor, este último se describe como quemante, corrosivo o como un calambre por lo general es rítmico y aparece cuando el estómago está vacío, entre las comidas y en las madrugadas (1 a 2 am) y se alivia con la ingestión de álcalis o alimentos, y que se localiza sobre la línea media del epigastrio<sup>5</sup>. Las náuseas, vómitos, flatulencia, eructos y pérdida de peso significativa son otras manifestaciones posibles<sup>1</sup>.

Una fracción significativa de pacientes presenta complicaciones como anemia ferropénica, hemorragia franca o perforación. En las úlceras penetrantes, el dolor se puede referir a la espalda, al cuadrante superior izquierdo o al tórax, donde se interpreta erróneamente como de origen cardíaco<sup>4</sup>.

#### 2.4.5. Diagnostico

Los procedimientos de diagnóstico de la úlcera péptica son la anamnesis, los estudios de laboratorio, los estudios por imágenes y la endoscopia<sup>5</sup>.

#### 2.4.6. Tratamiento

El tratamiento de la úlcera péptica ha cambiado en forma drástica en los últimos años, en la actualidad el objetivo es erradicar la causa y permitir la curación permanente de la enfermedad. El tratamiento farmacológico se centra en la erradicación de *H. pylori* confirmada como causa de la enfermedad, alivio de los síntomas de la úlcera y la curación del cráter ulceroso<sup>1, 5</sup>.

Para ello los medicamentos usados en la actualidad son los siguientes:

- **Fármacos neutralizantes de la acidez gástrica:** bicarbonato de sodio y carbonato de calcio, hidróxido de magnesio, trisilicato de magnesio, gel de hidróxido de aluminio<sup>41</sup>.
- **Fármacos inhibidores de la secreción ácido gástrico:** a). Antagonistas de los receptores H<sub>2</sub> de histamina (ranitidina, nizatidina, famotidina). b) Inhibidores de la bomba de protones: (omeprazol, esomeprazol, lanzoprazol, pantoprazol, rabeprazol). c) Antagonistas de los receptores muscarínicos (pirenzepina). d) Análogos de la Somatostatina (octeotride)<sup>41</sup>.
- **Fármacos con efecto antisecretor y protector de la mucosa gástrica:** a) Prostaglandinas: misoprostol, arbaprostil<sup>41</sup>.
- **Fármacos con efecto protector de la mucosa gastroduodenal:** a) sucralfato, b) sales de bismuto coloidal: Subcitrato de bismuto coloidal<sup>41</sup>.
- **Tratamiento de la Infección por *H. pylori*:** dependiendo a la severidad de la infección se puede usar doble, triple o cuádruple terapia erradicadora de *H. pylori*. Ejemplo: a) Triple terapia (omeprazol, amoxicilina y claritromicina) ó (tetraciclina, metronidazol y compuestos de bismuto)<sup>5,41</sup>.



### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Farmacognosia y farmacología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga durante los meses de junio a noviembre de 2018.

#### 3.2. Definición de la población y muestra

##### 3.2.1. Población

Hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” que crecen en el distrito de Pichari, provincia de la Convención a 614 msnm.

##### 3.2.2. Muestra

Cuatro kilogramos de hojas frescas de *Annona muricata* L. “guanábana”, que se obtuvo por un muestreo no probabilístico por conveniencia. Una parte de la planta recolectada con hojas y flores fue llevada al *Herbarium Huamangensis* para su respectiva identificación y su clasificación botánica.

**Criterios de inclusión:** Hojas en buen estado, no maltradas.

**Criterios de exclusión:** Hojas en mal estado, maltradas.

##### 3.2.3. Unidad experimental

Se utilizaron 48 *Cavia porcellus* “cobayos” machos adquiridos del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA) de Ayacucho, con pesos entre 400 - 500 gramos.

#### 3.3. Metodología y recolección de datos

##### 3.3.1. Recolección y desecación del material botánico.

El procedimiento para la recolección, clasificación de las muestras se realizaron de acuerdo a los procedimientos de recolección y conservación dadas por Villar del Fresno<sup>42</sup>.

Se recolectaron cuatro kilogramos de hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” en el distrito de Pichari en la provincia de La Convención en horas

de la mañana. Seleccionándose las hojas que no estuvieron dañadas ni maltratadas, las cuales fueron transportadas en bolsas de papel para evitar su descomposición, luego se hizo la limpieza de las mismas con abundante agua y con gotas de hipoclorito de sodio en un balde de agua, después fueron secadas a temperatura ambiente, bajo sombra, con buena ventilación durante 14 días, sobre una base de papel periódico con recambio constante y remoción de la muestra para un secado uniforme, evitando el deterioro por la humedad para lo cual las hojas fueron expandidas adecuadamente formando una capa delgada para el secado uniforme. Una parte de la planta con hojas y flor fue llevada al Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga para la identificación taxonómica (Anexo 1).

### **3.3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico**

Se pesaron 450 gramos de hojas secas de *Annona muricata* L. "guanábana", los cuales fueron molidos con ayuda de un equipo de cuchillas hasta obtener un polvo fino, luego las hojas molidas fueron sometidas a extracción por maceración simple con etanol al 80°, cantidad suficiente para cubrir la muestra durante 14 días en frasco de vidrio ámbar. Durante este proceso se agitó el frasco por 10 minutos dos veces al día. Transcurrido el tiempo de extracción se procedió a filtrar el extracto con ayuda de una bomba al vacío y papel filtro Watman N°40, posteriormente se llevó a un evaporador rotatorio BUCHI-3000 a presión reducida y finalmente a sequedad en una estufa Memmert a 45°C. El extracto seco se almacena en un envase de vidrio ámbar bajo refrigeración hasta su uso en los ensayos químicos y farmacológicos<sup>42</sup>.

### **3.3.3. Tamizaje fitoquímica del extracto hidroalcohólico**

El extracto seco que se obtuvo se diluyó con agua destilada (2 mg/20 mL) para realizar las reacciones de coloración y precipitación para identificar los metabolitos secundarios, siguiendo los procedimientos propuestos por Miranda y Cuellar<sup>43</sup>.

**Fenoles:** En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de extracto, se agregó gotas de solución de FeCl<sub>3</sub> al 5 %.

**Flavonoides:** Shinoda, En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de extracto, se agregó mg de Mg+ metálico más gotas de HCl concentrado.

**Cumarinas:** Baljet, en un tubo de ensayo se colocó 1 mL de extracto, se agregó gotas de ácido pícrico más gotas de NaOH 10 %.

**Saponinas:** Ensayo de espuma: en un tubo de ensayo se colocó 2 mL de extracto, se agregó 8 mL de agua destilada, luego se agito fuertemente.

**Alcaloides:** Dragendorff, en un tubo de ensayo se colocó 1 mL de extracto, se agregó gotas de (HCL<sub>(C)</sub> + reactivo).

Mayer: en un tubo de ensayo se colocó 1 mL de extracto, se agregó gotas de (HCL<sub>(C)</sub> + reactivo).

**Glucósidos cardiotónicos:** ensayo de Kedde, en un tubo de ensayo se colocó 1 mL de extracto y se mezcló con el reactivo y se dejó reposar durante 10 minutos.

**Azucres reductores:** Reacción de Benedict, en un tubo de ensayo se colocó 1 mL del extracto + 2 mL de reactivo, luego se llevó a baño maría.

**Catequinas:** En un papel filtro se colocó gotas de extracto, se agregó NaCO<sub>3</sub> luego se llevó a luz UV.

**Quinona:** Borntrager, se adicionó en un tubo de ensayo 1ml de extracto + 1ml de cloroformo + 1ml de hidróxido de sodio 10% se agitó y se dejó en reposo.

### **3.3.4. Caracterización cromatográfica del extracto hidroalcohólico de *Annona muricata* L. “guanábana”.**

#### **a. Cromatografía en capa fina (CCF)**

El extracto hidroalcohólico se reconstituyó con 0,5 ml de metanol y se aplicó con ayuda de capilares de vidrio en la base de la placa cromatográfica de 20 x 20 cm. Se llevó a una cubeta cromatográfica conteniendo la fase móvil acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético glacial y agua (100:11:11:27). Luego la placa fue retirada de la cubeta para su secado al aire libre, después se observó bajo lámpara de luz UV a 254nm y 365nm las fluorescencias emitidas en bandas.

#### **b. Análisis espectral**

Las fluorescencias observadas en la placa cromatográfica bajo luz UV fueron separadas en diferentes viales ámbar, luego reconstituidas con metanol y filtradas. Cada muestra obtenida fue leída en el espectrofotómetro Genesys 6, a longitud de onda ( $\lambda$ ) de 200nm a 400nm, frente a un blanco de metanol.

### **3.3.5. Determinación del efecto citoprotector**

#### **Metodología**

Para la evaluación del efecto citoprotector, se empleó el modelo de inducción de úlceras gástricas con indometacina según O'Brien y descrita por Arroyo *et al.*<sup>10</sup> con algunas modificaciones.

#### **Procedimiento**

1. Se emplearon 48 cobayos machos adquiridos del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA), adultos entre 400 - 500 gramos de peso.

2. Los animales fueron alojados en jaulas metálicas de crianza previa a los experimentos, con libre acceso a agua y alimento y con ciclos de 12 horas de luz/oscuridad y temperatura de 21°C.
3. Para la producción de lesiones de la mucosa gástrica se utilizó indometacina en inyectable a dosis de 80 mg/kg de peso del animal, en dos dosis (una hora después de la administración del tratamiento y luego 12 horas después) por vía intraperitoneal.
4. Como medicamento patrón se empleó omeprazol a dosis de 10 mg/kg del animal, bajo la forma de una suspensión de omeprazol/bicarbonato de sodio 2 mg/mL.
5. Los tratamientos se administraron por vía oral con la ayuda de una cánula orogástrica de metal, una hora antes de la administración del agente lesivo (indometacina a dosis de 80 mg/kg), según se detalla en la tabla 2.
6. Luego los animales fueron sacrificados 6 horas después de la última dosis indometacina con una sobredosis de pentobarbital sódico 100 mg/kg de uso veterinario por vía intraperitoneal. Posteriormente, mediante laparotomía se extrajo el estómago de manera cuidadosa, luego fue abierto por la curvatura mayor. A continuación, se lavó cuidadosamente los estómagos con una corriente suave de agua y luego se extendió los estómagos sobre una lámina de tecnopor con ayuda de alfileres, para la evaluación macroscópica de las úlceras.

**Tabla 2.** Distribución de grupos para la evaluación del efecto citoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”. Ayacucho 2018.

Grupo	Repetición	Tratamiento	Vehículo y/o agente lesivo
I	8	Suero fisiológico 2 mL/kg	Suero fisiológico 2 mL/kg
II	8	Suero fisiológico 2 mL/kg	Indometacina 80 mg/kg
III	8	Omeprazol 10 mg/kg	Indometacina 80 mg/kg
IV	8	E.H. <i>Annona muricata</i> L. 20 mg/kg	Indometacina 80 mg/kg
V	8	E.H. <i>Annona muricata</i> L. 40 mg/kg	Indometacina 80 mg/kg
VI	8	E.H. <i>Annona muricata</i> L. 80 mg/kg	Indometacina 80mg/kg

7. Para calificar las lesiones de la mucosa gástrica se consideraron las variables: hiperemia, hemorragia y úlceras, siendo calificados según la magnitud de la lesión observada macroscópicamente. La hiperemia se calificó según la magnitud del enrojecimiento presente y la hemorragia,

según la magnitud del sangrado, dependiente de la cantidad de vasos comprometidos. Los parámetros antes mencionados fueron medidos empleando la escala de puntaje observacional: 0 = ausente; 1 = leve; 2 = moderado y 3 = severo. Para calificar la úlcera, se tuvo en cuenta la magnitud de la lesión observada en la mucosa gástrica (pérdida de continuidad o rotura de la misma), siendo calificada según la escala de Alada y col, 2008 modificada, en: normal = 0; leve= 1; moderada= 2; severa= 3. Según se detalla en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Escala de Alada *et al* modificada<sup>10</sup>.

Puntaje	Característica
0	Normal
1	Leve (úlceras puntiformes < 1 mm o microhemorragias)
2	Moderada (2 o más úlceras hemorrágicas pequeñas)
3	Severa (úlceras grandes > 2 mm de diámetro)

8. El índice de lesiones promedio y porcentaje de inhibición de lesiones gástricas se calculó de acuerdo a la escala de Alada *et al*. Modificada<sup>10</sup>.
9. Se calculó la puntuación total (la suma del puntaje total para todas las ratas del mismo grupo) y el promedio en la escala citada. El puntaje total se expresó en porcentaje de inhibición respecto al índice de ulceración del grupo control:

$$\%Inhibición = \frac{P \text{ media de grupo control} - P \text{ media de grupo patrón}}{P \text{ media de grupo control}} \times 100$$

Dónde: P= puntaje obtenido en la evaluación macroscópica según escala.

10. Los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición respecto al índice de ulceración del grupo control.
11. Para el análisis histopatológico, los estómagos fueron extirpados y lavados suavemente con solución salina para remover la sangre y los detritos adheridos al tejido; luego se fijaron las muestras en formol al 10 % tamponado, por 7 días, y luego se seleccionó las zonas donde de acuerdo al examen macroscópico se evidencia lesión aparente. Las muestras se enviaron al especialista para su análisis microscópico mediante coloración con hematoxilina-eosina.
12. Para determinar la dosis con mayor efecto citoprotector se utilizó las puntuaciones de escala de Alada *et al*, Expresado en porcentaje de inhibición de úlcera gástrica.

### 3.4. Tipo y diseño de investigación

#### 3.4.1. Tipo de investigación

##### Básico-Experimental<sup>44</sup>

La investigación realizada es de tipo experimental, por haber manipulación de la variable independiente (extracto a diferentes concentraciones) y medición del efecto que la variable independiente tuvo en la variable dependiente (efecto citoprotector). Así mismo la generalización de los resultados es factible en las condiciones experimentales en las que se trabajó.

#### 3.4.2. Método de investigación

##### Hipotético-deductivo<sup>44</sup>

El método usado es del tipo hipotético-deductivo, en cual se consideró las siguientes premisas:

- Se llevó a cabo la observación y evaluación de fenómenos.
- Se derivaron hipótesis.
- Las hipótesis se sometieron a prueba utilizando los diseños de investigación apropiados.
- Los resultados corroboraron las hipótesis o fueron consistentes con éstas, por ende, aportaron evidencia en su favor.

#### 3.4.3. Diseño de investigación<sup>44</sup>

El diseño que se uso fue un diseño con pos prueba únicamente y grupo de control. El diseño incluye dos grupos, uno recibió el tratamiento experimental y el otro no (grupo de control). Cuando concluyó la manipulación, a ambos grupos se les hizo una medición sobre la variable dependiente en estudio. En el estudio se incluyeron tres dosis de extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”, para evaluar el efecto antiulceroso (20, 40 y 80 mg/kg). Se hicieron las comparaciones entre las pos pruebas de ambos grupos (O1 y O2). Para saber si hubo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre las concentraciones estudiadas, control negativo (suero fisiológico 0,9%) y control positivo (indometacina 80 mg/kg) se hizo un análisis de varianza y su respectiva prueba post hoc.

El diseño se grafica de la siguiente manera:

G <sub>E</sub> .....	X.....	O
G <sub>CN</sub> .....	-.....	O
G <sub>CP</sub> .....	X.....	O

Dónde:

G<sub>E</sub>: Grupo experimental

G<sub>CN</sub>: Grupo control negativo

G<sub>CP</sub>: Grupo control positivo

X: Tratamientos

O: observación

### **3.5. Análisis de datos**

Los datos obtenidos fueron expresados en forma de medias  $\pm$  desviación estándar presentados en tablas y gráficos. Las diferencias significativas de los grupos que recibieron el tratamiento se determinaron con el análisis de varianza (ANOVA) aun nivel de confianza del 95 % ( $p < 0,05$ ). También se utilizó pruebas estadísticas para comparaciones múltiples HSD de Tukey para realizar, así mismo para la evaluación del índice de ulceración gástrica se empleó la prueba de Kruskal wallis. Para realizar estos análisis se emplearon el paquete estadístico SPSS versión 24.



#### **IV. RESULTADOS**



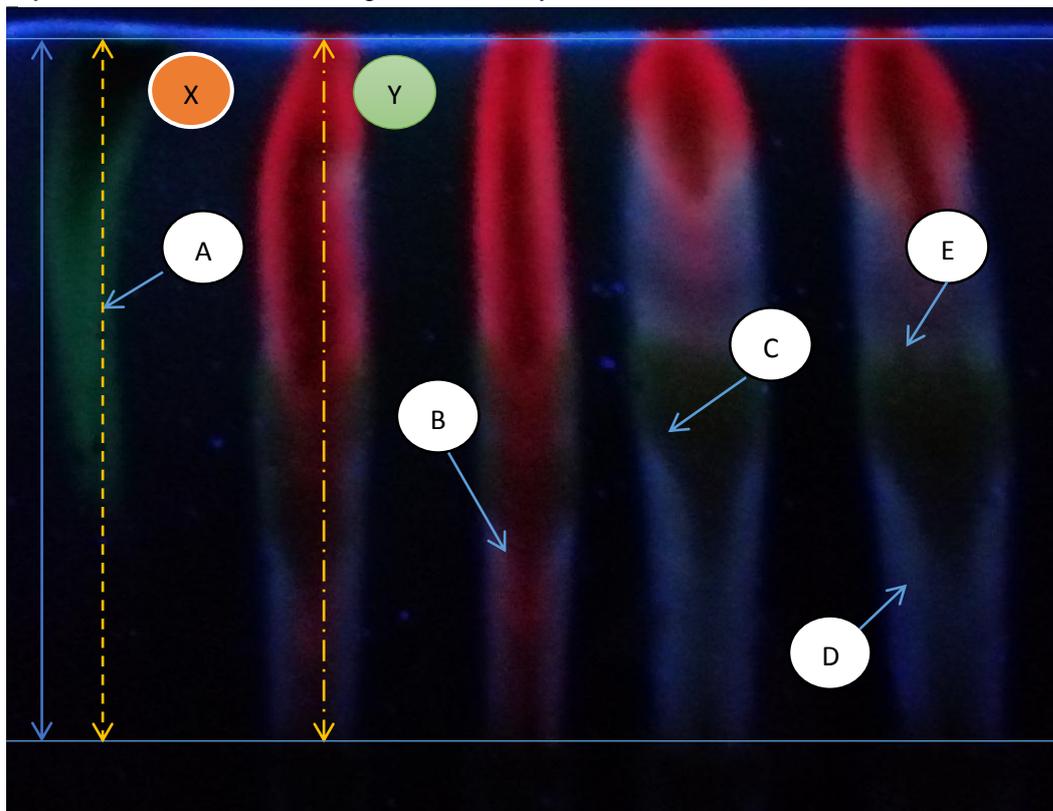
**Tabla 4.** Screening fitoquímico de metabolitos secundarios presentes en extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”. Ayacucho 2018.

Metabolitos secundarios	Ensayos	Reactivo usado	Resultado	Observaciones
<b>Fenoles y/o taninos</b>	Cloruro férrico	FeCl <sub>3</sub> 5% + NaCl 0.9%	++++	Verde oscuro
<b>Flavonoides</b>	Shinoda	HCl <sub>(c)</sub> + Mg <sup>++</sup> + C <sub>5</sub> H <sub>12</sub> O	+++	Rojo ladrillo
<b>Cumarinas</b>	Baljet	Ác. Pícrico + NaOH 10 %	++	Marrón rojizo
<b>Saponinas</b>	Espuma	Agua + agitación	+	Formación de espuma
<b>Alcaloides</b>	Dragendorff	HCl 1% + Bi(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O + KI	+++	Precipitado de color naranja marrón
	Mayer	HCl 1% + HgCl <sub>2</sub> + KI	+	Precipitado de color blanco
<b>Azucares reductores</b>	Reactivo de Benedict	CuSO <sub>4</sub>	+++	Precipitado rojo
<b>Polifenoles</b>	Catequinas	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	++	Coloración verde carmelita a luz UV
<b>Glucósidos cardiotónicos</b>	Ensayo de Kedde	Ác. 3.5 dinitrobenzoico 2% + KOH 5.7%	-	Coloración violácea leve
<b>Quinonas</b>	Borntrager	CHCl <sub>3</sub> + NaOH 5%	++	Coloración rojo

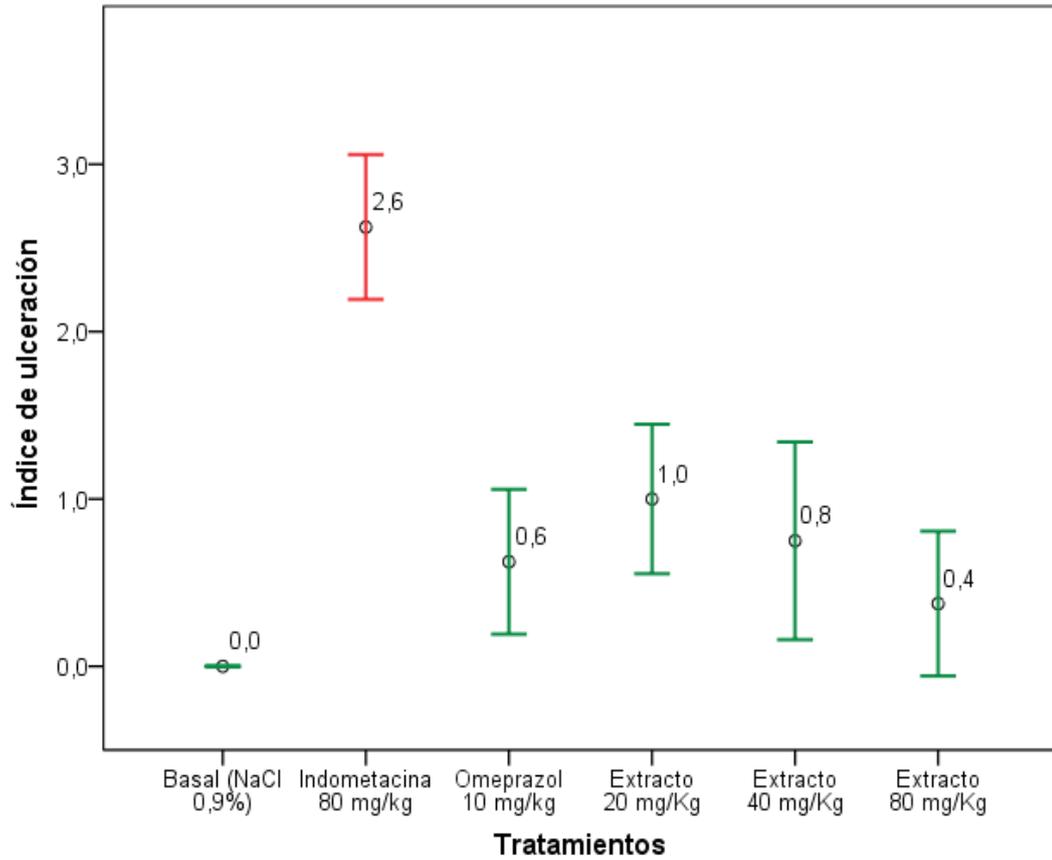
LEYENDA:

- (-) : Nada
- (+) : Escaso/Leve
- (++) : Moderada
- (+++): Abundante/Intensa
- (++++): Muy Abundante/Muy intensa

**Tabla 5.** Caracterización y análisis cromatográfico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”. Ayacucho 2018.

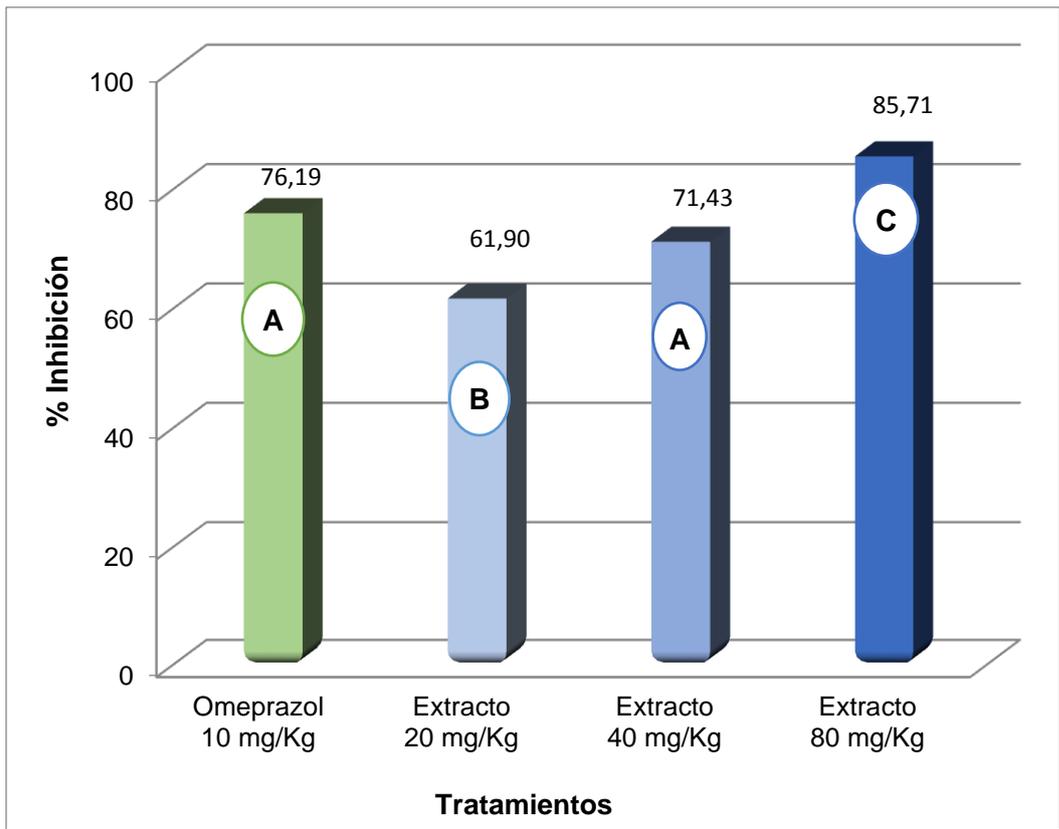


		RF	OBSERVACIONES
X	Muestra (A)	0.95	Coloración verde presencia de Quercetina.
Y	Muestra (B)	1	Coloración roja posible presencia de quinonas.
	Muestra (C)	1	Coloración verde, azul presencia de quinonas y flavonoides.
	Muestra (D)	1	Coloración azul tenue posible presencia de alcaloides.
	Muestra (E)	1	Coloración verde, celeste posible presencia de flavonoides de tipo glicosídicos y agliconas.



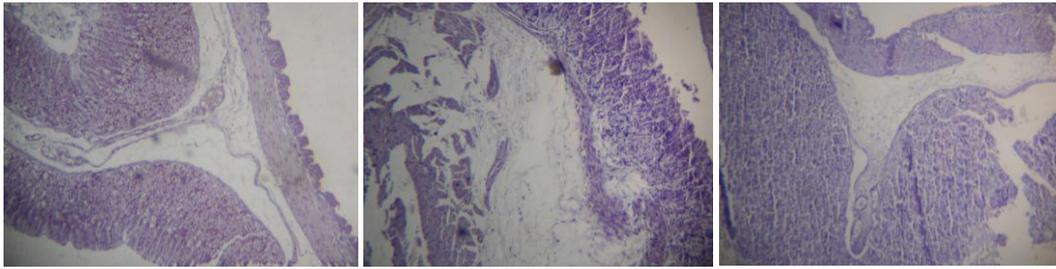
ANOVA:  $p = 0,000012$

**Figura 3.** Índice de ulceración gástrica según la escala de Alada, por efecto de la administración de indometacina, omeprazol y extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. "guanábana". Ayacucho 2018.



ANOVA: p=0,01

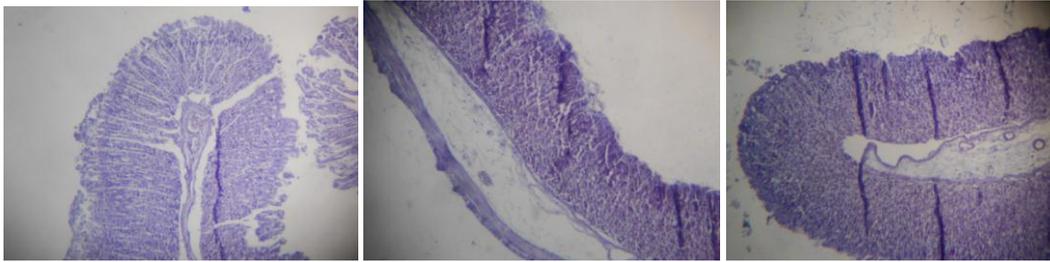
**Figura 4.** Porcentaje de inhibición de ulceración gástrica, según la escala de Alada, por efecto de la administración de omeprazol y extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”. Ayacucho 2018.



**A**

**B**

**C**



**D**

**E**

**F**

**A**, Blanco (NaCl 0,9 %) mucosa ordenada, submucosa, vasos sanguíneos y muscular normal; **B**, Indometacina, severo edema en la submucosa, descamación de células en la mucosa hasta muscular; **C**, Omeprazol, descamación ligera en la mucosa, sin edema en la submucosa; **D**, Extracto 20mg/kg, descamación de la mucosa, no presenta edema en la submucosa; **E**, Extracto 40mg/kg, Células cilíndricas ordenadas y compactas en la mucosa, submucosa sin edema. ; **F**, Extracto 80mg/kg, Mucosa normal con células cilíndricas compactas y ordenadas, submucosa con arterias normales.

**Figura 5.** Análisis de los cortes histológicos del estómago de los cobayos, por efecto de la administración de indometacina 80mg/kg, omeprazol 10mg/kg y extractos hidroalcohólicos de 20mg/kg, 40mg/kg y 80mg/kg de las hojas de *Annona muricata* L. "guanábana". Ayacucho 2018



## V. DISCUSIÓN

Existen estudios sobre la evaluación del efecto citoprotector que se han realizado tanto en extractos como en metabolitos secundarios aislados de fuentes naturales. Estos estudios se han realizado guiados a través de diferentes modelos farmacológicos tanto *in vivo* como *in vitro*. En este trabajo se evaluó el posible efecto citoprotector a diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” en un modelo *in vivo* de úlcera gástrica inducida por indometacina a dosis 80 mg/kg utilizando como medicamento estándar al omeprazol 10 mg/kg<sup>10</sup>. Se sabe que la medicina tradicional peruana ha utilizado extractos de plantas desde tiempos remotos para el tratamiento de dolencias estomacales. Sobre esta base, investigaciones recientes han reportado que dichas plantas medicinales contienen compuestos con reconocidas actividades citoprotectoras como los flavonoides y taninos<sup>9</sup>. *Annona muricata* L. “guanábana” es una especie de amplio uso tradicional cuyo contenido de compuestos fenólicos está reportado ampliamente en innumerables trabajos de investigación farmacológica<sup>11,12</sup>. esta afirmación fue causa para demostrar científicamente el efecto citoprotector de *Annona muricata* L. “guanábana” e incentivar su uso en la medicina complementaria promoviendo en cierto modo en el desarrollo de fitofármacos a partir de sus compuestos fenólicos, ya que la presente investigación demostró que *Annona muricata* L. posee actividad significativamente similar y superior al medicamento de referencia (omeprazol).

El extracto se obtuvo por un proceso de maceración simple con etanol al 80 %, durante 14 días en frasco de vidrio ámbar, el cual posteriormente fue filtrado y secado almacenándose en un envase de vidrio ámbar bajo refrigeración hasta su uso en los ensayos químicos y farmacológicos<sup>42</sup>.

El ensayo químico tuvo como objetivo identificar los diferentes metabolitos contenidos en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L.

“guanábana” mediante reacciones de coloración y precipitación, siguiendo los procedimientos propuestos por Miranda y Cuellar<sup>43</sup>.

En la tabla 4 se muestra el resultado de dicho ensayo químico acerca de la identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”, obteniéndose un contenido abundante de fenoles, regular contenido de flavonoides, alcaloides y azúcares reductores. Así mismo el tamizaje fitoquímico arrojó la presencia de fenoles, flavonoides, cumarinas, catequinas, alcaloides y quinonas.

En el estudio de Vit *et al*<sup>11</sup>. Sobre la composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de *Annona muricata* L. “guanábana”, se observó que, el contenido de flavonoides y polifenoles son abundantes, donde la pulpa de guanábana presentó el mayor contenido de flavonoides de 574,0 mg EQ/100g y de polifenoles 941,4 mg EAG/100 g; seguido por la hoja con contenido de flavonoides de 337,4 mg EQ/100 g y 629,3 mg EAG/100 g de polifenoles. Dichos resultados avalan el resultado cualitativo del tamizaje fitoquímico realizado en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”.

En otro estudio realizado por Vergara *et al*<sup>12</sup>. Al realizar el tamizaje fitoquímico en extractos etanólico y acuoso de las hojas de *Annona muricata* L., estableció que ambos extractos contienen principalmente fenoles, alcaloides, flavonoides, taninos y lactonas sesquiterpenoides. Así mismo Gavamukulya *et al*<sup>13</sup>, en su estudio hace mención que han sido identificados y aislados más de 200 compuestos químicos de esta planta, siendo los más importantes los alcaloides, fenoles y acetogeninas. Los resultados presentados en este trabajo en cuanto al tamizaje fitoquímico se encuentran en concordancia con los presentados por los autores anteriormente mencionados.

Por otro lado tanto Vit *et al*, Vergara *et al* y Gavamukulya *et al*<sup>11-13</sup>. Mencionan que el contenido de flavonoides y fenoles son mayores cuando se usa etanol en lugar de metanol o agua como solvente en la extracción; una posible explicación se basa en la diferencia de polaridad de estos solventes. Los compuestos extraídos por el etanol son ligeramente más polares que los extraídos con el metanol. Entonces se puede inferir que hay flavonoides y polifenoles más polares en hojas, pulpa y semilla de la guanábana, es por ello que en el presente estudio se usó etanol para la extracción y no otro solvente.

En la tabla 5 se observa el resultado del análisis cromatográfico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” en presencia de

la luz UV, evidenciándose fluorescencias de color, amarillo, violeta y verde típicos de compuestos fenólicos, los mismos que, luego de una lectura espectral (anexo 6) en el rango de 200 a 400 nm, muestran picos máximos de absorbancias que corresponden a ácidos fenólicos y/o flavonoides, metabolitos que son reportados ampliamente por otros autores<sup>45</sup>. Según H. Wagner, algunos alcaloides revelados a luz UV a 365 nm muestran coloraciones azules, azul verde o violeta; mientras que algunos glucósidos cardiotónicos muestran fluorescencias azul y verde amarillento, las fluorescencias color roja amarilla azul pertenece a quinonas. En nuestro caso se logra evidenciar coloraciones azul tenues, deduciéndose así posible presencia de alcaloides y rojas en mayor cantidad posible presencia de quinonas<sup>46</sup>. Mientras que Lock de Ugaz, indica la presencia de fluorescencias a 365 nm color verde, amarilla, naranja, celeste pertenece a flavonoides tipo glicósidos y agliconas, en nuestro caso notamos la presencia de fluorescencias, verde y azul, posibles quinonas y flavonoides<sup>47</sup>.

En la evaluación del efecto citoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. en el cual se indujo úlceras o lesiones por la administración de indometacina 80 mg/kg de peso del animal, las úlceras gástricas resultantes ocurren debido a que la indometacina como antiinflamatorio no esteroideo actúa a través de la inhibición de la ciclooxigenasa 1 y 2 promoviendo la reducción de las prostaglandinas. Por lo tanto, la inhibición de la síntesis de prostaglandinas produce un debilitamiento de la defensa de la mucosa, lo que reduce su capacidad para resistir la agresividad. Este es el mecanismo principal por el cual la indometacina causa daño al tracto gastrointestinal<sup>48</sup>.

En la figura 3 se muestran el índice de ulceración en los cobayos según la escala de Alada, por efecto de la administración de indometacina, omeprazol y extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”, en el grupo control (indometacina 80 mg/kg) las lesiones van de moderadas a severas con un índice de ulceración promedio de 2,6 ( $p= 0,000012$ ) corroborándose el efecto gastrolesivo de dicho medicamento. Por otro lado, en el grupo de cobayos que recibió omeprazol 10 mg/kg antes de la administración de la indometacina, se observa según la escala de Alada estómagos sin lesión y a lo máximo úlcera hemorrágica de menos de 2 mm, debido a que el omeprazol es un inhibidor de la producción de HCl por las células parietales u oxínticas ubicados en la pared del estómago, el cual compite selectivamente frente al daño inducido por la

indometacina, logrando un bajo índice de ulceración de 0,6 ( $p= 0,000012$ ), que significa la ausencia de daño gástrico corroborándose en el anexo 8. En cuanto a los grupos que recibieron el extracto la dosis de 80 mg/kg produjo el índice de ulceración más bajo (IU=0,4), es decir nula o casi nula afección o producción de lesiones.

Las diferencias de las medias del índice de ulceración entre los tratamientos fueron comparados estadísticamente a través de la prueba de Kruskal Wallis, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,000$ ) (Anexo 11). Con menor índice de ulceración para el grupo de cobayos tratados con ranitidina y para los extractos el índice de ulceración fue dosis dependiente, a mayor dosis menor índice de ulceración y a menor dosis mayor índice de ulceración según la escala de Alada.

Huachaca R. al evaluar la Actividad gastroprotectora y antisecretora de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Juglans neotropica* Diels “nogal” obtuvo un índice de ulceración gástrica según la escala de Alada para omeprazol, sucralfato, compuestos fenólicos 0,5 mg/kg, compuestos fenólicos 1,0 mg/kg y compuestos fenólicos 2,0 mg/kg de 1,625; 0,5; 1,5; 0,375 y 0,38 respectivamente, observándose un claro efecto citoprotector o inhibidor de la ulceración por parte de los compuestos fenólicos aislados del nogal, este resultado corrobora el efecto citoprotector que presenta los compuestos fenólicos presentes en numerosos recursos vegetales<sup>26</sup>.

En la figura 4 se observa el porcentaje de inhibición de ulceración gástrica, según la escala de Alada, por efecto de la administración de omeprazol y extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”, en dicha figura se observa un porcentaje de inhibición de la ulceración para el omeprazol de 76,19%, y para los extractos a dosis de 20 mg/kg, 40 mg/kg y 80 mg/kg de 61,9 %; 71,43 % y 85, 71 % respectivamente. El porcentaje de inhibición de la ulceración ejercida por el extracto de 40 mg/kg es estadísticamente similar ( $p<0,05$ ) al porcentaje de protección ejercido por el omeprazol 10 mg/kg (Anexo 13). Es decir, el extracto de 40 mg/kg ejerce similar efecto citoprotector que el omeprazol. En cuanto al extracto a dosis de 80 mg/kg se observa un porcentaje de inhibición de la ulceración de 85,71 % el cual demuestra que a esta dosis el extracto ejerce mayor efecto citoprotector frente a los extractos a 20, 40 mg/kg y omeprazol 10 mg/kg.

El análisis de varianza se realizó para analizar si más de dos grupos difieren significativamente entre sí en cuanto a sus medias y varianzas<sup>44</sup>.

Del análisis estadístico (Anexo 12), se demuestra que hay diferencia significativa ( $p=0,01$ ) en la inhibición de la lesión ulcerosa a diferentes dosis de extracto (20, 40, 80 mg/kg) y el estándar omeprazol.

Arroyo *et al*, al evaluar el efecto gastroprotector y antisecretor de un fitofármaco de hojas de matico (*Piper aduncum*), en los resultados para la gastroprotección, los extractos de diclorometano, cloroformo, hexano y metanol, lograron una disminución de la inflamación de más del 66 % ( $p<0,05$ ); el extracto etanólico presento una actividad de 100 % para disminuir el número de bandas hemorrágicas ( $p<0,05$ ); el extracto clorofórmico presento una actividad antiulcerosa de 75% ( $p<0,05$ )<sup>3</sup>.

Arroyo *et al*, en la evaluación del efecto citoprotector y antisecretor del aceite de *Copaifera officinalis* en lesiones gástricas inducidas en ratas, los resultados indicaron 100% de efecto citoprotector con el aceite de copaiba y de 97,8% para el omeprazol ( $p<0,0001$ ). Cuyo resultado concluyo en que el aceite de copaiba fue efectivo como agente gastroprotectora en ratas con inducción de úlcera gástrica por indometacina<sup>10</sup>.

Coria *et al*, evaluaron el efecto gastroprotector del extracto liofilizado del fruto de *Capsicum annum L*, cuyos resultados muestran que a las concentraciones de 100 y 1000 mg/kg protegieron la mucosa gástrica obteniéndose un porcentaje de inhibición de la lesión ulcerosa de 75,59 % y 81,63 % respectivamente, las cuales son mayores que el que se obtuvo con ranitidina 75,51 % ( $p<0,05$ )<sup>36</sup>.

Huachaca R. al evaluar la Actividad gastroprotectora y antisecretora de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Juglans neotropica* Diels “nogal” obtuvo como resultado que todos los tratamientos lograron porcentajes de inhibición de ulceración gástrica mayores a 70 %, cuyos resultados más importantes fueron ejercidas por los compuestos fenólicos a 1,0 y 2,0 mg/kg, con 93,6 y 96,8% de % de inhibición respectivamente ( $p<0,05$ )<sup>49</sup>.

Como se observa en los antecedentes la inhibición de la ulceración gástrica que ejercen los extractos de las diferentes plantas estudiadas corrobora el ejercido por el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” concluyéndose que el extracto gracias a sus metabolitos secundarios (fenoles, flavonoides, alcaloides) ejerce efecto citoprotector de la mucosa gástrica al inhibir la formación de lesiones gástricas.

En la figura 5 se observa el análisis de los cortes histológicos del estómago de los cobayos, por efecto de la administración de indometacina, omeprazol y

extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”, en el cual en el grupo que se trató solo con indometacina se observa severo edema en la capa submucosa con una descamación de células de la mucosa hasta la muscular de la mucosa; en el grupo que se trató con el estándar omeprazol se observa descamación ligera de la citoestructura de la mucosa, no se evidencia ningún edema a nivel de la submucosa; respecto a los tratamientos con los extractos se evidencia lo siguiente: a) extracto a dosis de 20 mg/kg, descamación de la mucosa sin edema en la capa de submucosa. b) extracto a dosis de 40 mg/kg, Células cilíndricas ordenadas y compactas en la mucosa normal, submucosa sin evidencias de edema. c) extracto a dosis de 40 mg/kg, mucosa normal con células cilíndricas compactas y ordenadas, submucosa con arterias normales. Dichos resultados corroboran el efecto inhibitorio de lesiones ulcerosas evaluadas según la escala de Alada. Observándose que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” ejerce efecto citoprotector mediante la inhibición de la formación de lesiones ulcerosas similar y superior al estándar omeprazol de acuerdo a la dosis usada (dosis dependiente).

Bento *et al*, afirma que el efecto gastroprotector de los flavonoides, compuestos fenólicos y alcaloides es gracias a la actividad sinérgica que existe entre estos compuestos presentes en los vegetales, aumentando la producción de prostaglandinas y actúan directamente sobre la mucosa gástrica. En el estómago, la acción protectora de las prostaglandinas se modula mediante el aumento de la producción de moco y la secreción de bicarbonato, la regulación de la secreción de ácido gástrico, el bloqueo de la liberación de histamina por parte de los mastocitos, el mantenimiento del flujo sanguíneo durante la exposición a agentes irritantes, vasodilatación y curación rápida de heridas debido a que la capacidad de la prostaglandina para reducir la secreción de ácido gástrico contribuye a la aceleración de la curación de las úlceras. La prostaglandina E<sub>2</sub> influye en la secreción de ácido gástrico, donde a bajas concentraciones, inhibe la secreción de ácido gástrico por interacción con los receptores EP<sub>3</sub> y tiene una acción protectora contra las lesiones inducidas por el etanol, al aumentar el monofosfato de guanosina cíclica<sup>48</sup>.

En cuanto a los compuestos fenólicos estudios reportan que las relaciones estructura-actividad muestran que la presencia de un grupo hidroxilo en C-5 y C-7 dentro de las flavonas disminuye drásticamente su actividad gastroprotectora.

Sin embargo, un grupo metoxilo en la posición C-7 parece mejorar la gastroprotección. Un doble enlace en C-2 y C-3 y un anillo intacto parecen necesarios para la actividad óptima. Se informó que una sustitución con un grupo metoxilo en diferentes posiciones dentro del núcleo de flavona, tal como la posición C-5 o C-7, o una sustitución de metilo en la posición C-7, no afecta la potencia de la actividad gastroprotectora. Sin embargo, la sustitución con un grupo metoxilo o hidroxilo en las posiciones C-3, C-6 o C-8 reduce la actividad gastroprotectora de los compuestos<sup>50</sup>.

De Sales *et al*, manifiestan que la reducción en las lesiones de la mucosa gástrica frente al etanol, los AINEs, la hipotermia-estrés y la contención de jugo gástrico en los modelos de úlceras inducidas está relacionada con los alcaloides presentes en el extracto e involucra la participación de compuestos de sulfhidrilo, óxido nítrico, canales de K<sub>ATP</sub>, prostaglandinas, niveles reducidos de IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  y niveles aumentados de GSH e IL-10<sup>51</sup>.

Concluyendo que los experimentos mostraron un efecto inhibitor sobre la lesión de la mucosa gástrica dosis dependiente, por lo tanto, afirmamos que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. "guanábana" presenta efecto citoprotector en las condiciones experimentales del estudio.



## VI. CONCLUSIONES

1. Los extractos hidroalcohólicos de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” presentaron efecto citoprotector según el modelo de inducción de ulcera gástrica por indometacina en cobayos.
2. Se logró identificar la presencia de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”, mediante reacciones de coloración y precipitación formados por los siguientes: fenoles, flavonoides, alcaloides, azúcares reductores, cumarinas, catequinas y quinonas.
3. En la caracterización y análisis cromatográfico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana” se observa fenoles, flavonoides y catequinas, las cuales se evidenciaron por las fluorescencias color amarillo, violeta y verde, con absorbancias que corresponden a ácidos fenólicos o flavonoides a longitud de 365nm.
4. Las dosis de 20 y 40 mg/kg presentan efecto citoprotector, presentado la citoestructura de la mucosa con ligera descamación pero conservada estructura a nivel de la submucosa, similar al fármaco patrón omeprazol, a 80 mg/kg se observa una mucosa normal con células cilíndricas compactas y ordenadas, submucosa con arterias normales, similar al grupo blanco (NaCl).
5. La dosis con mayor efecto citoprotector del extracto hidroalcohólico, fue la dosis de 80 mg/kg en el que se obtuvo un 85,71 % de inhibición de la ulcera gástrica e índice de ulceración de 0,38; estadísticamente similar al grupo que recibió omeprazol ( $p=0,01$ ).



## VII. RECOMENDACIONES

1. Incentivar a los colegas a continuar y ampliar los estudios sobre plantas medicinales ya trabajadas, es decir continuar con una misma línea de investigación y poder encontrar metabolitos responsables de las actividades que se les atribuyen.
2. Evaluar el posible efecto antisecretor del extracto hidroalcohólico de *Annona muricata* L. “guanábana”
3. Continuar con la investigación de la especie de *Annona muricata* L. “guanábana” demostrando otros efectos atribuidos en la medicina tradicional, con el fin de validar científicamente esos conocimientos.
4. Recomendar o incentivar el consumo de *Annona muricata* L. “guanábana” como nutracéutico (por sus propiedades antioxidantes) para evitar o prevenir el desarrollo de diversas patologías agudas y crónicas.



## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jameson J, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Loscalzo J. Harrison principios de medicina interna. Vol. 2. 20a ed. México: McGraw-Hill; 2018.
2. Levenstein S. The Very Model of a Modern Etiology: A Biopsychosocial View of Peptic Ulcer. *Psychosom Med.* 2000; 62 (2):176-185.
3. Arroyo J, Bonilla P, Moreno L, Ronceros G, Tomás G, Huamán J, Ruez E, Quino M, Rodríguez J. Efecto gastroprotector y Antisecretor de un fitofármaco de hojas de matico (*Piper aduncum*). *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2013; 30(4):608-615.
4. Robbins y Cotran. Patología Estructural y Funcional. 8ª edición. Barcelona: Editorial S.A. Elsevier España; 2010.
5. Porth C.M. Fisiopatología: Salud-Enfermedad: Un Enfoque Conceptual. 7ma edición. Buenos aires: Editorial médica panamericana; 2006.
6. Farfán G, Cabezas C. Mortalidad por enfermedades digestivas y hepatobiliares en el Perú, 1995-2000. *Rev. Gastroenterol. Perú.* 2002; 22 (4): 310-323.
7. Castillo O, Flores C. Mortalidad por enfermedades digestivas no neoplásicas en la población adulta del Perú, 2010-2015. *An Fac med.* 2019; 80(1):39-44.
8. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza y de los Recursos Naturales (UICN), Fondo Mundial para la Naturaleza (WWF) y Organización Mundial de la Salud (OMS). Directrices sobre conservación de plantas medicinales, Gland y Ginebra. Suiza; 1993.
9. Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia. Madrid: Editorial Acribia S.A.; 1991.
10. Arroyo J, Almora Y, Quino M, Martínez J, Florez M, Bonilla P y Condorhuamán M. Efecto citoprotector y antisecretor del aceite de *Copaifera officinalis* "copaiba" en lesiones gástricas inducidas en ratas. *An Fac med. Perú.* 2009; 70(2):89-96.
11. Vit P, Santiago B, Pérez E. Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanábana *Annona muricata*. *Interciencia.* 2014; 39 (5); 350-353.
12. Vergara V, Páucar K, Morales C, Castro O, Pizarro P, Díaz J. Obtención de extractos de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) inducidos por su efecto inhibidor de la corrosión. *Rev Soc Quím Perú.* 2018; 84(1); 119-132.
13. Gavamukulya Y, Wamunyokoli F, El-Shemy HA. *Annona muricata*: Is the natural therapy to most disease conditions including cancer growing in our backyard? A systematic review of its research history and future prospects. *Asian Pac J Trop Med.* 2017; 10(9):835-848.
14. Moghadamtousi S, Fadaeinasab M, Nikzad S, Mohan G, Ali H, Kadir H. *Annona muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. *Int J Mol Sci.* 2015; 16(7):15625-58.
15. Romo M, y Guillén, H. Evaluar la actividad citoprotectora de los extractos acuoso e hidroalcohólico de la corteza de *Azadirachta indica* A. *Juss* en animales de experimentación. [Tesis para optar al grado de químicos y farmacéuticos] Ecuador. Universidad "Universidad de Guayaquil". Facultad de Ciencias Químicas; 2018.
16. Florence N, Benoit M, Jonas K, Alexandra T, Désiré D, Pierre K, Théophile D. Antidiabetic and antioxidant effects of *Annona muricata*, aqueous extract on streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology.* Camerún, 2014; 151(2014):784-790. C
17. Patricia Vit, Bertha Santiago y Elizabeth Mariana Pérez-Pérez, Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanábana

- Annona muricata* L. Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. Venezuela, 2014. vol. 39, núm. 5, pp. 350-353
18. Ancheta, J, y Guzmán, M. Efecto citoprotector del extracto acuoso de hojas de *Bixa orellana* (achiote) en úlceras gástricas inducidas por indometacina en un modelo de ratones. [Tesis para optar por el título de doctor en medicina] El Salvador. Universidad "Dr. José Matías Delgado". Escuela de Medicina; 2011.
  19. Zamudio, C. Estudio in vitro de la capacidad inhibitoria de radicales libres de fruto de la *Annona muricata* L. "guanábana" [Tesis de grado] México: Universidad Veracruzana Instituto de Ciencias básicas: Maestría en Ciencias Alimentarias; 2011.
  20. Arroyo J. *et al.* Efecto hipolipemiante del extracto etanólico de hojas *Annona muricata* L. (guanábana) en pacientes. Conocimiento para el Desarrollo. An Fac med. Perú. 2016; 7(2): 105-112.
  21. Arroyo J, Bonilla B, Moreno L, Ronceros G, Tomás G, Huamán J, Ruez E, Quino M, Rodríguez J. efecto gastroprotector y antisecretor de un fitofármaco de hojas de matico (*Piper aduncum*). Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2013; 30(4):608-615.
  22. Poma E, Requis E, Gordillo G, Fuertes C. Estudio fitoquímico y actividad antiinflamatoria de la *Annona muricata* L. "guanábana" de cuzco. Ciencia e Investigación. 2011; 14(2): 29-33.
  23. Delgado R. Evaluación del efecto gastroprotector del extracto liofilizado de *Capsicum annum* L. en ratas [Tesis para optar el grado académico de Magíster en Farmacología con Mención en Farmacología Experimental] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2009.
  24. Palomino C. efecto del extracto etanólico de hojas *Annona muricata* L. "guanábana" sobre la hiperglicemia inducida con aloxano en ratas. [Tesis de grado] Lima: UNMSM: Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2007.
  25. Arroyo J, Martínez J, Ronceros G, Palomino R, Villarreal A, Bonilla P, Palomino C y Quino M. Efecto hipoglucemiante coadyuvante del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. "guanábana", en pacientes con diabetes tipo 2 bajo tratamiento de glibenclamida. An Fac med. Perú. 2009; 70(3):163-167.
  26. Huachaca L. Actividad gastroprotectora y antisecretora de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Juglans neotropica* Diels "nogal" [Tesis de grado]. Ayacucho- Perú: UNSCH-Facultad de ciencias de la salud; 2017
  27. Córdova D. Actividad antiulcerosa de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Rumex crispus* L. "romaza". [Tesis de grado]. Ayacucho- Perú: UNSCH facultad de ciencias de la salud; 2015
  28. Quispe R. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Bixa orellana* L. "achiote". [Tesis de grado]. Ayacucho- Perú: UNSCH-Facultad de ciencias de la salud; 2015
  29. Meneses L. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico del fruto de *Carica papaya* "papaya". [Tesis de grado]. Ayacucho- Perú: UNSCH-Facultad de ciencias de la salud; 2012
  30. Abril A y Calle J. Validación de La Metodica Para el Análisis de Fracciones De Extractos Vegetales Con Actividad Antibacteriana. [Tesis Previa A La Obtención Del Título De Bioquímico Farmacéutico]. Universidad De Cuenca Facultad De Ciencias Químicas Escuela De Bioquímica y Farmacia. Ecuador; 2012.

31. Ávalos A. y Pérez E. Metabolismo secundario de plantas. Departamento de Biología Vegetal I (Fisiología Vegetal). Facultad de Biología. Universidad Complutense. Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145, Madrid; 2009.
32. Dr. Sabillón Nicolás Rev. Ciencias Forenses. La Histopatología Forense Volumen 1, N° 2, Médico Patólogo, Dirección de Medicina Forense, Tegucigalpa - Honduras, 2015.
33. Aguilera B., Cohen M., Galtés I., P. Garamendi P., J. Irigoyen J., Lucena J., et al., Patología Forense en España. De dónde venimos y hacia dónde vamos en: Giménez-Mas, GuerraMerino. El libro Blanco de la Anatomía Patológica en España. Sociedad Española de Anatomía Patológica. Madrid; 2013.
34. Carretero, M. Citoprotección Gástrica. Avances Farmacológicos Actualidad Científica Julio/Agosto 2001.
35. Naranjo A, Evaluación de la Actividad Diurética y Cuantificación de Polifenoles de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa* L.) Cultivada en Pomona Pastaza-Ecuador. Tesis de Grado Previa la obtención del Título de Bioquímico Farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias Escuela De Bioquímica y Farmacia. Riobamba – Ecuador 2013.
36. Coria A, Montalvo E, Yahia E, Obledo E. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. Arabian Journal of Chemistry. 2016; 30 (1): 1-30.
37. Jiménez V, Gruschwitz M, Schweiggert R, Carle R, Esquivel P. Identification of phenolic compounds in soursop (*Annona muricata*) pulp by high performance liquid chromatography with diode array and electrospray ionization mass spectrometric detection. Food Research International. 2014; 65 (1): 42-46.
38. Bento E, Matias E, Brito F, Oliveira D, Coutinho E , Costa J , Kerntopf M, Menezes I. Association Between Food and Drugs: Antimicrobial and Synergistic Activity of *Annona muricata* L. International Journal of Food Properties. 2013; 16(1):738–744.
39. Huamán O, Sandoval M, Arnao I, Béjar E. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote), en ratas. An Fac med. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 2009; 70(2): 97-102.
40. Liu w, Yang M, Chen X, Li L, Zhou A, Chen S, You P, Liu L. Mechanisms of Antiulcer Effect of an Active Ingredient Group of Modified Xiao Chaihu Decoction. Evidence Based Complementary and Alternative Medicine. 2018; 98(4): 125-135.
41. Brunton L, Lazo J, Parker K. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 11va edición. México: Editorial MC Gran Hill; 2006.
42. Villar de Fresno M. Farmacognosia General. Editorial Síntesis. España. 1999.
43. Miranda M, y Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio, farmacognosia y productos naturales. Instituto de farmacia y alimentos. Universidad la Habana; 2000.
44. Hernández S, Fernández C, Baptista L. Metodología de la investigación. 4ª Edición. México DF: McGraw-Hill interamericana; 2006.
45. Aranda-Ventura J, Vallejo JV, Sotero DG, Solís VS, Torres DV, Temmerman ÚM, et al. Toxicidad, actividad antioxidante in vitro e hipoglicemiante in vitro e in vivo del extracto acuoso de *Juglans neotropica* Diels (nogal peruano). Rev Peru Med Integrativa. 2017; 1(4). 124-138.

46. H. Wagner, Plant Drug Análisis, A Thin Layer Chromatography Atlas. Seg. Edit editorial ESPRINGER. Alemania .2001 pag 6, 100.
47. Lock de Ugaz, Olga. Investigación Fitoquímica, métodos de estudio de productos naturales, Pontifica Univesidad Catolica Del Perú, edit fondo editorial, Perú. 1994 seg edic. pag: 123- 124
48. Bento EB, Júnior FEB, de Oliveira DR, Fernandes CN, de Araújo Delmondes G, Cesário FRAS, Rodrigues CKS, Sales VDS, de Figueiredo FRSDN, Lemos ICS, Monteiro ÁB, de Menezes IRA, da Costa JGM, Kerntopf MR. Antiulcerogenic activity of the hydroalcoholic extract of leaves of *Annona muricata* Linnaeus in mice. Saudi J Biol Sci. 2018; 25(4):609-621.
49. Huachaca R. Actividad gastroprotectora y antisecretora de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Juglans neotropica* Diels “nogal”. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico] Ayacucho: Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga; 2017.
50. Campos D. Efecto gastroprotector de los compuestos fenólicos aislados de las hojas de *Bixa Orellana* L. “achiote” en *Cavia porcellus* “cobayo”. [Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico] Ayacucho: Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga; 2018.
51. De Sales IRP, Formiga RO, Machado FDF, Nascimento RF, Pessoa MMB, Barros MEFX, Vieira GC, Gadelha FAAF, Marinho AF, Barbosa Filho JM, Júnior RFA, Antunes AA, Batista LM. Cytoprotective, antioxidant and anti-inflammatory mechanism related to antiulcer activity of *Cissampelos sympodialis* Eichl. in animal models. J Ethnopharmacol. 2018; 222 (1):190-200.

## **ANEXOS**



**Anexo 1.** Certificado de identificación botánica de *Annona muricata* L.  
“guanábana” Ayacucho 2018.



**EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
“SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA”**

**C E R T I F I C A**

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Sr. José Luis, AUCCATOMA CRUZ**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. y es como sigue:

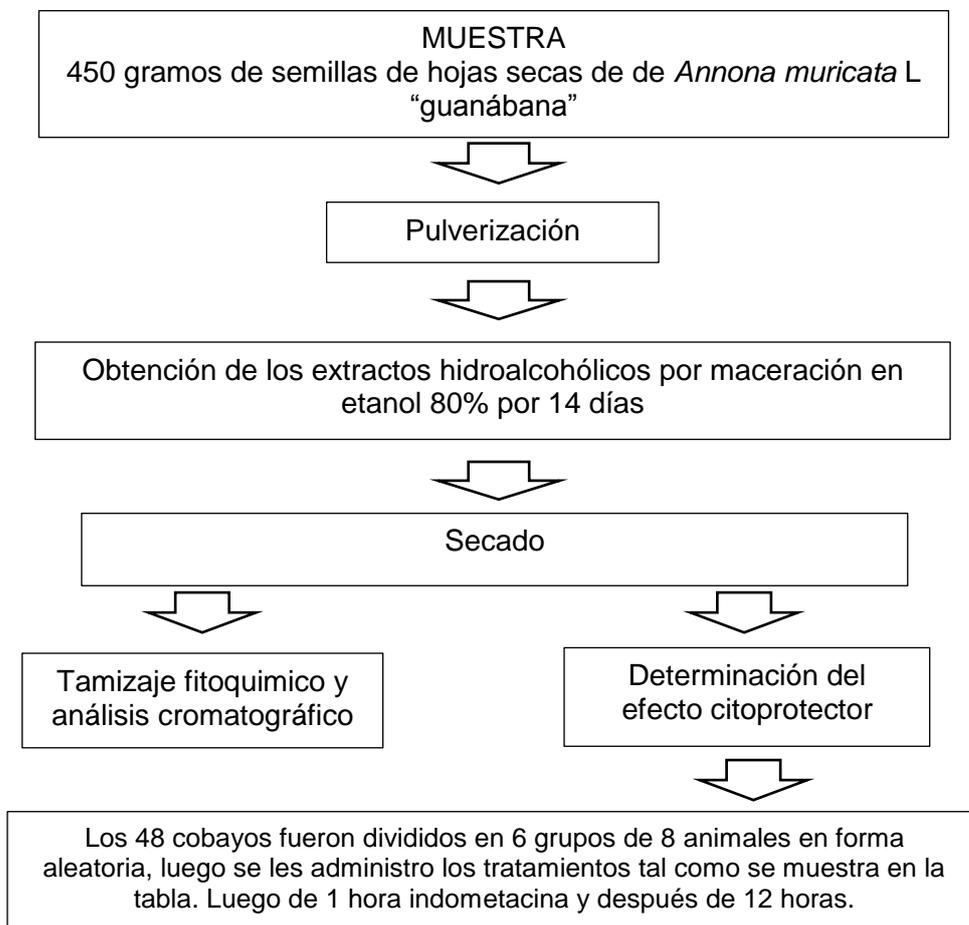
DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	MAGNOLIIDAE
ORDEN	:	MAGNOLIALES
FAMILIA	:	ANNONACEAE
GENERO	:	Annona
ESPECIE	:	<b><i>Annona muricata</i> L.</b>
N.V.	:	“guanábana”

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 11 de Setiembre del 2017

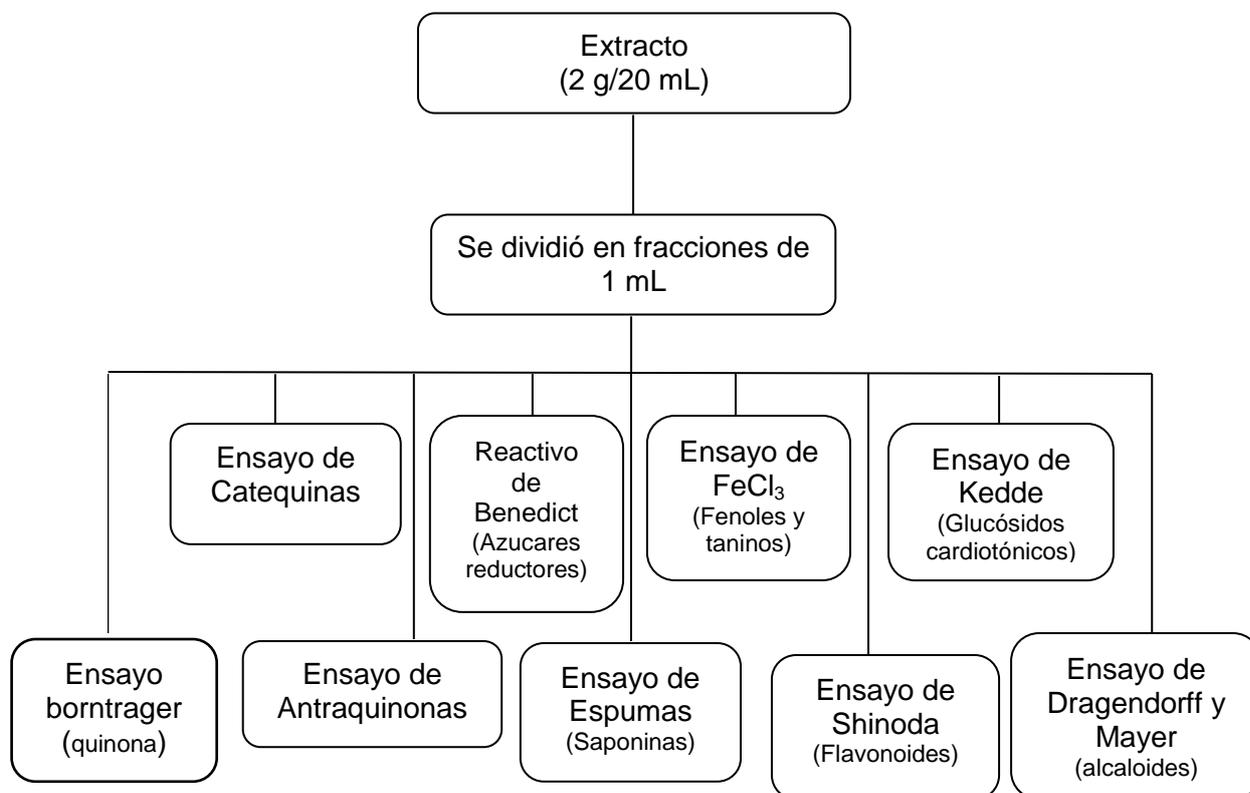
UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
HERBARIUM HUAMANGENSIS  
*Blga. Lucina Lucasime Medina*  
JEFE

**Anexo 2.** Flujograma del procedimiento para la obtención del extracto hidroalcohólico y determinación del efecto citoprotector de *Annona muricata* L “guanábana”. Ayacucho 2018.



Grupo	Repetición	Tratamiento	Vehículo y/o agente lesivo
I	8	Suero fisiológico 2mL/kg	Suero fisiológico 2mL/kg
II	8	Suero fisiológico 2mL/kg	Indometacina 80mg/kg
III	8	Omeprazol 10 mg/kg	Indometacina 80mg/kg
IV	8	E.H. <i>Annona muricata</i> L. 20 mg/kg	Indometacina 80mg/kg
V	8	E.H. <i>Annona muricata</i> L. 40 mg/kg	Indometacina 80mg/kg
VI	8	E.H. <i>Annona muricata</i> L. 80 mg/kg	Indometacina 80mg/kg

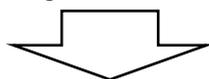
**Anexo 3.** Flujograma del tamizaje fitoquímico para la identificación de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”. Ayacucho 2018.



**Anexo 4.** Identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”. Ayacucho 2018.

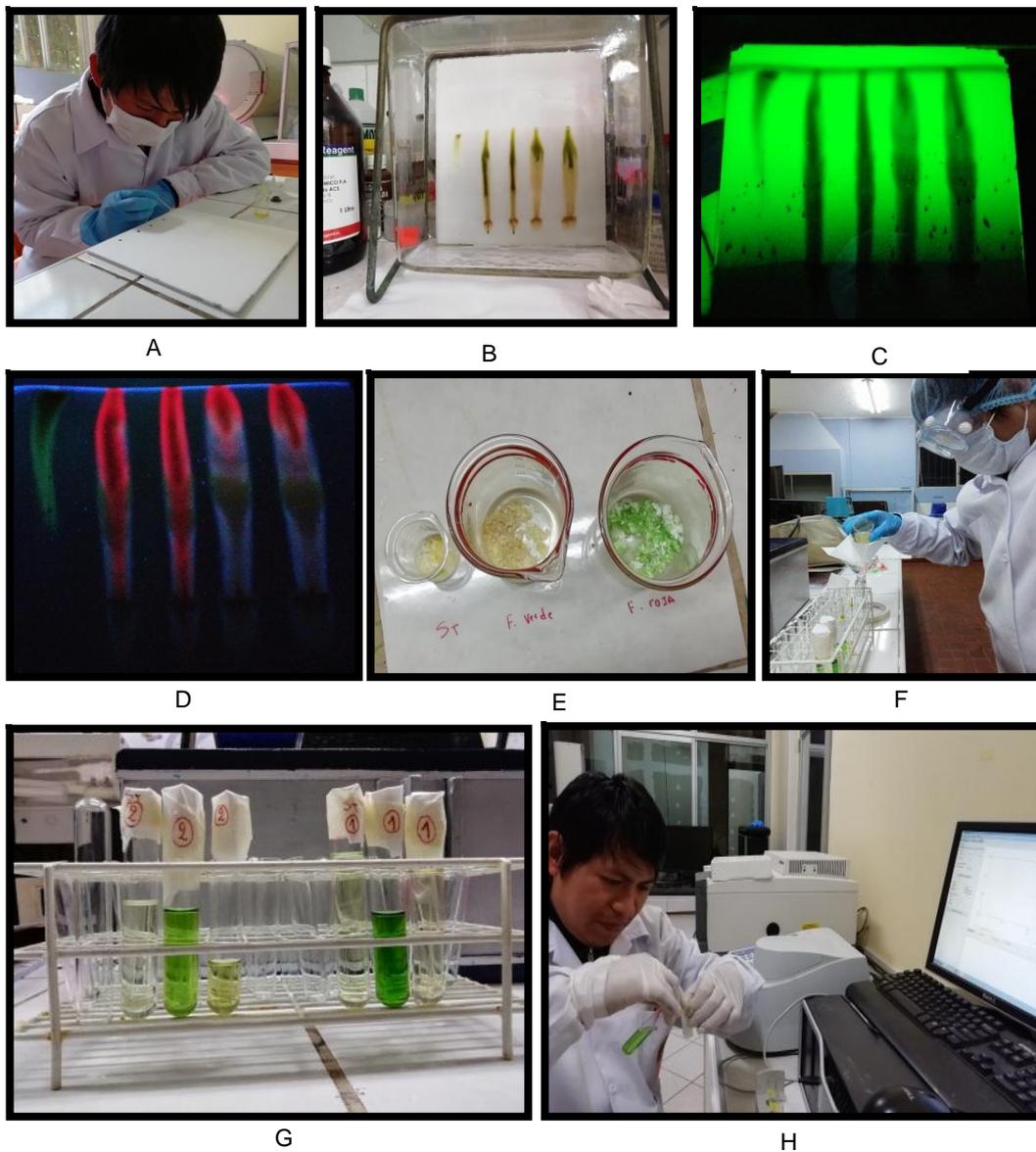


Extracto de *Annona muricata* L.  
“guanábana”



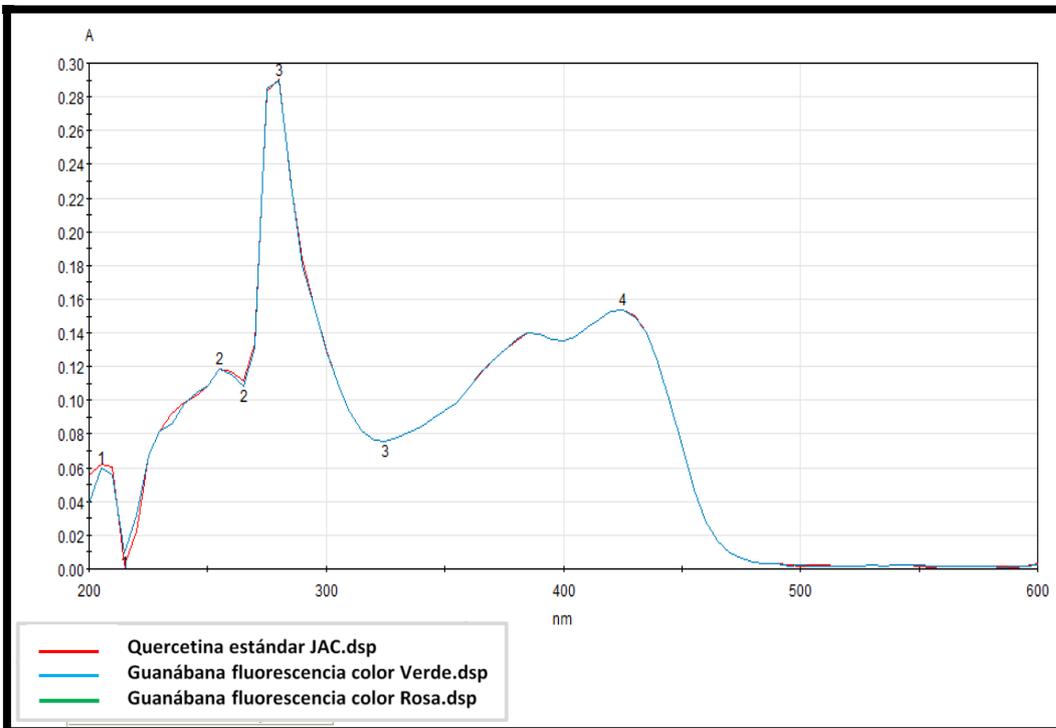
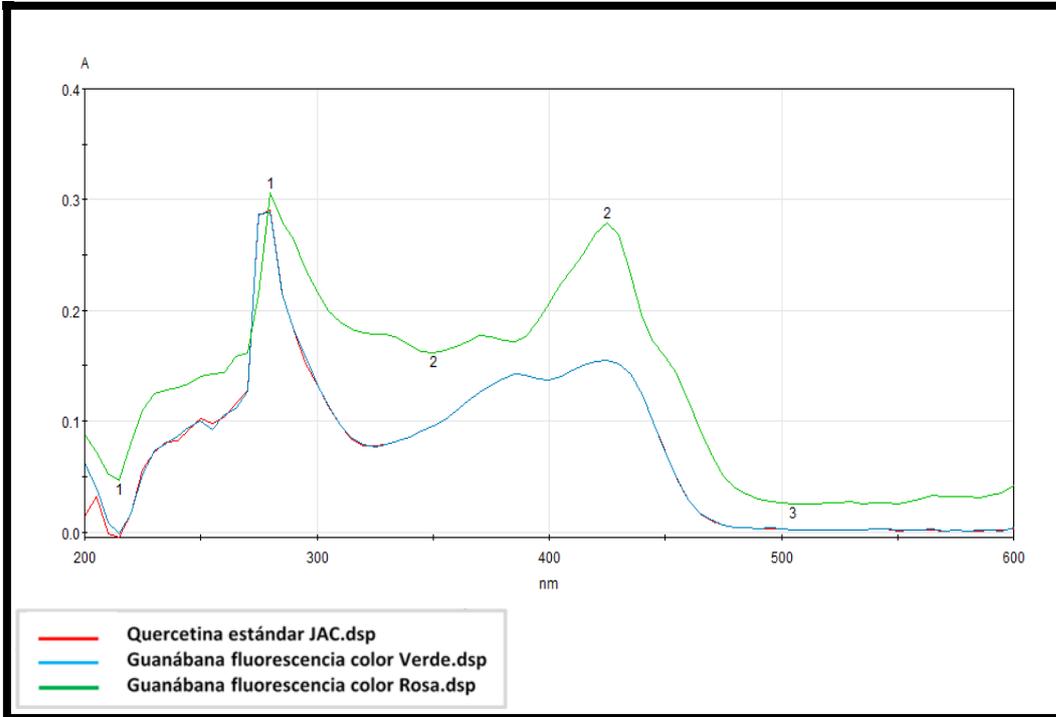
Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”

**Anexo 5.** Separación o recorrido cromatográfico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”. Ayacucho 2018.

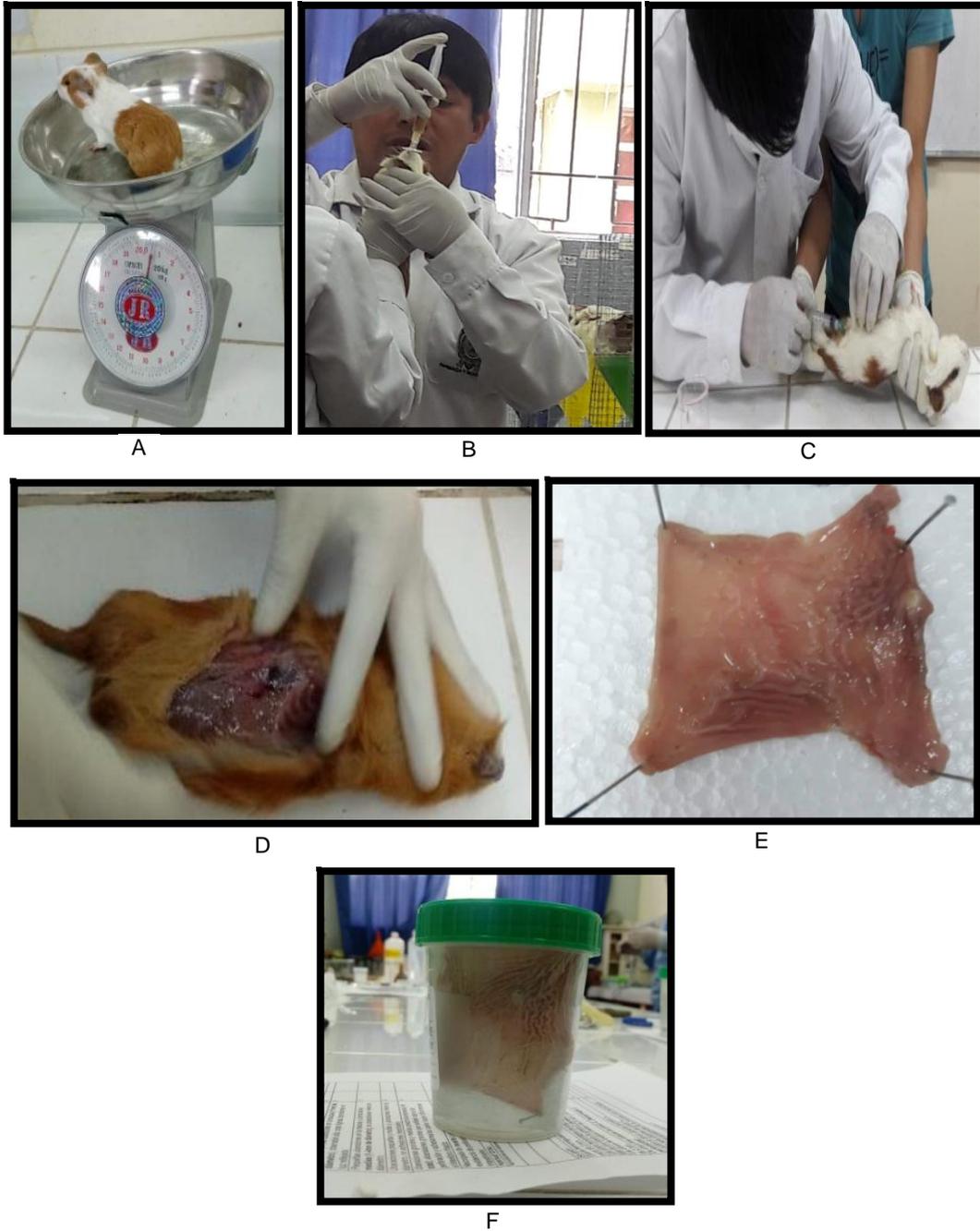


A, sembrado del extracto en la placa de silica gel; B, recorrido; C, lectura en el luz UV; D, lectura en el luz UV; E, reconstitución en metanol de las fluorescencias raspadas de la placa cromatográfica; F, proceso de filtrado de la reconstitución; G, filtrado; H, lectura en el espectrofotómetro.

**Anexo 6.** Gráfica de las lecturas espectrales realizado en el espectrofotómetro Genesys 6. UV/VIS del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”. Ayacucho 2018.

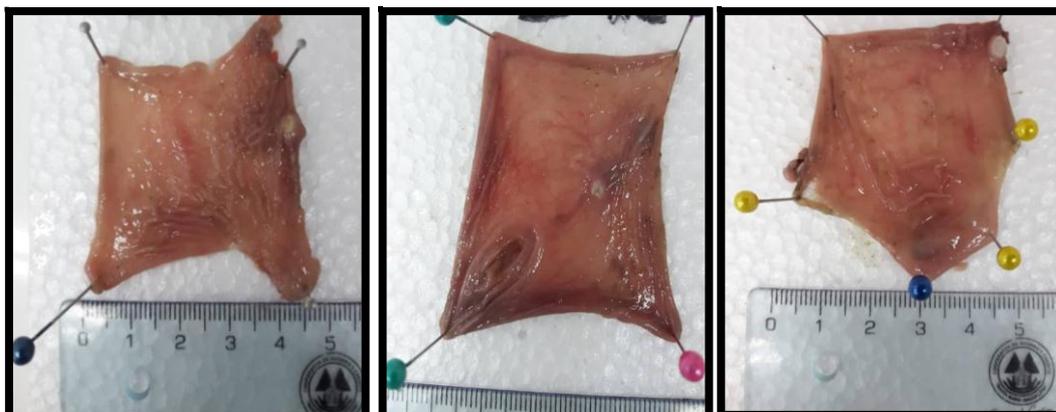


**Anexo 7.** Secuencia de la evaluación del efecto citoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. "guanábana". Ayacucho 2018.



A, pesado de los cobayos; B, administración de los tratamientos; C, administración de la indometacina; D, disección de los cobayos; E, estómago obtenido de los cobayos; F, conservación de los estómagos en formol 10%.

**Anexo 8.** Imágenes de los estómagos extirpados del grupo blanco, suero fisiológico 2 ml/kg de peso. Ayacucho 2018.



A

B

C



D

E

F



G

H

A, muestra 1; B, muestra 2; C, muestra 3; D, muestra 4; E, muestra 5; F, muestra 6; G, muestra 7; H, muestra 8.

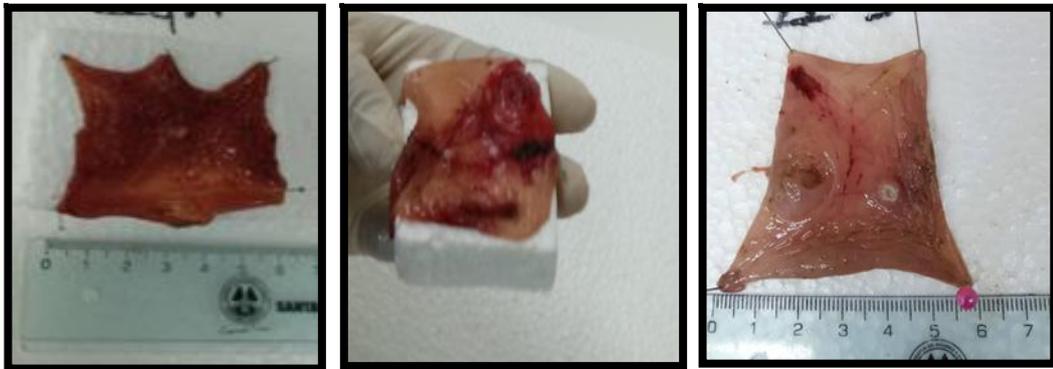
**Anexo 9.** Imágenes de los estómagos extirpados del grupo control con agente gastrolesivo Indometacina 80 mg/kg de peso.



A

B

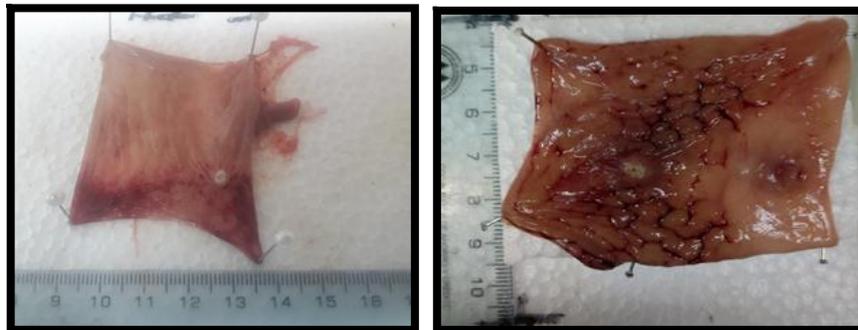
C



D

E

F



G

H

A, muestra 1; B, muestra 2; C, muestra 3; D, muestra 4; E, muestra 5; F, muestra 6; G, muestra 7; H, muestra 8.

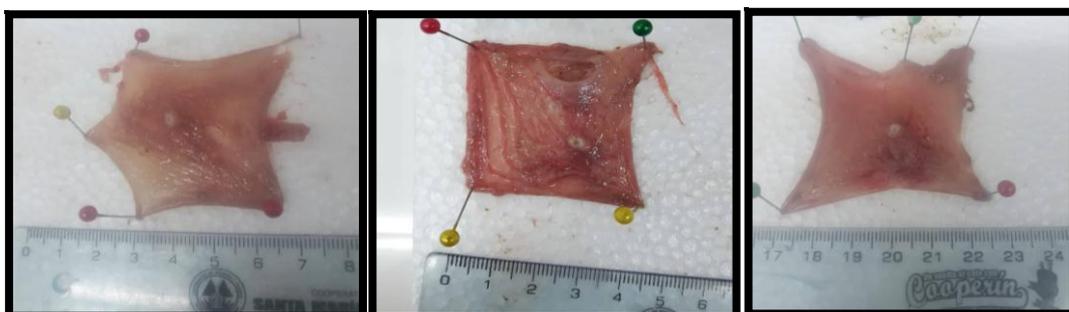
**Anexo 10.** Imágenes de los estómagos extirpados del grupo con omeprazol a dosis de 10 mg/kg como terapia citoprotectora.



A

B

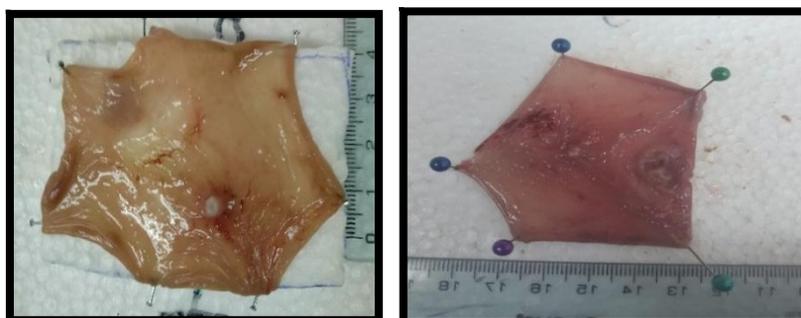
C



D

E

F

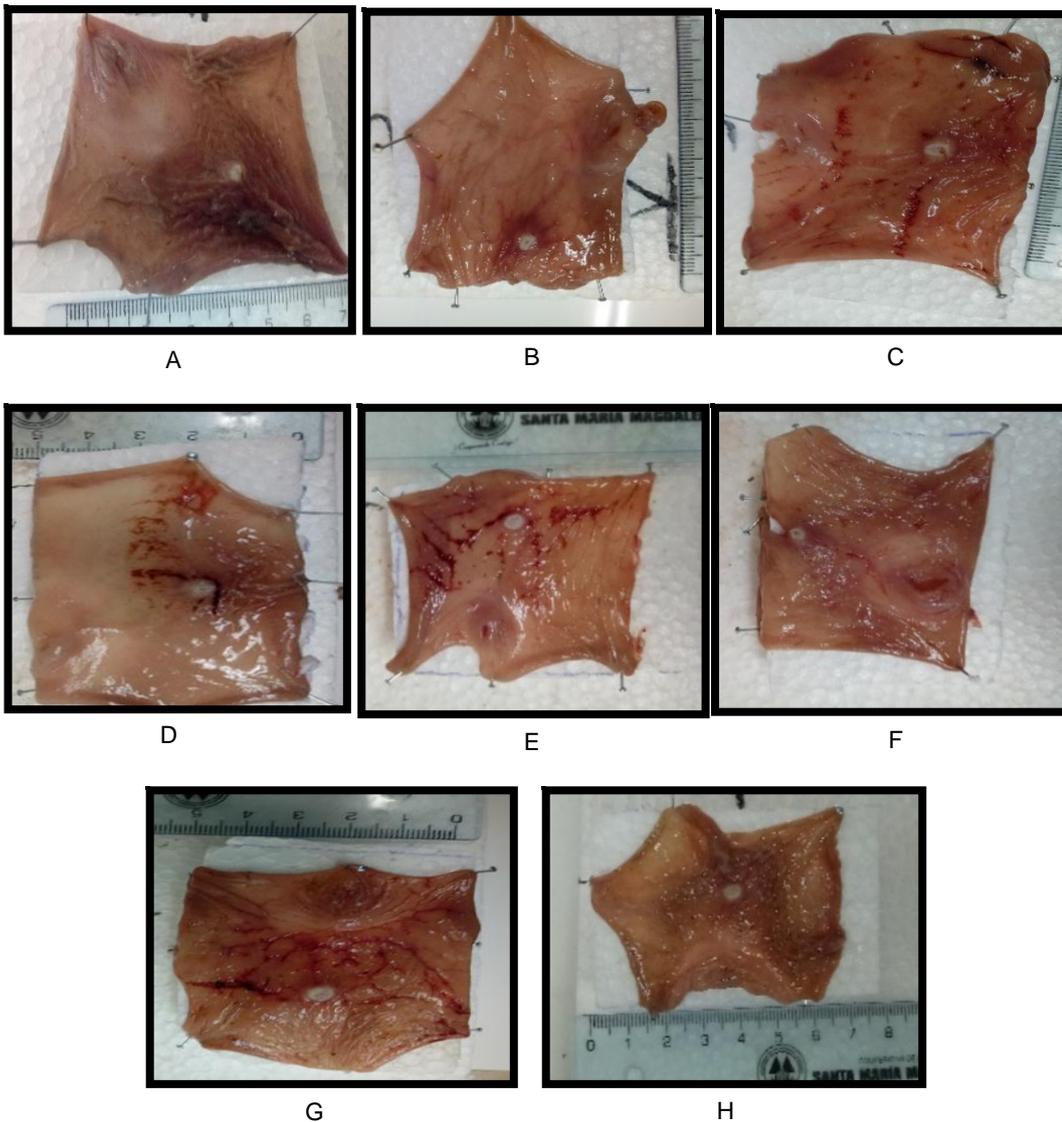


G

H

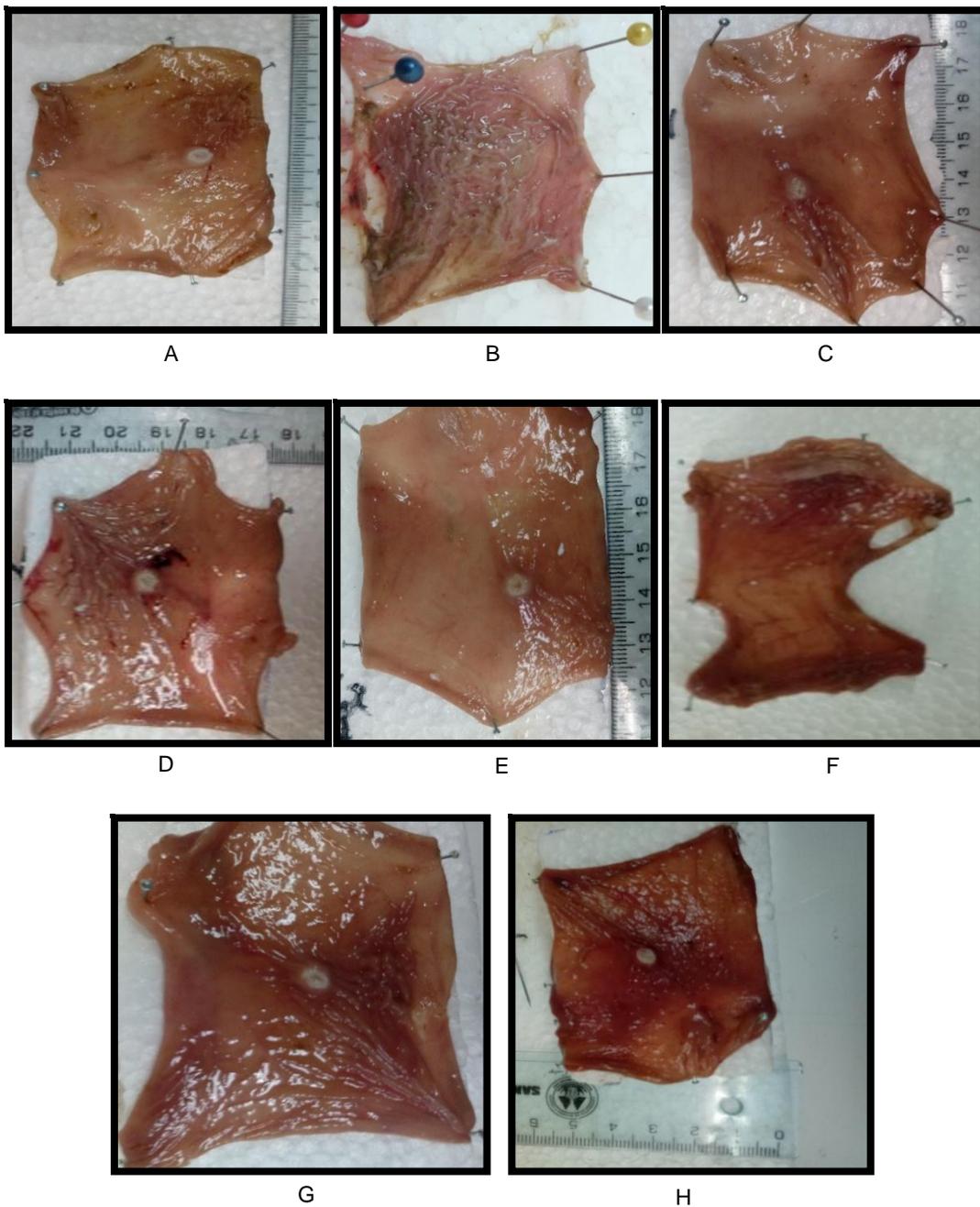
A, muestra 1; B, muestra 2; C, muestra 3; D, muestra 4; E, muestra 5; F, muestra 6; G, muestra 7; H, muestra 8.

**Anexo 11.** Imágenes de los estómagos extirpados del grupo con E.H. *Annona muricata* L. a dosis de 20 mg/kg como terapia citoprotectora.



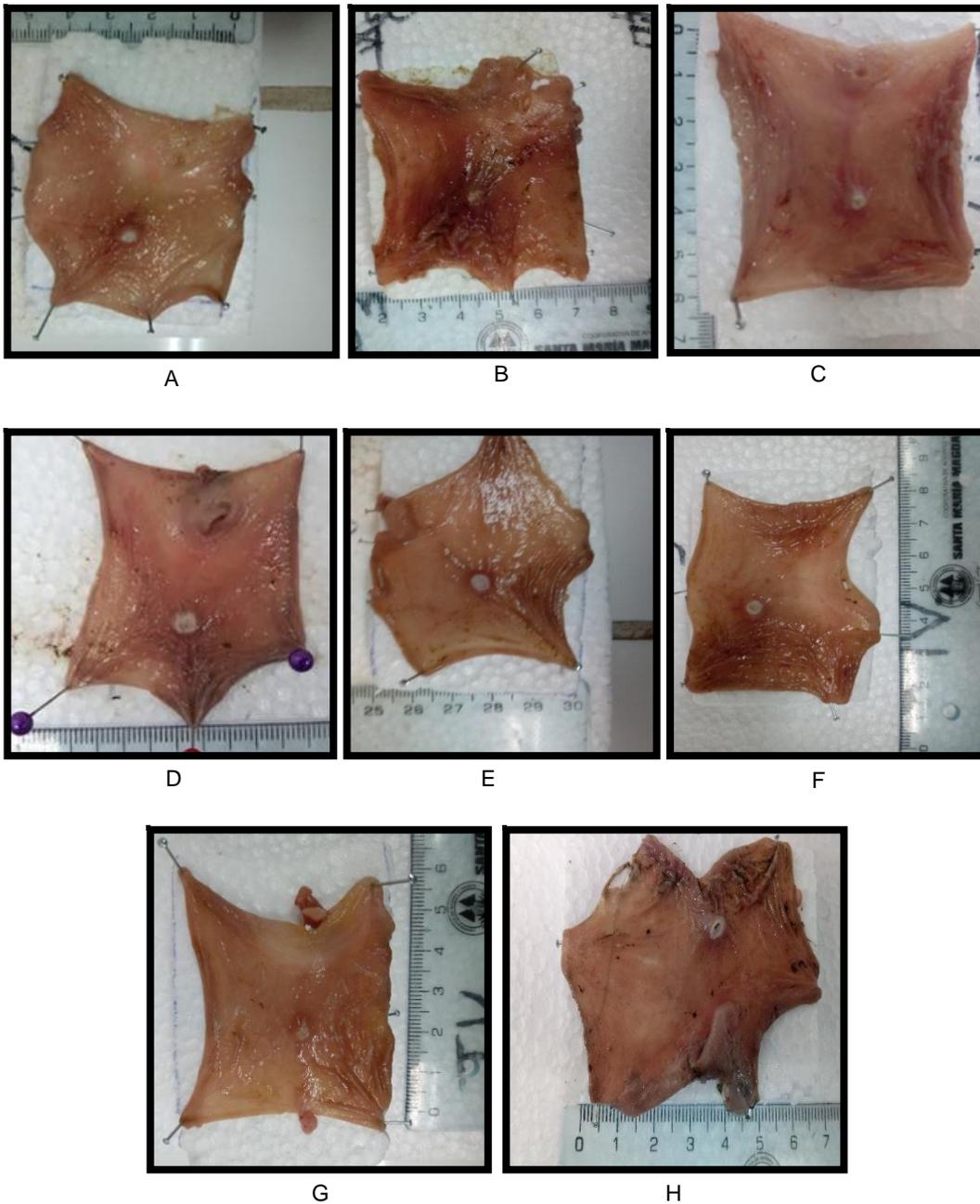
A, muestra 1; B, muestra 2; C, muestra 3; D, muestra 4; E, muestra 5; F, muestra 6; G, muestra 7; H, muestra 8.

**Anexo 12.** Imágenes de los estómagos extirpados del grupo con E.H. *Annona muricata* L. a dosis de 40 mg/kg como terapia citoprotectora.



A, muestra 1; B, muestra 2; C, muestra 3; D, muestra 4; E, muestra 5; F, muestra 6; G, muestra 7; H, muestra 8.

**Anexo 13.** Imágenes de los estómagos extirpados del grupo con E.H. *Annona muricata* L. a dosis de 80 mg/kg como terapia citoprotectora.



A, muestra 1; B, muestra 2; C, muestra 3; D, muestra 4; E, muestra 5; F, muestra 6; G, muestra 7; H, muestra 8.

**Anexo 14.** Índice de ulceración en los cobayos según la escala de Alada, por efecto de la administración de indometacina, omeprazol y extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”. Ayacucho 2018.

N°	Basal (NaCl 0,9%)	Indometacina 80 mg/kg	Omeprazol 10 mg/kg	Extracto 20 mg/Kg	Extracto 40 mg/Kg	Extracto 80 mg/Kg
1	0	3	1	1	1	0
2	0	3	1	1	0	0
3	0	2	0	1	1	1
4	0	3	1	0	0	0
5	0	2	0	1	1	0
6	0	3	1	2	0	1
7	0	2	0	1	2	0
8	0	3	1	1	1	1

**Anexo 15.** Porcentaje de inhibición de la formación de úlceras gástricas según a escala de Alada, por por efecto de la administración de omeprazol y extractos de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”. Ayacucho 2018.

TRATAMIENTOS	PUNTAJE	PROMEDIO	% INHIBICIÓN
Omeprazol 10 mg/Kg	5	0,625	76,19
Extracto 20 mg/Kg	8	1	61,90
Extracto 40 mg/Kg	6	0,75	71,43
Extracto 80 mg/Kg	3	0,375	85,71

**Anexo 16.** Prueba de Kruskal Wallis del índice de ulceración por efecto de la administración de los extractos de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”, omeprazol e indometacina. Ayacucho 2018.

**Rangos**

	Tratamientos	N	Rango promedio
Índice de ulceración	Basal (NaCl 0,9%)	8	10,50
	Indometacina 80 mg/Kg	8	44,13
	Omeprazol 10 mg/Kg	8	22,38
	Extracto 20 mg/Kg	8	28,56
	Extracto 40 mg/Kg	8	23,81
	Extracto 80 mg/Kg	8	17,63
	Total	48	

**Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup>**

	Índice de ulceración
Chi-cuadrado	30,384
gl	5
Sig. asintótica	,000

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación:

Tratamientos

**Anexo 17.** Análisis de varianza del porcentaje de inhibición de la formación de úlceras gástricas por efecto de la administración de por efecto de la administración de los extractos de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”. Ayacucho 2018.

**ANOVA**

% de Inhibición

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4622,120	3	1540,707	1142,258	0,01
Dentro de grupos	3831,937	28	136,855		
Total	8454,057	31			

**Anexo 18.** Prueba de comparaciones múltiples HSD Tukey del porcentaje de inhibición de formación de úlceras gástricas por efecto de la administración de los extractos de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”. Ayacucho 2018.

**PORCENTAJE DE INHIBICION**

TRATAMIENTO	N	HSD Tukey <sup>a</sup>		
		Subconjunto para alfa = 0.05		
		A	B	C
Omeprazol 10 mg/kg	8	76,19		
Extracto 20 mg/kg	8		61,9	
Extracto 40 mg/kg	8	71,43		
Extracto 80 mg/kg	8			85,71
Sig.		0,141	0,136	0,671

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 8,000.

## Anexo 19. Matriz de consistencia

TÍTULO: Efecto citoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. “guanábana”. Ayacucho 2018.

Autor: JOSÉ LUÍS AUCCATOMA CRUZ

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	MARCO TEÓRICO	VARIABLES	METODOLOGÍA
¿Tendrán efecto citoprotector el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana” en cobayos?	<p><b>General:</b> Evaluar el efecto citoprotector del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana” en cobayos.</p> <p><b>Específicos:</b> 1. Identificar la presencia de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. 2. Caracterizar mediante análisis cromatográfico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. 3. Realizar análisis histopatológicos de la citoarquitectura del estómago extirpados. 4. Determinar la dosis con mayor efecto citoprotector de las hojas de <i>Annona muricata</i> L.</p>	El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana” tiene efecto citoprotector en cobayos.	Antecedentes del estudio Aspectos botánicos de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana” Composición química Úlcera péptica Patogenia de la úlcera gástrica Extracto hidroalcohólico	<p><b>Independiente:</b> Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana” Indicadores: Dosis de 20; 40 y 80 mg/kg</p> <p><b>Dependiente:</b> Efecto citoprotector. Indicadores: Hiperemia, Hemorragia, úlcera y porcentaje de inhibición de ulcera gástrica.</p>	<p><b>Tipo de investigación</b> Básica – experimental.</p> <p><b>Población</b> Hojas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana” que crece en el distrito de Pichari, provincia de la Convención a 614 msnm.</p> <p><b>Muestra</b> 4 kg de hojas frescas de <i>Annona muricata</i> L. “guanábana”, que crece en el distrito de Pichari, provincia de la Convención a 614 msnm.</p> <p><b>Animales de experimentación</b> 48 cobayos machos adquiridos del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA), adultos entre 400 - 500 g de peso.</p> <p><b>Obtención del extracto hidroalcohólico</b> <b>Pruebas cualitativas</b> <b>Cromatografía en capa fina (CCF)</b> <b>Análisis espectral</b> <b>Evaluación del efecto citoprotector en cobayos. Se empleará el modelo experimental según Arroyo et al., con algunas modificaciones.</b> <b>ANÁLISIS DE DATOS</b> Los datos serán procesados utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 24.0. Se aplicará el análisis de varianza (ANOVA) y la posprueba subconjuntos homogéneos (HSDTukey). Se considera significativa una <math>p &lt; 0,05</math>, con intervalo de confianza al 95%. Se determinará la media y desviación estándar de los valores individuales obtenidos para los animales de cada grupo.</p>