

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA.

“Año del Buen Servicio al Ciudadano”



**EFEECTO ANTIULCEROSO DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE LA *Annona  
muricata* (GUANABANA) EN RATAS INDUCIDAS A  
ÚLCERA GÁSTRICA**

**Tesis para obtener al Título Profesional de Químico  
Farmacéutico y Bioquímico**

**TESISTAS:**

Bach. DE LA CRUZ JAVE ESPERANZA ANA

Bach. CALIXTO CHAHUA JANET SOFIA

**ASESOR:**

Mg. PEDRO JACINTO HERVIAS

**LIMA – PERÚ**

**2018**

## DEDICATORIA

### **A Dios.**

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me han permitido ser una persona de bien, pero más que nada por su amor.

## **AGRADECIMIENTO**

Quiero agradecer a mi distinguido maestro Mg. Pedro Jacinto Hervias. Por haberme apoyado en este proyecto de mi tesis.

Y a mi querida universidad Inca Garcilaso de la Vega, porque en sus aulas recibí las más gratas enseñanzas que nunca olvidare.

## ÍNDICE GENERAL

	Pág
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Índice General	
Índice Tablas	
Indice de Figuras	
Resumen	
Abstract	
INTRODUCCIÓN	1
<b>CAPÍTULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN</b>	<b>2</b>
1.1. Descripción de la realidad problemática	2
1.2. Formulación del problema	4
1.3. Problema general	4
1.4. Problemas específicos	5
1.5. Objetivos	5
1.5.1. Objetivo general	5
1.5.2. Objetivos específicos	5
1.6. Justificación e importancia del estudio	5
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO</b>	<b>7</b>
2.1. Antecedentes del estudio	7
2.1.1. Nacionales	7
2.1.2. Extranjeros	9
2.2. Bases teóricas	13
2.2.1. Úlcera gástrica	13
2.2.2. Epidemiología de la úlcera gástrica	13
2.2.3. Fisiopatología de la úlcera gástrica	14

2.2.4. Úlcera inducidas por antiinflamatorios no esteroideos (AINE)	15
2.2.5. Síntomas y signos de la úlcera péptica	16
2.2.6. Fármacos antiulcerosos inhibidores de la bomba de protones (IBP)	17
2.2.7. Fármacos antiulcerosos antihistamínicos H2	17
2.2.8. Annona muricata (Guanábana)	17
2.2.9. Metabolitos secundarios	19
2.2.10. Screening fitoquímico o Tamizaje fitoquímico	26
2.3. Hipótesis	27
2.3.1. Hipótesis general	27
2.3.2. Hipótesis específicas	27
2.4. Variables	28
2.4.1. Tabla de operacionalización de variables	28
2.5. Marco conceptual	28
<b>CAPÍTULO III: MÉTODO</b>	<b>30</b>
3.1. Tipo de estudio	30
3.2. Diseño del estudio	30
3.3. Población	34
3.4. Muestra	35
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	35
Procesamiento de dato	38
<b>CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS</b>	<b>38</b>
4.1. Presentación de resultados	38
4.1.1. Identificación taxonómica de la Hierba Santa	38
4.1.2. Principales grupos de metabolitos secundarios	38

4.1.3. Determinación de la dosis letal media	39
4.1.4. Determinación del efecto antiulceroso	40
4.2. Contrastación de hipótesis	43
4.3. Discusión de resultados	44
<b>CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>46</b>
5.1. Conclusiones	46
5.2. Recomendaciones	46
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>47</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>52</b>
Anexo 1: Matriz de consistencia	53
Anexo 2: Testimonios fotográficos	56
Anexo 3: Clasificación taxonómica de la Hierva Santa	

## ÍNDICE DE TABLAS

		Pág
Tabla 1.	Determinación de los principales grupos de metabolitos secundarios	36
Tabla 2.	Determinación de la toxicidad aguda oral. Determinación de la DL <sub>50</sub>	36
Tabla 3.	Lectura de observaciones de tejidos del estómago de ratas	37
Tabla 4.	Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> en ratas con inducción a úlcera gástrica	37
Tabla 5.	Determinación de los principales grupos de componentes activos	40
Tabla 6.	Número y porcentaje de mortalidad obtenido con el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> (Guanábana)	40
Tabla 7.	Lectura de observaciones del efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> (Guanábana) en modelo experimental de úlcera gástrica en ratas inducidas por etanol 96 %	42
Tabla 8	Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> (Guanábana)	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Rutas de biosíntesis de flavonoides	20
Figura 2. Biosíntesis de alcaloides derivados de reticulina	21
Figura 3. Rutas de biosíntesis de compuestos fenólicos	22
Figura 4. Rutas de biosíntesis de terpenos	24
Figura 5. Compuestos químicos de taninos condensados e hidrolizable	25
Figura 6. Relación del metabolismo del carbono con las rutas de síntesis de metabolismo secundario	26
Figura 7. Comportamiento de mortalidad en ratones según dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> (Guanábana)	41
Figura 8. Porcentaje de inhibición del efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> (Guanábana)	43



## Resumen

El objetivo fue determinar si el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) tiene efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica. El efecto antiulceroso se evaluó por el método de Lee, se usó el etanol 96 % a dosis de 10 mL/Kg de peso corporal como agente inductor de úlcera gástrica a ratas, se observaron en el estómago de ratas pérdida de pliegues, decoloración de la mucosa, edema, hemorragia, número de petequias e intensidad de la ulceración, así mismo se determinó la dosis letal media en ratones; dosis única en diferentes concentraciones del extracto que fueron 1000; 2000; 3000; 4000 y 5000 mg/Kg de peso corporal administrado por vía oral. Resultados; los metabolitos secundarios hallados en el extracto fueron; saponinas, taninos, flavonoides, esteroides, triterpenoides, compuestos fenólicos y alcaloides; la dosis letal media fue de 5000 mg/Kg de peso corporal. La dosis de 600 mg/Kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) presentó mejor efecto antiulceroso (80 % de inhibición) muy similar al grupo de la ranitidina (78 % de inhibición) ( $p > 0,05$ ), el efecto antiulceroso probablemente se debe a la presencia de flavonoides y taninos. Concluyéndose que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) tiene efecto antiulceroso y ha evidenciado ser seguro por tratarse de una sustancia no tóxica según las condiciones experimentales del estudio.

Palabras clave: *Annona muricata*, Guanábana, antiulceroso, DL<sub>50</sub>,

## Abstract

The objective was to determine if the hydroalcoholic extract of the leaves of *Annona muricata* (Guanábana) has antiulcer effect in rats induced gastric ulcer. The anti-ulcer effect was evaluated by the Lee method, 96% ethanol was used at a dose of 10 mL / Kg of body weight as a gastric ulcer-inducing agent in rats, follicle loss was observed in the stomach of rats, discoloration of the mucosa, edema, hemorrhage, number of petechiae and intensity of ulceration, likewise the mean lethal dose in mice was determined; single dose in different concentrations of the extract that were 1000; 2000; 3000; 4000 and 5000 mg / Kg of body weight administered orally. Results; The secondary metabolites found in the extract were; saponins, tannins, flavonoids, steroids, triterpenoids, phenolic compounds and alkaloids; the mean lethal dose was 5000 mg / Kg of body weight. The dose of 600 mg / Kg of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Annona muricata* (Soursop) showed better antiulcer effect (80% inhibition) very similar to the ranitidine group (78% inhibition) ( $p > 0.05$ ), The anti-ulcer effect is probably due to the presence of flavonoids and tannins. It is concluded that the hydroalcoholic extract of the leaves of *Annona muricata* (Guanábana) has an antiulcer effect and has proven to be safe because it is a non-toxic substance according to the experimental conditions of the study.

Key words: *Annona muricata*, Soursop, antiulcer, LD<sub>50</sub>

## INTRODUCCIÓN

Actualmente la química sintética rige la realidad terapéutica, sin embargo conviene precisar que estas moléculas son copias mejoradas de sustancias químicas que la naturaleza en forma espontánea ha creado. Desde aproximadamente dos décadas atrás, se ha observado un interés especial por el uso de plantas medicinales en los países desarrollados, para tratar diversas dolencias o enfermedades como por ejemplo, la prevención del cáncer y de enfermedades cardiovasculares las cuales se han asociado con la administración de frutas frescas, vegetales o infusiones ricas en antioxidantes naturales. La OMS reconoce la importancia de las plantas medicinales en el tratamiento y prevención de diversas enfermedades, así mismo la relevancia y repercusión a nivel económico por ser fuente de descubrimiento de nuevas drogas, que en algunos casos puede tener un costo muy inferior a la síntesis de nuevos fármacos.<sup>1</sup>

Gracias a su complejo metabolismo las plantas constituyen un “importante arsenal químico, en estas los principios activos se encuentran siempre biológicamente equilibrados por la presencia de otros componentes complementarios, que se potencian entre sí, por lo general no se acumulan en el organismo, y sus efectos indeseables están limitados. Sin embargo, a pesar que las investigaciones han aumentado, aún no se conocen muchos de los principios activos a los que deben las plantas sus propiedades terapéuticas.”<sup>2</sup>

Existe todavía un vacío en el conocimiento completo de la composición química de las plantas medicinales, lo que motiva la búsqueda de nuevos compuestos químicos y su relación con la actividad biológica y así darle carácter científico a la denominada medicina tradicional.<sup>3</sup> Para evaluar el efecto antiulceroso se utilizó un diseño metodológico de estudio pre clínico in vivo, de tipo experimental, prospectivo y longitudinal, empleando técnicas y métodos sustentados en estudios previos de investigaciones nacionales e internacionales. El presente estudio pretende aportar avances de la medicina tradicional, sobre el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* (guanábana).

## CAPITULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

### 1.1. Descripción de la realidad problemática

Una úlcera péptica es una llaga en la mucosa que recubre el estómago o el duodeno, que es la primera parte del intestino delgado. El síntoma más común es un ardor en el estómago. Las úlceras pépticas ocurren cuando los ácidos que ayudan a digerir los alimentos dañan las paredes del estómago o del duodeno.<sup>4</sup> Las úlceras de estómago o úlceras gástricas suelen afectar a las personas mayores de 50 años. Estudios en España señalan que entre un 15 y un 25% de la población sufren úlcera de estómago en algún momento de su vida. “Entre las causas más comunes de úlcera gástrica son: elevada producción de ácidos estomacales, alteración de los movimientos del estómago, presencia de la bacteria *Helicobacter pylori* en el estómago, determinados medicamentos como, por ejemplo, los antiinflamatorios no esteroideos, los corticosteroides, el estrés, el síndrome de Zollinger Ellison, una enfermedad que segrega altos niveles de la hormona gastrina.”<sup>5</sup>

De Pardo escribe, “el *Helicobacter pylori* (HP) es un patógeno, gramnegativo, capaz de producir diversos trastornos gastrointestinales en seres humanos, es la causa más frecuente de gastritis crónica, asociado con úlceras gastrointestinales y cánceres gástricos. El papel del HP como patógeno en adultos ha sido ampliamente demostrado, sin embargo en niños, es mucho aún el camino a recorrer para determinar su relevancia en el área pediátrica. Es una bacteria con alta prevalencia en países en vías de desarrollo por sus inadecuadas condiciones de saneamiento ambiental y por la extendida contaminación del agua, y a través de esta, la contaminación de hortalizas y vegetales” (De Pardo G, 2013).<sup>6</sup>

En el Perú, Klein et al, informaron “una alta prevalencia de la infección en los primeros meses de vida, sin embargo, esta disminuyó progresivamente en los siguientes meses, sugiriendo que la colonización por HP es un proceso reversible. Los adultos que manifiestan síntomas por HP, probablemente contrajeron la infección en la infancia”.<sup>7</sup>

Zavaleta indica que “existe interés en organizaciones internacionales de salud por conocer y difundir las propiedades terapéuticas que tienen los alimentos de consumo habitual, especialmente por su aporte de moléculas protectoras (nutracéuticos) contenidas en frutas y hortalizas y que son el resultado del metabolismo secundario que poseen todos los vegetales. Algunas de esas sustancias, como los ácidos fenólicos, flavonoides o polifenoles del tipo  $C_6C_3C_6$ , además de otras propiedades bioquímicas, son potentes antioxidantes en las células animales (Zavaleta J, 2005).”<sup>8</sup>

Naito escribe que “los compuestos con actividad antioxidante reducen la incidencia y severidad del daño gástrico inducido por factores agresivos en particular, la capacidad de algunos extractos naturales para capturar el radical hidroxilo en el modelo de úlcera gástrica inducida por indometacina, en el cual se producen altas concentraciones” (Naito Y, 2006).”<sup>9</sup> Así mismo; Zavaleta establece que “numerosas investigaciones han evaluado la capacidad antioxidante de los flavonoides frente a los radicales libres. Casi todos los resultados coinciden en que los flavonoides con sustituyentes dihidroxílicos en posiciones 3' y 4' en el anillo B se muestran más activos como antioxidantes y que este efecto es potenciado por la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo hidroxilo libre en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4; como sucede con la quercetina.”

Por su parte Morazzoni et al. pusieron de manifiesto que la “rutina seguida de la quercetina se comportan como los secuestradores más fuertes de radicales libres. Existe consenso que la actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y secuestradoras de radicales libres (Morazzoni P, 1988).”<sup>10</sup>

Zorofchian escribe que los “extractos acuosos y metanólicos de la *Annona muricata* tiene actividades antioxidantes. Las semillas y las hojas de la planta poseen antioxidantes enzimáticos, incluyendo catalasa y superóxido dismutasa, y antioxidantes no enzimáticos, incluyendo la vitamina C y E. El extracto etanólico del corteza del tallo causó una reducción de la peroxidación lipídica inducida por el estrés de inmovilización en frío en cerebro y el hígado de las ratas. El extracto de

corteza del tallo (200 mg / kg) también mostró efectos protectores contra el estrés oxidativo inducido por el tetracloruro de carbono en ratas. Estos hallazgos sugieren el uso potencial de la *Annona muricata* como una fuente natural de antioxidantes” (Zorofchian et al. 2015).<sup>11</sup>

Los fármacos usados para el tratamiento de las úlceras gástricas, suelen tener reconocidos “efectos adversos y acceso limitado debido a su costo, sin embargo es necesario investigaciones que permitan incorporar productos naturales alternativos de bajo costo, que puedan ser una opción terapéutica en el tratamiento de las úlceras gástricas con la menor cantidad de efectos adversos. Para este fin es necesario promover investigaciones que busquen obtener productos a base de materia prima vegetal. Para ello es necesario investigaciones en modelos animales de experimentación, para generar sustratos científicos que posteriormente permitan el uso en seres humanos.” (11)

## **1.2. Formulación del problema**

La fitoterapia utiliza componentes químicos capaces de contrarrestar el problema de salud, su efectividad se basa en el fitocomplejo, es decir en el conjunto de componentes químicos y los otros componentes naturales contenidos en la droga natural.<sup>1</sup> Los componentes químicos presentes en las plantas con propiedades terapéuticas poseen estructuras químicas muy variadas y pueden conducir a resultados terapéuticos o tóxicos diferentes. De este es importante realizar investigaciones, en torno al aprovechamiento de los diversos componentes químicos de las plantas y su evaluación biológica, a fin de dar sustento científico a nuestra medicina tradicional.<sup>12</sup>

## **1.3. Problema general**

1. ¿Cuál es el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Annona muricata* (guanábana) en ratas inducidas a úlcera gástrica?

#### **1.4. Problemas específicos**

1. ¿Cuál será la dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Annona muricata* (Guanabana) que tendrá mejor efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica?
2. ¿Cuáles serán los componentes activos del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Annona muricata* (Guanabana) responsable del efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica?
3. ¿Cuál será la dosis letal media del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Annona muricata* (Guanabana) en ratones?

#### **1.5. Objetivos**

##### **1.5.1. Objetivo general**

1. Determinar el efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Annona muricata* (guanábana) en ratas inducidas a úlcera

##### **1.5.2. Objetivos específicos**

1. Determinar la dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Annona muricata* (Guanabana) que tiene mejor efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica
2. Determinar los componentes activos del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Annona muricata* (Guanabana) responsable del efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica
3. Determinar la dosis letal media del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Annona muricata* (Guanabana) en ratones

#### **1.6. Justificación e importancia del estudio**

Es frecuente encontrar en la práctica clínica episodios de hemorragias gastrointestinales, siendo las principales causas la úlcera duodenal (24,5%), la úlcera gástrica (19,8%) y várices esofagogástricas (15%), en Estados Unidos se han encontrado más de 300,000 hospitalizaciones en forma anual por este episodio y en Gran Bretaña se ha reportado que la

tasa de mortalidad es de 14% siendo el consumo de antiinflamatorios no esteroideos, los calcio antagonistas y la no erradicación del *Helicobacter pylori* entre las causas principales de úlceras y sangrado gastrointestinal.<sup>13</sup>

El presente investigación pretende contribuir con ampliar el conocimiento sobre la actividad del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Annona muricata* (Guanabana) en ratas, para el tratamiento de la úlcera gástrica, contribuyendo así a dar una respuesta a los esquemas actuales con la propuesta de una nueva alternativa de tratamiento. Así también se pretende proporcionar evidencias científicas sobre el uso terapéutico en la úlcera gástrica del extracto en estudio, en la población y orientar su producción con fines terapéuticos.

Los resultados del presente estudio puede beneficiar a la población en general, en particular a los pacientes que sufren de úlcera gástrica, al brindar sustento científico sobre el uso adecuado de la planta en estudio. De otro lado también los productores y comercializadores de la *Annona muricata* (Guanábana) se pueden beneficiar con los resultados, porque al demostrarse su efectividad se generará mayor demanda del producto.



## CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes del estudio

#### 2.1.1. Nacionales

Quispe A et al, estudiaron el “Efecto citotóxico de *Annona muricata* (guanabana) en cultivo de líneas celulares de adenocarcinoma gástrico y pulmonar”, determinaron la actividad antitumoral del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* “in vitro” en líneas celulares de adenocarcinoma de pulmón y gástrico, estudio de tipo experimental. Emplearon líneas celulares tumorales C- 678 y H-460. y se comparó su actividad con el fármaco 5 Fluoruracilo. Usaron como control a las células VERO. Hallaron el porcentaje de crecimiento celular para cada dilución en cada línea celular comparando el número de células antes y después de la aplicación del extracto y del fármaco, obteniéndose la concentración inhibitoria de crecimiento medio (GI50) para cada línea celular encontrándose para H460, C678 y VERO con extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* menos de 0.00022, y con 5 Fluoruracilo 0.003, 0.0013 y 0.0043 mg/ml respectivamente. “Concluyeron que el extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* mostró tener efecto citotóxico sobre las líneas tumorales C678 y H460. Las concentraciones de extracto etanólico utilizadas parecen ser más citotóxicas que las concentraciones homólogas de 5 Fluoracillo (Quispe A et al. 2007).”<sup>13</sup>

Poma E et al, en su Estudio fitoquímico y actividad antiinflamatoria de la *Annona muricata* L. (Guanábana) de Cuzco, en el cual “demostraron mediante análisis fitoquímico la presencia de flavonoides. Clasificaron al extracto acuoso como no tóxico según el método de dosis límite para la determinación de toxicidad aguda, resultado que fue avalado con el estudio macroscópico de órganos. Con el empleo del método del edema plantar en ratas inducido por  $\lambda$ -carragenina, se demostró que el extracto acuoso a una concentración de 1,5 mg/kg posee actividad antiinflamatoria

significativa comparado con indometacina. El análisis estadístico que emplearon fue ANOVA a 95 % de confianza (Poma E et al. 2011).”<sup>14</sup>

Quispe A et al, estudiaron el “Efecto citotóxico selectivo in vitro de muricin H (acetogenina de *Annona muricata*) en cultivos celulares de cáncer de pulmón”, en el cual “determinaron la actividad citotóxica selectiva de muricin H en la línea celular H460 (cáncer de pulmón de células grandes). Las líneas H460 y 3T3 (fibroblastos normales de ratón), fueron expuestas a seis concentraciones de muricin H (62,5, 15,6, 3,9, 0,98, 0,24, 0,06 µg/mL), e iguales concentraciones de 5-fluorouracilo (5-FU) usado como control positivo. Hallaron los porcentajes de crecimiento en 48 horas, luego se determinó la concentración inhibitoria de crecimiento 50 (CI50) mediante análisis de regresión linear y se obtuvieron los coeficientes de correlación de Pearson. Calcularon el índice de selectividad de cada muestra. Los CI50 en µg/mL de muricin H fueron <0,06 (r = -0,96; p<0,005) para H460; y 6,16 (r = -0,96; p<0,025) para 3T3. Los CI50 de 5-fluorouracilo fueron 0,46 (r = -0,95; p<0,005) para H460 y 0,29 (r = -0,88; p =0,01) para 3T3. Los índices de selectividad para muricin H y 5-FU fueron: >102,6 y 0,63 respectivamente. Demostraron la acción citotóxica selectiva in vitro del muricin H, porque tuvo mayor efecto citotóxico para la línea H460, y menor para la línea 3T3 en relación con el 5-fluorouracilo” (Quispe A et al. 2006).<sup>15</sup>

Castañeda et al. Evaluaron el efecto del extracto acuoso y del extracto metanólico de la semilla de *Lupinus mutabilis sweet* sobre las lesiones producidas en la mucosa gástrica inducido por indometacina administrado por vía oral en dosis de 75 mg/kg, utilizaron ratas machos de aproximadamente 250g de peso. El fármaco patrón utilizado fue la ranitidina vía oral 100 mg/kg. Las sustancias fueron administradas por vía oral, previo ayuno de 48 horas, media hora antes de la indometacina. A las 5 horas, los animales fueron sacrificados; realizándose la laparotomía para

extraer el estómago y observar las lesiones producidas. “La observación se realizó por inspección macroscópica directa y microscópica confirmándose estadísticamente la existencia de propiedades antiulcerosas para el extracto acuoso al 10% en cocimiento por 10 minutos, determinaron que la acción protectora parece ser independiente de la secreción de ácido (Castañeda et al. 2013).”<sup>16</sup>

Arroyo J et al, estudiaron el “efecto gastroprotector y antisecretor de un fitofármaco de hojas de matico (*Piper aduncum*). Determinaron el efecto gastroprotector y antisecretor del extracto etanólico de las hojas de matico (*Piper aduncum*) en modelos de animales”. “Para evaluar el efecto gastroprotector utilizaron 220 ratones de la cepa Balb C57, a los cuales se les indujo la formación de úlceras gástricas con indometacina 120 mg/Kg de peso, la gastroprotección se determinó a través de tres aspectos: inflamación, número de bandas hemorrágicas y número de úlceras. Para evaluar el efecto antisecretor utilizaron 64 ratas machos cepa holtzmann, la antisecreción se realizó con el ensayo de ligazón pilórica, al grupo control se le administró ranitidina 100mg/Kg. Concluyen que en condiciones experimentales los extractos etanólicos, sus fracciones y su fitofármaco son gastroprotectores en ratones y antisecretores en ratas” (Arroyo J et al. 2013).<sup>17</sup>

### **2.1.2. Extranjeros**

Oviedo et al, realizaron el estudio sobre el extracto y fracción alcaloidal de *Annona muricata* con actividad de tipo ansiolítica en ratones, para el cual evaluaron el “efecto neurológico ejercido por el extracto hidroalcohólico (40%) obtenido de las hojas de *Annona muricata* (0,5 g/kg, vo) en ratones albinos mediante pruebas tendientes a detectar posible actividad de tipo anticonvulsivante (electrochoque-pentilentetrazol), antidepresiva (nado forzado), hipnótica (potenciación de sueño barbitúrico) y ansiolítica (laberinto

en cruz). Además examinaron la unión con radioligando del extracto a receptores de benzodiazepina, se efectuó el análisis fitoquímico y a la fracción alcaloidal obtenida se le aplicó la prueba del laberinto en cruz (0,5 g/kg, vo), según los resultados previos obtenidos con el extracto. Finalmente se evaluó la toxicidad del extracto (0,1-10 mg/mL) sobre las líneas celulares ecv-304 y k562. Los hallazgos sugieren “que compuestos de tipo alcaloidal presentes en *Annona muricata* tendrían efectos de tipo ansiolítico (53% y 58% de tiempo y frecuencia de acceso a las zonas abiertas en la prueba de laberinto en cruz elevado), no vinculados a la activación de receptores de benzodiazepinas y carentes de efectos citotóxicos in vitro. Estos datos ayudan a dar soporte al uso etnobotánico de esta especie (Oviedo et al. 2009).”<sup>18</sup>

Boffill et al. Realizaron un estudio y “comprobaron experimentalmente la actividad gastroprotectora atribuida al fruto de la *Musa sp* ABB sobre úlceras inducidas por etanol en ratas Sprague Dawley machos, empleando suspensiones acuosas de la cáscara y la pulpa en concentraciones de 200mg/100g, 300mg/100g y 400mg/100g, que fueron administrado por vía oral 30 minutos antes de administrar el agente ulcerogénico; “hallaron que las preparaciones de la pulpa y la cáscara del fruto presentan efecto gastroprotector lo que puede atribuirse al predominio de polifenoles como la catequina y quercetina; alcaloides en especial derivados del tropano como la hiosciamina en su composición. Se recomienda realizar extracto alcohólicos o hidroalcohólicos del fruto e investigar su composición química, actividad gastroprotectora y efectos toxicológicos para ampliar el conocimiento y valorar mejor sus propiedades terapéuticas. (Boffill et al. 2007).”<sup>19</sup>

Zorofchian et al, escriben que la “*Annona muricata* es un miembro de la familia Annonaceae, también conocido como guanábana, graviola y guanabana, es una planta perenne que se distribuye principalmente en las regiones tropicales y subtropicales del

mundo. Los frutos se utilizan ampliamente para preparar jarabes, caramelos, bebidas, helados y batidos. Una amplia gama de actividades etnomedicinales se contribuye a diferentes partes de *Anona muricata* y comunidades indígenas en África y América del Sur ampliamente, utilizan esta planta en su medicina popular como anticancerígenos, anticonvulsivos, antiartríticos, antiparasitarios, antimaláricos, hepatoprotector y antidiabético. Los estudios fitoquímicos revelan que los anonáceos acetogeninas son los principales constituyentes. Las acetogeninas se han aislado de hojas, cortezas, semillas, raíces y frutos de *Annona muricata*” (Zorofchian et al. 2015).<sup>11</sup>

Yang et al, escriben que “las hojas de *Annona muricata*, comúnmente conocidas como Graviola, son conocidas por ser ricas en Flavonoides, alcaloides de isoquinolina y acetogeninas anonáceas. La sinergia fitoquímica entre los componentes del extracto de hoja de Graviola (GLE) en comparación con sus fracciones enriquecidas en flavonoides (FEF) y enriquecidas con acetogenina (AEF) en la cuantificación comparativa de flavonoides, reveló enriquecimiento de rutina (7 veces) y quercetina-3-glucósido (Q-3-G, 3 veces) en FEF en comparación con GLE. La farmacocinética in vivo y la cinética de absorción in vitro de los flavonoides revelaron una mayor biodisponibilidad de rutina en FEF en comparación con GLE. Sin embargo, GLE fue más eficaz en la inhibición in vitro de la proliferación del cáncer de próstata, la viabilidad y la capacidad clonogénica en comparación con FEF. La administración oral de 100 mg / kg pc de GLE mostró una inhibición del crecimiento del tumor 1,2 veces mayor eficacia de FEF en xenoinjertos de tumor de próstata humanos, aunque la concentración de rutina y Q-3-G fue más en FEF. Por el contrario, AEF, a pesar de su eficacia in vitro e in vivo, dio lugar a la muerte de los ratones debido a la toxicidad. Los datos indican que a pesar de una menor absorción y biodisponibilidad de la rutina, se alcanzó la máxima eficacia en el caso de GLE, que también comprende

otros grupos fitoquímicos incluyendo acetogeninas que conforman su entorno complejo natural. Por lo tanto, hacen hincapié en la evaluación de la naturaleza de las interacciones entre los fitoquímicos foliares de Graviola para el tratamiento del cáncer de próstata para lograr beneficios terapéuticos óptimos” (Yang et al. 2015).<sup>20</sup>

Azim et al, escriben que la “Anona muricata en su hojas tienen presencia de alcaloides, taninos, flavonoides, saponinas, antraquinonas y glucósidos cardíacos. Realizaron un estudio para investigar los efectos del extracto foliar de *Annona muricata* Linn, en el nivel de creatinina sérica y daño de la estructura celular tubular de las células renales y la expresión de caspasa-9 en glomérulos y células tubulares. Los animales (n = 20) fueron agrupados a (control), I, II, y III. Los animales experimentales del grupo I se administraron con 10 mg / kg de peso corporal / día *Annona muricata* extracto en solución salina durante 40 días, el grupo II se administraron con 20 mg / kg de peso corporal / día *Annona muricata* en solución salina durante 40 días y III se administraron con 40 mg / kg de peso corporal / día de *Annona muricata* en solución salina durante 40 días y luego observaron el efecto sobre la concentración sérica de creatinina por ELISA. Se fijaron y procesaron células tubulares para examinar los cambios histológicos y expresión de caspasa-9 en glomérulos y células tubulares. Concluye que el uso de la planta medicinal *Annona muricata* a la dosis de 10, 20, y 40 mg / kg de peso corporal en solución salina por vía oral durante 40 días, causa daño renal que conduce a insuficiencia renal. Así, para el uso a largo plazo, la función renal debe ser controlada” (Azim et al. 2013).<sup>21</sup>

## **2.2. Bases teóricas**

### **2.2.1. Úlcera gástrica**

La denominada úlcera péptica se refiere a la “tendencia a desarrollar úlceras en lugares expuestos a la acción del jugo péptico (ácido y pepsina). La bacteria llamada *Helicobacter pylori* es una de las mayores causas de las úlceras pépticas. Otra causas comunes, son los medicamentos antiinflamatorios no esteroides (AINE). Las úlceras pépticas no son causadas por estrés ni por comer comidas picantes, pero ambas pueden empeorar los síntomas de la úlcera. Fumar y tomar bebidas alcohólicas puede empeorar las úlceras y hasta evitar que sanen.”<sup>22</sup>

### **2.2.2. Epidemiología de la úlcera péptica**

La ulcera péptica es una enfermedad relativamente extendida y frecuente, aproximadamente un 10% de la población presenta síntomas de una úlcera péptica (UP) a lo largo de su vida y al menos un 25% de éstos tienen complicaciones graves, que requieren asistencia hospitalaria en muchos casos. “Apenas afecta a la esperanza de vida de los pacientes, siendo su tasa de mortalidad (debido a las complicaciones) de 2 a 3 casos por 100.000 habitantes. La úlcera duodenal, es la más frecuente, apareciendo con mayor frecuencia en varones. Por el contrario no existen diferencias en la úlcera gástrica, en lo que al sexo se refiere.”<sup>(23)</sup>

La incidencia máxima de la úlcera duodenal se produce entre los 55 y los 65 años, mientras que en el caso de la gástrica esta incidencia alcanza una meseta a los 25 años en el varón y a los 45 en la mujer. Se calcula que “aproximadamente el 50% de la población adulta, el 20% de niños menores de diez años y el 80% de las personas mayores de 70 años, están infectados por el *Helicobacter pylori*. El 25% de usuarios de AINE pueden llegar a presentar alguna alteración. Entre un 50% y el 80% de las hemorragias digestivas

atendidas hospitalariamente presentan antecedentes de haber utilizado AINE de manera reciente.”<sup>23</sup>

### 2.2.3. Fisiopatología de la úlcera péptica

El mecanismo fisiopatológico básico es el desequilibrio entre los factores protectores y agresores de la mucosa gastroduodenal. Los factores protectores son el moco gástrico, la secreción de bicarbonato, las uniones apretadas entre células y la microvasculatura de la submucosa. Los factores agresores son el ácido y la pepsina, por lo que sigue teniendo vigencia el principio de Schwartz: “si no hay ácido, no hay úlcera”. “En pacientes con úlcera duodenal existe un aumento en la masa de células parietales en la mucosa gástrica a diferencia de los sujetos controles, lo que resulta en un aumento de la cantidad de ácido clorhídrico tanto basal como después del estímulo con pentagastrina e histamina. También existe un aumento en la secreción nocturna de ácido, independientemente del agente causal que se sospeche.”<sup>24</sup>

La infección crónica por *Helicobacter pylori* aumenta la secreción gástrica de ácido clorhídrico (HCl) tanto basal como la secreción estimulada por pentagastrina. “La presencia de *Helicobacter pylori* disminuye la producción de somatostatina por parte de las células D antrales. Debido a que la somatostatina es un potente inhibidor de la síntesis y liberación de gastrina, su disminución se traduce en un estado de hipergastrinemia. Además, la hipergastrinemia tiene efectos tróficos, aumentando la población de células parietales gástricas. Ambos factores llevan a un aumento en la secreción de ácido.”<sup>25</sup>

El *Helicobacter pylori* estimula la respuesta inmune a través de la producción de citocinas IL-1, IL-6, IL-8 y factor de necrosis tumoral alfa (FNT- $\alpha$ ). La presencia de *Helicobacter pylori* también estimula la respuesta inmune celular por linfocitos B, aumentando la producción de inmunoglobulinas (IgG e IgA). Este estímulo crónico sobre linfocitos B puede favorecer la aparición de linfoma tipo MALT. La



bacteria disminuye los niveles del factor de crecimiento epidérmico (EGF) y del factor alfa-transformador del crecimiento (TGF-alfa). Ambos factores son potentes inhibidores de la secreción ácida y promueven el crecimiento, regeneración y protección de la mucosa. También se observa disminución de los niveles de bicarbonato y la degradación de la glicoproteína del moco. En la fisiopatología de la úlcera péptica asociada a *Helicobacter pylori* no solamente intervienen factores propios de la bacteria, sino también factores propios del huésped. Se sugiere que algunos factores genéticos pueden determinar la susceptibilidad de la célula.

Existen otros mecanismos fisiopatológicos, que pueden participar en la génesis de la úlcera péptica. “Entre ellos destaca la alteración vascular submucosa, la cual genera vasoconstricción e isquemia de la mucosa, disminuyendo así la resistencia natural de la misma. Un ejemplo de ello son las úlceras que se presentan en enfermos en terapia intensiva (úlceras de Curling y de Cushing). Los cambios isquémicos de la mucosa, también se observan en consumidores de cocaína, la cual produce ulceraciones por vasoconstricción intensa.”<sup>26</sup>

#### **2.2.4. Úlceras inducidas por antiinflamatorios no esteroideos (AINE)**

Los AINE inhiben la actividad de la ciclooxigenasa 1 (cox-1) presente en diversos tejidos y que media las reacciones fisiológicas, y la ciclooxigenasa 2 (cox-2) presente en el tejido lesionado. La inhibición de cox-2 media los efectos no deseados de la inflamación, pero la simultánea inhibición de cox-1 ocasiona efectos colaterales que son consecuencia de la disminución en la síntesis de prostaglandinas, prostaciclina y tromboxanos. Las propiedades fisicoquímicas y el mecanismo de acción de estos fármacos, están directamente implicados en la patogenia de las lesiones gastrointestinales, es decir, el efecto tóxico de los AINES es doble, por una parte tienen un efecto tóxico local dependiente de las propiedades fisicoquímicas del fármaco, y por otra tienen un efecto tóxico sistémico tras la absorción

y activación hepática del fármaco, mediado este por el mecanismo de acción farmacológico que es la inhibición de la síntesis de prostaglandinas. Las prostaglandinas tienen un efecto citoprotector de la mucosa gástrica, ya que aumentan la secreción de mocos, la secreción de bicarbonato, el flujo sanguíneo y la restauración epitelial; por lo tanto su inhibición altera los mecanismos de protección y permite que los ácidos biliares, la pepsina y el ácido clorhídrico ataquen la mucosa.<sup>27</sup>

### **2.2.5. Síntomas y signos de la úlcera péptica**

Más del 90% de los pacientes con úlcera péptica presentan dolor epigástrico ardoroso asociando náuseas, vómitos, tos, meteorismo y en ocasiones pérdida de peso. Este dolor es usualmente localizado, no irradiado, dando inicio cuando el estómago se encuentra vacío, 2 a 5 horas después de la ingesta de comida. El dolor se alivia con la ingesta de comida o con el uso de antiácidos. El 66% de los pacientes con úlcera duodenal y el 33% de aquellos con úlcera gástrica suelen despertarse entre 12 y 3 AM refiriendo dolor epigástrico. Un 46% de los pacientes presenta síntomas de reflujo gastroesofágico como: pirosis, dolor torácico, disfagia y reflujo, en probable asociación de dicha enfermedad.<sup>28</sup>

### **2.2.6. Fármacos antiulcerosos inhibidores de la bomba de protones (IBP)**

Los IBP, son profármacos que bloquean de manera irreversible al Enzima ATPasa dependiente de  $K^+-H^+$ . Esta enzima denominada bomba de protones, interviene en la formación de HCl que solo actúa cuando se produce un estímulo de la secreción ácida. Los IBP se activan mediante la formación de un compuesto sulfonado y a continuación se unen a un residuo de cisteína de la bomba de protones mediante un enlace covalente. De esta manera se bloquea la ATPasa de forma permanente y como consecuencia también se bloquea la vía final común de la secreción de HCl. Producen supresión de la secreción ácida gástrica durante largos periodos de

tiempo, especialmente la secreción nocturna el efecto es dependiente de la dosis y desde las primeras horas la secreción disminuye entre el 50-80%.<sup>29</sup>

### 2.2.7. Fármacos antiulcerosos antihistamínicos H2

Los receptores H2 se encuentran fundamentalmente en las células parietales de la mucosa gástrica. Los antagonistas bloquean el efecto de la histamina endógena sobre los receptores H2, impidiendo que se forme AMP cíclico. Este es el mensajero intracelular que inicia la secuencia de reacciones bioquímicas que producen la liberación de H<sup>+</sup> y la consiguiente formación de HCl. Actúan sobre los tres mecanismos de producción de HCl. Inhiben la secreción ácida estimulada por histamina y gastrina y reducen la secreción estimulada por acetilcolina, disminuyendo tanto el volumen del jugo gástrico como su concentración en H<sup>+</sup>. También disminuyen la secreción de pepsina y potencian los aumentos postprandiales de gastrina. Su eficacia es mayor cuando se administran por la noche debido a que inhiben de manera predominante la secreción basal de HCl.<sup>30</sup>

### 2.2.8. *Anona muricata* (Guanábana)

CLASE : Magnoliophytina

SUBCLASE : Magnoliopsida

ORDEN : Magnoloidas

FAMILIA : Magnoliales

GENERO : *Annona*

ESPECIE : *Annona muricata*

Jaramillo et al, escribe que la "*Annona muricata* L. conocida popularmente como guanábana crece en áreas tropicales del Caribe (principalmente en Bermuda, Bahamas, Cuba, República Dominicana, Granada, Puerto Rico); en Centroamérica (sur de México y Costa Rica); en Suramérica (Colombia, Brasil, Ecuador, Venezuela); en el sureste de China, Vietnam, Australia, Nueva

Zelanda, algunas islas del Pacífico y África occidental. En Estados Unidos existen pequeños cultivos comerciales en Florida y en general en el cinturón ecuatorial. Se reportan más de 60 especies originarias de América tropical en Annonaceae, de las cuales *A. muricata* L. es la que produce más grande los frutos.

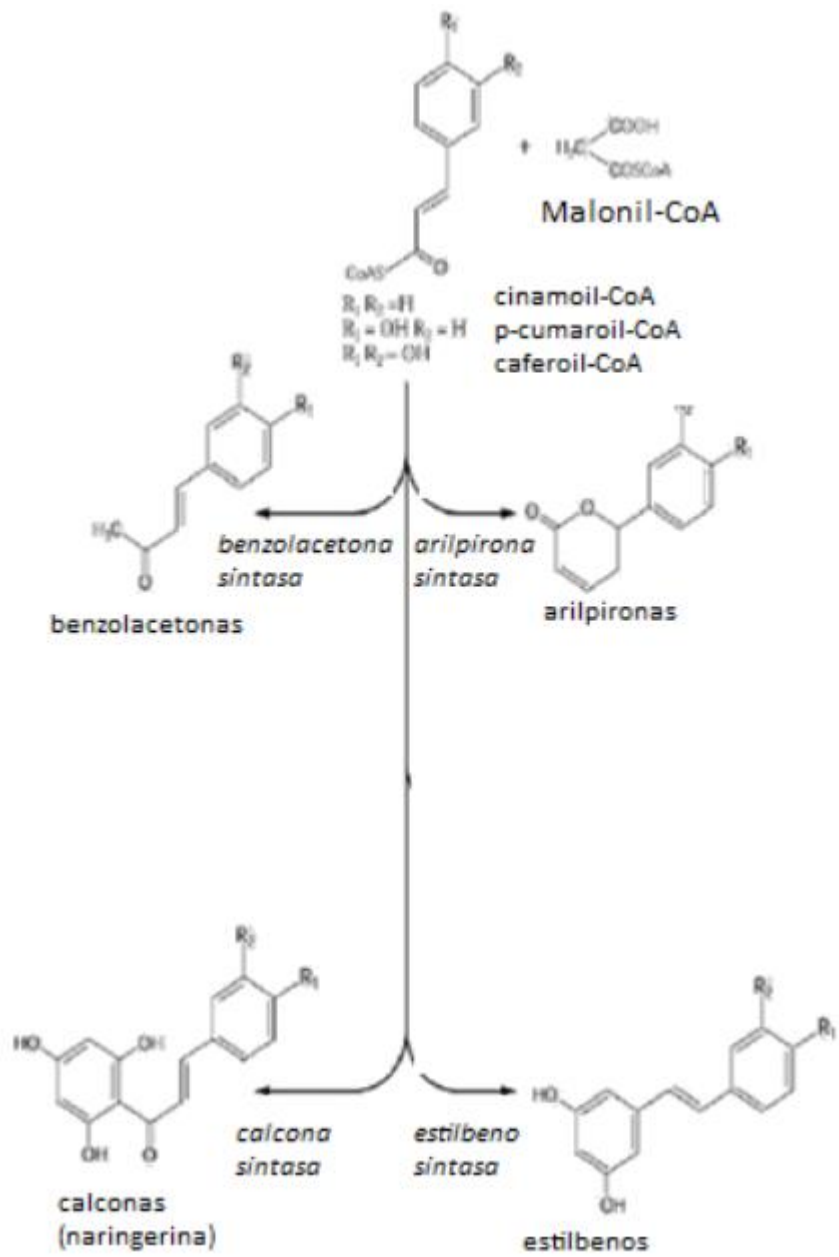
La literatura reporta que las frutas, entre ellas la guanábana, aportan nutrientes de vital importancia para la salud humana. Todas las partes de la planta de guanábana han sido usadas en la medicina natural, incluyendo cortezas, hojas, raíces y frutos, la parte que contiene la mayor concentración de principios activos es la hoja. Estudios previos han demostrado que la guanábana contiene cierto tipo de compuestos bioactivos conocidos como acetogeninas de anonáceas, las cuales se han encontrado también en otras plantas de esta familia, siendo la hoja su fuente principal. Dentro de las propiedades de esta planta se encuentra que: actúa como antibacteriano, anticancerígeno, antiparasitario, antitumoral, antiespasmódico, estomáquico, astringente, citotóxico, febrífugo, hipotensor, insecticida, pesticida, sedativo, vasodilatador y vermífugo. Además, existen diversos estudios sobre la guanábana que sugieren efectos anticancerígenos, pero estos estudios fueron realizados en animales (in vitro o in vivo) y no existe reporte de estudios clínicos con la fruta o las hojas de la guanábana. La falta de estudios clínicos condiciona que ciertos laboratorios concentren sus investigaciones en los principios activos, acetogeninas anonáceas, en lugar de la planta. Por otro lado, un estudio in vitro demostró que un extracto etanólico de hojas de *A. muricata* L. tiene un efecto citotóxico sobre los tipos C678 y H460 de cultivos de líneas celulares de adenocarcinoma gástrico y pulmonar. También se han reportado algunos estudios utilizando extractos etanólicos de la hoja con actividad citotóxica antimalárica. Sin embargo, a pesar que la hoja tiene una mayor concentración de principios activos, el fruto ha sido más estudiado. Son escasos en el mercado productos elaborados a

partir de las hojas secas, los cuales pudieran ser usados como nutraceuticos" (Jaramillo et al. 2017).<sup>31</sup>

### 2.2.9. Metabolitos secundarios

**a. Flavonoides.** La biosíntesis de flavonoides consiste en la condensación de tres moléculas de malonil-CoA con una molécula de p-cumaril-CoA, reacción catalizada por calcona sintasa para dar origen a naringerina calcona, precursor de los flavonoles y antocianinas, por otro lado la condensación catalizada por la estilbeno sintasa conduce a la formación de estilbenos importante en mecanismo de defensa de plantas frente a patógenos. Las antocianinas son responsables en su gran mayoría de los colores de flores y frutos en las plantas, son glicósidos con un azúcar en posición 3, cuando carecen de azúcar se denominan antocianidinas.<sup>32</sup>

Así mismo se sabe que los flavonoides son compuestos fenólicos presentes en las plantas y forman parte no energética de la dieta humana, se estima que el promedio medio de ingesta de flavonoides es 23 mg/día. Se han reportado múltiples efectos positivos sobre la salud de las personas debido a su acción antioxidante y eliminación de radicales libre, constatándose en la mayor parte de las investigaciones la existencia de efectos antiinflamatorios, antivirales o antialérgicos, y su papel protector frente a enfermedades cardiovasculares, cáncer y diversas patologías.<sup>33</sup>

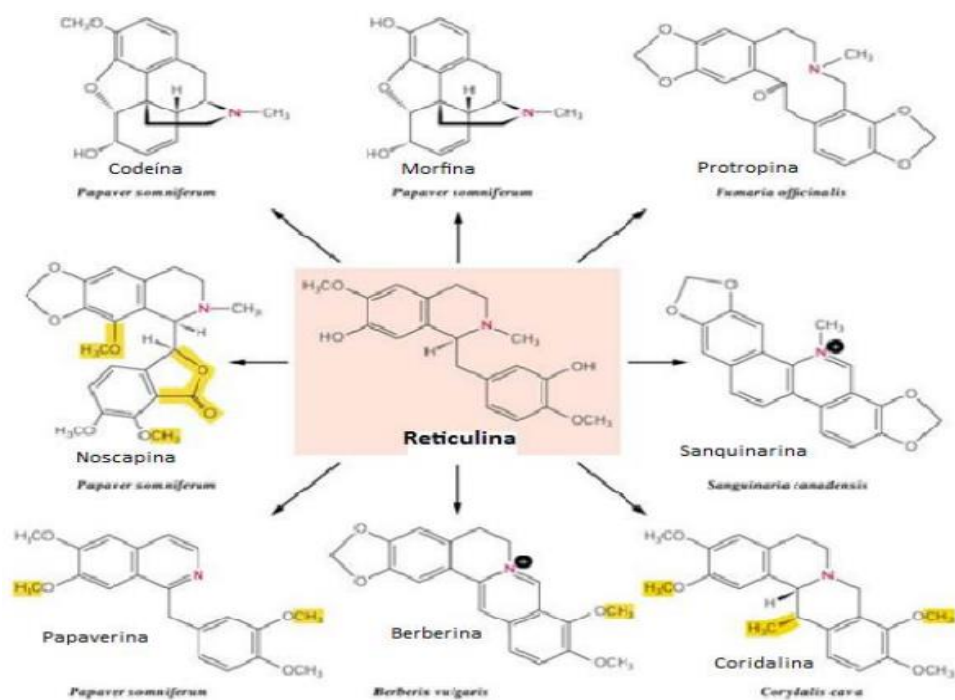


**Figura 1.** Rutas de biosíntesis de flavonoides

Fuente. Ávalos et al. 2009. Metabolismo secundario de las plantas. <sup>32</sup>

**b. Alcaloides.** Los alcaloides normalmente son “sintetizados a partir de la lisina, tirosina y triptófano, otros como la nicotina y compuestos relacionados derivan de la ornitina. La morfina y la codeína presentes en el látex de la cápsula inmadura de *Papaver somniferum* pertenecen a un grupo denominado alcaloides isoquinolínicos que se sintetizan a partir de la reticulina. En la patata encontramos al alcaloide solanina, un inhibidor de colinesterasa que interfiere en la transmisión nerviosa, los tubérculos que son sometidos a luz de alta intensidad pueden sintetizar solanina a niveles tóxicos.”<sup>32</sup>

La principal característica de los alcaloides es que poseen nitrógeno, son muy heterogéneos, son compuestos fisiológicamente activos, se ha descrito que los alcaloides constituyen un grupo muy grande de metabolitos secundarios de plantas, lo podemos encontrar al estado libre o como glicósidos o formando sales con ácidos orgánicos <sup>34</sup>

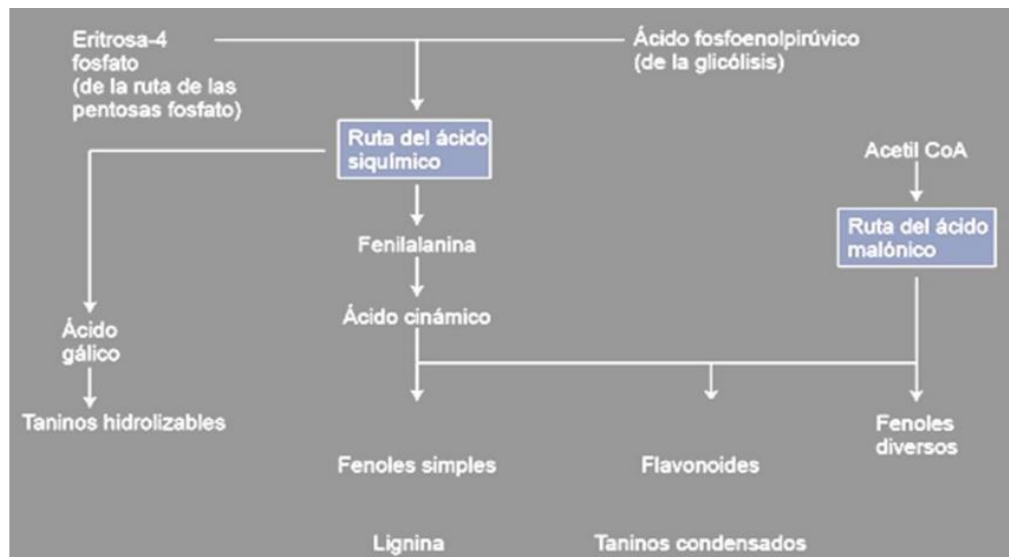


**Figura 2.** Biosíntesis de alcaloides derivados de reticulina

Fuente. Ávalos et al. 2009. Metabolismo secundario de las plantas.<sup>32</sup>

**c. Compuestos fenólicos.** En la biosíntesis de los compuestos fenólicos tenemos; la ruta del ácido siquímico y la ruta del ácido malónico. La ruta del ácido siquímico se realiza a partir de eritrosa-4-P y ácido fosfoenolpirúvico, se inicia una secuencia de reacciones para la síntesis de ácido siquímico y, derivados aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina). “La fanilalanina da origen en su mayoría a los compuestos fenólicos. La ruta del ácido malónico constituye fuente importante de fenoles en hongos y bacterias, en plantas superiores es poco empleada. Los ácidos trans-cinámico y p-cumárico se metabolizan para formar ácido ferúlico y ácido caféico cuya función es ser precursor de derivados más complejos: cumarinas, ligninas, taninos, flavonoides e isoflavonoides.”<sup>32</sup>

Los compuestos fenólicos se encuentran frecuentemente como “glicósidos. Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua, pueden ser detectados por el intenso color verde, púrpura, azul o negro, que producen cuando se les agrega una solución acuosa o alcohólica al 1% de cloruro férrico.”<sup>35</sup>



**Figura 3.** Rutas de síntesis de compuestos fenólicos

Fuente. Ávalos et al. 2009. *Metabolismo secundario de las plantas.*<sup>32</sup>



**d. Saponinas.** Las saponinas son esteroides o triterpenoides que contienen uno o más moléculas de azúcar en su estructura, se pueden presentar como aglicona (sin azúcar) el cual toma el nombre de sapogenina.<sup>32</sup> Las 2 familias de saponinas esteroideas y triterpénicas se pueden identificar mediante: “1) Formación de espuma al ser agitadas sus soluciones acuosas, 2) producción de hemólisis de los glóbulos rojos; 3) toxicidad en peces (sapotoxinas), a los cuales provocan parálisis de las agallas; 4) reacción positiva en la prueba de Liebermann-Burchard. Las saponinas esteroideas en esta prueba manifiestan colores que van desde el azul hasta el verde y las triterpénicas, rosado, rojo o violeta. La mayoría de las saponinas son solubles en diferente grado en soluciones de etanol al 80 %, propiedad que se emplea para su extracción y purificación.”<sup>35</sup>

**e. Esteroides y Triterpenoides.** Los esteroides y esterolés son parte de los triterpenos y derivan del escualeno, los esteroides que contienen un grupo alcohol se denominan esterolés, los más abundantes en las plantas son el estigmasterol y el sitosterol.<sup>32</sup>

Los esteroides son compuestos derivados del núcleo del esterano; que se compone de carbono e hidrógeno formando cuatro anillos fusionados, tres hexagonales y uno pentagonal; posee 17 átomos de carbono.

Triterpenos: “Son terpenos compuestos de 30 carbonos, generalmente son generados por unión cabeza-cabeza por dos cadenas de 15, cada una de estas formada por unidades de isopreno unidas cabeza-cola, en total formado por 6 unidades de isopreno. Su estructura es generalmente tetracíclica y pentacíclica, estas pueden contener grupos cetónicos, hidroxilo y ácido carboxílico.”<sup>34</sup>

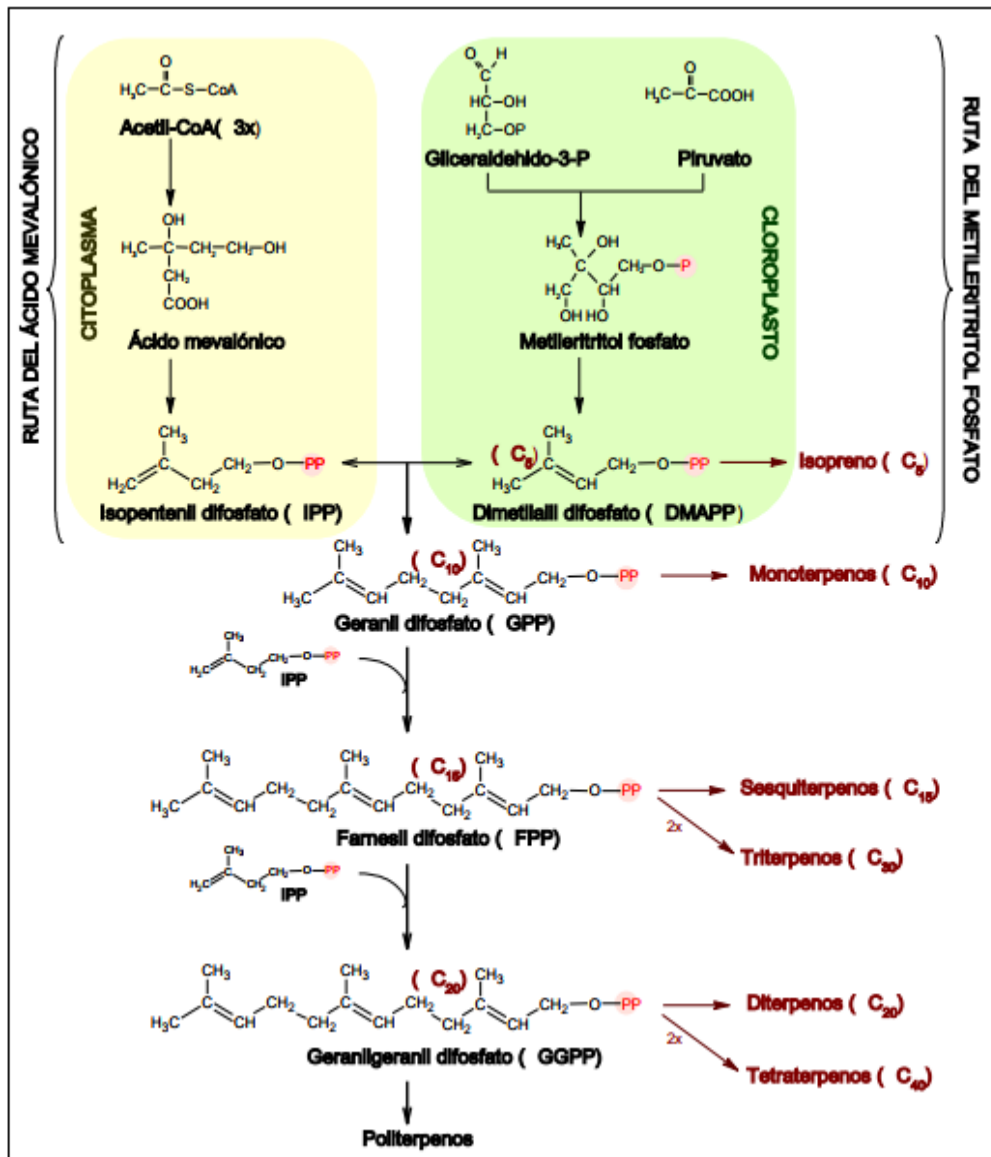
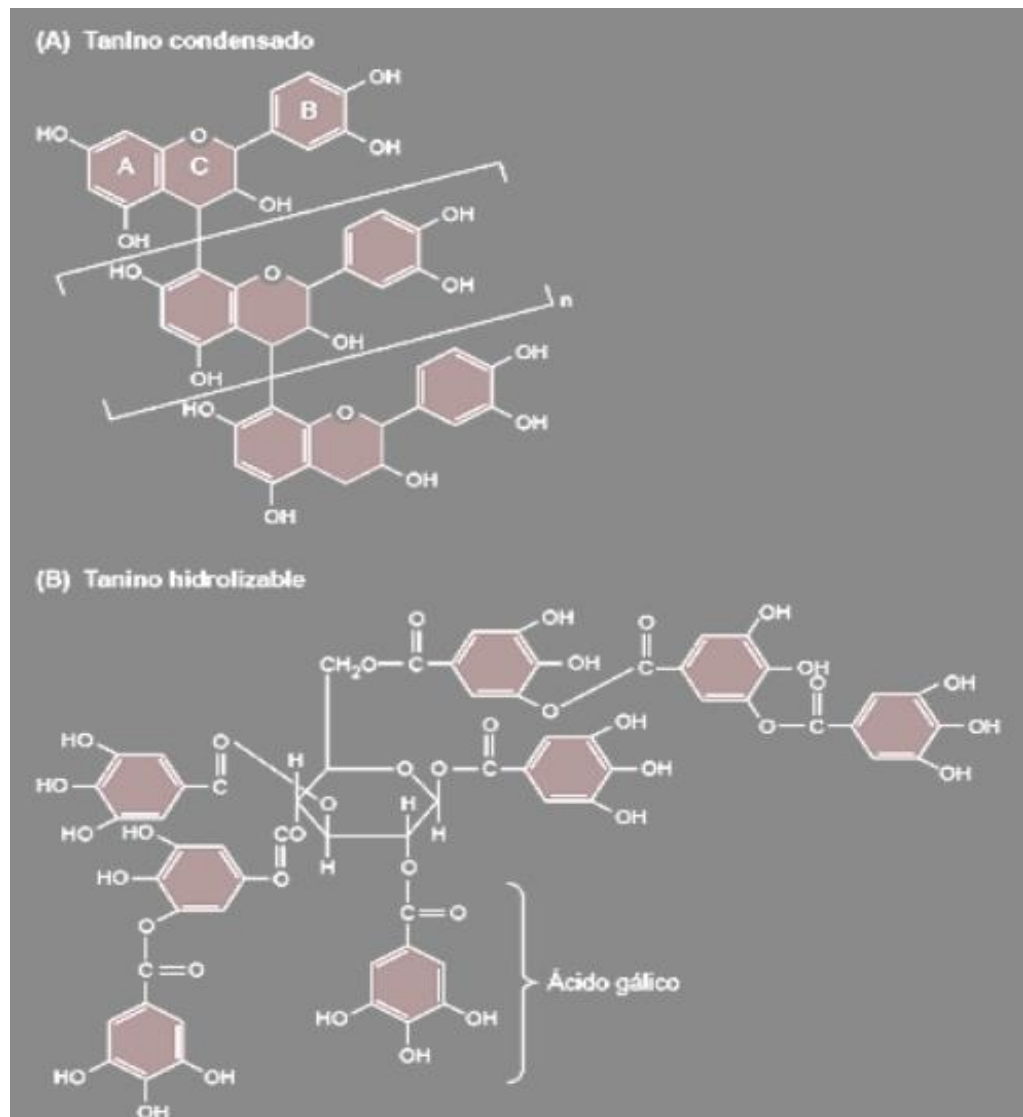


Figura 4. Rutas de biosíntesis de terpenos

Fuente. Ávalos et al. 2009. Metabolismo secundario de las plantas.<sup>32</sup>

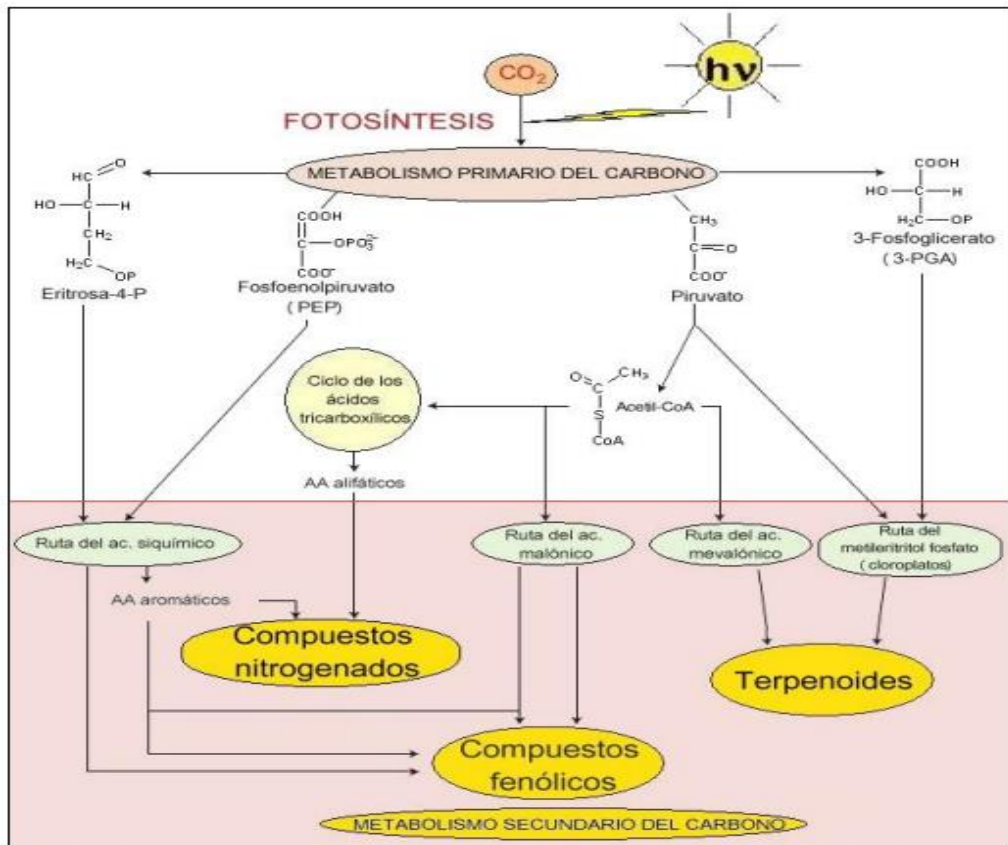
**f. Taninos.** Son compuestos solubles en agua, dan reacciones fenólicas usuales, poseen la habilidad de reaccionar y precipitar con alcaloides, gelatinas y otras proteínas. “La capacidad de formar complejos con las proteínas, que les confiere propiedad astringente. Su poder antirradicalario y su capacidad de consumir oxígeno disuelto, se le atribuye propiedad antioxidante, muy utilizada en la industria agroalimentaria y farmacéutica.”<sup>36</sup>



**Figura 5.** Compuestos químicos de taninos condensados e hidrolizables

Fuente. Ávalos et al. 2009. *Metabolismo secundario de las plantas.*<sup>32</sup>

En la figura 6 se aprecia las principales rutas de biosíntesis del metabolismo secundario en relación al metabolismo del carbono.



**Figura 6.** Relación del metabolismo de carbono con las rutas de síntesis de metabolismo secundario

Fuente. Ávalos et al. 2009. *Metabolismo secundario de las plantas*.<sup>32</sup>

### 2.2.10. Screening fitoquímico o Tamizaje Fitoquímico

El Screening fitoquímico llamado también tamizaje fitoquímico, son técnicas que permiten determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta y, a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. Los resultados del tamizaje fitoquímico son sólo una orientación y deben interpretarse en conjunto con los resultados del “Screening” farmacológico. Por ejemplo, si una planta revela acción sobre el sistema nervioso central durante el tamizaje farmacológico y presencia de alcaloides en el tamizaje fitoquímico, es bastante probable que la acción farmacológica se deba a la fracción alcaloidal.

Por otro lado, si se evidencia la presencia de flavonoides en el “Screening” fitoquímico y una acción antiinflamatoria en el “Screening” farmacológico, esta última puede asociarse a la fracción de flavonoides. El método permite determinar la presencia de los principales grupos de compuestos químicos, tanto libres, como en la forma de glicósidos.<sup>37</sup>

## **2.3. Hipótesis**

### **2.3.1. Hipótesis general**

El extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Annona muricata* (Guanábana) tiene efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica

### **2.3.2. Hipótesis específicas**

1. La dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Annona muricata* (Guanabana) que tendrá mejor efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica es 600 mg/Kg de peso corporal.
2. Los componentes activos del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Annona muricata* (Guanabana) responsable del efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica son los compuestos fenólicos.
3. La dosis letal media del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Annona muricata* (Guanabana) en ratones es mayor a 2000 mg/Kg de peso corporal.

## 2.4. Variables

### 2.4.1. Tabla de operacionalización de variables

Variables	Definición operacional	Dimensión o aspecto	Indicadores
<b>Independiente:</b> Extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>Annona muricata</i> (guanabana)	Los metabolitos secundarios se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones biológicas	Metabolitos secundarios	Metabolitos secundario: Saponinas, taninos, flavonoides, compuestos fenólicos. cumarinas, quinonas y alcaloides
<b>Dependiente:</b> Efecto antiulceroso	Existe la tendencia de rescatar las bondades de los productos naturales en el tratamiento de diversas enfermedades entre ellas la úlcera gástrica, empleando para el estudio métodos objetivos aplicados en animales de experimentación	Estudio de actividad antiulcerosa en ratas con inducción a úlcera gástrica	% de inhibición de la actividad antiulcerosa

## 2.5. Marco conceptual

1. **Astringente:** Que produce contracción y sequedad
2. **Droga:** La OMS define “como la parte de la planta medicinal utilizada en terapéutica.”<sup>49</sup>
3. **Fitoterapia:** “Ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, para atenuar o para curar un estado patológico.”<sup>48</sup>
4. **Flavonoide:** Son “pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana.”<sup>47</sup>
5. **Inflamación:** Es la “respuesta del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por

patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica.”<sup>49</sup>

6. **Metabolitos secundarios:** “Son constituyentes químicos no esenciales de la planta que se sintetizan en pequeñas cantidades y se le atribuyen propiedades terapéuticas.” <sup>47</sup>
7. **Plantas Medicinales:** Según la OMS, “es aquella que en uno o más de sus órganos, contiene sustancias que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos o preventivos o que son precursores para la semisíntesis químico-farmacéutica.”<sup>49</sup>
8. **Úlcera péptica:** Es una “lesión de la mucosa duodenal o gástrica que se produce en un punto en el que epitelio de la mucosa está expuesto a factores agresivos.”<sup>49</sup>
9. **Antiinflamatorios no esteroideos (AINES):** “Son fármacos utilizados en la práctica diaria, bien como tratamiento de afecciones reumáticas o como parte del tratamiento sintomático o etiológico del dolor; no obstante, éstos presentan evidentes manifestaciones adversas a nivel gastrointestinal, siendo la gastrolesividad, una de las principales, atribuyéndose dicho efecto, entre otros, a la disminución de la síntesis de prostaglandinas, por inhibición de la ciclooxigenasa.”<sup>49</sup>
10. **Helicobacter pylori:** “Es una bacteria gramnegativa que infecta la mucosa gástrica de más de la mitad de la población mundial adulta. La infección se ha asociado con el desarrollo de gastritis crónica, úlceras gástricas y/o duodenales, adenocarcinoma gástrica así como el linfoma del tejido linfoide asociado con mucosa gástrica.”<sup>49</sup>

## CAPÍTULO III: MÉTODO

### 3.1. Tipo de estudio

El presente es un estudio de tipo experimental, prospectivo, longitudinal

- a. Experimental: Porque se trabajó con grupos controles, se manipuló la variable independiente, se muestras obtenidas fueron al azar
- b. Prospectivo: Porque se realizó del presente al futuro
- c. Longitudinal: Porque se realizó varias mediciones

### 3.2. Diseño del estudio

#### 3.2.1. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* (CYTED 1995).<sup>38</sup>

Las hojas de *Annona muricata* se obtuvieron del distrito de Pichanaqui, provincia de Chanchamayo, departamento de Junín, situado a 525 msnm. Las hojas luego de recolectadas se secaron a la sombra, posteriormente se trituró hasta convertir a polvo. Seguidamente se pesó 100 g de polvo de hoja y se maceran en 1 litro de alcohol 70% por 10 días con agitación diaria, luego se filtró, el líquido filtrado se colocó a la estufa a 40 °C hasta obtener un extracto seco, el extracto obtenido se almacenó en frasco color ámbar y se colocó al refrigerador hasta posterior uso.

#### 3.2.2. Determinación de los principales grupos de metabolitos secundarios (Lock de Ugaz, 1994).<sup>39</sup>

Se preparó una solución acuosa de 30 mg/mL y se realizó los siguientes ensayos:

##### a) Determinación de saponinas

###### a.1. Prueba de la espuma

A una solución acuosa de la muestra conteniendo 5mg/mL, se sometió a agitación vigorosa durante 30 segundos. La presencia de la saponina se manifestó por la formación de una espuma persistente durante 3 min.



a.2. Reactivo de Liebermann – Burchard

Se tomó 10 gotas de la muestra se añadió 10 gotas de ácido acético más 3mL de anhídrido acético/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (50:1), con lo cual las saponinas triterpenoidales dan color rosado a púrpura, mientras las esteroidales dan azul – verdoso.

**b) Determinación de taninos**

b.1. Con gelatina – cloruro de sodio

A 1mL de muestra se agregó 3 gotas de reactivo, en un principio se formó en la solución una sustancia en forma de nube, luego se centrifuga, queda en el fondo un precipitado de color blanco que confirma la presencia de taninos.

b.2. Con Cloruro Férrico o Alumbre férrico

A 0,5 ml de la muestra se agregó 2 gotas de cloruro férrico o alumbre férrico; la coloración negra azulada indicó que el tanino pertenece a los derivados del ácido pirogálico, mientras que la coloración verde nos indica que deriva de la catequina.

**c) Determinación de flavonoides**

c.1. Con Reactivo de Shinoda

En un tubo de ensayo se colocó 1mL de muestra con 1 limadura de magnesio pequeña, con un gotero se añade 3 gotas de HCl concentrado. Se observa un intenso burbujeo por la reacción de las limaduras y la solución adquiere una débil coloración naranja al principio; conforme va reaccionando más, la coloración naranja se va intensificando, hasta que después de 10 minutos la solución tiene un color anaranjado intenso, indica un resultado positivo.

**d) Determinación de esteroides y triterpenoides**

En un tubo de ensayo se colocó 10 gotas de muestra, se llevó a sequedad a baño maría y se adicionó 10 gotas de cloroformo y 3 gotas de anhídrido acético luego se adicionó 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado por las paredes sin agitar, una coloración verde-azul indicó positivo la reacción.

### e) Determinación de compuestos fenólicos

En un tubo de ensayo se colocó 10 gotas de muestra luego se adicionó 3 gotas de  $\text{FeCl}_3$  al 10%, una coloración verde o azul indica positivo la reacción.

### f) Determinación de alcaloides

#### f.1. Reactivo de Dragendorff.

Se disuelve 8 g de  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  en 20 mL de  $\text{HNO}_3$  se mezcla con 50 mL de una solución acuosa conteniendo 27,2 g de KI, se deja reposar la solución, se decanta el sobrenadante y se diluye a un volumen de 100 mL. Al agrega unas cuantas gotas de este reactivo a una solución ácida de la muestra, se observa la aparición de un precipitado que va del naranja al rojo la prueba es positiva.

#### f.2. Reactivo de Mayer.

Se disuelve 1,36 g de  $\text{HgCl}_2$  en 60 mL de agua y se adiciona 10 mL de una solución conteniendo 5g de KI y se diluye hasta un volumen de 100 mL. Al agregar un exceso de reactivo a la solución acidulada de la muestra se observa la aparición de un precipitado de blanco a crema la prueba es positivo.

### 3.2.3. Determinación de la Dosis Letal Media (DL50) (Método Silvero et al.).<sup>40</sup>

Se utilizó 30 ratones machos cepa Balb C57 adquiridos en el Instituto Nacional de Salud, con peso promedio de  $26 \pm 1$  g al inicio del experimento; los ratones estuvieron a temperatura controlada de  $20 \pm 2$  °C, con un ciclo de luz/oscuridad de 12-12 h. La alimentación consistió en ración peletizada y agua a voluntad. Los ratones se distribuyeron aleatoriamente en grupos de seis cada uno. Se les administró la sustancia de prueba:

Grupo 1: 1000 mg/kg

Grupo 2: 2000 mg/kg

Grupo 3: 3000 mg/kg

Grupo 4: 4000 mg/kg

Grupo 5: 5000 mg/kg

Los animales fueron observados constantemente durante las primeras 24 h, luego se observaron diariamente durante 14 días, registrando cualquier síntoma tóxico que pudiera presentarse.

### **3.2.4. Determinación de la actividad antiulcerosa**

#### **a. Inducción de úlcera gástrica experimental en ratas (Método Lee,<sup>41</sup> 1971)**

Se utilizó 36 ratas hembras cepa Holtzmann de 200-250 g de peso corporal obtenidos del Instituto Nacional de Salud, se aclimataron 7 días en el lugar de trabajo. Luego, estuvieron en ayunas 24 horas antes de iniciar el experimento dejándolos únicamente con agua ad libitum. Para inducir úlcera gástrica se utilizó alcohol 96 % 10 mL/Kg de peso corporal. Las 36 ratas se distribuyeron aleatoriamente en 6 grupos (n=6) según el siguiente diseño experimental.

**Grupo I:** Suero Fisiológico 5 mL/kg

**Grupo II:** Alcohol 96 % 10 mL/Kg

**Grupo III:** Ranitidina 100 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg

**Grupo IV:** Extracto Anona muricata 200 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg

**Grupo V:** Extracto Anona muricata 400 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg

**Grupo VI:** Extracto Anona muricata 600 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg

Los tratamientos mencionados se administraron por vía oral una hora antes de la administración de alcohol 96 % según dosificación anteriormente enunciada. Los animales se sacrificaron al transcurrir 6 horas después de la administración de alcohol 96 % e inmediatamente se efectuó una laparatomía en el tercio anterior de

la línea media abdominal. Se extrajo el estómago y se abrió por la curvatura mayor, se lavó cuidadosamente con una corriente suave de solución salina fisiológica. Se extendieron los estómagos sobre una tabla de tecnopor mediante alfileres, observándose las úlceras formadas y se procedió a valorar de acuerdo a la escala de Marhuenda<sup>42</sup> teniendo en cuenta los siguientes indicadores de evaluación:

### Escala de Marhuenda<sup>42</sup>

Signos	Puntaje			
	0	1	2	3
Pérdida de pliegues de mucosa	No presenta	Si presenta		
Decoloración de la mucosa	No presenta	Si presenta		
Edema	No presenta	Si presenta		
Hemorragia	No presenta	Si presenta		
Número de petequias	Ninguno	De 1 – 5		
Intensidad de la ulceración	No presenta úlceras	Úlceras menor de 1mm	De 5 – 10 Úlceras mayor de 1mm	Más de 10 Úlceras perforadas

El puntaje total se expresa en porcentaje de inhibición respecto al índice de ulceración del grupo control, según la siguiente expresión:

$$\% \text{ inhibición} = 100 - \left( \frac{\text{Puntaje grupo tratado}}{\text{Puntaje grupo control}} \times 100 \right)$$

### 3.3. Población

La población para el estudio del efecto antiulceroso fue conformada por ratas hembras cepa holtzman obtenidos del Instituto Nacional de Salud con peso promedio de 200 - 250. Para el estudio de toxicidad aguda la población fue conformada por ratones albinos  $26 \pm 1$  g obtenidos del Instituto Nacional de Salud.

### 3.4. Muestra

La muestra para el estudio del efecto antiulceroso fue de 36 ratas distribuidas al azar en 6 grupos de 6 animales cada uno y para el estudio de toxicidad agudo se empleó 30 ratones, los cuales se distribuyeron al azar en 5 grupos de 6 ratones cada uno, luego de los tratamientos se observaron el número de vivos y muertos en cada grupo

### 3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Los datos fueron recogidos individualmente de cada muestra en estudio y tabulados como se indica a continuación:

**Tabla 1. Determinación de los principales grupos de metabolitos secundarios**

<b>Metabolito secundario</b>	<b>Reactivo utilizado</b>	<b>Extracto de hojas de Annona muricata Positivo ( + ); Negativo ( - )</b>
Saponinas Taninos Flavonoides Esteroides y/o triterpenoides Compuestos fenólicos Alcaloides		

**Tabla 2. Evaluación de la toxicidad aguda oral. Determinación de la DL<sub>50</sub>**

Animales	Dosis de Extracto seco en mg/Kg				
	1000	2000	3000	4000	5000
Vivos					
Muertos					

**Tabla 3. Lectura de observaciones de tejidos del estómago de ratas**

Tratamiento	Signos						
	Pérdida de pliegues de mucosa	Decoloración de mucosa	Edema	Hemorragias	Nº de petequias	Intensidad de ulceración	Total
Control SSF 5 mL/kg							
Etanol 96 % 10 mL/Kg							
Ranitidina 100 mg/kg + alcohol 96 % 10 mL/Kg							
Extracto Annona muricata 200 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg							
Extracto Annona muricata 400 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg							
Extracto Annona muricata 600 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg							

**Tabla 4. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* en ratas con inducción a úlcera péptica**

Tratamiento	Nº rata por grupo	Puntaje	% Inhibición
Control SSF 5 mL/kg	6		
Etanol 96 % 10 mL/Kg	6		
Ranitidina 100 mg/kg + alcohol 96 % 10 mL/Kg	6		
Extracto <i>Annona muricata</i> 200 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg	6		
Extracto <i>Annona muricata</i> 400 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg	6		
Extracto <i>Annona muricata</i> 600 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg	6		

### 3.6. Procesamiento de datos

Los datos se expresan como media aritmética  $\pm$  error estándar, porcentajes, figuras. Para el análisis estadístico se empleó el análisis de varianza de una vía (One-way ANOVA) para determinar si existe diferencia estadísticamente significativa para la variable evaluada intergrupos e intragrupos, luego se realizó un análisis post hoc mediante el test de Scheffé. El nivel de significancia fijado fue para  $P < 0.05$ . Se usó el software estadístico SPSS for Windows versión 20.

## CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 4.1. Presentación de resultados

#### 4.1.1. Identificación taxonómica de la *Annona muricata* (Guanábana)

La muestra vegetal fue identificada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist (1988) se ubica en la siguiente categoría.

CLASE : MAGNOLIOPHYTINA

SUBCLASE : MAGNOLIOPSIDA

ORDEN : MAGNOLOIDAS

FAMILIA : MAGNOLIALES

GENERO : *Annona*

ESPECIE : *Annona muricata*

Nombre vulgar : Guanábana

#### 4.1.2. Principales grupos de metabolitos secundarios

En la Tabla 5 se presentan los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Annona muricata* "Guanábana", en ella se puede apreciar la presencia principalmente de Flavonoides, compuestos fenólicos.



**Tabla 5. Determinación de los principales grupos de componentes activos**

Metabolito secundario	Reactivo utilizado	Extracto de hojas de <i>Annona muricata</i> Positivo ( + ); Negativo ( - )
Saponinas	Espuma	+
Taninos	Gelatina/NaOH	+
Flavonoides	Shinoda	+++
Esteroides y/o triterpenoides	Lieberman Burchard	++
Compuestos fenólicos	FeCl <sub>3</sub>	+++
Alcaloides	Dragendorff	+

+ = POCO

++ = Regular

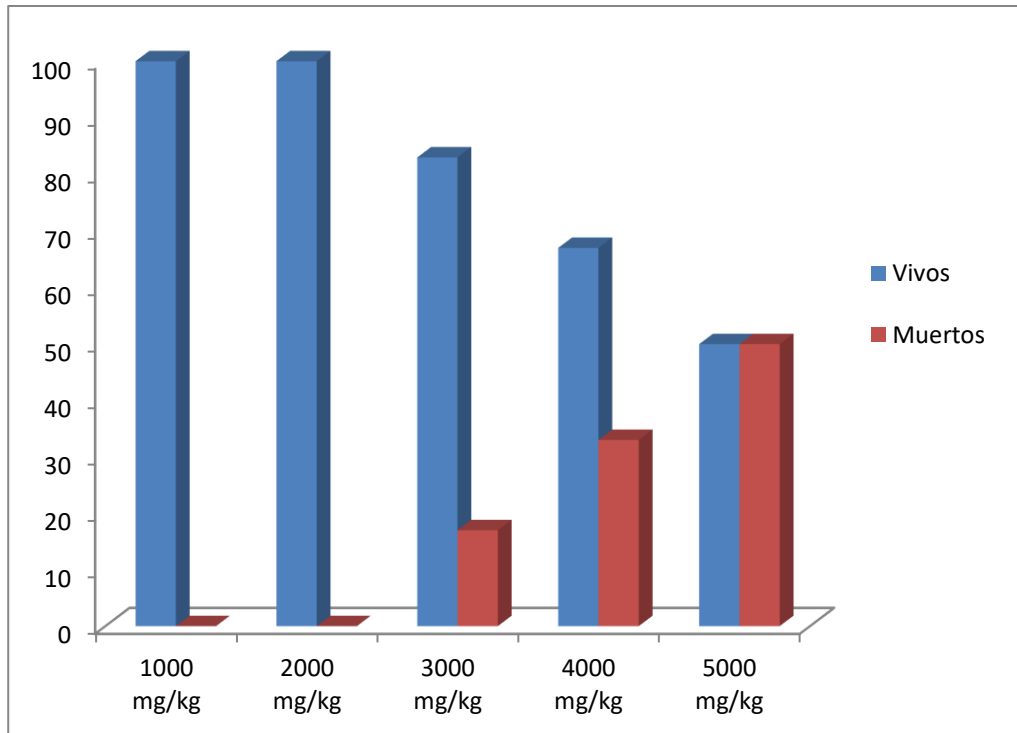
+++ = Abundante

#### 4.1.3. Determinación de la dosis letal media

En la tabla 6 se muestra los resultados del estudio de toxicidad aguda oral en ratones, se observa que la dosis letal 50 (DL<sub>50</sub>) estimada para extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* "Guanábana" fue 5000 mg/Kg como se muestra en la tabla 6.

**Tabla 6.** Número y Porcentaje de mortalidad obtenido con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* "Guanábana"

Animales	Dosis de Extracto seco en mg/Kg				
	1000	2000	3000	4000	5000
Vivos	6 (100 %)	6 (100 %)	5 (83 %)	4 (67 %)	3 (50 %)
Muertos	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (17 %)	2 (33 %)	3 (50 %)



**Figura 7.** Comportamiento de mortalidad en ratones según dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana)

#### 4.1.4. Determinación del efecto antiulcerosos

En la tabla 7 se observa la lectura de las observaciones de estómago de ratas inducidas a úlcera gástrica, en el grupo de solución salina fisiológica no presentó signos de lesión, el grupo de etanol 96 % presentó mayor puntaje (47 puntos), en los grupos que se administraron el extracto el menor puntaje fue para la dosis de 600 mg/Kg (9 puntos) y el puntaje para el grupo de ranitidina fue de 10 puntos.

**Tabla 7.** Lectura de observaciones del efecto antiulcerosos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* “Guanábana” en modelo experimental de úlcera gástrica en ratas inducida por etanol 96 %

Tratamiento	Signos						
	Pérdida de pliegues de mucosa	Decoloración de mucosa	Edema	Hemorragias	Nº de petequias	Intensidad de ulceración	Total
Control SSF 5 mL/kg	0	0	0	0	0	0	0
Etanol 96 % 10 mL/Kg	6	5	6	5	15	10	47
Ranitidina 100 mg/kg + alcohol 96 % 10 mL/Kg	1	1	2	1	5	0	10
Extracto <i>Annona muricata</i> 200 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg	3	3	4	3	11	3	27
Extracto <i>Annona muricata</i> 400 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg	1	2	3	2	9	2	19
Extracto <i>Annona muricata</i> 600 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg	0	0	2	1	6	0	9

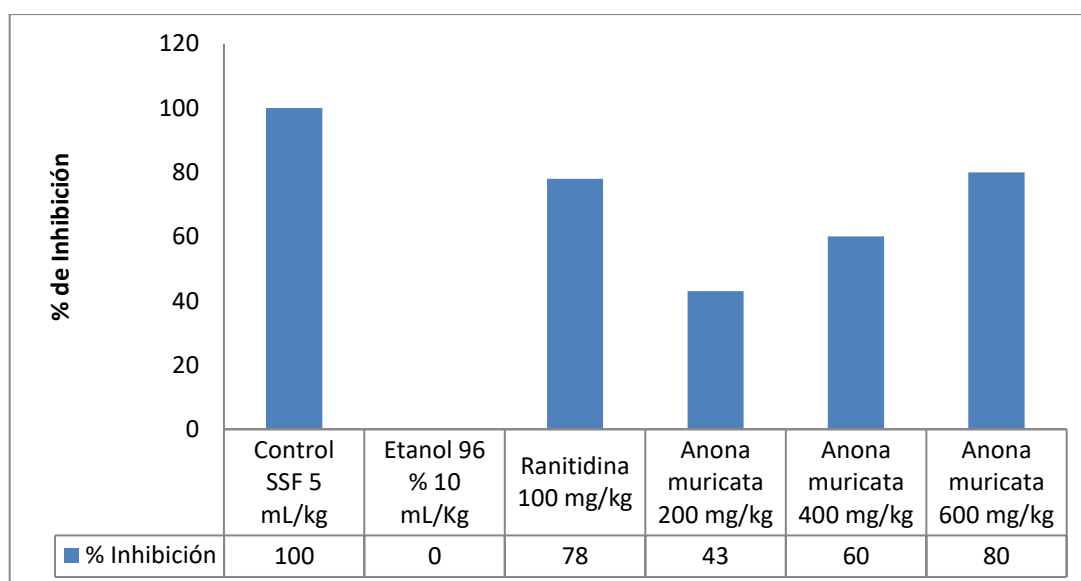
En la tabla 8 se observa el porcentaje de inhibición del efecto antiulceroso, la dosis del extracto 600 mg/Kg presenta mayor efecto antiulceroso (80 %) seguido de la dosis de 400 mg/Kg (60 %) y 200 mg/Kg (43 %), el grupo de ranitidina obtuvo 78 % de inhibición.

Tabla 8. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* “Guanábana”

Tratamiento	Nº rata por grupo	Puntaje	% Inhibición
Control SSF 5 mL/kg	6	0	100
Etanol 96 % 10 mL/Kg	6	47	0
Ranitidina 100 mg/kg + alcohol 96 % 10 mL/Kg	6	10	78
Extracto <i>Annona muricata</i> 200 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg	6	27	43
Extracto <i>Annona muricata</i> 400 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg	6	19	60
Extracto <i>Annona muricata</i> 600 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg	6	9	80

Porcentaje de inhibición mayor para la dosis de 600 mg/Kg

$$\% \text{ inhibición} = 100 - \frac{(\text{Puntaje grupo tratado} \times 100)}{\text{Puntaje grupo control}}$$



**Figura 8.** Porcentaje de inhibición del efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana)

## 4.2. Contrastación de hipótesis

### 4.2.1. VARIABLE DEPENDIENTE

Efecto antiulceroso en ratas con inducción a úlcera gástrica

Tipo de Variable : Cuantitativa

Estadístico : Promedio

Conclusión : Se compararon los promedios o medias

### 4.2.2. VARIABLE INDEPENDIENTE

Extracto hidroalcoholico de las hojas de *Annona muricata* "Guanábana"

Número de grupos : 6

Grupo 1, 2 y 3 : Grupo Control blanco, Control negativo y Control positivo

Grupo 4, 5 y 6 : Grupos experimentales sometidos a tratamientos con dosis distintas del extracto hidroalcohólico de la *Annona muricata*.

Conclusión : Se compararon los promedios o medias de cada grupo

### 4.2.3. HIPÓTESIS NULA

$$u_1 = u_2$$

$u_1$  = Promedio de Porcentaje de inhibición antiulceroso en los grupos control

$u_2$  = Promedio de Porcentajes de inhibición antiulceroso en los grupos tratados con extracto hidroalcohólico de la *Annona muricata*.

### 4.2.4. HIPÓTESIS ALTERNA

$$u_1 \neq u_2$$

#### 4.2.5. PRUEBA ESTADÍSTICA

Los datos tienen distribución normal y se trabajó con más de tres grupos, se realizó el análisis ANOVA (Análisis de varianza). Para determinar la significancia estadística para la variable intergrupos e intragrupos se realizó el análisis post hoc mediante el test de Scheffé.

#### 4.2.6. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El análisis se realizó en el paquete estadístico SPSS versión 20, y los resultados se expresaron en promedios y presentados en tablas y gráficos, se trabajó a un nivel de significancia del 95% ( $p < 0,05$ )

### 4.3. Discusión de resultados

En el estudio de toxicidad aguda, la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) estimada para el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* según condiciones experimentales fue de 5000 mg/Kg de peso corporal (Tabla 6), el cual se considera no tóxico, ya que supera los 2000 mg/Kg establecida por la Comunidad Europea para la toxicidad aguda oral. Nuestros resultados coinciden con lo reportado por Poma et al. 2011,<sup>14</sup> en el cual hallaron que extracto acuoso de *Annona muricata* no presentó toxicidad aguda según el método de dosis límite. En el estudio fitoquímico se evidenció la presencia de saponinas, taninos, flavonoides, esteroides y/o triterpenoides, compuestos fenólicos y alcaloides, estos resultados coinciden con lo reportado por Poma et al. 2011.<sup>14</sup> Para inducir úlcera gástrica en ratas se usó etanol, técnica usada también por otros autores como Alba et al 2015<sup>43</sup>, y se observó seis indicadores como; pérdida de pliegues de mucosa, decoloración de mucosa, edema, hemorragias, número de petequias e intensidad de ulceración, en el grupo de etanol 96 % todos los indicadores fueron afectados el cual indica la inducción de úlcera gástrica en ratas. El etanol estaría activando la formación de radicales libres las cuales participarían en el estrés oxidativo y también activando el proceso antiinflamatorio.<sup>44</sup> En el estudio macroscópico del

efecto antiulceroso del extracto hidrolcohólico de las hojas de *Annona muricata* se observa que la dosis de 600 mg/Kg presentó mayor porcentaje de inhibición antiulceroso (80 %) como se muestra en la tabla 8, este efecto es significativo comparado con la dosis del extracto de 200 mg/Kg de peso ( $p < 0.05$ ) y es insignificante ( $p > 0.05$ ) al comparar con el grupo de la ranitidina que presentó 78 % de inhibición antiulceroso. Los indicadores que tuvieron mayor mejoría por la administración del extracto de dosis 600 mg/Kg fueron; pérdida de pliegues de mucosa, decoloración de mucosa y la intensidad de ulceración. El efecto antiulceroso de la dosis del extracto de 200 mg/Kg de peso es significativo comparado con el grupo de ranitidina y la dosis de extracto de 400 mg/Kg y 600 mg/Kg, lo que indica leve efecto antiulceroso. Se ha reportado efecto antiulceroso de flavonoides, el cual se expresa por el índice de lesión y el porcentaje de inhibición en la formación de lesiones, el cual se relaciona con efecto similar al sucralfato, por su capacidad de formar mucosidad, al parecer por formación de radicales libres acelerando la cicatrización de heridas.<sup>45</sup> Así mismo a los taninos se ha relacionado con efectos vasoconstrictores y precipitan las proteínas, gracias a esta propiedad formaría una película protectora impermeable sobre las úlceras que hace a estas lesiones menos permeables a sustancias tóxicas y más resistentes al ataque de enzimas proteolíticas.<sup>46</sup>

## CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. Conclusiones

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) tiene efecto antiulceroso en ratas con inducción a úlcera gástrica similar a la ranitidina según las condiciones experimentales de nuestro estudio
2. La dosis del extracto de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) que presentó mejor efecto antiulceroso fue 600 mg/Kg seguido de la dosis de 400 mg/Kg de peso corporal
3. Los componentes activos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) hallados en nuestro estudio fueron: flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, saponinas, alcaloides, esteroides y/o triterpenoides. De estos componentes el efecto antiulceroso se debería probablemente por la presencia de flavonoides y taninos.
4. La dosis letal media (DL50) del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) en ratones fue de 5000 mg/kg de peso corporal por el cual se considera una sustancia no tóxica ya que se encuentra por encima de los 2000 mg/Kg establecido por la comunidad europea.

### 5.2. Recomendaciones

1. Realizar estudios de toxicidad sub agudo y crónico para determinar posibles efectos adversos a largo plazo.
2. Realizar estudio pre clínico del efecto antisecretor de ácido clorhídrico empleando diversos métodos experimentales in vitro.
3. Realizar estudios para determinar el mecanismo exacto de acción del efecto antiulceroso.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Echegaray R, Echegaray G, Mosquera F, Gerrikaetxebarria. Fitoterapia y sus aplicaciones. Revista Española de Patología. 2011; 22(6): 258-267
2. Avello M, Cisternas I. Fitoterapia, sus orígenes, características y situación en Chile. Rev. Med. Chile. 2010; 138: 1288-1293
3. Téllez M. Evaluación de la actividad biológica de los extractos de cuatro plantas medicinales del norte de México sobre la calidad espermática en ratas macho Wistar. Tesis para obtener el título de Médico en Ciencias con Acentuación en Química de Productos Naturales. Universidad Autónoma de Nuevo León, México. Marzo. 2014.
4. Medline Plus (En Línea). Estados Unidos. Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos. Fecha de acceso 23 julio 2017. URL disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/pepticulcer.html>
5. Onmeda.es. (En Línea). Revisión Médica. 2016. Fecha de acceso 23 julio 2017. URL disponible en: [http://www.onmeda.es/enfermedades/ulcera\\_de\\_estomago.html](http://www.onmeda.es/enfermedades/ulcera_de_estomago.html)
6. De Pardo G. Helicobacter Pylori: un problema actual. Gac Med Bol 2013; 36 (2): 108-111
7. Klein P D. et al. "The epidemiology of Helicobacter pylori in Peruvian children between 6 and 30 months of age." The American journal of gastroenterology. 1994: 2196-2200.
8. Zavaleta J, Muñoz A, Blanco T, Alvarado C, Loja B. Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. Revista Horizonte Médico. 2005; 5(2): 29 – 38
9. Naito Y. Yoshikawa T. Oxidative stress involvement and gene expression in indomethacin-induced gastropathy. Redox Rep. 2006; 11:243-53
10. Morazzoni P, Malandrino S. Anthocyanins and their aglycons as scavengers of free radicals and antilipoperoxidant agents. Pharmacol Res Crnm. 20: 254; 1988
11. Zorofchian S, Fadaeinasab M, Nikzad S, Mohan G, Mohd H, Abdul H. Annona muricata (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated

- Acetogenins and Biological Activities. Int. J. Mol. Sci. 2015; 16: 15625-15658
12. Janssen WJ, Henson PM. Cellular regulation of the inflammatory response. Toxicol Pathol. 2012;40(2):166-73
  13. Quispe A, Zavala D, Posso M, Rojas J, Vaisberg A. Efecto citotóxico de *Annona muricata* (guanabana) en cultivo de líneas celulares de adenocarcinoma gástrico y pulmonar. CIMEL. 2007; 12(1): 19 – 22
  14. 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
  15. Quispe A, Zavala D, Rojas J, Posso M, Vaisberg A. Efecto citotóxico selectivo in vitro de muricin h (acetogenina de *Annona muricata*) en cultivos celulares de cáncer de pulmón. Rev Peru Med Exp Salud Publica 23(4), 2006
  16. Castañeda C, Manrique M, Ibáñez V, Gamarra C, Galán L. Evaluación del efecto antiulceroso del extracto acuoso y metanólico de las semillas de *lupinus mutabilis* sweet (tarwo, chocho) en ratas. Facultad de Medicina, Universidad San Martín de Porres. Lima, Perú. 2003
  17. Arroyo J, Bonilla P, Moreno E, Ronceros G, Tomás G, Huamán J, et al. Efecto gastroprotector y antisecretor de un fitofármaco de hojas de matico (*Piper aduncum*). Rev Perú Med Exp Salud Pública. 2013; 30(4):608-15
  18. Oviedo V, García M, Díaz C, Marder M, Costa M, Rincón J, Sánchez C, Guerrero M. Extracto y fracción alcaloidal de *Annona muricata* con actividad de tipo ansiolítica en ratones. Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm. 2009; 38 (1): 105-120
  19. Boffill C, Marcel R, Monteagudo J, Sánchez A, Díaz C, Iglesias R. Actividad gastroprotectora de la *Musa sp* ABB sobre úlceras inducidas por etanol. Medicentro. Villa Clara Cuba. 2007; 11(1)
  20. Yang C, Gundala S, Mukkavilli R, Vangala S, Reid M, Aneja R. Synergistic interactions among flavonoids and acetogenins in *Graviola* (*Annona muricata*) leaves confer protection against prostate cancer. Carcinogenesis. 2015; 36(6): 656–665

21. Azim Y, Karyono S, Sujuti H. The Influence Of *Annona Muricata* Leaves Extract In Damaging Kidney Cell And Inducing Caspase-9 Activity. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)*. 2013; 8(15): 48 – 52
22. Suvarna P, Pramod L, Anagha M. To study analgesic activity of stem of *Musa sapientum* Linn. *Journal of Pharmacy Research* 2009; 2(9): 1381-2.
23. Ferrer I, Pérez J, Herrerías J. Guía de Seguimiento Farmacoterapéutico sobre úlcera péptica. (En Línea). España Universidad de Granada. Fecha de acceso 23 julio 2017. URL disponible en: [http://www.ugr.es/~cts131/esp/guias/GUIA\\_ULCERA.pdf](http://www.ugr.es/~cts131/esp/guias/GUIA_ULCERA.pdf)
24. Villalobos P. Úlcera péptica. En: Villalobos P, Valdovinos D, Olivera M, editores. *Principios de Gastroenterología*. 1era. Edición. México: Méndez Editores, 2000:333-352
25. Peura D, Feldman M, Bonis P. Association between *Helicobacter pylori* infection and duodenal ulcer. 2008; 16(2)
26. Sharma R, Organ C, Hirvela E, Henderson V. Clinical observation of the temporal association between crack cocaine and duodenal ulcer perforation. *Am J Surg* 1997; 174:629-632
27. Regalado V, Sánchez P, Mancebo D. Tratamientos convencionales y medicina alternativa de la úlcera péptica. *Revista Cubana De Farmacia*. 2012; 46(1): 127-137
28. Najm W. Peptic Ulcer Disease. Primary Care. *Clin Office Part*. 2011; 38:383-394
29. Katz P. Putting Immediate-Release ProtonPump Inhibitors into Clinical Practice: Improving Nocturnal and Control and Avoiding the Possible Complications of Excessive Acid Exposure Alimentary. *Pharmacology & Therapeutics*, 2005; 22(3):31-38
30. Alsasua Del Valle A. Fármacos antiulcerosos. *Farmacología y Terapéutica*. Madrid. 2012; 10(3):180-193
31. Cuello M, Jaramillo G, Canchingre E, Pérez J, Castro C, Cabrera O. Determinación de componentes nutricionales presentes en las hojas secas de *Annona muricata* L. (Guanábana). *Revista Cumbres*. 2017; 3(1): 09 – 28
32. Ávalos A, Pérez E. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal. 2009; 2(3): 119-145

33. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón M. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp.* 2002; 17(6): 271-278
34. Kuklinski, Claudia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural, *Farmacognosia*. Barcelona: Omega; 2003
35. Foy E, Mac D, Cuyos M, Gueñas R. Extracción, identificación y evaluación de saponinas en *Agaricus bisporus*. *Biotempo*. 2005; 1(5): 31-36
36. Álvarez J. Tanino la revolución enológica mito o realidad. *Revista Enología*. 2007; 2(4)
37. Sharapin N., Rocha L., Pinzón. CYTED Organization, and Convenio Andrés Bello Organization. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo: Subprograma X Química Fina Farmacéutica, 2000
38. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación; 1995. p. 220
39. Lock de Ugaz, O. Investigación Fitoquímica. Segunda Edición. Lima: Editorial Fondo Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994
40. Silvero A, Morínigo G, Meza O, Mongelós C, González A, Figueredo T. Toxicidad aguda de las hojas de *Xanthium spinosum* en ratones balb/c. *Revista Peruana De Medicina Experimental Y Salud Pública*. 2016; 33(1): 113 – 119
41. Cyted Programa iberoamericano de ciência y tecnologia para el desarrollo. Técnicas de investigación em plantas medicinales. 1995
42. Marhuenda RE, Br avo DL. Manual de Farmacoterapia. Madrid: Elsevier; 2005: 729
43. Alba B, Avalos R, Jara R, Palacios B, Quispe V, Ramírez E, Ramírez S, Reyes P, Rodríguez T, Guevara V. Efecto del extracto acuoso del fruto de *Capsicum pubescens* sobre úlceras gástricas inducidas en *Rattus rattus* var. *Albinus*. *Revista Farmaciencia*. 2015; 3(1): 31-38
44. Kang J, Teng C, Wee A, Chen F. Effect of capsaicin and chili on ethanol induced gastric mucosal injury in the rat. *Gut*. 1995; 36 (5): 664-9
45. Apecechea M, Larionova M, Salazar S, Abín G. Evaluación de la actividad antiulcerosa del 2"-0-ramnosil 4"-0-metil-vitexina de las hojas de *Piper Ossanum*. *Rev Cubana Med Milit*. 2000; 29(2): 114 – 7

46. Nwafor P, Okwuasaba F, Binda L. Antidiarrhoeal and antiulcerogenic effects of methanolic extracts of *Asparagus pubescens* root in rats. J Ethnopharmacol. 2000; 72(3): 421 – 427
47. Diccionario AKAL de términos biológicos, ed. Eleanor Lawrence, 2003, Madrid, España
48. Fitoterapia .net . recuperado de <https://www.fitoterapia.net/index.html>. Fecha 23 de Marzo, 2018
49. Publicaciones de la OMS, recuperado de <http://www.who.int/es/>, fecha 22 marzo, 2018.

## ANEXOS

### Anexo 1. Matriz de consistencia

EFECTO ANTIULCEROSO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICOS DE LAS HOJAS DE LA *Annona muricata* (GUANABANA) EN RATAS INDUCIDAS A ÚLCERA GÁSTRICA

Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables e indicadores			
<p><b>Problemas General</b></p> <p>¿En qué medida el extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>Annona muricata</i> (Guanabana) tendrá efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica?</p> <p><b>Problemas específicos</b></p> <p>¿Cuál será la dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>Annona muricata</i> (Guanabana) que tendrá mejor efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica?</p> <p>¿Cuáles serán los componentes activos del extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>Annona muricata</i> (Guanabana) responsable del efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica?</p> <p>¿Cuál será la dosis letal media del extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>Annona muricata</i> (Guanabana) en ratones?</p>	<p><b>Objetivo general</b></p> <p>Determinar en qué medida el extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>Annona muricata</i> (Guanabana) tendrá efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica</p>	<p><b>Hipótesis general</b></p> <p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>Annona muricata</i> (Guanabana) tiene efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica</p>	<b>Variable Dependiente</b>			
				Dimensiones	Indicador	Nº ítems
				Componentes activos	Metabolito secundario	7
				Actividad antiulcerosa	% Inhibición antiulceroso	48
	<p><b>Objetivos específicos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Determinar cuál será la dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>Annona muricata</i> (Guanabana) que tendrá mejor efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica</li> <li>•Determinar cuáles serán los componentes activos del extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>Annona muricata</i> (Guanabana) responsable del efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica</li> </ul> <p>Determinar cuál será la dosis letal media del extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>Annona muricata</i> (Guanabana) en ratones</p>	<p><b>Hipótesis específicas</b></p> <p>La dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>Annona muricata</i> (Guanabana) que tendrá mejor efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica es 600 mg/Kg de peso corporal</p> <p>Los componentes activos del extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>Annona muricata</i> (Guanabana) responsable del efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica son los compuestos fenólicos</p> <p>La dosis letal media del extracto hidroalcohólico de las hojas de la <i>Annona muricata</i> (Guanabana) en ratones es mayor a 2000 mg/Kg de peso corporal</p>				

Método y Diseño	Población	Técnicas e Instrumentos	Método de Análisis de datos
<p><b>Enfoque:</b> Cuantitativo</p> <p><b>Tipo:</b> Experimental</p> <p><b>Tipo de estudio:</b> Prospectivo, longitudinal, experimental</p> <p><b>Diseño de Investigación:</b> Diseño para evaluar el efecto antiulcerosa em ratas inducidas a úlcera gástrica</p> <p>Grupo I control: Suero Fisiológico 5 mL/kg</p> <p>Grupo II: Alcohol 96 % 10 mL/Kg</p> <p>Grupo III: Ranitidina 100 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg</p> <p>Grupo IV: Extracto Annona muricata 200 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg</p> <p>Grupo V: Extracto Annona muricata 400 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg</p> <p>Grupo VI: Extracto Annona muricata 600 mg/kg + Alcohol 96 % 10 mL/Kg</p>	<p><b>Población:</b></p> <p>48 ratas hembras cepa Hotlzmann obtenido del Instituto Nacional de Salud</p> <p><b>Muestras:</b></p> <p>Estômagos de ratas</p>	<p><b>Técnica:</b></p> <p>Observación</p> <p><b>Instrumento:</b></p> <p>Ficha de observación</p>	<p>Los datos son expresados como media aritmética <math>\pm</math> error estándar, porcentajes, figuras. Para el análisis estadístico de las variables cuantitativas se emplea el análisis de varianza de una vía (One-way ANOVA) para determinar si existe diferencia estadísticamente significativa para la variable evaluada intergrupos e intragrupos, se realiza un análisis post hoc mediante el test de Scheffé. El nivel de significancia fijado es <math>P &lt; 0.05</math>. Se usa el software estadístico SPSS for Windows versión 20</p>

**Anexo 2. Análisis ANOVA del efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de la *Annona muricata* (guanábana)**

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Pérdida de pliegues de mucosa	Inter-grupos	105.000	5	21.000		.000
	Intra-grupos	.000	30	.000		
	Total	105.000	35			
Decoloracion de mucosa	Inter-grupos	4.472	5	.894	8.474	.000
	Intra-grupos	3.167	30	.106		
	Total	7.639	35			
Edema	Inter-grupos	3.139	5	.628	4.185	.005
	Intra-grupos	4.500	30	.150		
	Total	7.639	35			
Hemorragia	Inter-grupos	3.472	5	.694	3.788	.009
	Intra-grupos	5.500	30	.183		
	Total ANOVA	8.972	35			
Numero de petequias	Inter-grupos	2.667	5	.533	3.000	.026
	Intra-grupos	5.333	30	.178		
	Total	8.000	35			
Intensidad de ulceracion	Inter-grupos	22.556	5	4.511	29.000	.000
	Intra-grupos	4.667	30	.156		
	Total	27.222	35			



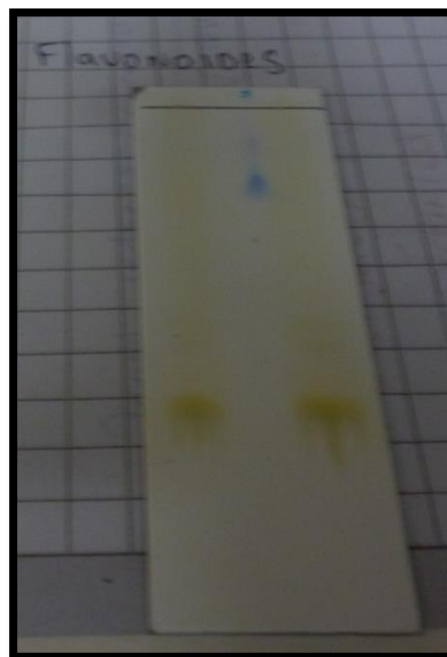
### Anexo 3: Análisis de comparaciones múltiples post hoc del efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* (guanábana)

Comparaciones múltiples						
Variable dependiente		(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.
Decoloración de mucosa	HSD de Tukey	Control SSF 5mL/Kg	Alcohol 96% 10 mL/Kg	-1.000	.188	.000
			Control SSF 5 mL/Kg	1.000	.188	.000
		Alcohol 96% 10 mL/Kg	Ranitidina 100 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	.833	.188	.001
			Anona 400 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/kg	.833	.188	.001
			Anona 600 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	1.000	.188	.000
		Ranitidina 100 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	Alcohol 96% 10 mL/Kg	-.833	.188	.001
		Anona 400 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/kg	Alcohol 96% 10 mL/Kg	-.833	.188	.001
Anona 600 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/kg	Alcohol 96% 10 mL/Kg	-1.000	.188	.000		
Edema	HSD de Tukey	Control SSF 5mL/Kg	Alcohol 96% 10 mL/Kg	-.833	.224	.009
		Alcohol 96% 10 mL/Kg	Control SSF 5 mL/Kg	.833	.224	.009
			Anona 600 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	.833	.224	.009
		Anona 600 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/kg	Alcohol 96% 10 mL/Kg	-.833	.224	.009
Hemorragia	HSD de Tukey	Control SSF 5mL/Kg	Alcohol 96% 10 mL/Kg	-1.000	.247	.004
		Indometacina 80 mg/kg	Control SSF 5 mL/Kg	1.000	.247	.004
Número de petequias	HSD de Tukey	Control SSF 5mL/Kg	Alcohol 96% 10 mL/Kg	-.833	.243	.020
		Alcohol 96% 10 mL/Kg	Control SSF 5 mL/Kg	.833	.243	.020
Intensidad de ulceración	HSD de Tukey	Control SSF 5mL/Kg	Alcohol 96% 10 mL/Kg	-2.500	.228	.000
			Ranitidina 100 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	-.833	.228	.011
			Anona 200 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	-1.833	.228	.000
			Anona 400 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	-1.500	.228	.000
			Anona 600 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	-1.000	.228	.002
		Alcohol 96% 10 mL/Kg	Control SSF 5 mL/Kg	2.500	.228	.000
			Ranitidina 100 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	1.667	.228	.000
			Anona 400 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/kg	1.000	.228	.002
			Anona 600 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	1.500	.228	.000
		Ranitidina 100 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	Control SSF 5 mL/Kg	.833	.228	.011
			Alcohol 96% 10 mL/Kg	-1.667	.228	.000
			Anona 200 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	-1.000	.228	.002
		Anona 200 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/kg	Control SSF 5 mL/Kg	1.833	.228	.000
			Ranitidina 100 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	1.000	.228	.002
			Anona 600 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	.833	.228	.011
		Anona 400 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/kg	Control SSF 5 mL/Kg	1.500	.228	.000
			Alcohol 96% 10 mL/Kg	-1.000	.228	.002
		Anona 600 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	Control SSF 5 mL/Kg	1.000	.228	.002
			Alcohol 96% 10 mL/Kg	-1.500	.228	.000
			Anona 200 mg/kg + Alcohol 96% 10 mL/Kg	-.833	.228	.011

#### Anexo 4. Testimonios fotográficos



**Foto 1.** Extracto hidroalcohólico seco de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana)



**Foto 2.** Cromatografía en capa fina y revelador en UV para identificación de flavonoides



**Foto 3.** Administración de los tratamientos a ratas por vía oral



**Foto 4.** Ratas cepa Holtzman usados en el experimento





**Foto 5.** Extracción de estómago de las ratas



**Foto 6.** Ubicación de estómago de ratas en tecnopor para lectura de ulceraciones