



**Universidad
Norbert Wiener**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

Tesis

**EFEECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE
Annona muricata (guanábana) EN RATONES ALBINOS**

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Autor: Roxana Maribel Nieto Inca

Lima – Perú

2021

Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de
Annona muricata (guanábana) en ratones albinos

Asesor

Dr. Ernesto Torres Véliz

Código ORCID 0000-0003-4511-3060.

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme lograr una de mis metas, por guiarme y acompañarme en el logro de mis objetivos.

A mis padres Jesús y Estela por darme la vida y apoyarme en todo momento.

A mi esposo Javier y mi hijo Jesús por acompañarme en momentos en que el trabajo y el estudio ocuparon mi tiempo, por ser fuente de inspiración en el deseo de superarme.

A mis hermanas, hermano y sobrinos por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

A mi asesor por su apoyo y dedicación en la culminación de este sueño.

A mi coasesor por sus conocimientos brindados.

A mi alma mater Universidad Wiener y docentes por impartirme conocimientos y permitirme ser un profesional.

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA.....	1
1.1. Planteamiento del problema.....	1
1.2. Formulación del problema.....	2
1.3. Objetivos de la Investigación	2
1.3.1. Objetivo general.....	2
1.3.2. Objetivos específicos	2
1.4. Justificación	3
1.5. Limitaciones de la investigación	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. Antecedentes de la investigación.	4
2.2. Bases teóricas.....	11
2.2.1. <i>Annona muricata</i>	11
2.2.1.1. Clasificación botánica.....	12
2.2.1.2. Descripción botánica.	12
2.2.1.3. Propagación	14
2.2.1.4. Ecología.....	17
2.2.1.4.1. Clima y suelo	17
2.2.1.5. Fenología.....	18
2.2.1.6. Fitoquímica.	19
2.2.1.7. Constituyentes químicos	20

2.2.1.8. Usos etnomedicinales	23
2.2.1.9. Efectos farmacológicos de <i>Annona muricata</i>	26
2.2.2. Dolor.	31
2.2.2.1. Definición.....	31
2.2.2.2. Fisiopatología del dolor.	32
2.2.2.3. Clasificación del dolor	33
2.2.2.4. Analgésicos.....	36
2.2.2.4.1. Analgésicos menores	36
2.2.2.4.2. Analgésicos opioides.....	37
2.3. Formulación de hipótesis.	39
2.3.1. Hipótesis general.....	39
2.3.2. Hipótesis específica	39
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	40
3.1. Método de investigación	40
3.2. Enfoque investigativo.	40
3.3. Tipo de investigación	40
3.4. Diseño de investigación.	40
3.5. Población y muestra	40
3.6. Variables de estudio	40
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	41
3.7.1. Proceso de recolección de datos.....	41

3.7.1.1. Recolección del material botánico.....	41
3.7.1.2. Obtención del extracto etanólico al 96% de las hojas de <i>Annona muricata</i>	41
3.7.1.3. Análisis fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana”	42
3.7.1.4. Evaluación del efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana” mediante la prueba Hot plate.....	43
3.8. Procesamiento y análisis de datos.	45
3.9. Aspectos éticos.....	46
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	49
4.1. Resultados	49
4.1.1 Análisis descriptivos de los resultados.....	49
4.1.2 Discusión de resultados.....	56
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	58
5.1. Conclusiones	58
5.2. Recomendaciones	58
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
ANEXOS	

Índice de tablas

Pág

Tabla 1. Composición proximal de diferentes partes de <i>Annona muricata</i>	21
Tabla 2. Contenido total de flavonoides, polifenoles y proteínas de hojas frescas y secas pulpa y semillas de <i>Annona muricata</i> “guanábana”	22
Tabla 3. Usos etnomedicinales mundiales de <i>Annona muricata</i>	25
Tabla 4. Actividades farmacológicas in vivo de <i>Annona muricata</i>	30
Tabla 5. Diferencia entre dolor agudo y crónico	34
Tabla 6. Diferencia entre dolor somático y neuropático	35
Tabla 7. Distribución del material biológico para la prueba de experimentación	44
Tabla 8. Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana” en ratones albinos a diferentes tiempos de experimentación	49
Tabla 9. Tiempos de latencia basal de los diferentes grupos de estudio	51
Tabla 10. Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana” a los 30 minutos	52
Tabla 11. Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana” a los 60 minutos	53
Tabla 12. Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana” a los 90 minutos.....	54
Tabla 13. Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana” a los 120 minutos	55

Índice de figuras

Pág.

Figura 1. Injerto enchapado lateral de <i>Annona muricata</i>	16
Figura 2. <i>Annona muricata</i> : flor en anteras, estambre y gineceo, inserción de flor, semilla, baya	16
Figura 3. <i>Annona muricata</i> : fruto	17
Figura 4. Escalera analgésica de la OMS	35
Figura 5. Estructura química del diclofenaco	37
Figura 6. Estructura química del tramadol	39
Figura 7. Actividad analgésica utilizando método Hot plate	45
Figura 8. Procedimiento de la preparación del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i>	47
Figura 9. Procedimiento de la actividad analgésica del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i>	48
Figura 10. Gráfico del efecto analgésico del extracto analgésico de las hojas de <i>Annona muricata</i> a diferentes tiempos de exposición	50
Figura 11. Gráfico del tiempo de latencia del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i>	51
Figura 12. Gráfico del efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> a los 30 minutos	52
Figura 13. Gráfico del efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> a los 60 minutos	53

Figura 14. Gráfico del efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> a los 60 minutos	54
Figura 15. Gráfico del efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> a los 120 minutos	55

RESUMEN

Se realizó la investigación de la especie *Annona muricata* “guanábana”, cultivado en el departamento de Ancash. Este estudio tiene como **Objetivo:** Determinar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana” en ratones albinos.

Método: se empleó el método de Placa Caliente (Hot plate), para lo cual se utilizaron 25 ratones albinos de la especie *Mus musculus* cepa Balb C53, machos distribuidos al azar en 5 grupos de 5 ratones cada uno: Grupo I suero fisiológico 0.9%, Grupo II diclofenaco 10 mg/kg de peso, Grupo III tramadol 10 mg/kg de peso, Grupo IV y V se utilizó extractos etanólicos a dosis de 400 y 600 mg/kg administrados por vía orogástrica. Previamente a esto se le midió el tiempo de latencia basal, para luego someter al estímulo térmico, el cual fue evaluado cada 30 minutos por espacio de 2 horas. **Resultados:** se evidenció efecto analgésico a la dosis de 400 y 600 mg/kg, pero el mayor efecto se alcanzó con la dosis de 600 mg/kg a los 90 minutos, también se observa efecto analgésico a los 60 minutos ambos superando al tramadol. **Conclusión:** se concluye que el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana” tiene efecto analgésico en ratones albinos.

Palabras clave: *Annona muricata*, efecto analgésico, hojas, Hot plate

SUMMARY

The investigation of the plant species *Annona muricata* “guanábana”, located in the department of Ancash. The **Objective** of this study is to determine the analgesic effect of the ethanolic extract of the leaves of *Annona muricata* “soursop” in albino mice. **Method:** the Hot plate method was used, in which 25 albino mice of the species *Mus musculus* strain Balb C53 were used, males randomly distributed in 5 groups of 5 mice each group: Group I physiological serum 0.9%, Group II diclofenac 10 mg/kg, Group III tramadol 10 mg/kg, Group IV and V used ethanolic extracts at doses of 400 and 600 mg/kg administered through the oropharynx. Before this, the basal time was measured, and then subjected to thermal stimulation, which was evaluated every 30 minutes for 2 hours. Results: analgesic effect is evidenced at the dose of 400 and 600 mg/kg, but the greatest analgesic effect was achieved with the dose of 600 mg / kg at 90 minutes, analgesic effect is also observed at 60 minutes, both exceeding tramadol. Conclusion: it is concluded that the ethanolic extract of the leaves of *Annona muricata* “guanábana” has an analgesic effect.

Keywords: *Annona muricata*, analgesic effect; leaves, Hot plat

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos las plantas han sido empleadas para aliviar los males de la humanidad. El conocimiento empírico acerca de las plantas medicinales y sus efectos curativos se ha acumulado durante milenios y posteriormente pasó a ser parte integral de sistemas y tradiciones curativas de los pueblos.¹

La medicina tradicional es utilizada globalmente y tiene una importancia económica que está creciendo rápidamente; en países en vías de desarrollo es el único modo de tratamiento accesible y económico.²

En el Perú la riqueza de las plantas medicinales es muy amplia y está enmarcada dentro de más de 4400 especies de usos conocidos por las poblaciones locales de las cuales un gran porcentaje se presenta en la región andina.³

El uso de plantas medicinales está presente en la vida cotidiana de los profesionales de la salud, pero ausente en su espacio de trabajo, reflejando inseguridad en la indicación, justificado por la limitada divulgación de validaciones científicas.⁴

Por ello es muy importante la investigación de plantas medicinales con posibles efectos terapéuticos, ya que se estima que aproximadamente el 25% de medicamentos industrializados derivan de plantas.⁴

Esto conlleva a la búsqueda y obtención de drogas alternativas que presenten menos efectos colaterales en relación a los convencionales, y de ser posible se conviertan en herramientas útiles para mejorar las condiciones socioeconómicas de las comunidades que usan y comercializan sus propias plantas.⁵

En la actualidad el uso indiscriminado de analgésicos y antiinflamatorios está ocasionando no solo el abuso de estos, sino también originando otros problemas de salud, es por ello la importancia de buscar alternativas que sean potentes y menos tóxicas para la población.

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

El dolor es uno de los problemas de salud subestimado en el mundo a pesar que tiene consecuencias en la calidad de vida de las personas, la gran mayoría presentan dolor leve a moderado generando así trastornos como intranquilidad, ansiedad, entre otros.

El dolor suele acompañar a diferentes enfermedades como cáncer, artritis, mialgias que afectan tanto a adultos, niños y ancianos limitando su vida cotidiana, afectando su calidad de vida por lo que resulta necesario encontrar alternativas a los tratamientos convencionales muchas veces costosos.

En nuestro país por cada hombre hay seis mujeres que padecen artritis reumatoidea cuyo síntoma principal es el dolor. Como también se estima que en el Perú cada año se diagnostican más de 100 casos nuevos de artritis reumatoidea.⁶

Estudios también revelen que existe un 20.9% de prevalencia en el dolor cervical.⁷

Muchos centros de salud están alejados de la población o tienen problemas de infraestructura y servicios de atención primaria, los cuales representan un problema para su acceso; a su vez los tratamientos para el dolor crónico son usados en forma permanente, siendo muchas veces costosos para la población afectada lo cual afecta la adherencia al tratamiento.

Todo esto condicionado a uso irracional e indiscriminado de analgésicos y antiinflamatorios en farmacias y boticas tal como lo demuestra un estudio sobre el manejo del dolor donde nos revela que el 88% corresponden al uso para el dolor somático.⁸

Los escasos recursos de salud no deben ser un obstáculo para que los enfermos que padecen de dolor de cualquier etiología tengan acceso a tratamientos paliativos oportunos para el dolor.

Debido a esta realidad es muy importante el estudio de plantas medicinales que al ser utilizadas ayudaran a mejorar la calidad de vida de las personas que lo padecen.

El presente trabajo de investigación pretende demostrar el efecto analgésico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana”, así mismo busca la obtención de productos alternativos que presenten menos efectos adversos comparados a los convencionales. Por ello es muy importante la investigación de plantas medicinales entre ellas la *Annona muricata* con posible efecto analgésico, razón por la cual debe ser demostrado y así corroborar su uso.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

- ¿Tendrá efecto analgésico el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana” en ratones albinos realizados en la Universidad Wiener en junio 2020?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

- Determinar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana” en ratones albinos.

1.3.2 Objetivos específicos

- Obtener el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana” conteniendo principios activos de probable efecto terapéutico.
- Comprobar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana” según la prueba de placa caliente (Hot-Plate) en ratones albinos.

1.4 Justificación de la investigación

El presente trabajo de investigación tiene como finalidad demostrar el uso científico de la actividad analgésica del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* (guanábana).

En la actualidad es notoria la inclinación por el uso de fármacos con actividad analgésica y antiinflamatoria muchos de los cuales generan efectos adversos, de allí la importancia de motivar e incentivar el uso de plantas medicinales en el tratamiento de dolencias que cursan con dolor. Esto beneficiará sobre todo a aquellas personas de escasos recursos económicos, ya que esta planta es de fácil obtención.

Se justifica el estudio de la siguiente manera:

- ❖ Dar a conocer tratamientos alternativos para terapias del dolor utilizando productos naturales con menos efectos adversos.
- ❖ Reducir los costos de los tratamientos para el dolor, ya que la planta *Annona muricata* (guanábana) está al alcance de la población.
- ❖ Se utilizará el método Hot plate, uno de los más usados donde se aplica estímulos térmicos, donde predomina el reflejo supraespinal.
- ❖ Promover la investigación de plantas con actividad analgésica, ya que muchos analgésicos se han obtenido a partir del aislamiento de plantas, las cuales son el inicio para el aislamiento de nuevos compuestos con actividad analgésica.

1.5 Limitaciones de la investigación

- Escasa información de la planta relacionados al efecto analgésico de *Annona muricata*
- La pandemia del coronavirus no permitió la realización de otros estudios como la marcha fitoquímica, cromatografía de gases entre otros.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

- Cala Calviño “et al”, (2018) en Nigeria, en su estudio farmacognóstico preliminar de la especie *Annona squamosa* L, plantearon como **Objetivo**: Determinar metabolitos secundarios de un extracto acuoso de *Annona squamosa* mediante un tamizaje fitoquímico.

Metodología: Se realizó el tamizaje fitoquímico del extracto acuoso de *Annona squamosa* para determinar metabolitos secundarios mediante reacciones químicas de identificación.

Resultado: Se confirmó la presencia de taninos, flavonoides, fenoles, aceites esenciales, alcaloides, carbohidratos y azúcares reductores en la planta.

Conclusión: Por medio del tamizaje fitoquímico se demostró la presencia de metabolitos secundarios responsables de efectos antiinflamatorios, antioxidantes y antitumorales.⁹

- Coria A, et al (2016) en México realizaron una revisión denominada *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity donde plantearon como:

Objetivo: Unir estudios científicos reportados hasta el año 2015 donde se describen su composición fitoquímica, usos medicinales, usos tradicionales de *Annona muricata*.

Metodología: extrajeron reseña de publicaciones y revisiones sobre la actividad biológica, usos medicinales, bioactividad de *Annona muricata*.

Resultado: Se determinó la presencia de más de 200 compuestos químicos como alcaloides, acetogeninas, fenoles, muchos de los cuales son responsables de la actividad antimicrobiana, antioxidante, analgésica, entre otras.

Conclusión: Se concluyó que la *Annona muricata* se usa ampliamente en la medicina tradicional, estudios in vivo de los extractos crudos y compuestos aislados demostraron que poseían actividad ansiolítica, analgésica, antiinflamatoria entre otras, utilizando hojas, raíz, tallo de *Annona muricata*¹⁰

- Maruvoor K, y Krishnaveni C (2017), en la India, en un artículo denominado Anti-inflammatory activity of aqueous leaf extract of *Annona muricata*. L and *Spermacoce* *articularis*. L. F. against carrageenan induced paw oedema in rats, plantearon como

Objetivo: Evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto acuoso de *Annona muricata* L y *Spermacoce articularis* LF

Metodología: Utilizaron el método de edema de pata de rata inducida por λ -carragenina, los fármacos se administraron por vía oral y luego de 30 minutos se inyectó la suspensión de λ -carragenina en la pata posterior derecha de cada rata (0.05 ml). El volumen de las patas de las ratas fue medido con el pletismómetro a intervalos de 1 hora por un periodo de 5 horas.

Resultado: El estudio reveló que el extracto acuoso de las hojas de *Annona muricata* L y *Spermacoee articularis*. L.F. presentó una alta actividad antiinflamatoria a una dosis de 400 mg/kg. La indometacina mostró al final una disminución en el volumen de la pata.

Conclusión: El extracto acuoso de las hojas de *Annona muricata* L y *Spermacoee articularis* L. F evidenció propiedades antiinflamatorias.¹¹

- Silva J, Araújo C, Saraiva S, et al (2015), Brasil; publicaron un artículo cuyo título es Actividades antinociceptivas y antiinflamatorias del extracto etanólico de *Annona vepretorum* Mart. (Annonaceae) en roedores, donde plantearon como:

Objetivo: Evaluar las propiedades antiinflamatorias y antinociceptivas del extracto etanólico de *Annona vepretorum* en modelos experimentales de dolor e inflamación.

Metodología: El efecto antinociceptiva fue evaluado por contorsiones inducidas por formalina, ácido acético; prueba de placa caliente donde se evaluó salto o lamida de pata, mientras que para la actividad antiinflamatoria se utilizó el edema de pata inducido por carragenina, para el perfil antiinflamatorio se utilizó la migración de leucocitos a la cavidad peritoneal.

Resultado: El extracto etanólico de *Annona vepretorum* disminuyó el número de retorcimientos, en la prueba de placa caliente aumentó el tiempo de reacción así mismo inhibió el aumento del volumen del edema luego de la administración de histamina y carragenina.

Conclusión: Se evidenció que el extracto etanólico de *Annona vepretorum* tiene propiedades antiinflamatorias y antinociceptivas probablemente relacionadas con la activación de receptores opioides y la inhibición de mediadores responsables de la inflamación.¹²

- García Y, et al, (2016) en Cuba, en un artículo denominado Optimization of variables for extraction of flavonoids from *Annona muricata* L. leaves, plantearon como:

Objetivo: Determinar la influencia de los parámetros de operación en la extracción de flavonoides de las hojas de *Annona muricata* L.

Metodología: Para determinar la presencia de flavonoides y quercetina utilizaron el método Colorimétrico por reacción con cloruro de aluminio en metanol a 430 nm.

Resultado: Se obtuvo mayor concentración de flavonoides al utilizar el etanol a una concentración de 96% tomando como tiempo 2.5 horas.

Conclusiones: Se estableció las condiciones óptimas en la extracción de flavonoides, utilizando como variable de operación temperatura, tiempo y relación de la muestra vegetal / volumen de disolvente.¹³

- Condori Q, Oviedo A; (2017) en Perú en su tesis Evaluación del efecto antiproliferativo y apoptótico del extracto en acetato de etilo de las hojas de *Annona muricata* (guanábana) sobre células cancerígenas (PC-3) y células epiteliales sanas de próstata humana (HPrEC), plantearon como:

Objetivo: Evaluar el efecto del extracto en acetato de etilo de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) en las células cancerígenas (PC-3) y células epiteliales sanas de próstata humana (HPrEC).

Metodología: Utilizaron el método de ensayo de viabilidad celular (MTS) tanto en células de cáncer de próstata así como células sanas frente al acetato de etilo de las hojas de *Annona muricata*.

Resultado: Se evidenció que el extracto en acetato de etilo de las hojas de *Annona muricata* posee efecto apoptótico y antiproliferativo, donde la concentración de 10 µg/mL es la que posee mayor efectividad.

Conclusiones: Se concluyó que el extracto en acetato de etilo de las hojas de *Annona muricata* induce a la muerte celular en las células cancerígenas y células epiteliales sanas de próstata humana. Así mismo se estableció que el efecto antiproliferativo y apoptótico del extracto en acetato de etilo de las hojas de *Annona muricata* es a través de la vía mitocondrial donde hay un aumento de la proteína pro apoptótica y una disminución de la proteína anti apoptótica Bel -2.¹⁴

- Avalos M, Leal G. (2015) Perú; en su tesis Efecto del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* en la oxidación de LDL humano in vitro, plantearon como:

Objetivo: Determinar el efecto del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* en la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) humana in vitro.

Metodología: Se utilizó el método Soxhlet para obtener el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* a concentraciones de 0.24 g, 0.32 g, 0.40 g e.s./100 mL, así como el método enzimático Trinder para aislar las LDL. Para determinar el porcentaje de inhibición de la oxidación de LDL se utilizó el método TBARS (especies reactivas del ácido tiobarbitúrico) y para medir el índice de la oxidación de LDL se utilizó la formación de malondialdehído (MDA) el cual es el producto final de la oxidación de los lípidos

Resultados: Se evidenció que el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* tienen la capacidad de disminuir la formación de lipoproteínas mediante TBARS (especies reactivas del ácido tiobarbitúrico), también se observó la disminución de malondialdehído en el grupo tratado con el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* con cual se confirma que *Annona muricata* inhibe la peroxidasa lipídica.

Conclusiones: Se concluye que el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* inhibe la oxidación de la LDL in vitro.¹⁵

- De la Cruz E, Calixto J. (2018) en Perú, en su tesis denominada Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* en ratas inducidas a úlcera gástrica, plantearon como:

Objetivo: Establecer si el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) posee efecto antiulceroso en ratas inducidas a úlcera gástrica.

Metodología: Se utilizó el método Lee para valorar el efecto antiulceroso donde se empleó el etanol como inductor de la úlcera gástrica en ratas.

Resultados: Entre los metabolitos secundarios hallados en el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* encontramos compuestos fenólicos, alcaloides, taninos, flavonoides, saponinas, esteroides, triterpeoides

El mayor efecto antiulceroso del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* se obtuvo con la dosis de 600 mg/kg de peso, probablemente se debe a la presencia de taninos y flavonoides.

Conclusiones: Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* presenta efecto antiulceroso.¹⁶

- Palomino Flores C. (2016) Perú, en su tesis Efecto preventivo del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* (guanábana) sobre el síndrome metabólico inducido en ratas.

Objetivo: Valorar el efecto preventivo del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* administrada en ratas inducidas a síndrome metabólico.

Metodología: Se induce el síndrome metabólico según el método de Ferreira de Moura donde la ingesta de fructosa modifica el metabolismo de la glucosa a nivel hepático. A su vez se evaluó el peso corporal semanalmente, glicemia y hemoglobina glicosilada, presión arterial quincenalmente y el perfil lipídico semanalmente.

Resultados: Se evidenció que las ratas que recibieron el extracto etanólico de las hojas de *annona muricata* mostraron disminución de peso corporal relacionado a la presencia de flavonoides, alcaloides, taninos; así mismo también se observó disminución en los valores de glucosa y hemoglobina glicosilada debido a la presencia de flavonoides y fenoles, la disminución de la presión arterial se debe a los alcaloides, colesterol y triglicéridos presentes en las hojas de *Annona muricata*.

Conclusiones: El extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* evidenció efecto preventivo del síndrome metabólico inducido en ratas por colesterol más fructosa.¹⁷

- Balvin P, Tardeo V, (2018) Perú, en su tesis Efecto cicatrizante de gel a base del extracto hidroalcohólico de hojas de *Annona muricata* en ratas albinas, plantearon como:

Objetivo: Validar el efecto cicatrizante del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* en ratas albinas.

Metodología: a través del método de incisión de heridas descrita por Nayak y Col. se evaluó el efecto cicatrizante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata*.

Resultado: El gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* tiene efecto cicatrizante a concentraciones de 25, 15 y 10% con un efecto dependiente de las dosis.

Conclusiones: La presencia de metabolitos secundarios en el gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* serían los posibles responsables del efecto cicatrizante. El mayor efecto cicatrizante del gel se obtuvo a una concentración de 25%.¹⁸

2.2 Bases teóricas

2.2.1 *Annona muricata*

Annona muricata llamada también Graviola o Guanábana, pertenece a la familia Annonaceae, de la cual existen aproximadamente 130 géneros y 2300 especies.¹⁹⁻²⁰ De las cuales *Annona muricata* es la que produce los frutos más grandes.²¹ Esta familia tiene muchos nombres en los diferentes países.¹⁶ La guanábana es originaria del Perú, se cultiva en los departamentos de Loreto, San Martín y Ucayali, siendo la mayor zona de producción la selva central de Chanchamayo.²²

La *Annona muricata* L es un árbol que habitualmente se encuentra distribuido en el Caribe, África occidental y Sudeste asiático, regiones tropicales de América del Sur y Centro a altitudes menor a 1200 m.s.n.m., a una temperatura de 25 y 28°C y precipitaciones mayores a 1500 mm y está estrechamente relacionado con la chirimoya.²³⁻²⁴

El árbol de *Annona muricata* "guanábana" es un árbol pequeño que tiene aproximadamente 6-8 metros de alto, aunque en algunos refieren que pueden llegar a 10 metros de alto tiene pocas ramificaciones y son bajas casi verticales.^{24,-10}

2.2.1.1 Clasificación Botánica^{22, 25}

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Magnoliales
Familia	Annonaceae
Genero	Annona
Especie	Annona muricata

Fuente: Soplin H. Propagación Botánica de *Annona muricata* L “guanábana” bajo cuatro sustratos en Iquitos – Perú. [Tesis pre grado]. Universidad Nacional de la Amazonia Peruna.2015. Iquitos-Perú²²

2.2.1.2 Descripción Botánica

a) Hojas

En la parte superior presentan un color verde oscuro brillante y en el parte inferior verde amarillento, son de forma elíptica abovada ambos extremos presentan punta corta y son sutilmente gruesas. Miden de largo de 6 hasta 18 cm y entre 2 – 7 cm de ancho, y un peciolo de hasta 0.8 cm de largo. Son hojas perennes dispuestas en forma alterna en dos hileras, son glabras y presentan un olor desagradable muy fuerte.^{22,24,26}

b) Flores

Presenta flores en pares o también solitarias, simétricas, trímeras en tallitos cortos que nacen de ramas viejas. Tiene un cáliz con 3 sépalos ovados, pequeños de 2 a 3 cm de largo, externamente son de color verde intenso rodeada de pelos pequeños transparentes y verde cremoso, glabros internamente. La corola tiene 6 pétalos: 3

pétalos externos anchos, acorazonados, grandes; externamente es de color verde blanquecino y de color cremoso blanquecino internamente, miden de 2.5 a 3 cm de largo y 2 a 4 cm de ancho; 3 pétalos internos pequeños y menos gruesa de color amarillo pálido, forma redondeado, cóncavo y se alternan con los primeros. Presenta numerosos estambres, anteras oblongas, glabras. Pistilos de color blanco y angostos, el ovario está formado por muchos carpelos unidos entre sí y presenta un solo óvulo. Al amanecer las flores se abren, cuando el polen es expulsado por las anteras; después de horas algunos pétalos externos caen y los internos duran unos días más o a veces caen simultáneamente.²⁶⁻²⁷

c) Semillas

Las semillas van del color negro brillante a castaño, tienen forma elíptica a ovoide, son lisas y miden 15 – 20 mm de largo; cada semilla se forma a partir de un pistilo. El endoesperma es blanquecino ligeramente duro y aceitoso, conforme se va desarrollando toda la cavidad seminal se llena y se va tornando agrietado y resquebradizo de tipo espiniforme; sus ramificaciones ingresan de adentro hacia afuera. Cada fruto puede albergar hasta 200 semillas.^{22, 27-28}

d) Fruto

El fruto es el más grande en su género, es una baya colectiva o sin carpio, oloroso, carnoso de forma acorazonada o forma de riñón, asimétrico mide de 14 a 40 cm de largo y 2 a 18 cm de diámetro; puede llegar a pesar hasta más de 4 kilos.

Su cáscara es delgada de color verde oscuro y está recubierta por tubérculos flexibles que tienen la apariencia de espinas suaves que miden aproximadamente de 0.3 a 0.5 cm de largo.

La pulpa es de color blanco a cremoso, carnoso jugoso con un ligero sabor ácido y es relativamente fibrosa.²⁹⁻³⁰

e) Raíces

La raíz se hunde verticalmente en la tierra es muy ramificado, fibroso, fuerte; se encuentra a 30 cm de profundidad como una prolongación del tronco.²²

2.2.1.3 Propagación

Es una planta que tiene estructuras femeninas y masculinas (hermafrodita), generalmente las estructuras femeninas maduran antes que las masculinas, aunque en un lapso de 36 a 48 horas ambas estructuras sexuales están maduras.²⁵

➤ Propagación sexual

La mayor parte de los cultivos proceden por fecundación del óvulo de la planta y por polinización y la gestación del fruto con semillas.

Luego de pelar la fruta se guarda las semillas por un lapso de 60 días, previamente se lavan y desinfectan. Se mantiene en agua durante 24 horas para luego sembrar en un semillero con 2 cm de distancia entre semilla y una profundidad de 4 cm de siembra. Transcurrido de 30 hasta 60 días se lleva a cabo el trasplante a otro lugar hasta que tenga una altura de aproximadamente 40 – 60 cm, para luego sembrar en un lugar fijo.³¹

➤ Propagación asexual

El uso de este método de propagación se excusa solo si se han seleccionado árboles de alta productividad, debido a que el árbol de guanábana injertada no será más prematuro que el de semilla. Se pueden propagar por³²:

a. Injertos

Se recomienda generalmente el injerto de enchapado lateral. Alrededor de un año de edad se saca las púas de las nuevas ramas de la parte subterminal, con este sistema se han logrado injertos de hasta 90%.

También recomiendan que primero se preparen las púas, para esto deben cortar las hojas con 20 días de anticipación para obtener la savia y fortalecer las hojas.

Existe otra técnica para injertar guanábana con el que se obtiene el 90% de prendimiento, consiste en el que la púa debe conservar 2 a 3 pares de hojas. Luego sobre el injerto se ponen unas bolsas plásticas invertidas y se amarra a otra bolsa para así originar una cámara húmeda.³²

b. Patrones de Guanábana

El más usado es la misma guanábana. Aunque en Cuba se percibió que la guanábana sin fibra no prendía bien sobre guanábana corriente, por el contrario, tuvo una buena evolución sobre guanábana cimarrona (*Annona montana*).

Se sugiere como patrones las especies de *Annona reticulada*, *Annona squamosa* (anón) y *A. glabra*, que tiene un leve efecto enanizante.³²

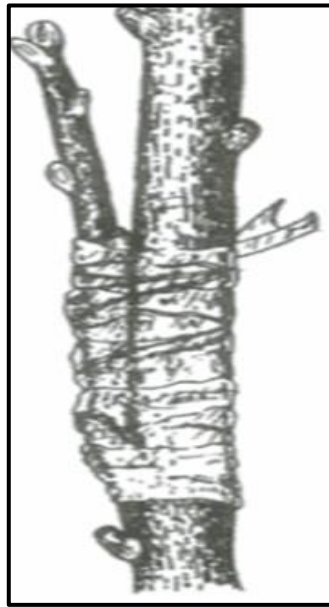
c. Estacas

En Costa Rica luego de 3 meses de tratamiento con 2000 ppm de A.I.B (ácido indolbutírico) las estacas de guanábana produjeron raíces solo en un 3%.³²

d. Acodos

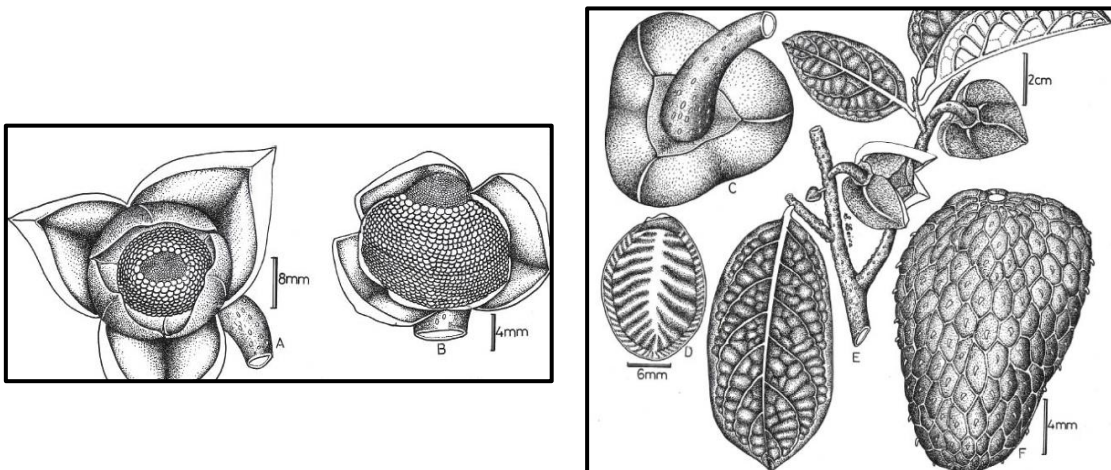
Autores de Puerto Rico no lograron que los acodos echen raíces. Realizaron 5 acodos cada 6 semanas por un lapso de un año, el anillado se cubrió con musgo esterilizado donde el acodo se selló con polietileno negro.³²

Figura 1: Injerto de enchapado lateral³²



Fuente: Fruticultura especial Guanábana y Macadami

Figura 2: *Annona muricata* L. A) Flor en antesis B) Estambres y gineceo con corola y cáliz C) Inserción de la flor al pedúnculo D) Semilla E) Rama florífera F) Baya.²⁷



Fuente: *Annona muricata* L “guanábana” (Annonaceae) un fruto útil como alimento en el Perú prehispánico

Figura 3 *Annona muricata*.²



Fuente: Plantas medicinales de los Andes y de la Amazonia: La flora mágica y Medicinal del Norte del Perú

2.2.1.4 Ecología

2.2.1.4.1 Clima y suelo

Es una especie anonáceas comestibles, la guanábana es la de demanda más tropical.

En México crece mejor con precipitación media anual de 1000 y 1400 mm sin estación seca.

En Colombia se sugiere el cultivo en la misma zona donde creció el cacao.

En Costa Rica rinde mejores cosechas en regiones cálidas y húmedas donde previamente se ha establecido un adecuado control de plagas y enfermedades.

En nuestro país es una especie que precisa de la luz solar para desarrollarse, también opta por suelos húmedos con abundante humus y crece en suelos arenosos, arcillosos con muchos nutrientes. Se encuentra en las carreteras, en los bordes de los caminos, huertos, acequias y vive ligado a otras plantas como paca, palta, matico.^{27, 32}

2.2.1.5. Fenología

En Costa Rica la guanábana empieza a florecer aproximadamente a los 2 años. En la India durante el mes de diciembre bota todas las hojas quedando desnudo el árbol y tiene 4 periodos de floración, el primero ocurre en el mes de agosto y los otros ocurren a partir de diciembre hasta mediados de marzo. La fructificación ocurre entre abril y junio.^{24, 26} En Costa Rica no se ha observado que el árbol pierda todas las hojas, pero si hay renovación del follaje. La floración empieza aproximadamente a los 2 años, es continuamente, aunque hay mayor floración en mayo seguido de agosto y noviembre. La producción de fruta ocurre durante todo el año, pero la mayor producción se da en los meses de junio y julio. En Colombia se realiza la floración entre los meses de junio y agosto ocurre otra en el mes de diciembre, pero es menos intensa. En nuestro país comienza a brotar con las lluvias iniciales de invierno y a partir del mes de marzo comienza a florecer y fructificar hasta el mes de abril o mayo, aunque puede florecer hasta el mes de setiembre u octubre por ser cultivada.^{27, 32}

2.2.1.6 Fitoquímica

Se han realizado estudios fitoquímicos en distintas partes de la planta *Annona muricata*, donde se han encontrado alrededor de doscientos doce compuestos en la que predominan las acetogeninas, alcaloides, megastigmanes, flavonol triglicósidos, ciclopéptidos.^{25, 20}

Se ha evidenciado que *A. muricata* es fuente de minerales como potasio (K), calcio (Ca), sodio (Na), cobre (Cu), hierro (Fe), magnesio (Mg) por lo tanto se recomienda su consumo ya que provee nutrientes fundamentales para el ser humano.²⁹

a) Alcaloides

Son compuestos naturales que tienen un átomo de nitrógeno. Se han encontrado en las raíces, tallos, frutos y hojas de la *A. muricata*, siendo las hojas la que presenta mayor cantidad de alcaloides. Los alcaloides encontrados son de tipo isoquinolina, protoberberina y aporfina.¹⁰

b) Acetogeninas

Se han distinguido más de ciento veinte acetogeninas en extractos etanólicos, metanólicos y extractos orgánicos de diferentes órganos y tejidos de *A. muricata* como semillas, corteza, hojas, tallos.

Las acetogeninas se distinguen por tener una larga cadena alifática de 35 a 38 carbonos unidos a un anillo de γ -lactona, sustituido en el terminal con metilo β -insaturado con uno o dos tetrahidrofuranos (THF). La acetogenina más abundante encontrada en las hojas de *A. muricata* es la annonacina.¹⁰

c) Compuestos Fenólicos

Se han reportado alrededor de treinta y siete compuestos fenólicos en *A. muricata*, de los cuales los más importantes son el ácido gálico y la quercetina; también se ha evidenciado la presencia de antioxidantes lipofílicos como los tocotrienoles y tocoferoles. Así mismo se reportó la presencia de flavonoides.¹⁰

d) Otros Compuestos

Se ha evidenciado otros compuestos tales como vitaminas, amidas, ciclopéptidos, megastigmanes, vitaminas y carotenoides.¹⁰

2.2.1.7 Constituyentes Químicos

➤ **Constituyentes químicos en las frutas**

Se han encontrado alcaloides como anonaína, asimilobina y nor-nuciferina; alquenoles como el hex-trans-2-en-1-ol, azúcares, vitamina C y minerales como K, Na, Mg, Fe. Del olor de las frutas se ha percibido compuestos alquibencénicos como 2-fenil-7,9-dimetildecano ó 2-fenil (*p*-metil)-7-metildecano, ó 2-fenil (*p*-metil)-5,7-dimetilnonano ó 2 fenil (*p*-metil)-8-metildecano ó 2,4,6-trimetilnonano.³³ De la pulpa de la fruta se han reportado 37 compuestos volátiles siendo la gran mayoría esteres aromáticos y alifáticos.¹⁰

➤ **Constituyentes químicos en las semillas**

Se han reportado nuevas acetogeninas como muricatocina, solamina, así como las ya conocidas muricatetracinas A y B, annonacina, annonacinona, murisolina. También se ha encontrado un aceite fijo conformado por ácidos grasos insaturados (70%) y saturados (30%); así como esteroides β sitosterol, estigmasterol y además se ha encontrado pentasacáridos y tetrascáridos.³³

➤ **Constituyentes químicos en las hojas**

Se han encontrado alcaloides como annomonicina, anonaína, (+) coclaurina, (+) coreximina, (+) reticulina que son de tipo isoquinolínico. A su vez encontramos aterospermina, muricina, muricinina considerados alcaloides misceláneos.³⁴

Entre las acetogeninas tenemos a las annomuricinina A, B, C, muricatocinas A, B, y C, murihexocinas A y B, muricoreacina y murihexocina C.³³ Los lípidos encontrados son ácido esteárico, ácido lignocérico, ácido linoleico, ácido gantísico; y entre las lactonas encontramos annonacina, annomontacina,

muricatacina y solamina.³⁴

➤ **Constituyentes químicos en la raíz**

Presentan acetogeninas cohibinas A y B, sabadalina, muridieninas, -1 y -2, montecristina; así como también annonacina, epomuriceninas A y B, catenatreninas -1, -2 y -3; muridieninas -3 y -4.³³

➤ **Constituyentes de la corteza del tronco**

Se aislaron las epoximurinas A y B, solamina y diepomuricanina.²⁸ En estudios proximales de diferentes partes de la *Annona muricata*, se evidenció que las hojas secas tienen menor contenido de humedad y por ende mayor contenido de proteínas, carbohidratos, extracto etéreo y cenizas. Así mismo se observó que los valores de los parámetros de flavonoides, proteínas y polifenoles son mayores cuando se usa como solvente en la extracción el etanol en comparación con aquellas que utilizan metanol en su extracción.³⁵

Tabla 1. Composición proximal de diferentes partes de la guanábana *Annona muricata* ³⁵

Análisis proximales de diferentes partes de la guanábana

	Humedad	Cenizas	Extracto etéreo	Proteínas
<i>Hojas secas</i>	9,87 ± 0,01 a	7,17 ± 0,01 c	2,94 ± 0,02 b	13,92 ± 0,20 c
<i>Hojas frescas</i>	62,64 ± 0,030 c	1,85 ± 0,02 b	0,70 ± 0,02 a	5,63 ± 0,25 b
<i>Semillas</i>	13,74 ± 0,02 b	1,44 ± 0,03 b	25,75 ± 0,03 c	14,77 ± 0,48 d
<i>Pulpa</i>	86,32 ± 0,01 d	0,29 ± 0,03 a	0,60 ± 0,03 a	0,32 ± 0,05 a

Fuente: Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanábana *Annona muricata* L

Tabla 2. Contenido total de flavonoides, polifenoles y proteínas de hoja fresca y seca, pulpa y semilla de la guanábana *Annona muricata*.³⁵

Extractos alcohólicos de guanábana	Contenidos de flavonoides (mg EQ/ 100 G)	Contenido de polifenoles (mg EGA / 100 g)	Contenido de proteínas (mg proteínas / 100g)
Hoja fresca (extracto etanólico)	337,4 ± 2,3 e	629,3 ± 10,7 e	344,9 ± 3,8 d
Hoja fresca (extracto metanólicos)	250,5 ± 10,7 c	549,5 ± 3,3 d	258,8 ± 3,3 d
Hoja seca (extracto etanólico)	245,5 ± 2,0 c	766,4 ± 5,7 f	181,0 ± 2,5 b
Hoja seca (extracto metanólico)	97,7 ± 3,9 a	375,3 ± 2,3 b	145,8 ± 1,9 a
Pulpa (extracto etanólico)	574,0 ± 5,9 c	941 ± 5,2 g	733,3 ± 5,8 f
Pulpa (extracto metanólico)	480,6 ± 2,5 f	624,2 ± 11.8 e	589,3 ± 3,5 e
Semilla (extracto etanólico)	309,2 ± 3,3 d	451,4 ± 9,7 c	191,2 ± 1,3b
Semillas (extracto metanólico)	159,8 ± 1,4 d	280,8 ± 4,6 a	156,4 ± 1,1 a

Fuente: Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanábana *Annona muricata* L

2.2.1.8 Usos etnomedicinales

Las diversas partes de la planta de *Annona muricata* se usan como medicamento tradicional contra una serie de enfermedades como cáncer, enfermedades parasitarias, artritis, diarrea, neuralgia, reumatismo entre otros.²⁰

La decocción de la raíz, corteza, hoja y semilla es la preparación más usada en la medicina tradicional.¹⁰

- Los frutos verdes y las hojas se utilizan como astringente y antidiarreico.¹⁹
- La corteza y hojas en infusión se usa como anticancerígeno, sobre todo en cáncer de hígado, colon, páncreas, pulmón, estomago, próstata.¹⁹
- Las hojas machacadas se usan como cataplasma para curar llagas y heridas.¹⁹
- La ingesta de la decocción de las hojas tiene efectos neurálgicos, reumáticos y antipiréticos.²⁴

a. En África:

Esta planta es utilizada como astringente, insecticida; también como tratamiento para la tos y enfermedades de la piel.²⁰

b. En Malasia

Las hojas de *Annona muricata* mezclado con *A. squamosa* previamente triturado se usan para prevenir el desmayo.²⁰

c. En la India

Se emplea a la flor y a la fruta como remedio para aliviar el catarro, además se cree que las hojas y corteza de raíz poseen actividad antihelmíntica.²⁰

d. En África Tropical y América del Sur

Las hojas de *A. muricata* se utilizan como medicina tradicional para tratar tumores; también se le atribuye efectos hipotensores, antiespasmódicos,

sedantes, relajante muscular, hipoglucemiantes y antiinflamatorio al utilizar las hojas, raíces y cortezas de esta planta.²⁰

e. En las Islas del Caribe e Indonesia

Se usan las hojas en baños para tratar enfermedades de la piel, mientras que en Nueva Guinea y Ecuador se aplican las hojas directamente en el lugar del dolor.¹⁰

f. En Brasil, México y Nicaragua

La ingesta de la cocción de las hojas se usa como analgésico. A su vez en el Caribe, Cuba es utilizada para tratar las molestias relacionadas al asma y gripe.¹⁰

g. En Camerún, Vietnam

Las hojas son utilizadas para tratar la malaria.¹⁰ También se consume como fruta fresca en jugos, néctares, helados mermeladas.²⁴

Tabla 3: Usos etnomedicinales mundiales de *Annona muricata* ²⁹

Usos etnomedicinales en todo el mundo de <i>Annona muricata</i>	
Brasil	Para abscesos, bronquitis, problemas de pecho, tos, diabetes, diarrea, disentería, edema, fiebre, cólicos intestinales, parásitos.
Caribe	Para escalofríos, fiebre, gripe, indigestión, nerviosismo, palpitaciones, sarpullido, espasmos, enfermedades de la piel y como sedante.
Curazao	Para el parto, problemas de la vesícula biliar, nerviosismo y como sedante y tranquilizante.
Haití	Para la lentitud digestiva, tos, diarrea, fiebre, gripe, afecciones cardiacas, ayuda para la lactancia, piojos, nervios, parásitos, dolor, pelagra, llagas, espasmos, debilidad, heridas y como sedante.
Jamaica	Para el asma, fiebre, afecciones cardiacas, hipertensión, ayuda para la lactancia, nerviosismo, parásitos, espasmos, retención de agua, debilidad, gusanos y como sedante.
Malasia	Para forúnculos, tos, diarrea, dermatosis, hipertensión, reumatismo y para reducir el sangrado.
México	Para la diarrea, la disentería, la fiebre, los resfriados, la tiña, el escorbuto y para reducir el sangrado.
Panamá	Para diarrea, dispepsia, riñón, úlceras de estómago, gusanos.
Perú	Para diabetes, diarrea, disentería, fiebre, hipertensión, indigestión, inflamación, piojos, trastornos hepáticos, parásitos, espasmos, tumores, úlceras (internas) y como sedante.
Trinidad	Para la limpieza de la sangre, desmayos, gripe, presión arterial alta, insomnio, ayuda para la lactancia, palpitaciones, tiña.
Estados Unidos	Para cáncer, depresión, infecciones fúngicas, hipertensión, parásitos intestinales, tumores.
India	Para el asma, el parto, la diarrea, la hipertensión, la ayuda para la lactancia, los parásitos, las lombrices.
Entre otros lugares	Para artritis, asma, insuficiencia biliar, parto, cáncer, diarrea, disentería, fiebre, problemas cardiacos, problemas renales, lactancia.

Fuente: Traducción propia a partir de A review on a miracle fruits of *Annona muricata* Journal Pharmacognosy and Phytochemistry

2.2.1.19 Efectos farmacológicos de *Annona muricata*

De los diversos estudios farmacológicos in vivo encontrados en esta especie resaltaron la actividad gastroprotectora, antiparasitario, ansiolítica, antitumoral, antihipertensiva, antirreumática, anticonvulsivante, antiinflamatoria y antinociceptiva.^{19, 34,36}

1. Efecto citotóxico

Diversos estudios evidenciaron los efectos antiproliferativos de los extractos de las hojas y sus acetogeninas en diferentes células cancerígenas.¹⁹

Se realizaron estudios in vivo e in vitro que evidenciaron el mecanismo de acción del extracto acuoso, extracto de acetato de etilo y cocción de las hojas de *A. muricata* contra células de cáncer de colon, piel, pulmón.³⁷

Entre los años 1998 – 2000 se realizaron estudios que han demostrado que las acetogeninas inducen la apoptosis en las células a través de la vía mitocondrial.³² Al inhibir el complejo I de la cadena de fosforilación oxidativa, bloquean la formación de ATP, energía que la célula cancerosa necesita para poner en actividad su bomba regulada por glucoproteína para así mantenerse activo.³⁴

2. Efecto antibacteriano y antiviral

Annona muricata mostró tener efecto antibacteriano al ser comparado con estreptomycin. La bioactividad de *A. muricata* depende del tipo de solvente utilizado para su extracción.¹⁹

- ❖ El extracto etanólico y metanólico de hojas, raíces presenta efecto antibacteriano contra *Staphylococcus aureus*.^{19,33}
- ❖ *E. coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* fueron susceptibles al extracto en acetona de hojas y tallo.³³

Además, un estudio demostró que las bacterias gram + y gram – también son susceptibles a las hojas *de Annona muricata*.³⁷

Al realizar un estudio comparativo de cloranfenicol y extracto de las hojas de *Annona muricata* se evidenció:

- ✓ Que todas las concentraciones inhibieron la curva del crecimiento al comparar el *S. aureus* con el grupo control.³⁷
- ✓ Para *S. typhimurium*, la fase de latencia se amplió en 2 horas y luego provocó la lisis de la bacteria.³⁷
- ✓ En el caso de *E. faecalis* se produce la muerte a la sexta hora de tratamiento.³⁷

Por otro lado, se demostró que el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* son efectivas contra herpes simple virus 1 y 2, con 1 mg/mL de concentración inhibitoria mínima.³⁴

3. Efecto antiparasitario.

Se demostró el efecto antiparasitario del extracto etanólico, metanólico y de acetato de etilo de *A. muricata* sobre parásitos patógenos como *Leishmania*, *Entamoeba histolytica*, *Tripanosoma cruzi*, *Trichonoma vaginalis* y *Artemia salina*; siendo el extracto de acetato de etilo el antiparasitario más eficaz.^{29,31}

También se evidenció el efecto del extracto etanólico contra *Plasmodium falciparum* W-2.³³

4. Efecto hipoglucemiante

Se utilizó estreptozotocina por vía intraperitoneal para inducir diabetes a las ratas y se trató con extracto acuoso y metanólico de las hojas de *Annona muricata* a una dosis de 100 mg/kg. A las 2 semanas el resultado se evidenció la disminución del nivel de glucosa en sangre.³⁶

5. Efecto hipolipidémico

El extracto acuoso y metanólico de las hojas de *Annona muricata* redujo significativamente las lipoproteínas y triglicéridos.¹⁴ Además, el extracto N-hexano y metanólico de las semillas de *Annona muricata* disminuyó los niveles de triglicéridos, malondialdehído y colesterol.³⁶

6. Efecto hepatoprotector

Al ser comparado con la silimarina se evidenció que el extracto acuoso de *Annona muricata* es efectiva contra la ictericia.¹⁴ También se evidenció el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* ya que redujo significativamente la toxicidad del hígado inducido por tetracloruro de carbono al 10%.³⁶

7. Efecto gastroprotector

Los extractos de etanol y acetato de etilo de las hojas de *Annona muricata* demostraron efecto gastroprotector frente a daño gástrico inducido por etanol en ratas, comparado con omeprazol.³⁷

8. Efecto antiinflamatorio

Para evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas de *A. muricata* se indujo edema del oído por xileno en ratas y ratones. El resultado demostró reducción significativa de la IL-1 β y TNF α (factor de necrosis tumoral).³⁶

También se indujo edema en la pata de las ratas utilizando λ -carragenina y se las trató con extracto etanólico de *A. muricata* a dosis de 10, 30, 100 y 300 mg/kg de peso obteniendo como resultado la reducción del edema en un 79% dependiente de la dosis. Este efecto antiinflamatorio estuvo acompañado por la disminución de leucocitos.¹⁹

9. Efecto anti-nociceptivo

Los extractos etanólicos e hidroalcohólico de las hojas de *A. muricata* detuvo significativamente el proceso neuronal en el cual se codifican y procesan estímulos dañinos contra los tejidos, utilizando varios modelos químicos y nociceptivos térmicos produciendo acción antinociceptiva tanto en la fase neurogénica como inflamatoria.¹⁹

10. Efecto antiartrítico

Estudios in vitro utilizando el extracto de hojas de *Annona muricata* en ratas confirmaron su efecto biológico para el tratamiento del dolor artrítico.

La administración oral disminuyó el edema a razón de la dosis dependiente a administrar; donde la dosis más alta inhibió la expresión de 1β , IL y TNF- α en el tejido local; así mismo las citoquinas proinflamatorias fueron suprimidas.³⁷

11. Efecto ansiolítico

Se demostró en estudios que el extracto acuoso de *Annona muricata* administrada a grupos de prueba presenta efecto ansiolítico a bajas concentraciones y efecto sedante a altas concentraciones.³⁶

12. Efecto anticonvulsivo

El extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* a dosis de 100 mg/kg y 300 mg/kg de peso demostró la disminución de las convulsiones tónico clónicas inducidas por pentilentetrazol.³⁶⁻³⁷

13. Efecto antioxidante

Las hojas frescas y secas de *Annona muricata* evidenciaron efecto antioxidante, cuyo principal componente es lipofílico y su mecanismo de acción es a través de hidrógenos donados.³⁷

14. Efecto antihipertensivo

Al valorar el efecto antihipertensivo del extracto acuoso de las hojas de *Annona muricata* en ratas, se demostró que el extracto disminuye la presión arterial, dependiente de dosis, sin disminuir la frecuencia cardiaca de los animales.^{19,3}

Tabla 4: Actividades farmacológicas in vivo de *Annona muricata*³⁶

Actividad	Parte de la planta	Solvente	Efectos y dosis	Modelo de prueba
Actividad hipoglicemiante	Hojas	Solución hidrometanólica	Reducir la glucosa en sangre nivel (4,7 mmol/L) respectivamente a dosis 100 mg/kg.	Ratas
	Vástago	Etanol	Reducir la glucosa en sangre (187 mg/ dL) a dosis 100 mg/kg	Ratas
Actividad hepatoprotectora	Hojas	Solución acuosa	97 % hepatoprotector contra CCL/ I induce hepatotoxicidad a 500 mg/kg	Ratas
Actividad hipolipidémica	Hojas	Etanol y N- hexano	Reducir el (P < 0.05). Nivel de LDL a dosis segura ≤ 5000 mg/kg	Ratas albinas
Actividad gastroprotectora	Hojas	Etanol 80%	Inhibe el 92.8% de las lesiones gástricas a dosis 300, 400 mg/kg	Ratas
Actividad antiinflamatoria	Hoja	Solución hidroalcohólica	El edema de la planta se reduce en un 71.12 % con una dosis de 1,5 mg/kg, el edema de la pata es por volumen (0.47 mL) con una dosis de 400 mg/kg	Ratas
Antinociceptivo	Hoja	Etanol 80%	A 10 mg/kg prolonga el tiempo de reacción 53,92 A dosis de 300 mg/kg 95,3% de inhibición de retorcimientos abdominales inducido por ácido acético	Ratones

Cicatrización de heridas	Hojas	Acetato de etilo	77% cierre de heridas en crema al 10%. El área abierta de las heridas se reduce 88.58% en crema al 4%.	Ratas
Actividad ansiolítica	Hojas	Etanol 40%	A una dosis de 0,5 g/kg reduce un 45% el tiempo de reacción	Ratones albinos
Actividad anticonvulsivante	Hojas	Etanol	Reducir la mortalidad y las convulsiones tónico-clónicas a 100 y 300 mg/kg	Modelo de ratones
Antihipertensivo	Hojas	Agua	La presión arterial de 57,7 mm Hg se reduce a una dosis de 48,53 mg/Kg	ratas
Actividad Antiplasmodial	Hojas	Agua, etanol y pentano	C50 = inhibe el 50% del crecimiento del parásito a 500 µg/mL.	P - falciparo
Actividad molusquicida	Hojas	Metanol	LD 90 = 87.5 poseen toxicidad contra gusanos adultos	Forma adulta de Biomphala glabrata

Fuente: Pharmacological screening of *Annona muricata*: a review

2.2.2 DOLOR

2.2.2.1 Definición

Se define como un síntoma que casi siempre está asociada a una enfermedad y produce una experiencia desagradable; esto implica una evidente disminución de la calidad de vida con repercusión en el círculo familiar, laboral, personal y social.³⁸

La International Association for the Study of Pain define al dolor como “experiencia sensorial y emocional desagradable asociado a daño tisular real o potencial o descrita en términos de tal daño”.³⁹ El dolor se origina por la

activación de receptores sensoriales (nociceptores) debido a estímulos que causan dolor.

Los nociceptores se encuentran en todo el cuerpo, pero en mayor proporción en la pared arterial, bóveda craneana, dientes.⁴⁰

2.2.2.2 Fisiopatología⁴¹

El dolor es activado por la estimulación de receptores especializados, al activarse estos, transmiten la señal dolorosa a través de fibras eferentes hacia la médula espinal y luego al S.N.C. es aquí donde la señal es procesada e interpretada en la corteza cerebral.

Existen cuatro procesos fisiológicos que están relacionados con el dolor:

- Estimulación y transducción: estimulación de nociceptores y transformarlos en potenciales de acción transmitidas por fibras aferentes a la médula espinal.
- Transducción: el impulso nervioso llega a la medula por medio de fibras nerviosas mielinizadas (A-delta) que son encargadas del dolor agudo y desmielinizadas C, que tienen como consecuencia un dolor retardado de difícil ubicación. Los neurotransmisores como glutamato, sustancia P entre otros participan en la sinapsis entre la medula espinal y las fibras aferentes.
- Percepción: la señal dolorosa llega a la corteza cerebral como una experiencia sensorial, debido a que el cerebro solo tiene capacidad para cierto número de señales dolorosas; por lo que algunos patrones de comportamiento como la distracción, meditación, relajación pueden disminuir el dolor.
- Modulación: el sistema opiáceo endógeno compuesto por neurotransmisores (beta endorfinas) y receptores (delta, kappa), situados en el sistema nervioso

central ayudan a controlar la transmisión dolorosa, disminuye la transmisión sináptica a través de neurotransmisores como serotonina, gaba, noradrenalina.

2.2.2.3 Clasificación del dolor

❖ Según su evolución

- **Dolor Agudo**

Prevalece una manifestación o síntoma de daño tisular.⁷ Este dolor es causado por estímulos nocivos como heridas, enfermedades de la piel con una duración corta.³⁸

Produce efectos no deseables, debido a que el estímulo doloroso llega a diferentes niveles del S.N.C., tiene duración corta, localizada y según su intensidad puede ir acompañado a veces de náuseas, vómitos, taquicardia, etc.⁴²

- **Dolor Crónico**

La duración del estímulo, enfermedad, condiciones patológicas pueden dirigir a establecer un dolor crónico. El dolor crónico es considerado como una enfermedad y su mejoría en muchos casos no alcanza el 100%; la depresión, disfunción eréctil, alteraciones del sueño pueden acompañar el dolor crónico.⁴²

❖ Según su Mecanismo ⁴¹

- **Dolor somático**

Es un dolor localizado que se origina por la presencia de un estímulo potencialmente dañino. Es un dolor que estimula nociceptores y es transmitido por los nervios somáticos. Estos receptores se localizan en los músculos, articulaciones y piel, casi siempre acompañados de un proceso inflamatorio local. Es posible indicar lugar del dolor ya que este aumenta con el movimiento o al ejercer presión en la zona.

- **Dolor visceral**

Es un dolor procedente de las vísceras huecas y activan los nociceptores que están localizadas en ellas.

Este dolor es menos localizado y puede deberse a un área que tiene la misma inervación, produciendo una respuesta refleja. Los estímulos que producen dolor a nivel visceral son espasmos del musculo liso (vísceras huecas), distensión, izquemia^{38,41,42}.

- **Dolor neuropático**

Según la I.A.S.P. (International Association for the study of Pain) define al dolor neuropatico como un dolor producido por una disfunción del S.N. Es una afección neurológica que se presentan como resultado de una alteración en el S.N.C. y periférico debido a una lesión o mal funcionamiento de este. Es un dolor constante con sensación de hormigueo acompañado de hiperalgesia.

Tabla 5: Diferencias entre dolor agudo y crónico³⁸

DIFERENCIA ENTRE DOLOR AGUDO Y CRÓNICO		
	DOLOR AGUDO	DOLOR CRÓNICO
Incidencia	Común	Habitual
Duración	Menos de 6 meses	Más de 6 meses
Causa	Conocida	Incierta
Estado emocional	Ansiedad	Depresión
Conducta	Reactiva	Miedo
Tratamiento	Efectivo	Variable
Resultados	Buenos	Variabes
Sedación	A veces necesaria	Debe evitarse
Duración de la analgesia	Mientras dure la actividad	Todo el tiempo
Dosificación	Estandar	Individualmente
Dependencia tolerancia	Rara	Posible
Componente psicológico	No importante	Determinante

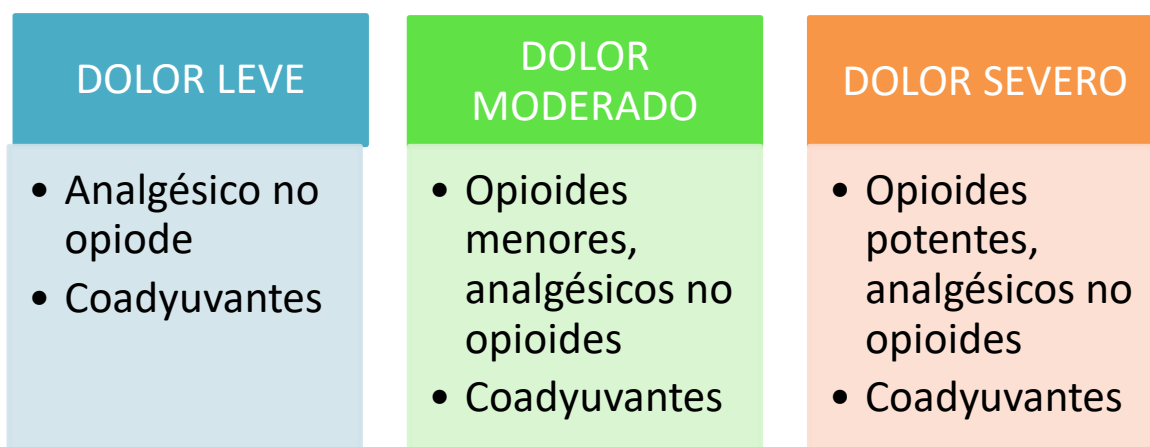
Fuente: Manual de Farmacoterapia.

Tabla 6: Diferencias entre dolor somático y neuropático³⁸

	Somático	Neuropático
Estímulo nociceptivo	Generalmente evidente	No hay estímulo perceptible
Localización	Bien localizado	Generalmente difuso
Características	Similar a experiencias anteriores	Diferencia inusual
Respuesta a analgésicos	Buena	Alivio parcial
Efecto placebo	20 – 30%	60%

Fuente: Manual de Farmacoterapia

Figura 4: Escalera analgésica de la OMS³



Coadyuvantes: Corticoides, antidepresivos, anticonvulsivantes, fenotiazinas

Fuente: Herramientas para la Farmacia Clínica

2.2.2.4 ANALGÉSICOS

Etimológicamente proviene del prefijo a – an (falta, carencia, ausencia) y de (dolor). Los analgésicos son medicamentos cuya propiedad es disminuir o suprimir la sensación dolorosa sin provocar pérdida de la conciencia.⁴³

2.2.2.4.1 Analgésicos menores

Los analgésicos menores o no opiáceos son aquellos que están indicados para enfermedades musculo esqueléticas es decir de tipo somático que cursan con dolor leve a moderada, tienen efecto analgésico y antiinflamatorio.⁴⁴

Se usan cuando el estímulo que produce el dolor no se puede eliminar o como un coadyuvante a un tratamiento, no producen dependencia, no deprimen el sistema nervioso central.⁴⁵

Los aines inhiben a la ciclooxigenasa que es la responsable de catalizar la conversión de ácido araquidónico a prostaglandinas y leucotrienos, tienen un techo analgésico por lo cual no se recomienda el uso de dosis más altas que las indicadas.⁴⁶

✓ Diclofenaco

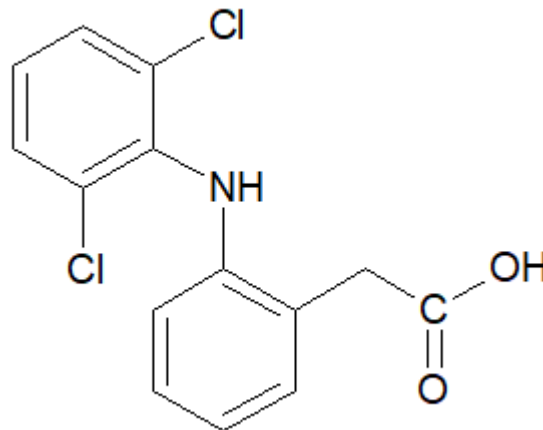
Derivado del ácido fenilacético, tiene propiedad analgésica, antipirética y antiinflamatoria a que inhiben la actividad de la ciclooxigenasa 1 y 2 por ende inhibe la síntesis de prostaglandinas constitutivas.⁴⁷

Su potencia antiinflamatoria es mayor que otros aines debido a su polaridad lo cual otorga una buena difusión en tejidos.⁴⁷

El diclofenaco tiene metabolismo hepático, el 99% se fija a proteínas plasmáticas (albúmina), su eliminación es por vía renal a través de la orina (60%) y el resto se elimina por la bilis en las heces. Se utiliza mucho en los procesos reumáticos ya que altera los procesos celulares en el tejido conectivo y mesenquimatoso e inhibe la emigración leucocitaria, también

está indicado para procesos que cursan con dolor e inflamación en ginecología, post operatorio, dismenorrea, bursitis entre otros.^{47,48}

Figura5: Estructura química de diclofenaco



Fuente: Elaboración propia

2.2.2.4.2 Analgésicos Opioides

Los analgésicos opioides producen analgesia debido a la interacción de los opioides con sus respectivos receptores los cuales se encuentran distribuidos en el S.N.C.⁴⁹

En el S.N.C. interfieren en la percepción del estímulo nociceptivo evitando así los estados y procesos dolorosos, debido a la acción sobre la corteza cerebral.

A nivel aferente interactúan con las neuronas produciendo la disminución del estímulo doloroso, a nivel eferente disminuye la liberación de neurotransmisores presinápticos y por ende la disminución de la transmisión del estímulo al reducir la excitabilidad de la neurona y el número de neurotransmisores liberados.⁵⁰

Los opioides suelen ser muy eficaces en dolores nociceptivos tanto agudos, crónicos y también en dolores neuropáticos; entre sus principales reacciones

adversas encontramos náuseas, vómitos, estreñimiento, somnolencia, sedación.

Los opioides tienen como característica la tolerancia, la cual obliga a ir incrementando paulatinamente la dosis para controlar el dolor ya que estos no tienen techo analgésico.⁴⁹

✓ **Clorhidrato de Tramadol**

El tramadol es un análogo de la codeína sintética, cuyo mecanismo de acción es la unión a su receptor opioide y a la inhibición de la recaptación de serotonina y noradrenalina. Por una parte, actúa como analgésico de acción periférica y por otra como analgésico de acción central, por ende, la FDA la clasificó como analgésico de acción central no tradicional. Al ser administrado por vía oral o rectal su biodisponibilidad se ve disminuida a un 70% debido a su primer paso hepático ya que es metabolizado por el hígado.⁵¹

Esta biotransformación hepática pasa por dos vías metabólicas N y O-desmetilación cuyos productos son conjugados con el ácido glucurónico.⁴⁶

De los 11 metabolitos identificados solo uno es activo como analgésico (O-desmetiltramadol), cuya producción de dicho metabolito depende de la isoenzima CYP2D6 el cual forma parte del sistema citocromo P450.⁴⁶

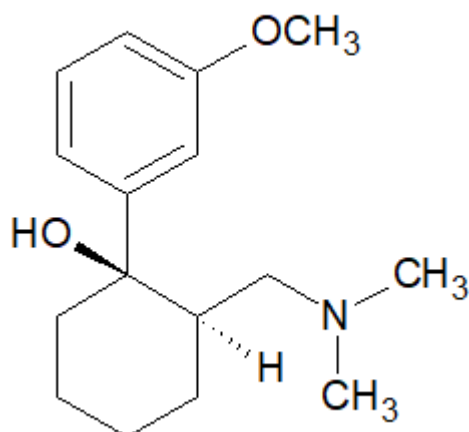
La biodisponibilidad por vía intramuscular es 100% ya que se absorbe completamente.⁵² La distribución tiene un modelo bicompartimental con una fase inicial que muestra 6 minutos de vida media y 1.7 horas de vida media en la segunda fase.⁴⁸

El 80% de tramadol presente en el organismo se encuentra en el compartimiento periférico y el 20% en el compartimiento central, evidenciando alta afinidad por los tejidos y solo 20% se unen a proteínas

plasmáticas.⁵¹

La eliminación es renal 90% y el resto es a través de saliva, heces y sales biliares.⁴⁸

Figura 6: Estructura química del tramadol



Fuente: Elaboración propia

2.3 Formulación de hipótesis

2.3.1 Hipótesis general

- El extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* (guanábana) tiene efecto analgésico en ratones albinos.

2.3.2 Hipótesis específica

- El extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* (guanábana) evidencia efecto analgésico en ratones albinos sometidos a la prueba de Hot Plate

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Método de investigación: hipotético – deductivo, ya que plantea una hipótesis la cual se comprueba de manera experimental.

3.2 Enfoque investigativo: cuantitativo, ya que se usa los datos recolectados para probar la hipótesis, la cual se comprueba por la medición numérica a través del análisis de los datos adquiridos de forma estadística.

3.3 Tipo de investigación: aplicada, ya que busca una solución a un problema que afronta la sociedad y los resultados se aplican para resolver dicho problema.

3.4 Diseño de la investigación: experimental, donde la variable dependiente no se manipula mientras que la variable independiente es manipulada por el investigador. De corte transversal porque las mediciones se realizan en un solo periodo de tiempo.

3.5 Población y muestra

- **Población:** la población estuvo conformada por ratones albinos de la especie *Mus musculus* y cepa Balb / C 53 machos
- **Muestra:** se utilizó 25 ratones albinos de la especie *Mus musculus* cepa Balb / C53 machos, con peso entre 30 – 40 gramos provenientes del Instituto Nacional de Salud (INS), alojados en el Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Marcos a una temperatura entre 20 – 24 °C y humedad de 60 – 70% con alimentación en pellets para roedores, agua ad libitum con ciclos de luz y oscuridad de 12 horas.

3.6 Variables de estudio

- **Variable independiente**
Extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana”.

- **Variable dependiente**

Efecto analgésico.

3.7 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

- **Técnica:** La observación que permitió recoger información objetiva y precisa de las variaciones de la susceptibilidad al dolor frente al estímulo.
- **Instrumento:** se utilizó una guía de observación en el cual se van registrando todos los datos que son motivo de estudio para la investigación. (anexo 4).

3.7.1. Proceso de recolección de datos

3.7.1.1 Recolección del material botánico

La especie *Annona muricata* (guanábana) se recolectó en el departamento de Ancash en febrero 2020, aproximadamente 5 kilos.

La identificación fue realizada por el Botánico Jorge Campos.

La muestra recolectada fue protegida con papel kraft para su traslado y embalada en caja de cartón.

3.7.1.2 Obtención del extracto etanólico al 96% de las hojas de *Annona muricata* “guanábana”

Las hojas de *Annona muricata* fueron lavadas y sometidas al secado a temperatura ambiente por un espacio de 4 días, luego se terminaron de secar en estufa a 37°C hasta que no hubo variación en el peso de la muestra, para luego ser pulverizadas y se obtuvo 450 gramos de las hojas de *Annona muricata*. Luego se procedió a la maceración a temperatura ambiente en frascos de vidrio de color ámbar que contenían metanol 96°, por un espacio de 14 días con agitación diaria.

Transcurrido los 14 días se realizó el filtrado utilizando gasa y luego papel filtro Watman 40 hasta obtener una solución de color verdoso. El filtrado obtenido se colocó en una fuente de vidrio y llevado a la estufa a 37°C por 3 días para volatilizar el solvente y obtener el extracto seco.

Una vez obtenido el extracto seco, este se colocó en un frasco de vidrio de color ámbar para su posterior uso.

3.7.1.3 Análisis Fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana”^{16,17}

a) Presencia de taninos

a.1 Con gelatina – cloruro de sodio se confirma la presencia de taninos por la formación de un precipitado blanco.

a.2 Con cloruro férrico, el cambio de coloración a negro azulado indica la presencia de taninos

b) Presencia de saponinas

b-1 Con reactivo de Lieberman Burchad, se identificó según la coloración que si tiene taninos.

b-2 Prueba de la espuma, la formación de una espuma confirmó la presencia de saponinas.

c) Presencia de flavonoides

c-1 Con reactivo Shinoda: la coloración naranja intenso confirmó la presencia de flavonoides.

d) **Determinación de esteroides y triterpenoides:** la coloración verde – azul, indicó reacción positiva

e) Determinación de alcaloides:

e.1 Reactivo de Dragendorff: se identificó según un precipitado naranja a rojo que si tiene alcaloides.

e.2 Reactivo de Mayer: Se identificó la presencia de alcaloides por la presencia de un precipitado blanco.

3.7.14 Evaluación del efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de

***Annona muricata* mediante la prueba de placa (Hot Plate) en ratones**

Fundamento: el modelo de placa caliente en ratones, valora los efectos antinociceptivo supraespinales, evidenciando la actividad de las fibras aferentes perceptibles a la temperatura y la actividad de las fibras A y C al ser expuestos a un estímulo térmico sobre un plato a $55\pm 1^{\circ}\text{C}$. Al introducir el ratón en el cilindro sobre el plato caliente se observan tres comportamientos como el salto, intento de salto, lamido de ambas patas delanteras.⁵¹

Para realizar esta prueba se formaron 5 grupos compuestos de 5 ratones cada uno (peso 30 a 40 g) los cuales estuvieron en ayuno 24 horas antes de la prueba. Antes de realizar la prueba se procedió a tomar la latencia a los 5 grupos y posterior a esto se realizó la administración del tratamiento por vía orogástrica (OG) cuyos volúmenes se calcularon con los pesos de los ratones (mg/kg).

Los grupos empleados fueron los siguientes:

- ✓ Grupo I (control): suero fisiológico 0.9%
- ✓ Grupo II (control positivo): diclofenaco 10 mg/kg de peso.
- ✓ Grupo III (control positivo): tramadol 10 mg/kg de peso.
- ✓ Grupo IV y V (control positivo): extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* a dosis de 400 y 600 mg/kg respectivamente.

El uso de estas concentraciones del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* (guanábana) del presente estudio se determinaron dado que en los estudios de Ishola⁵³ donde se utilizaron dosis de 50, 100, 200 mg/kg, Silva¹² que utilizó dosis de 25, 50 y 100 mg/kg se observó que a mayor dosis se incrementa la eficacia y Maruvoor¹¹ usó como dosis máxima 400 mg/kg; se tomó como referencia para utilizar esta dosis y otra superior que es la de 600 mg/kg

Tabla 7: Distribución del material biológico para las pruebas de experimentación

GRUPOS		TRATAMIENTO
GRUPO I	Control	Suero Fisiológico 0-9%
GRUPO II	Control positivo	Diclofenaco 10 mg/kg
GRUPO III	Control positivo	Tramadol 10 mg/kg
GRUPO IV	Control positivo	Extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> 400 mg/kg
GRUPO V	Control positivo	Extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> 600 mg/kg

Fuente: Elaboración propia

Transcurrido 30 minutos de la administración, se procedió a medir el tiempo de latencia frente al estímulo nociceptivo y luego cada 30 minutos por un lapso de tiempo de 2 horas. Luego de haber observado la respuesta (lamida de patas, salto o Intento de salto), el ratón es retirado, no puede permanecer en la placa por espacio mayor a 30 segundos para evitar el daño tisular, esto es tomado como tiempo de corte.⁵³

Figura 7: Actividad analgésica método Hot plate⁵²



Fuente: Guía para la evaluación de la actividad analgésica de extractos metanólicos de plantas

El incremento en el tiempo de latencia en relación al tiempo inicial para cada grupo fue tomado como indicador del efecto analgésico y fue comparado con los valores de los ratones de control.

El tiempo de latencia fue transformado en % del máximo efecto posible (MEP o % de antinocicepción) con la siguiente formula⁵³:

$$\% \text{ MPE} = [(L_2 - L_1) / (T_1 - T_2)]$$

- L_1 = Latencia basal
- L_2 = Latencia post – droga
- T_1 = Tiempo de corte

3.8 Procesamiento y análisis de datos

Para el análisis de datos se empleó el paquete estadístico SPSS versión 24. Se realizó el análisis ANOVA, las diferencias estadísticas fueron calculadas por la prueba de Tukey, siendo el nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$). La técnica empleada fue la observación directa de cada muestra de estudio, los datos fueron recolectados en forma manual e individual de cada animal y registrados.

3.9 Aspectos éticos

La investigación se llevó a cabo cumpliendo con la Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio- Ética de la experimentación animal MINSA-INS en donde se menciona que la investigación con animales solo es éticamente aceptable cuando tiene por objetivo el beneficio de las propias especies animales o búsqueda de conocimiento que se espera que beneficien a los seres humanos, minimizando cualquier dolor a dichos animales. Los animales seleccionados para esta investigación fueron de la especie y calidad apropiada y su número fue el adecuado para obtener resultados científicamente válidos.

Al realizar esta investigación se mostró tres tipos de actitudes: respeto, afecto y gratitud.

- Respeto: porque se trabajó con seres vivos y sensibles, que estaban experimentando sufrimiento y podían haber perdido la vida.
- Afecto: se le considero participe con mi persona, del misterio de la vida.
- Gratitud: y reconocimiento por constituir nuestros más íntimos colaboradores.

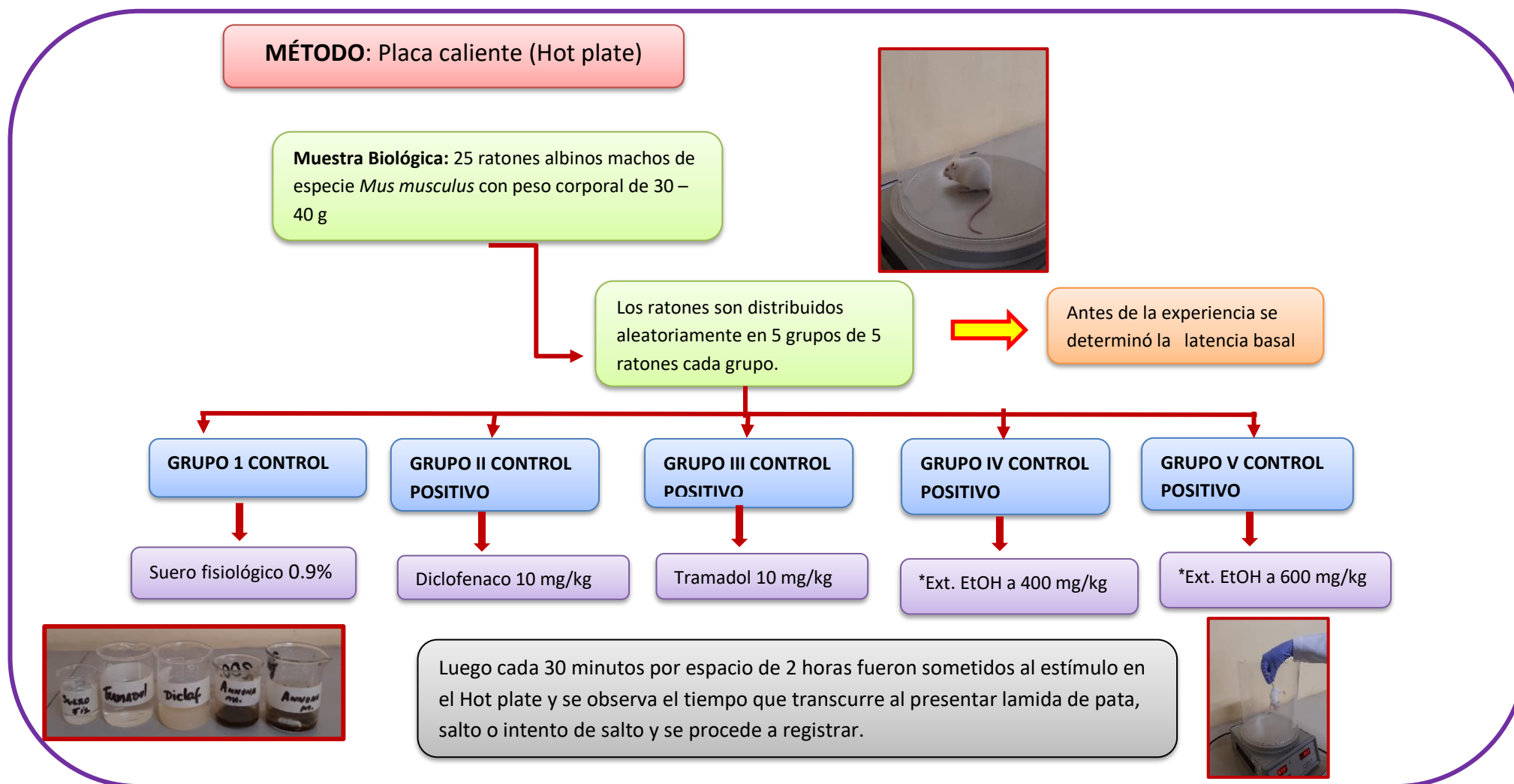
Asi como también estar capacitado en:

- Identificar las principales enfermedades zoonóticas que afectan a los animales de laboratorio.
- Manejo de animales de laboratorio, según las prácticas de crianza.
- Limpieza de ambientes y materiales.
- Limpieza personal.
- Manejo de materiales de desecho.

Figura 8. Procedimiento en la preparación del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana”



Figura 9. Procedimiento de la actividad analgésica del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana”



CAPÍTULO IV. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1 Resultados

4.1.1 Análisis descriptivo de resultados

Tabla 8. Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata*

“guanábana” en ratones albinos en los diferentes tiempos de exposición *p<0.05 existe diferencias significativas U: media

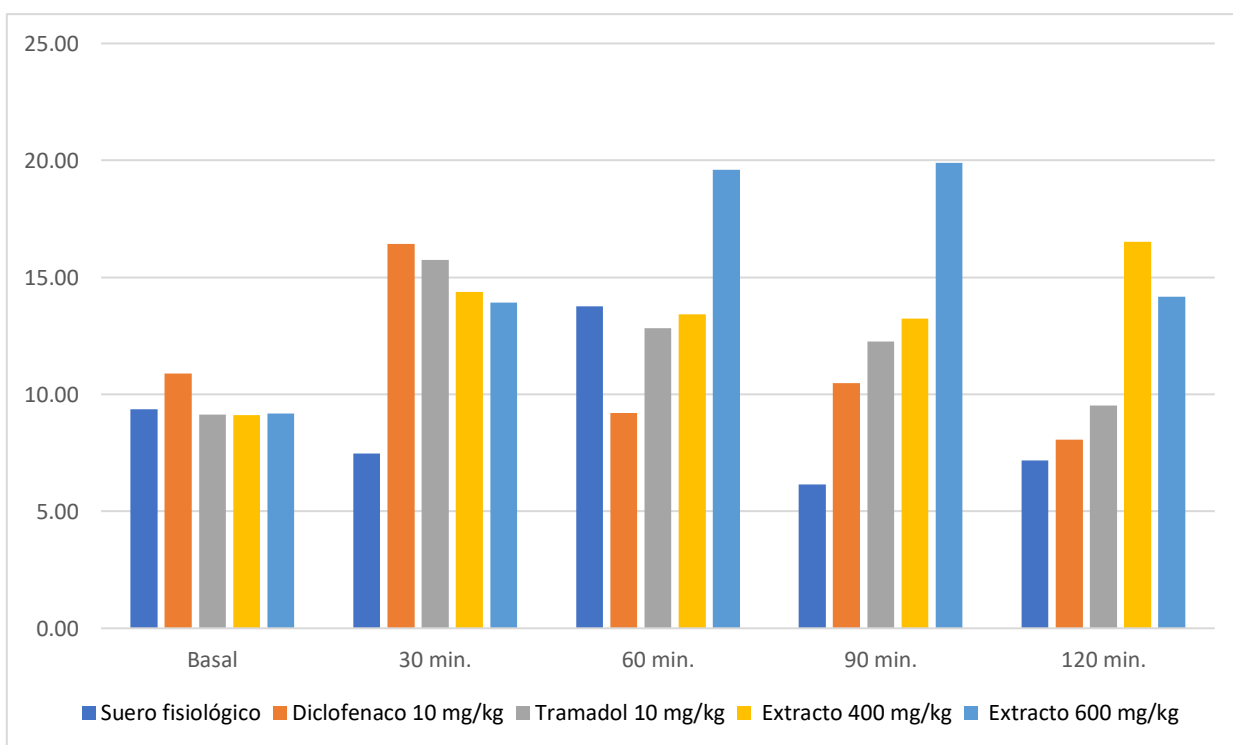
Grupo (n)	Tiempo de retracción (Tiempo de latencia)								Anova
	Basal	30 min.	60 min.	90 min.	120 min.				
Suero fisiológico	9,37	7,48 ± 1,21	13,77 ± 8,75	6,14 ± 2,78	7,19				p = 0,17
Diclofenaco 10 mg/kg	10,90	16,44 ± 6,23	9,19 ± 2,30	10,48 ± 2,88	8,06				p = 0,01*
Tramadol 10 mg/kg	9,13	15,75 ± 3,63	12,84 ± 4,12	12,26 ± 3,15	9,51				p = 0,02*
Extracto 400 mg/kg	9,11	14,38 ± 4,09	13,42 ± 7,21	13,24 ± 8,98	16,52				p = 0,39
Extracto 600 mg/kg	9,19	13,92 ± 3,81	19,60 ± 3,11	19,90 ± 5,22	14,18				p = 0,001*

En la tabla 8 se puede apreciar que el diclofenaco presenta diferencias significativas en las medidas de volumen U 30 min > basal, asimismo se encontró diferencias significativas en las medias del volumen U 30 min > U 120 min.

En las medias del volumen del tramadol se encontraron diferencias significativas U 30 min > U 60 min, así como también en las medias del volumen U 30 min > U 120 minutos.

Se encontraron diferencias significativas en las medias del volumen del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* a 600 mg/kg U 30 min > basal así como también U 60 min > basal.

Figura 10 Gráfico del efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana” a diferentes tiempos de exposición



En la figura 10. se observa que el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana” tiene mayor efecto analgésico a dosis de 600 mg/kg superando al tramadol.

Tabla 9. Tiempos de latencia basal de los diferentes grupos de estudio

	N	Media	Desviación estandar	Anova
Suero fisiológico	5	9.37	3.51	F:0.40 p=0.81*
Diclofenaco 10 mg/kg	5	10.90	3.21	
Tramadol 10 mg/kg	5	9.13	0.87	
Extracto 400 mg/kg	5	9.11	2.67	
Extracto 600 mg/kg	5	9.19	2.57	

* $p=0.81 > 0.05$ no se encontró diferencias significativas

La tabla 9 nos muestra las estadísticas considerando 5 ratones machos por grupo donde se observa, que el grupo tratado con diclofenaco presenta una media mucho mayor (10.90) al ser comparado con el resto de los grupos. Así mismo se evidencia que el grupo tratado con el extracto a dosis de 600 mg/kg muestra una media superior (9.19) al ser comparados con los grupos tratados con tramadol (9.13) y con el extracto a dosis de 400 mg/kg (9.11)

Figura 11 Gráfico de tiempos de latencia

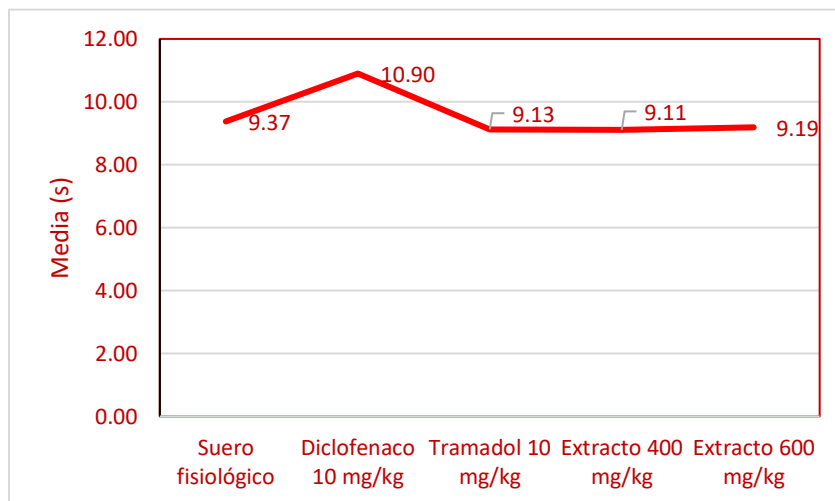


Tabla 10. Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas *de Annona muricata*

"guanábana " en ratones albinos, a los 30 minutos

	N	Media	Desviación estandar	Anova	Prueba de Tukey				
					Suero fisiológico	Diclofenaco 10 mg/kg	Tramadol 10 mg/kg	Extracto 400 mg/kg	Extracto 600 mg/kg
Suero fisiológico	5	7.48	1.21	F:3.70 p=0.02		p=0.02*	p=0.03*		
Diclofenaco 10 mg/kg	5	16.44	6.23						
Tramadol 10 mg/kg	5	15.75	3.63						
Extracto 400 mg/kg	5	14.38	4.09						
Extracto 600 mg/kg	5	13.92	3.81						

*p<0.05 existe diferencias significativas. U: media

En la tabla 10 se evidencia que se encontró diferencias significativas entre los grupos de estudio p<0,05, se aprecia que la media del suero fisiológico (7.48) es menor a la del diclofenaco 10 mg/kg (16.44); la media del suero fisiológico (7.48) es menor a la media del Tramadol 10 mg/kg (15.75), los grupos tratados con el extracto a dosis de 400, 600 mg/kg tienen una media mucho mayor (14.38, 13.92) en comparación con el grupo control (7.48)

Figura 12 Gráfico del Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* "guanábana" a los 30 minutos



Tabla 11. Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* "guanábana " en ratones albinos, a los 60 minutos

	N	Media	Desviación estandar	Anova
Suero fisiológico	5	13.77	8.75	F:2.18 p=0.10*
Diclofenaco 10 mg/kg	5	9.19	2.30	
Tramadol 10 mg/kg	5	12.84	4.12	
Extracto 400 mg/kg	5	13.42	7.21	
Extracto 600 mg/kg	5	19.60	3.11	

* $p=0.1 > 0.05$ no se encontró diferencias significativas

En la tabla 11 no se evidencia diferencias significativas entre los grupos de estudio $p > 0,05$

Figura 13. Gráfico del efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* "guanábana " en ratones albinos, a los 60 minutos

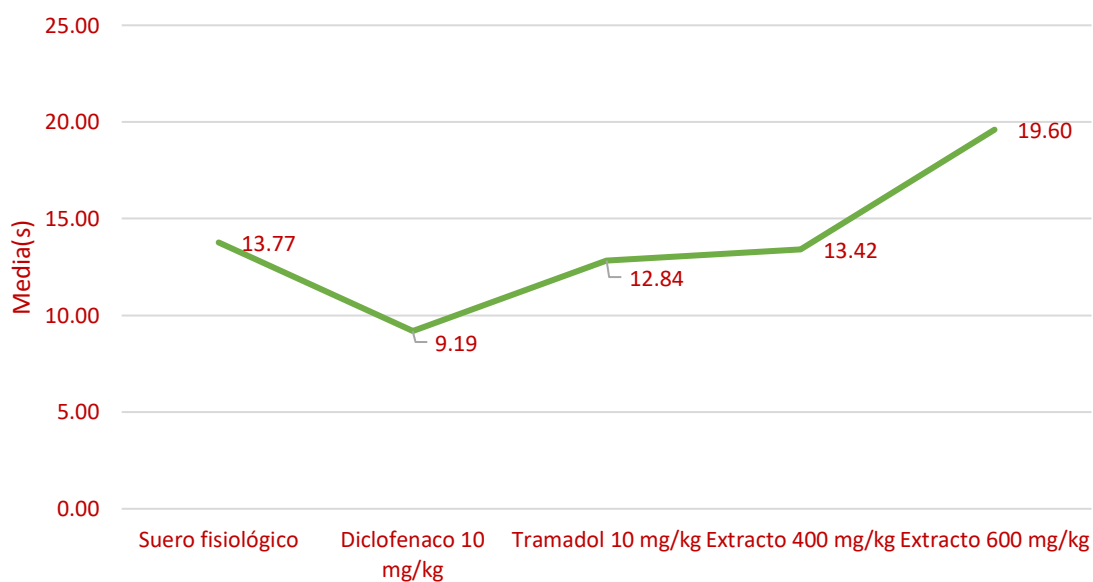


Tabla 12. Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* "guanábana " en ratones albinos, a los 90 minutos

Muestra	N	Media	Desviación estandar	Anova	Prueba de Tukey				
					Suero fisiológico	Diclofenaco 10 mg/kg	Tramadol 10 mg/kg	Extracto 400 mg/kg	Extracto 600 mg/kg
Suero fisiológico	5	6.14	2.78	F:4,66 p=0.008*					p=0.04*
Diclofenaco 10 mg/kg	5	10.48	2.88						
Tramadol 10 mg/kg	5	12.26	3.15						
Extracto 400 mg/kg	5	13.24	8.98						
Extracto 600 mg/kg	5	19.90	5.22						

*p<0.05 existe diferencias significativas. U: media

En la tabla 12 se evidencia diferencias significativas entre los grupos de estudio, se observa que la media del suero fisiológico (6.14) es menor que la media del extracto 600 mg/Kg (19.90). Asi mismo la media de los extractos de 400 y 600 mg/kg (13.24 y 19.90) son mayores al ser comparados con la media de los grupos tratados con suero fisiológico (6.14), diclofenaco (10.48) y tramadol (12.26).

Figura 14. Gráfico del efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* "guanábana " en ratones albinos, a los 90 minutos

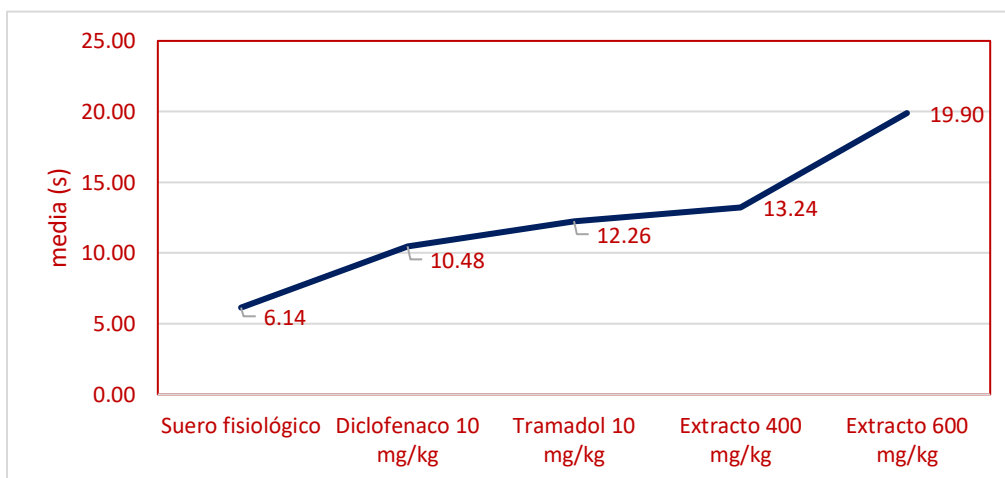


Tabla 13. Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata*

"guanábana " en ratones albinos, a los 120 minutos

Muestra	N	Media	Desviación estandar	Anova	Prueba de Tukey				
					Suero fisiológico	Diclofenaco 10 mg/kg	Tramadol 10 mg/kg	Extracto 400 mg/kg	Extracto 600 mg/kg
Suero fisiológico	5	7.19	5.41	F:3.1 p=0.037*					
Diclofenaco 10 mg/kg	5	8.06	1.71						
Tramadol 10 mg/kg	5	9.51	2.02						
Extracto 400 mg/kg	5	16.52	8.92						
Extracto 600 mg/kg	5	14.18	3.88						p=0.04*

*p < 0.05 existen diferencias significativas

En la tabla 13 se evidencia diferencias significativas entre los grupos de estudio donde la media del suero fisiológico (7.19) es menor al ser comparado con la media del extracto 600 mg/kg (14.18). También se evidencia que el grupo tratado con el extracto a dosis de 400 y 600 mg/kg presentan una media mayor a la del grupo tratado con tramadol (9.51)

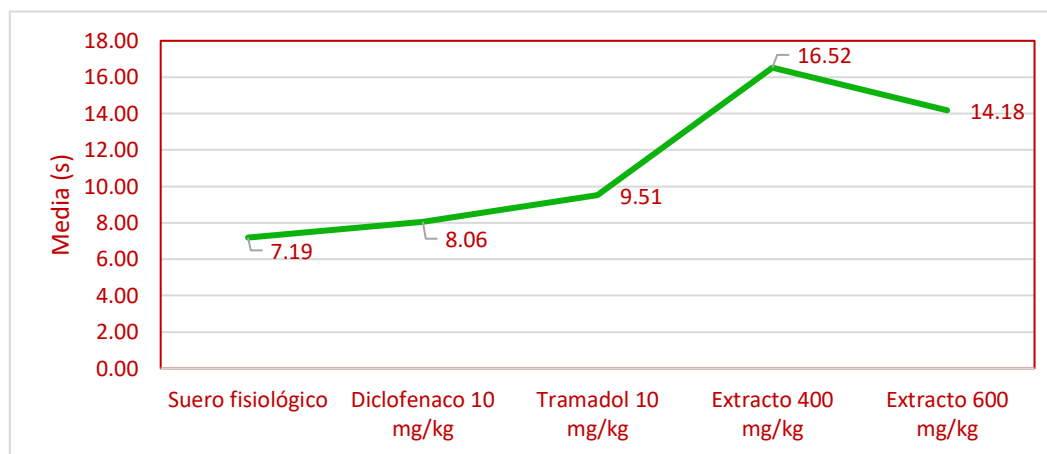


Figura 15. Gráfico del efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* "guanábana" a los 120 minutos

4.1.2 Discusión de resultados

Para esta investigación se siguió el método Hot plate, el cual también fue utilizado por Ishola I⁵³ y de Sousa⁵⁴ lo cual valida este método para poder determinar analgesia en roedores. Se evaluó el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana”, utilizando como fármacos de referencia diclofenaco y tramadol (Tabla 8) para determinar la analgesia.

El extracto etanólico de *Annona muricata* “guanábana” a concentraciones de 400 y 600 mg/kg de peso permitió la comparación de su efecto analgésico con los estándares utilizados como son el diclofenaco 10 mg/kg y tramadol 10 mg/kg, logrando conseguir resultados con mayor analgesia a los 60 y 90 minutos (Figura 11 y 12) superando al tramadol considerado un potente analgésico.

El presente trabajo de investigación demostró el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana”, el cual es explicado a continuación:

El efecto analgésico del extracto etanólico así como hidroalcohólico de *Annona muricata* “guanábana” han sido evidenciados en diferentes modelos nociceptivos (térmicos y químicos), en el presente trabajo se ha demostrado el efecto analgésico tal como lo indica Coria-Tellez¹⁰: al realizar un estudio completo de las actividades farmacológicas de *Annona muricata* donde también menciona el efecto analgésico de *Annona muricata* y lo atribuye a la inhibición de la ciclooxigenasa (COX) y lipooxigenasa (LOX), así como a principios activos antiinflamatorios presentes en el extracto etanólico de *Annona muricata* “guanábana”.

En el presente estudio se trabajó a dosis de 600 mg/kg lo que evidenció una potencia analgésica mayor que el tramadol, analgésico opioide, como se observa en la tabla 8 y la figura 10, la cual es mucho mayor que la determinada por de Souza⁵⁴, et al, quienes demostraron un efecto analgésico menor de las hojas de *Annona muricata* “guanábana” utilizando el método de Hot plate a dosis de 200 y 400 mg/kg, alcanzando su máximo efecto después de 90 minutos, igual que en el presente estudio. Esta mayor potencia nos permite afirmar que hay una relación dosis-efecto. Este efecto analgésico lo atribuye a la inhibición de prostaglandinas e inhibición de efectos periféricos debidos a la activación de vías nociceptivas donde tienen como mediadores a la sustancia P y bradicinina. Este estudio confirma el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana”.

Dado que se evidencia que el extracto presenta mayor efecto analgésico en comparación con el tramadol podría suponer que posiblemente tenga un efecto cercano a la morfina tal como lo indica Ishola I⁵³ quien observó un efecto máximo antinociceptivo a dosis de 200 mg/kg similar a la morfina 10 mg/kg.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Se comprobó el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana”, presentando un mayor efecto que tramadol a dosis de 400 y 600 mg/kg a los 60 y 90 minutos.
- Se evidenció que el extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana” tienen el mayor efecto analgésico a dosis de 600 mg al ser comparado con el tramadol.

5.2 Recomendaciones

- Se sugiere realizar ensayos para determinar la dosis con mayor efecto analgésico
- Se recomienda seguir con el estudio de la especie vegetal *Annona muricata* “guanábana” con la finalidad de proporcionar más información importante de esta planta.
- Fomentar el cultivo de *Annona muricata* “guanábana” por medio de la información sobre sus propiedades farmacológicas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Calvo M. Evaluación antitumoral y toxicológica de los productos obtenidos del extracto etanólico de *Schinus molle* L en un modelo murino. 2018 [Tesis Pregrado] México DF: Universidad Nacional Autonomía de México.
2. Bussmann R, Sharon D. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia. La flora mágica y medicinal del norte del Perú, noviembre 2015 Trujillo-Perú.
3. Huamantupa I, Cuba M, Urrunaga R, et al. Riqueza uso y origen de plantas medicinales expandidas en los mercados de la ciudad del Cuzco. Rev. Perú Biol. (Internet). 2011 Dic (citado el 8 de enero 2019; disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332011000300004&lng=es).
4. Heisler E, Buddó M, Schimith M, et al. Uso de plantas medicinales en el cuidado de la salud: la producción científica de tesis y disertaciones de enfermería brasileña. Enfermería Global. [Internet].2015 jul. [citado 2019 enero 25].
5. Becerra E. Heredia L. Actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Ruellia graecizans* Backer (Paque-paque) en ratones [Tesis Pregrado] Lima-Perú. Universidad Privada Norbert Wiener;2017.
6. Ministerio de Salud. [Internet] Lima – Perú MINSA. Citado el 04 de junio 2020. Disponible en www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/27840.
7. Nakasato T, Camacho G. Prevalencia del dolor cervical crónico en el Perú [Internet]. 2016 [consultado el 10 de junio de 2020]. Disponible en <https://www.researchgate.net>
8. Castañeda B, Castañeda W. Analgésicos en el manejo del dolor. [Internet] [citado el 10 de junio 2020. Disponible en: https://medicina.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/1997/Art1_Vol1_N2.

9. Cala C, Jardines C, Gonzales F, et al. Estudio farmacognóstico preliminar de la especie *Annona squamosa L* a partir de su tamizaje fitoquímico. Rev. Cuba Plant. Med. [revista en internet].2018 [citado el 2 de enero 2021]; 23 (2). Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/637>.
10. Coria A, Montalvo E, Yahia E, Vázquez E. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. Arabian Journal of Chemistry. [Internet]. 2016 [Consultado 28 de Feb 2020];p.1-30.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535216000058> .
11. Maruvoor A, Krishnaveni C. Anti-inflammatory activity of aqueous leaf extract of *Annona muricata. L* and *Spermacoce articularis. L. F* against carrageenan induced paw o edema in rats. Int J Pharm Biol Sci . [Internet]. 2017 [Consultado 15 de enero 2020]; 7(3): 108-113. Disponible en: https://ijpbs.com/ijpbsadmin/upload/ijpbs_59e85a50e0cc4.pdf.
12. Silva J, Araujo C, Saraiva S, et al. Actividades antinociceptivas y antiinflamatorias del extracto etanólico de *Annona muricata vepretorum Mart.* (Annonaceae) en ratones. BMC Complement, Altern Med 15,197 (2015).
13. García Y, Salomón S, Acosta J, Romero A, López M, et al. Optimization of variables for extraction of flavonoids from *Annona muricata L.* leaves. Rev. Cubana Plant, Med [Internet] 2016 [citado el 20 de abril de 2020];21 (3): 298-308.
14. Condori M, Oviedo M. Evaluación del efecto antiproliferativo y apoptótico del extracto en acetato de etilo de las hojas de *Annona muricata* (Guanábana) sobre células cancerígenas (PC-3) y células epiteliales sanas de próstata en humano (HPrEC) [Tesis Pregrado] Arequipa – Perú: Universidad Católica de Santa María. 2017.

15. Avalos S, Leal B. Efecto del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* en la oxidación del LDL humana in vitro. [Tesis Pregrado] Trujillo – Perú: Universidad Nacional de Trujillo.2015
16. De la Cruz E, Calixto J. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana” en ratones inducidos a ulcera gástrica. [Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico] Lima Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, Universidad Inca Garcilazo de la Vega; 2018.
17. Palomino C, Efecto preventivo del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) sobre el síndrome metabólico inducido en ratas. [Tesis pre grado] Lima – Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2016.
18. Balvin P, Tadeo V, Efecto cicatrizante de gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L (guanábana) en ratas albinas. [Tesis para obtener el título profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico] Lima – Perú: Universidad Inca Garcilazo de la Vega;2018.
19. Florencia M. Diseño de un nuevo producto: Té de hojas de guanábana, a través del estudio de la evidencia que justifica el desarrollo de un producto de estas características en el mercado ecuatoriano. [Tesis pre grado]. Quito – Ecuador. Universidad San Francisco de Quito. 2017
20. Moghadamtousi S, Fadaeinasab M, Nikzad S, Mohan G, et al *Annona muricata*: (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and Biological activities. International Journal of Molecular Sciences. [Internet]2015 [citado el 20 de enero 2019]; 16(15626): 15625 – 15649.

21. Foong Ch, Hamid R. Evaluation of anti-inflammatory activities of ethanolic extract of *Annona muricata* leaves. Brazilian Journal of Pharmacognosy. [Internet]2012 [citado el 22 de enero 2019]; 22 (6): 1301-1307
22. Soplín H. Propagación Botánica de *Annona muricata* L “guanábana” bajo cuatro sustratos en Iquitos – Perú. [Tesis pre grado]. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.2015. Iquitos-Perú.
23. Coria A, Montalvo E, Yahia E, *et al*, *Annona muricata*: A comprehensive Review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. Arabian Journal of Chemistry [internet] ,2016.
24. Vásquez F, Lusich G. Actividad inmunoestimulante del extracto acuoso de hojas de *Annona muricata* L.” Guanábana” en ratas albinas Holtzman. [Tesis pre grado]. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.2015. Iquitos-Perú.
25. Floréz Y, Martínez E. Obtención y evaluación de extractos bioactivos presentes en semillas de *Annona muricata* de la región cafetera. [Tesis pre grado]. Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia 2010.
26. Little E, Wadsworth F, Marrero J. Árboles comunes de Puerto Rico y las islas vírgenes [Internet] Segunda edición. Puerto Rico: editorial de la universidad de Puerto Rico 2001 [citado el 29 de enero 2019]. Disponible en <https://books.google.com.pe/books?isbn=0847703835>.
27. Leiva G, Gayoso G, Chang L. *Annona muricata* L. “guanábana” (Annonaceae), una fruta utilizada como alimento en el Perú prehispánico. Arnaledoa [Internet]2018 [citado el 30 de enero 2019]; 25 (1): 127 – 140.
28. León J. Botánica de los cultivos tropicales [Internet]. Tercera edición. Costa Rica: editorial Agroamericana San José de Costa Rica 2000 [citado el 30 de enero 2019]

29. Patel S, Patel J. A review on a miracle fruits of *Annona muricata* Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2016 [Internet] citado el 30 de enero 2019, disponible online en www.phytojournal.com.
30. Pamplona J. Salud por los alimentos. [Internet]. Primera edición. Madrid- España: editorial Safeliz [citado el 30 de enero 2019]
31. Reina C, Rivera C, Bonilla. Manejo postcosecha y evaluación de la calidad para la guanábana (*Annona muricata* L) que se comercializa en la ciudad de Neiva. Universidad Sur de Colombia, 1996.
32. Baraona M, Sancho E. Fruticultura especial. Guanábana y Macadamia Fascículo 5. Primera edición: editorial universidad estatal a distancia San José – Costa Rica 1992.
33. Lock O, Rojas R. Química y Farmacología de *Annona muricata* Linn. (“Graviola”). Revista de Química departamento de Ciencias Pontificia Universidad Católica del Perú [Internet]2003 (23 -28).
34. Barahona V. Evaluación de la actividad antioxidante y valor nutracéutico de las hojas y frutos de la guanábana (*Annona muricata*) [Tesis pre grado]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2013. Riobamba – Ecuador.
35. Vit P., Santiago B, Pérez-Pérez M. Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanábana *Annona muricata* L Interciencia [Internet] 2014; 39(5):350-353. Recuperado de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33930879008>.
36. Saleem U, Chudary Z, Ahmad B et, al. Pharmacological screening of *Annona muricata*: a review. Asian J Agri & Biol. Pakistan [Internet] 2017; 5 (1): 38-46.
37. Ortiz G, Campos S. Propiedades curativas de las hojas de guanábana (*Annona muricata*) y su impacto potencial fármaco – industrial. [Internet]. Universidad Autónoma de Puebla disponible en Propiedades curativas de las hojas de guanábana.

38. Bravo Luis, Marhuenda Elisa. Manual de Farmacoterapia. Madrid, España. 2005. Edit. Gea consultoría Editorial, S.I.L.
39. Palanca S, Puig R, Bernal S, Paniagua C. Unidad de Tratamiento del Dolor. Editado por Ministerio de Sanidad, Política, Social e Igualdad. 2011, Madrid- España.
40. Michuy C, Vargas M. “Evaluación de la actividad analgésica del extracto etanólico de las hojas de *Senecio nivalis* (H.B.K) Cuatrec (Quairipa) en ratones albinos”. [Tesis pregrado] Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Lima-Perú. 2018.
41. Morillo R, Díaz J, Molina E, Martínez J. Herramientas para la Farmacia Clínica, Madrid España. Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria, 2014.
42. López F. Definición y clasificación del dolor. Hospital Clínico San Carlos. Madrid 1996
43. Velasco A, Alsásua A, Carbajal García Pando A, Dueñas A, De la Gala F, García P, et al. Farmacología Clínica y Terapéutica Médica. España: McGraw-Interamericana 2004.
44. Divins M. Farmacia Profesional: Información de Mercados [Internet] 2015. [citado el 06 de setiembre de 2020]. Vol. 29. Núm. 6(17-21). Disponible en: [www.elsevier.es>es-revista-farmacia-profesional-3-articulo](http://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo)
45. Tripathi K. Farmacología en Odontología. Fundamentos, pág.335 [Internet]. 1ra edición Buenos Aires: Médica Panamericana. [citado el 08 de setiembre de 2020]
46. Gonzales A. Guía Farmacológica de Analgésicos. Capítulo 2, pág. 93[Internet]. Sociedad Española del Dolor.2005. [citado el 08 de setiembre de 2020].
47. Rodríguez C. Vademécum Académico de Medicamentos. [Internet], sexta edición, 2012 [citado el 9 de setiembre de 2020]. Disponible en: accessmedicina.mhmedical.com >
48. Antillo L. Sinergismo de la combinación diclofenaco – tramadol en dolor orofacial experimental. [Internet] Santiago, Chile: Universidad de Chile- Facultad de Odontología;

2010 [citado 12 de setiembre 2020]. Disponible en <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/133686>.

49. Del Arco J. Farmacología Comunitaria. “Curso Básico sobre el dolor”. Tema 1 Fisiología, clasificación y tratamiento farmacológico. [Internet]2015 [citado el 13 de setiembre de 2020]. Vol. 29 (36-42)
50. Valiente M, Salinas F, Verdejo M. Rev. Medicina Integral. Fármacos opioides en atención primaria. [Internet] 2001[citado el 13 de setiembre 2020]. Vol. 38 (116-126).
51. Montes Pérez A. Tratamiento del dolor agudo post-operatorio utilizando combinaciones de tramadol y metamizol: análisis de la interacción [Tesis Doctoral] España: Universidad Autónoma de Barcelona; 2004. Disponible en: <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/5375/amp1d...>
52. Diaz M. Guía para la evaluación de la actividad analgésica de extractos metanólicos de plantas [Internet]
53. Ishola I, Awodele O, Olusayero A, Ochieng CH, Mechanisms of analgesic and anti-inflammatory properties of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) fruit extract in rodents, Journal of Medicinal FOOD, [Internert]. 2014 [citado el 15 de abril de 2020]. Disponible en <http://doi.org/10.1089/jmf2013.0088>
54. De Sousa O, Vieira G, de Jesus R, de Pinho J, Yamamoto C, Alves M. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanol extract of *Annona muricata* L. leaves in animal models. Int J Mol Sci. 2010 May 6;11(5):2067-78. doi: 10.3390/ijms11052067. PMID: 20559502; PMCID: PMC2885094.

ANEXO 1

MATRIZ DE CONSISTENCIA

EFFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *ANNONA MURICATA* “GUANÁBANA” EN RATONES ALBINOS

Formulación del Problema	Objetivos	Hipótesis	Variable	Diseño metodológico
<p>¿Tendrá efecto analgésico el extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana” en ratones albinos?</p>	<p>GENERAL</p> <p>Determinar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana” en ratones albinos realizado en la universidad Wiener junio 2020.</p>	<p>GENERAL</p> <p>El extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana” tiene efecto analgésico en ratones albinos</p>	<p>INDEPENDIENTE</p> <p>El extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana”</p>	<p>Tipo de investigación</p> <p>Prospectivo de corte transversal</p> <p>Diseño</p> <p>Experimental</p>
	<p>ESPECIFICOS</p> <p>Obtención del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana” conteniendo principios activos de probable efecto terapéutico.</p> <p>Comprobar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana” según la prueba de placa caliente (Hot-Plate) en ratones albinos</p>	<p>ESPECIFICA</p> <p>El extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> (guanábana) evidencia efecto analgésico en los ratones albinos sometidos a la prueba de Hot Plate</p>	<p>DEPENDIENTE</p> <p>Efecto analgésico</p>	<p>Población</p> <p>Ratones albinos machos de la especie <i>Mus musculus</i> cepa Balb 53</p> <p>Muestra</p> <p>25 ratones albinos machos</p>

ANEXO 2

MATRIZ DE OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	DIMENSION	INDICADOR	INSTRUMENTO (METODO)	ITEMS	ESCALA	FUENTE
INDEPENDIENTE Extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i>	El extracto etanólico consiste en la extracción de líquidos concentrados obtenidos de material vegetal desecado utilizando como solvente etanol	Determinación de metabolitos secundarios	Pruebas (coloración)	Análisis fitoquímico	Shinoda Salkowski Somneschein Mayer Popoff Tricloruro férrico Tricloruro de aluminio Dragendorf Somneschein Lieberman Wagner	Presencia Ausencia	El extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i>
		Identificación de la solubilidad	Disolución del extracto	Reacciones de solubilidad	de Agua destilada Metanol Etanol Acetato de etilo n- hexano Acetona n- metano Benceno Éter etílico Cloroformo	Soluble Insoluble	El extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i>
DEPENDIENTE Efecto analgésica	El efecto analgésico es una variación del dolor debido a una respuesta producida por una acción con propiedades terapéuticas cuyo objetivo es reducir el dolor.	Efecto analgésico	Incremento del umbral doloroso	Lamida de pata Salto o intento de salto	Blanco Grupo I: Diclofenaco Grupo II: Tramadol Grupo III: Extracto Grupo IV: Extracto	10 mg/kg 10 mg/kg 400 mg/kg 600 mg/kg	Suero fisiológico Diclofenaco Tramadol Extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i>

ANEXO 3.

Descripción taxonómica

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. N° 3796
Tel: 0158852 8PM 963689079
Email: joricampo@gmail.com



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ, BIÓLOGO COLEGIADO- N° 3796 - INSCRITO CON EL N° 36 EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 6013-2015-MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA:

Que, **ROXANA MARIBEL NIETO INCA**, con grado académico de Bachiller, con fines de investigación, para desarrollar la tesis: Efecto analgésico del extracto etanólico de *Annona muricata* L. (guanábana) en ratones albinos. Y optar el título de químico Farmacéutica, ha solicitado la identificación y certificación botánica de la planta conocida con el nombre común de "guanábana", la muestra fértil con flores y frutos se identificó como *Annona muricata* L. Según la base de Tropicos que sigue la clasificación de los grupos de filogenia de las angiospermas (APG), sistema moderno de clasificación de las angiospermas publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009) y APG IV (2016), comparado con el Sistema Integrado de Clasificación de las Angiospermas de Arthur Cronquist. (1981), ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

Categorías	Sistema APG-2016	Sistema de Cronquist 1981
Dominio	Eukariota	Eukariota
Reino	Plantae	Plantae
División	Angiospermae	Magnoliophyta
Clase	Equisetopsida	Magnoliopsida
Subclase	Magnoliidae	Magnoliidae
Superorden	Magnoliales
Orden	Magnoliales	Magnoliales
Familia	Annonaceae	Annonaceae
Género	<i>Annona</i>	<i>Annona</i>
Especie	<i>Annona muricata</i> L.	<i>Annona muricata</i> L.

Nombres vulgares: "guanábana"

Se expide la presente certificación para los fines de investigación científica.

Lima, 28 de setiembre del 2020



Jr. Sánchez Silva # 156 – Urb. Santa Luzmila - Lima 07 / e-mail: joricampos@yahoo.es

Anexo 4. Instrumento para registrar el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* “guanábana” en ratines albinos

 INSTRUMENTO DE PRUEBA																																																		
Título	Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana” en ratones albinos																																																	
Analista	Roxana Maribel Nieto Inca																																																	
Asesor	Dr. Ernesto Torrez Veliz																																																	
Muestra	Extracto etanólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> “guanábana”																																																	
Método	Hot Plate																																																	
Lugar de análisis	Centro de investigación farmacéutico de la Universidad Norbert Wiener																																																	
EVALUACION DE PRUEBAS																																																		
Grupo I	Blanco tratamiento Suero fisiológico																																																	
Estado	Ayuno 24 Hrs																																																	
PARAMETROS																																																		
N° de Ratón	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 20%;">Peso</th> <th style="width: 20%;">Dosis 0.1 ml/10 g</th> <th colspan="5">Tiempo de respuesta frente al estímulo</th> </tr> <tr> <th></th> <th></th> <th>Basal</th> <th>30 min</th> <th>60 min</th> <th>90 min</th> <th>120 min</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>R1</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>R2</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>R3</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>R4</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>R5</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Peso	Dosis 0.1 ml/10 g	Tiempo de respuesta frente al estímulo							Basal	30 min	60 min	90 min	120 min	R1							R2							R3							R4							R5						
Peso	Dosis 0.1 ml/10 g	Tiempo de respuesta frente al estímulo																																																
		Basal	30 min	60 min	90 min	120 min																																												
R1																																																		
R2																																																		
R3																																																		
R4																																																		
R5																																																		
Observaciones																																																		

Grupo II		Control	tratamiento	Diclofenaco 10mg/kg				
Estado		Ayuno 24 Hrs						
PARAMETROS				Tiempo de respuesta frente al estímulo térmico				
N° de Ratón	Peso	Volumen dosis	según	Basal	30 min	60 min	90 min	120 min
R1								
R2								
R3								
R4								
R5								
Observaciones								
Grupo III		Control	tratamiento	Tramadol 10mg/kg				
Estado		Ayuno 24 Hrs						
PARAMETROS				Tiempo de respuesta frente al estímulo térmico				
N° de Ratón	Peso	Volumen dosis	según	Basal	30 min	60 min	90 min	120 min
R1								
R2								
R3								
R4								
R5								
Observaciones								

Grupo IV	Control	tratamiento	Extracto 400 mg/kg				
Estado	Ayuno 24 Hrs						
PARAMETROS			Tiempo de respuesta frente al estímulo térmico				
N° de Ratón	Peso	Volumen según dosis	Basal	30 min	60 min	90 min	120 min
R1							
R2							
R3							
R4							
R5							
Observaciones							
Grupo v	Control	tratamiento	Extracto 600 mg/kg				
Estado	Ayuno 24 Hrs						
PARAMETROS			Tiempo de respuesta frente el estímulo térmico				
N° de Ratón	Peso	Volumen según dosis	Basal	30 min	60 min	90 min	120 min
R1							
R2							
R3							
R4							
R5							
Observaciones							

ANEXO 5. Aprobación del Comité de Ética



**Universidad
Norbert Wiener**

COMITÉ DE ÉTICA PARA LA INVESTIGACIÓN

Lima, 16 de junio de 2020

Investigador(a):
Roxana Maribel Nieto Inca
Exp. N° 046-2020

Cordiales saludos, en conformidad con el proyecto presentado al Comité Institucional para la investigación de la Universidad Privada Norbert Wiener, titulado:

“Efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* (guanábana) en ratones albinos”

Al respecto se informa lo siguiente:

El Comité Institucional para la investigación de la Universidad Privada Norbert Wiener, en sesión virtual ha acordado la **APROBACIÓN DEL PROYECTO** de investigación, para lo cual se indica lo siguiente:

1. La vigencia de esta aprobación es de un año a partir de la emisión de este documento.
2. Toda enmienda o adenda que requiera el Protocolo debe ser presentado al CIE y no podrá implementarla sin la debida aprobación.
3. Debe presentar 01 informe de avance cumplidos los 6 meses y el informe final debe ser presentado al año de aprobación.
4. Los trámites para su renovación deberán iniciarse 30 días antes de su vencimiento juntamente con el informe de avance correspondiente.

Sin otro particular, quedo de Ud.,

Atentamente



Yenny Marisol Bellido Fuentes
Presidenta del CIEI- UPNW