



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO-BIOLÓGICAS

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Tesis

“Estudio biodirigido en hojas de *Annona muricata* en la búsqueda de extractos con efecto vasorrelajante en anillos de aorta aislados de rata”

Para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Presenta:

I.B.Q. Dulce María Ruiz Romero

Asesor:

D.C. MAURO MANUEL MARTÍNEZ PACHECO

Doctor en Ciencias en Biología Experimental con especialidad en
bioquímica

Marzo de 2017, Morelia Mich

Contenido

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	2
2.1 Presión arterial.....	2
2.2 Hipertensión arterial (HTA)	2
2.3 Hipertensión en México	3
2.4 Tratamiento farmacológico de la hipertensión arterial	4
2.5 Factores que afectan el control de la hipertensión	6
2.5.1 Terapia combinada	6
2.5.2 Condiciones Socioeconómicas	6
2.5.3 Efectos secundarios de los fármacos antihipertensivos.....	6
2.5.4 Hipertensión arterial resistente	7
2.6 Fitofármacos e hipertensión.....	8
2.7 Familia <i>Annonaceae</i>	8
2.8 Clasificación taxonómica	9
2.9 Descripción botánica	9
2.10 Distribución	10
2.11 Usos de la planta <i>Annona muricata</i>	11
2.12 Compuestos químicos presentes en <i>A. muricata</i>	11
2.13 Farmacología de <i>A. muricata</i>	13
2.14 Uso etnofarmacológico de <i>A. muricata</i> en el tratamiento de la hipertensión	14
3. JUSTIFICACIÓN	16
4. HIPÓTESIS.....	17
5. OBJETIVO GENERAL.....	18
5.1 OBJETIVOS PARTICULARES	18
6. MATERIALES Y MÉTODOS	19
6.1 Material vegetal	19
6.1.1 Procesamiento de la muestra	19
6.2 Cromatografía en capa fina	20
6.3 Cromatografía líquida en columna.....	21

6.4 Modelo experimental.....	22
6.4.1 Contracción en aorta aislada de rata	22
7 RESULTADOS	24
7.1 Rendimiento de los extractos de hoja de <i>A. muricata</i>	24
8. DISCUSIÓN	25
Bibliografía	29

Tabla de Figuras

Figura 1: Clasificación de los medicamentos antihipertensivos según su mecanismo de acción (Vergel y col., 2009).....	5
Figura 2. Árbol de guanábana	9
Figura 3. Distribución de la Familia Annonaceae	11
Figura 4. Árbol, semillas y fruto de guanábana	11
Figura 5. Localización de Tarétan, Michoacán y Jiutepec, Morelos	19
Figura 6. Preparación de las hojas. a) Hojas de <i>A. muricata</i> sobre papel roca para secado. b) Hojas de <i>A. muricata</i> en recipiente de vidrio para maceración	20
Figura 7. A) Equipo de órgano aislado B) Aortas montadas en vaso de órgano aislado	23

Tabla de Cuadros

Cuadro 1: Clasificación taxonómica de <i>A. muricata</i> L.	9
Cuadro 2. Características de los compuestos aislados para <i>A. muricata</i> . Adaptada de (García Aguirre, 2009).....	12
Cuadro 3. Usos de <i>A. muricata</i> en la medicina tradicional	13
Cuadro 4. Estudios recientes realizados con <i>A. muricata</i> en el área médica.	14
Cuadro 5. Reportes del uso de <i>A. muricata</i> en la medicina tradicional para el tratamiento de la hipertensión en distintos países.....	15
Cuadro 6. Rendimiento de los extracto de hoja de <i>A. muricata</i>	24

RESUMEN

La hipertensión es el principal factor de riesgo para desarrollar enfermedades cardiovasculares, renales y accidentes cerebrovasculares. La medicación que existe para el tratamiento es efectiva en la mayoría de los casos, sin embargo existen diversos factores que afectan su control, por lo que surge la necesidad de buscar fuentes de nuevos compuestos que ayuden al manejo de la hipertensión.

Una fuente de nuevos compuestos se encuentra en las plantas, tal como *Annona muricata* cuyo uso en la medicina tradicional está ampliamente reportado. En la presente investigación se evaluó su efecto vasorrelajante. Un estudio biodirigido se realizó para dilucidar el extracto y los posibles grupos de compuestos responsable de ésta actividad. Los extractos hexánico, diclorometánico y metanólico se obtuvieron de las hojas por maceración sucesiva con el solvente hasta agotar componentes y se concentró en rotavapor. El efecto vasorrelajante de los extractos se evaluó en anillos de aorta por el método de órgano aislado con una concentración de los extractos de 0,025 mg/ml y 0,05 mg/ml. El extracto con mayor efecto vasorrelajante se seleccionó. Se evaluó el efecto de la concentración del extracto con mayor actividad vasorrelajante (0,01-0,05 mg/ml) en un modelo de rata hipertensa inducida por L-NAME. El extracto se analizó por cromatografía en capa fina y por espectrofotometría UV. El extracto metanólico a la concentración de 0,025 mg/ml tuvo la mayor actividad al relajar los anillos de aorta de ratas normotensas e hipertensas, y el efecto del extracto es concentración dependiente. Se encontró que el extracto posee compuestos del tipo flavonoide, los cuales pueden ser los responsables de la actividad vasorrelajante.

Palabras clave: Hipertensión, *Annona muricata*, vasorrelajante, aorta de rata.

Abstract

Arterial hypertension (AHT) is the principal risk factor for developing cardiovascular, renal and cerebrovascular diseases. The drugs used for the treatment of hypertension are effective in half of the cases, nevertheless there are several factors that affect the control of hypertension. Because of that it is necessary to search for new sources of compounds that help to manage this disease.

A source of new compounds is found in medicinal plants, just like *Annona muricata*, that has been used in traditional medicine to treat different kind of diseases, like hypertension, and this use is well documented. In the present work was evaluated its vasorelaxant effect. A bioguided study was performed to elucidate the effect of the extract and the compounds responsible for their activity. The hexane, dichloromethane and methanol extracts were obtained with successive maceration of the leaves with the solvent until components were exhausted and concentrated in rotavapor. The vasorelaxant effect of the extracts was evaluated in rat aortic ring with the isolated organ method, the concentration used for the extracts was 0,025 mg/ml and 0,05 mg/ml. The extract that showed the greatest vasorelaxant activity was selected. Also the effect of graded doses of the extract with the major activity was evaluated (0,01-0,05 mg/ml) in aortic rings of rats treated with the eNOS inhibitor, L-NAME. The methanolic extract at a concentration of 0,025 mg/ml had the greatest activity because it relaxes the aortic rings of normotensive and hypertensive rats, and this vasorelaxation was concentration dependent. The methanolic extract was analyzed by thin layer chromatography and by ultra violet spectroscopy and it was found to contain flavonoids, which can be responsible of the vasorelaxant activity.

Key words: Hypertension, *Annona muricata*, vasorelaxant, rat aortic ring

1. INTRODUCCIÓN

La hipertensión afecta a más del 30 % de la población mexicana y es el principal factor de riesgo de mortalidad por enfermedades crónico degenerativas (Campos Nonato y col., 2013), por lo que existe interés en la búsqueda de nuevos compuestos antihipertensivos. Una fuente de nuevos compuestos se encuentra en las plantas, se conoce que sintetizan una gran variedad de metabolitos secundarios relacionados con los mecanismos de defensa.

El proceso para obtener metabolitos secundarios de los extractos vegetales es variable; se pueden obtener extractos acuosos o polvos o utilizar otros disolventes para obtener diferentes compuestos según su polaridad (Bautista y col., 2002). La aceptación general es que la mayoría de los compuestos contenidos en las plantas son biodegradables e inocuos. En México se encuentran aproximadamente 10 % de las especies de plantas superiores del mundo y más del 40 % de ellas son habitantes exclusivas del país (CONABIO, 1998), por lo que es conveniente explorar el potencial empleo de sus extractos vegetales, sobretodo de árboles de los cuales existen pocos reportes de su fitoquímica, tal como *Annona muricata* (guanábana) que pertenece a la familia de las Annonáceas. Por tradición indígena todas las partes del árbol se utilizan en medicina natural en las zonas tropicales para el alivio de diferentes afecciones, entre ellas la hipertensión (Barreto, 2010), por tal motivo ha sido objeto de investigación científica. El conocimiento de la etnobotánica en México avanza, sin embargo, los estudios científicos de *Annonaceae* específicos para el tratamiento de la hipertensión son escasos (Agustín y Segura Ledesma, 2012).

2. ANTECEDENTES

2.1 Presión arterial

La presión arterial (PA) es la fuerza que ejerce la sangre al circular por las arterias, esta fuerza es necesaria para que circulen oxígeno y nutrientes a todos los órganos del cuerpo. La PA se mide mediante dos parámetros, la presión arterial sistólica (PAS) y la presión arterial diastólica (PAD). La PAS corresponde al valor máximo de la presión arterial en sístole (cuando el corazón se contrae) y se refiere a la presión que ejerce la sangre sobre los vasos sanguíneos. La PAD corresponde al valor mínimo de la PA (entre latidos cardiacos), depende de la resistencia vascular periférica y se refiere al efecto de distensibilidad de la pared de las arterias (Sociedad Americana de Hipertensión, 2010). Las cifras normales de PAS y PAD son entre 90/60 y 120/80 mmHg.

Existen dos afecciones debidas a cambios en la PA, la hipotensión y la hipertensión. La hipotensión es el nombre técnico de una baja de PA, y la hipertensión es una enfermedad que consiste en un aumento de la resistencia vascular periférica y provoca un aumento de la PA (Dugdale y Zieve, 2011).

2.2 Hipertensión arterial (HTA)

La hipertensión es un trastorno en que los vasos sanguíneos tienen una tensión persistentemente alta. Cada vez que el corazón late, bombea sangre a los vasos sanguíneos, cuanta más alta es la tensión, más esfuerzo tiene que realizar el corazón para bombear la sangre (OMS, 2013). Las personas que padecen hipertensión no presentan síntomas en la mayoría de los casos, por lo que este trastorno también se le dice el asesino silencioso, ya que la hipertensión desencadena otras enfermedades mortales como accidentes cardíacos y cerebrovasculares, insuficiencia cardiaca y problemas renales. Sin embargo, algunos de los síntomas son: dolor de cabeza, dolor en el dorso del cuello, náuseas, vértigo, somnolencia, dificultad para respirar y sangrado nasal (Mandal, 2014).

El aumento de la resistencia vascular periférica en la hipertensión se debe a vasoconstricción arteriolar e hipertrofia de la pared vascular, que conduce a un incremento de la presión arterial sistémica igual o mayor a 140/90 mm Hg y que se relaciona principalmente al deterioro en la liberación de óxido nítrico desde las células endoteliales y los riñones (Guyton y Hall, 2002). La hipertensión arterial puede ser primaria o secundaria, en la hipertensión primaria no se puede

demostrar una etiología y es responsable de más del 90 % de los casos de hipertensión vistos en la práctica médica (Gamboa, 2006).

La etiología de la hipertensión primaria es compleja y multifactorial, los factores que se consideran son varios, como: el incremento en la actividad del sistema nervioso simpático (SNS), tal vez relacionado con excesiva exposición o respuesta al estrés; una excesiva ingesta de sodio; la inadecuada ingesta de potasio y calcio; el incremento en la secreción o la inapropiada actividad de la renina, con el resultante incremento en la producción de angiotensina II y aldosterona (SRAA); la deficiencia de vasodilatadores, tales como la prostaciclina, el óxido nítrico (ON) y los péptidos natriuréticos; las anormalidades en los vasos de resistencia, incluyendo lesiones en la microvasculatura renal; la diabetes mellitus, la resistencia a la insulina; la obesidad; el incremento en la actividad de factores de crecimiento; las alteraciones en los receptores adrenérgicos, que influyen la frecuencia cardíaca, el inotropismo cardíaco y el tono vascular (Oparil y col., 2003)

La hipertensión arterial (HTA) es uno de los factores de riesgo modificables de importancia para padecer enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares y falla renal. Ezzati y col. en el 2002 identificaron la hipertensión como el principal factor de riesgo mundial de mortalidad y el tercer factor de riesgo principal para desarrollar otras enfermedades. La prevalencia mundial de hipertensión en la población adulta se estima en 20 %. Sin embargo, en la revisión realizada por Kearney y col., en el 2004 la prevalencia fué del 30 % y encontraron que las cifras de adultos con hipertensión varía alrededor del mundo con las cifras más bajas en la zona rural de la India (3,4 % en hombres y 6,8 % en mujeres) y la más alta en Polonia (68,9 % en hombres y 72,5 % en mujeres).

2.3 Hipertensión en México

En México, 22,4 millones de adultos mayores de 20 años padecen hipertensión arterial, de los cuales 11,2 millones están diagnosticados y de esa cifra, sólo 5,7 millones tienen controlado el padecimiento (ENSANUT, 2012). En cifras de porcentaje, el 31,5 % de los adultos mexicanos padecen ésta enfermedad, dicha tendencia permanece sin cambios significativos desde el año 2000 hasta el 2012 (Campos Nonato y col., 2013). Los estados del norte de la República Mexicana se identificaron como los de mayor prevalencia de casos de hipertensión.

La hipertensión arterial esencial es la enfermedad crónica más frecuente en nuestro medio, afecta a sujetos en las etapas productivas de la vida e incluso ya es un problema en la infancia y se ha reconocido también como un problema de

salud pública ya que en México se reporta su prevalencia del 10 - 13 % (Aregullin-Eligio y Alcorta-Garza, 2009). La importancia del padecimiento radica en su repercusión sobre la esperanza y calidad de vida de quien tiene éste padecimiento por que no se diagnóstica oportunamente y cursa asintomático hasta que aparecen una o varias complicaciones ya que eleva el riesgo de sufrir ceguera, insuficiencia renal, ataques al corazón, accidentes cerebro vasculares y deterioro cognitivo (Radovanovic y col., 2014).

La hipertensión arterial es un problema de salud pública mundial y en México, consume gran cantidad de recursos donde su tratamiento equivale al 13,95 % del presupuesto destinado a la salud por lo que es objeto de estudio por equipos multidisciplinarios de salud, en la búsqueda de alternativas eficientes de manejo, una alternativa es la investigación de nuevos compuestos con actividad antihipertensiva derivados de plantas medicinales (Villarreal y col., 2002).

2.4 Tratamiento farmacológico de la hipertensión arterial

El objetivo del tratamiento de la hipertensión arterial es prevenir la enfermedad cardiovascular y la muerte. Esto se logra al mantener cifras de presión arterial menores o iguales a 130/90 mmHg en pacientes con enfermedades cardiovasculares (Calero y col., 2012; NOM-030-2009). Con esta medida se reduce en un 40 % el riesgo de enfermedad cerebrovascular y el riesgo de muerte por cualquier causa cardiovascular en un 20 %.

La monoterapia, que es el uso de un solo medicamento para tratar una enfermedad y el tratamiento no farmacológico es efectivo en pacientes hipertensos en etapa 1 y aquellos pacientes que se encuentran en el grado 2 o 3 de HTA requieren más de un fármaco para su control efectivo (Agust, 2003; Randi y col., 2012). El uso de combinaciones de fármacos que permitan un mejor control de la HTA se considera adecuado, con dosis bajas y menos efectos secundarios (el uso combinado de antagonistas beta adrenérgicos, de inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECAs), antagonistas del receptor de la angiotensina II (ARAI) y diuréticos) (Hoffman, 2007; Randi y col., 2003).

Los antihipertensivos se pueden clasificar según su mecanismo de acción en tres grupos: inhibidores de la actividad simpática, vasodilatadores y medicamentos que depletan agua y sodio (Figura 1) (Vergel y col., 2009).

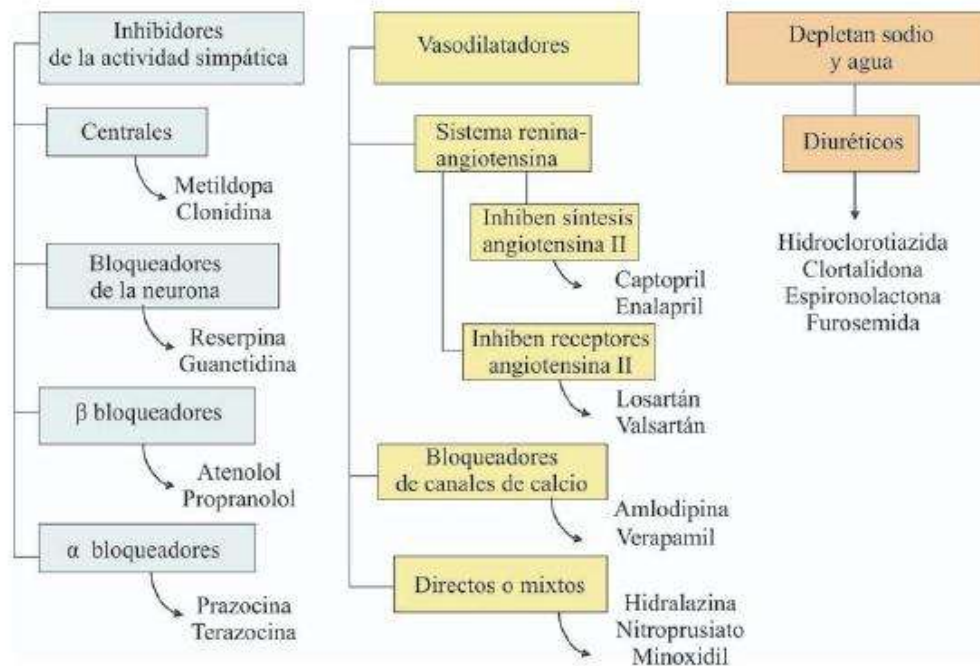


Figura 1: Clasificación de los medicamentos antihipertensivos según su mecanismo de acción (Vergel y col., 2009)

Los fármacos inhibidores de la actividad simpática bloquean los receptores adrenérgicos o interfieren con los procesos de síntesis, almacenaje y liberación de noradrenalina. Los fármacos vasodilatadores reducen la resistencia vascular periférica, por lo que ayudan a relajar y dilatar los vasos sanguíneos y así disminuir la presión sanguínea. La función de los diuréticos es, en general, la excreción renal de electrolitos como sodio, potasio, cloruro magnesio y calcio. La mayor excreción de estos electrolitos provoca mayor excreción renal de agua y por ello, mayor volumen de orina, este efecto natriurético provoca una disminución del volumen plasmático y del gasto cardíaco (Vergel y col., 2009).

Los diuréticos y antagonistas beta adrenérgicos son los agentes de primera elección por la amplia experiencia en su uso y el margen de seguridad que ofrecen, que se traduce en términos de capacidad de disminuir la morbilidad provocada por la HTA (August, 2003; Giuseppe y col., 2009).

Aunque el tratamiento actual para la hipertensión es efectivo en la mayoría de los casos, existen factores que afectan el control de la hipertensión, razón por la cual este es un problema de salud pública mundial que permanece en la actualidad (Campos Nonato y col., 2013).

2.5 Factores que afectan el control de la hipertensión

Los factores que afectan el control de la hipertensión son: la terapia combinada, condición socioeconómica, efectos secundarios de los fármacos y la HTA resistente.

2.5.1 Terapia combinada

La terapia combinada se usa para mejorar el control de la hipertensión. Al combinar fármacos antihipertensivos se simplifica el régimen de la dosis, mejora la ingesta, disminuyen los efectos adversos dependientes de la dosis y se reducen los costos como primera línea de tratamiento de la HTA (Gómez y González, 2012). Un mal manejo de esta terapia, ya sea por parte del médico o el paciente, provoca HTA resistente y las interacciones inadecuadas entre los medicamentos disminuyen la absorción de éstos y pueden provocar efectos indeables lo que provoca poca adherencia al tratamiento y una prevalencia de HTA (Garg y col., 2005).

En México, recibir tratamiento farmacológico no garantiza tener una mayor control de la HTA, ya que sólo alrededor de la mitad de quienes lo reciben tienen cifras de PAS y PAD dentro del intervalo que establece la Norma Oficial Mexicana (Frenk y col., 1991).

2.5.2 Condiciones Socioeconómicas

Las condiciones socioeconómicas es otro factor que afecta el control de la hipertensión. La pobreza y la marginación no permiten a gran cantidad de personas acceder a los avances continuos que en materia sanitaria vienen incorporándose, no sólo por dificultad de acceso a los servicios, sino principalmente por no alcanzar los requisitos mínimos en cuanto a calidad de vida que les permita llevar una vida saludable (London y col., 2009). Un bajo nivel socioeconómico está asociado con mayor riesgo de padecer presión arterial elevada. La morbilidad y mortalidad cardiovascular que ocasiona la prevalencia de HTA en este sector poblacional se debe minimizar mediante el desarrollo y evaluación de intervenciones apropiadas por parte del sector salud (Grotto y col., 2008).

2.5.3 Efectos secundarios de los fármacos antihipertensivos

Los efectos secundarios que se describen para los medicamentos antihipertensivos dependen del tipo de medicamentos, por ejemplo, los diuréticos provocan fatiga, deshidratación, hipotensión ortostática, hipopotasemia, calambres entre otros; los inhibidores de los canales de calcio causan dolor de cabeza, disminución de la frecuencia cardíaca, e hipotensión; los betabloqueantes pueden provocar fatiga, insomnio, bradicardia, trastornos del deseo sexual entre otros

(Vishal y col., 2010). Las personas que experimentan estos efectos secundarios pueden dejar el tratamiento antihipertensivo, lo que afecta el control y manejo de esta enfermedad, generando prevalencia e incluso HTA resistente al tratamiento.

2.5.4 Hipertensión arterial resistente

La hipertensión arterial resistente es una condición que involucra un gran riesgo de daño de órganos blanco, con significativo aumento de morbilidad y mortalidad. La sociedad Europea de Hipertensión define la HTA resistente al tratamiento, como aquella con niveles de presión arterial iguales o superiores a 140/90 mmHg, aún cuando se cumpla el tratamiento con un régimen apropiado de 3 fármacos antihipertensivos, incluyendo un diurético (Feldstein, 2008).

La HTA resistente es más frecuente en pacientes mayores de 60 años de edad y en aquéllos con daño de órganos blanco (Hyman y Pavlik, 2001). Las causas mas frecuentes de la HTA resistente son:

- Relacionadas con las drogas, la terapia subóptima parece ser la causa más frecuente de HTA resistente, en especial la prescripción de dosis insuficientes de diuréticos (Yakovlevitch y Black, 1991). También, al haber combinaciones inadecuadas, inactivación rápida ó interacción con otras drogas. Los responsables pueden ser los propios médicos, cuando no intensifican la terapia antihipertensiva ante la ausencia de una adecuada respuesta terapéutica (Amar y col., 2003).
- Condiciones asociadas como lo son el sobrepeso, tabaquismo, ingesta de alcohol, insuficiencia renal y resistencia a la insulina (Gordon y Kannel, 1983; Greenberg y col., 1987).
- Sobrecarga de volumen, una inadecuada terapia con diuréticos, exceso en la ingesta de sal, retención de fluidos o daño renal progresivo. La sensibilidad al sodio puede ocurrir en normotensos e hipertensos. Los riñones tienen una función esencial en la patogénesis de la HTA esencial y una ingesta excesiva de sal disminuye el balance negativo de sodio y agua, y contribuye al desarrollo de HTA resistente (Cowley y Roman, 1996).
- HTA secundaria, la hipertensión arterial que tiene una causa identificable y afecta aproximadamente al 5-10 % de los pacientes hipertensos (Santamaría y Gorostidi, 2015).

2.6 Fitofármacos e hipertensión

En el mundo se utilizan alrededor de diez mil especies vegetales con fines medicinales (Prieto González y col., 2004). El uso de infusiones, vapores e ingesta de plantas medicinales para curar diversas enfermedades se hace desde tiempos ancestrales y el uso de estas plantas continúa hoy en día. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que el 80 % de la población utiliza las plantas medicinales como principal recurso terapéutico para el alivio de enfermedades comunes, no solo en comunidades rurales. Solo de una parte de las plantas medicinales esta estudiada su química y farmacología de las cuales se comprobó científicamente su efectividad ante una gran variedad de enfermedades (OMS, 1999; Damian Badillo y col., 2008).

La riqueza florística ubica a México en el cuarto lugar mundial, con 26 500 especies de las cuales aproximadamente 9 500 son endémicas, lo que permitió que la herbolaria se desarrollara desde la época prehispánica. Un conocimiento que está registrado en documentos como el Códice De la Cruz-Badiano de 1552 y de manera reciente, la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. Sin embargo, pocas de las 4 500 plantas medicinales registradas han sido estudiadas científicamente sus propiedades curativas (Damian Badillo y col., 2007; Estrada Lugo, 2009; Martínez-Meyer y col., 2014)

En México, cifras de la Secretaría de Salud indican que el 90 % de la población usa plantas medicinales. De ese 90 %, la mitad usa exclusivamente a las “yerbas” para atender sus problemas de salud. El otro 50 % usa además la medicina alópata. La aceptación del uso de fitofármacos por médicos del primer nivel y la amplia documentación del uso y beneficios de las plantas medicinales en el país impulsan la promoción de actividades de investigación sobre plantas medicinales, orientadas al descubrimiento y desarrollo de nuevos medicamentos en beneficio de la población, tal es el caso de *Annona muricata* mejor conocida como guanábana (Romero y col., 2004).

2.7 Familia *Annonaceae*

La guanábana, pertenece a la familia *Annonaceae*, una familia de angiospermas con aproximadamente 130 géneros y 2 300 especies (Kelly, 2000).

Según el Sistema de Información Taxonómica Integrada (ITIS)- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), actualmente se aceptan para México 13 géneros y 37 especies de la familia *Annonaceae* (Vidal y col., 2013). Entre estas especies destaca *Annona muricata*, México es el primer exportador del fruto de la guanábana a nivel mundial.

Esta familia contiene una variedad de metabolitos secundarios encontrados únicamente en la Familia Annonaceae denominados “acetogeninas de anonáceas” que se demostró tienen actividad biológica (Schlie Guzmán y col., 2009).

2.8 Clasificación taxonómica

La guanábana se clasifica en la Familia Annonaceae. El nombre genérico de la guanábana *Annona*, proviene del nombre taíno *anona* aplicado al anón (*Annona squamosa*). En tanto, al nombre específico de *muricata* es una palabra latina que significa "erizado", en referencia al aspecto de la piel del fruto y es un árbol pequeño (Marcano, 2009). La clasificación taxonómica de *A. muricata* se muestra en el cuadro 1.

Cuadro 1: Clasificación taxonómica de *A. muricata* L.
(Flores y Martínez, 2010)

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Magnoliales
Familia	<i>Annonaceae</i>
Género	<i>Annona</i>
Especie	<i>Annona muricata</i>

2.9 Descripción botánica

El guanábano es un árbol perennifolio que mide de 3 a 8 metros de altura. La corteza externa es de color castaño más o menos lisa, la corteza interna es rosada, en tanto que el tronco y ramas son de color café rojizo con numerosas lenticelas. Las ramas son cilíndricas, ásperas y arrugadas (CONABIO, 2006).



Figura 2. Árbol de guanábana

El árbol de la guanábana (Figura 2) produce frutos compuestos de bayas fusionadas con partes de las flores, con aspecto espinado de color verde oscuro. La forma del fruto, ovoide semejando un corazón y curvo en su extremo inferior, es derivada de la

fusión de muchos frutillos y puede pesar hasta 4 kg. La pulpa es de color blanco, de aspecto algodonoso, que consiste de segmentos jugosos y fibrosos que rodean un receptáculo alargado. En cada segmento fértil se encuentran semillas duras y lisas de forma ovalada y de color negro. Cada fruto puede contener de 5 hasta 200 semillas (Morton, 1987).

La cáscara de aspecto reticulado, tiene espinas cortas que no causan daño, su superficie interior es de color crema y granular y se separa fácilmente de los segmentos fibrosos de la pulpa (Bradie y Schauss, 2010). Su fase reproductiva o de fructificación en condiciones silvestres es marcadamente estacional y bajo condiciones de riego y manejo agronómico apropiado, la producción se torna continua. Aunque la floración y fructificación pueden estar presentes durante todo el año los picos de mayor floración y fructificación ocurren en la época de verano, con un período de cosecha de menor intensidad durante la temporada invernal (Miranda Lasprilla & col., 2000).

Las hojas, son alternadas, simples, enteras, de superficie exterior coriácea y de color verde brillante, tienen forma oblongo-elípticas de 6 a 12 cm de largo por 2.5 cm de ancho aproximadamente. A lo largo del tallo posee flores solitarias, 3 sépalos ovalados de menos de 5 mm de largo; 6 pétalos, los 3 exteriores ovalados, libres y gruesos de 2 a 3 cm de largo, los 3 interiores delgados y pequeños (Flóres y Martínez, 2010).

2.10 Distribución

La Familia Annonaceae se distribuye principalmente en las regiones tropicales del mundo (Figura 3) (Heywood, 1985).

El árbol de la guanábana se distribuye en las tierras bajas del trópico. Altitud: 1 000 a 1 150 m, prospera mejor en climas cálidos y húmedos. Su crecimiento es en suelos con buen drenaje como los tipos de suelos: arenoso, limoso, arcilloso, arenisca. Se desarrolla en un pH ligeramente ácido de 5,5 a 6,5. Es originaria de la América Tropical y las Antillas, desde donde se extendió a todos los trópicos bajos (FDA, 1990).

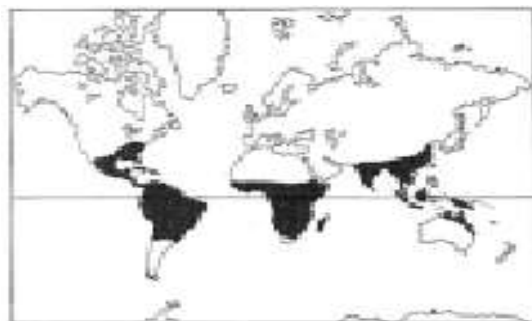


Figura 3. Distribución de la Familia Annonaceae

En México, *A. muricata* se produce y cultiva en Michoacán, Morelos, Tamaulipas, Oaxaca y Tabasco. Los nombres comunes en México son: Zapote de viejas (Rep. Mex.); Cabeza de negro (Oax. y Jal.); Catuch, Catucho (Jal.); Guanábana (Yuc., Chis. y Oax.); Polvox, Tak-ob (l. maya, Yuc.); Caduts-at (l. popoluca, Ver.); Xunáipill (l.mixe, Oax.); Llama de Tehuantepec (Oax.) (CONABIO, 2006).

2.11 Usos de la planta *Annona muricata*

El fruto es usado en la preparación de jugos, helados, conservas, jaleas y mermeladas. También, se preparan aceites esenciales a partir de éste para su uso como aromatizante. El fruto también se utiliza en la elaboración de bebidas alcohólicas como estimulante (FAO, 2006). La madera tiene uso como combustible, implementos agrícolas como yugos y mangos para herramientas; la corteza se aprovecha para la fabricación de fibras. Las hojas y semillas contienen alcaloides que poseen propiedades insecticidas (Figura 4) (CONABIO, 2006).



Figura 4. Árbol, semillas y fruto de guanábana

2.12 Compuestos químicos presentes en *A. muricata*

La hoja de *A. muricata* contiene una gran variedad de compuestos, como flavonoides, alcaloides, aceites esenciales, y una clase de compuestos exclusivos de la familia *Annonaceae* llamados acetogeninas annonaceas (Lebefou, 1986). Alcaloides como la Reticulina, aislada de *Ocotea duckei*, tiene efecto hipotensor

(Díaz y col., 2004) y flavonoides como los compuestos rutina y quercetina tienen actividad vasorrelajante (Olaleye y col., 2014). Estos compuestos están reportados en hoja de *A. muricata* (Nawwar y col., 2011). En el cuadro 2 se muestran los compuestos aislados para *A. muricata* y la actividad biológica reportada.

Cuadro 2. Características de los compuestos aislados para *A. muricata*. Adaptada de (García Aguirre, 2009)

Nombre del compuesto	Tipo de compuesto	Fuente	Actividad biológica reportada
Reticulina	Alcaloide	Hoja	Efecto depresor del sistema nervioso
Ácido γ -aminobutírico	-----	Hoja	Neurotransmisor central
Quercetina, rutina, ácido gálico, kaempferol	Fenoles	Hoja	Antioxidante
-----	Fenoles	Pulpa	Antioxidante
Annonacina, annonacina A, annonamuricina A	Acetogeninas	Pericarpio de semilla	Antiparasitaria y citotóxica
Muricinas A - G	Acetogeninas	Semillas	Citotóxica
-----	Esteroides, glicosidos cardiacos, alcaloides, saponinas, taninos y flavonoides	Hoja	Antibacterial
Muricin H	Acetogeninas	Semillas	Antitumoral
<i>Cis</i> -annonacina		Semillas	Citotóxica
Annomuricin E		Hoja	Citotóxica
Cohibina		Semillas	Citotóxica
Javoricina		Semillas	Citotóxica
<i>Cis</i> -solamina		Raíz	Citotóxica
Annopentocina		Hoja	Citotóxica
Longicina		Semillas	Citotóxica
Annomutacin		Hoja	Citotóxica

2.13 Farmacología de *A. muricata*

En las zonas tropicales, por tradición nativa, todas las partes del árbol de guanábana se utilizan en medicina natural para el alivio de diferentes afecciones. En la medicina tradicional de la India *A. muricata* es ampliamente usada para el tratamiento de problemas en riñones, fiebre, úlceras, heridas; antiespasmódica y antiparasitario. En Jamaica, Haití, las Antillas y Bahamas, la fruta y su jugo se usa para tratar fiebre, antiparasitario y diarrea. En Brasil, un té de hoja de guanábana se usa para tratar el dolor por artritis, reumatismo y neuralgia (Taylor, 2005).

En México, el uso medicinal de la guanábana se reporta a partir del siglo XX, cuando la Sociedad Mexicana de Historia Natural la reporta como acaricida y la sociedad Farmacéutica de México la reporta como antidiarreico, antiespasmódico, astringente e insecticida (Atlas de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009). Un resumen de los usos medicinales en México de la hoja de guanábana se muestra en el cuadro 3.

Cuadro 3. Usos de *A. muricata* en la medicina tradicional

Tipo de preparación	Afección	Referencia
Infusión de hoja	Bronquitis, asma y lepra	Waizel y Waizel, 2009
Infusión de hoja	Diarrea y fiebre	Magaña y col., 2010
Jugo del fruto Decocción hoja	Disentería, diabetes Dolor de estómago	Alonso, 2011

La guanábana tiene aplicaciones en medicina tradicional, lo que conlleva a su estudio en diferentes áreas médicas. En la revisión bibliográfica destacan los artículos e investigaciones relacionados con las propiedades anticancerígenas de acetogeninas aisladas de semilla u hoja de la guanábana. Un resumen de los efectos farmacológicos reportados se muestra en el cuadro 4.

Cuadro 4. Estudios recientes realizados con *A. muricata* en el área médica.

Efecto	Órgano de la planta	Referencias
Citotóxico y Antileishmaniasis	Fruto: pericarpio	Jaramillo y col., 2000
Anticancerígeno	Hoja y semilla	García, 2009; Torres y col., 2012; Minari y Okeke, 2014
Antibacteriano	Hoja	Ruiz-Romero, 2014; Wisdom y Mohammed, 2014
Antihelmíntico	Hoja	Ferreira y col., 2013
Ansiolítico	Hoja	Oviedo y col., 2009
Antioxidante y Antidiabético		Ngueguim y col., 2013

2.14 Uso etnofarmacológico de *A. muricata* en el tratamiento de la hipertensión

En distintos países se usan infusiones y decocciones de *A. muricata* para el tratamiento de la hipertensión, esto se reporta en el cuadro 5. Donde se puede ver que su uso se extiende desde países del Centro y Sur de América, hasta África y Asia. Sin embargo, los estudios realizados carecen de evidencia experimental a la cual se le pueda atribuir el efecto antihipertensivo.

Cuadro 5. Reportes del uso de *A. muricata* en la medicina tradicional para el tratamiento de la hipertensión en distintos países

Lugar de uso	Tipo de preparación	Tipo de estudio	Validación experimental	Referencia
Jamaica y Haití	Hoja	No reportado	No	Taylor, 2005; The Healing Power of Rainforest Herbs
Trinidad y Tobago	Infusión de hoja	Encuesta	No	Lans y col., 2006; Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine
Antillas y Bahamas	Té	No reportado	No	Ross, 2010; Medicinal plants of the world
Malasia	Jugo del fruto	Encuesta	No	Samuel y col., 2010; Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine
Bolivia	Decocción hoja	Encuesta	No	Hajdu y Hohmann, 2012; Journal of Ethnopharmacology
República de Mauricio	Infusión de hoja	Encuesta	No	Mootoosamy y Mahomoodally, 2013; Journal of Ethnopharmacology

3. JUSTIFICACIÓN

La obtención de evidencia experimental del efecto vasorrelajante de *Annona muricata* permitirá valorar farmacológicamente su eficacia y seguridad con el fin de validar su utilización como una alternativa de bajo costo para el tratamiento de la hipertensión.

4. HIPÓTESIS

El análisis químico de la hoja de *Annona muricata* guiado por la vasorrelajación de la aorta de rata revelan la base molecular para el entendimiento de su uso etnofarmacológico en la hipertensión.

5. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto vasorrelajante de los extractos de hoja de *Annona muricata* en anillos de aorta aislados de rata.

5.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener los extractos de hoja de *A. muricata*.
- Seleccionar los extractos de hoja de *A. muricata* con efecto vasorrelajante en anillos de aorta aislados de rata hipertensa.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Material vegetal

Las hojas de *A. muricata* se colectaron en los municipios de Tarétan, Michoacán y Jiutepec, Morelos. Tarétan se localiza al Oeste de Morelia a 158 km de distancia por la vía a Uruapan. En las coordenadas 19°20' N y 101°55' W, a una altitud de 1,130 msnm. El clima que predomina es templado con lluvias en verano, esta altitud y clima son ideales para el cultivo de este árbol. La planta se donó por el M.C. Atahualpa Guzmán y un ejemplar se conservó en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Jiutepec se localiza entre los paralelos 18° 53' de latitud norte y 99° 10' de longitud oeste, a una altura de 1.350 msnm. El clima que predomina, es subtropical caluroso con lluvias en verano. La planta se donó por la D.C. Ofelia Romero Cerecero, un ejemplar se conservó en el IIQB de la UMSNH. En la figura 5 se muestra una imagen satelital de la ubicación del municipio de Tarétan en Michoacán y de Jiutepec en Morelos.

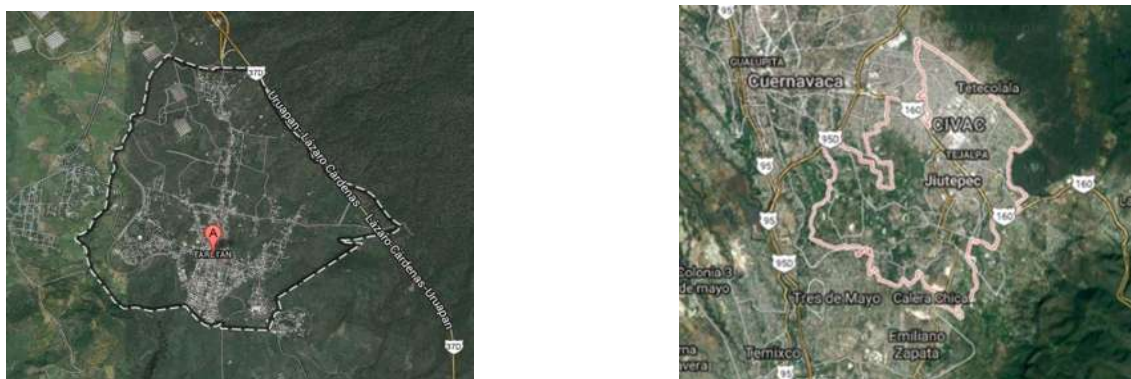


Figura 5. Localización de Tarétan, Michoacán y Jiutepec, Morelos

6.1.1 Procesamiento de la muestra

Las hojas se colocaron ordenadamente sobre papel roca y se dejaron secar a la sombra por diez días. La muestra seca se trituró de forma manual y se procedió a obtener los extractos por maceración sucesiva con disolventes en orden de polaridad ascendente. Las hojas secas se colocaron en un recipiente de vidrio con capacidad de 4 l con los distintos solventes, hexano, diclorometano y metanol. La muestra se dejó macerar por 24 h. La mezcla se filtró y se concentró en rotavapor. Para el hexano se utilizó una temperatura de 55 °C, para el diclorometano 30 °C y

para el metanol 55 °C. Esto se repitió tres veces con cada solvente para obtener la mayor cantidad de compuestos activos. Los extractos obtenidos se recolectaron en recipientes de 120 g y se dejaron secar en campana de extracción hasta alcanzar peso constante (Figura 6).



Figura 6. Preparación de las hojas. **a)** Hojas de *A. muricata* sobre papel roca para secado. **b)** Hojas de *A. muricata* en recipiente de vidrio para maceración

6.2 Cromatografía en capa fina

Los extractos obtenidos se analizaron mediante cromatografía en capa fina mediante la siguiente metodología:

1. Fases móvil y estacionaria: como fase estacionaria se utilizaron cromatofolios de aluminio recubiertos de gel de sílice 60 F254 (fase normal) y gel de sílice 60-18 F254 (fase reversa) (Merck, Millipore). Como fase móvil se emplearon una serie de mezclas de diferentes sistemas: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (95:5 v/v), $\text{C}_6\text{H}_{12}/\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ (80:20 v/v), $\text{CH}_3\text{OH}/\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ (50:50 v/v) y $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}$ (70:30 v/v).
2. Preparación de las muestras: las muestras se disolvieron (extractos hexánico, diclorometánico y metanólico de hoja de *A. muricata*) con CH_2Cl_2 y CH_3OH . Flavonoides (rutina y glucósido de quercetina), un triterpeno (ácido ursólico) y un esteroide (β -sitoesterol) se emplearon como estándares de referencia.
3. Reveladores: Sulfato cérico 0,1 N, reactivo de KOM y polietilenglicol (NP/PEG). El reactivo de KOM se preparó con 0,5 mg de 4-hidroxibenzaldehído (Merck), 90 ml de etanol y 10 ml de ácido sulfúrico; mientras que el reactivo NP/PEG se preparó con 5 ml de polietilenglicol, 200 mg de difenilboriloxietilamina y 35 ml de etanol.

4. Procedimiento: Placas de gel de sílice, fase normal y reversa, se recortaron con una altura de 4 cm y el ancho según el número de muestras a analizar. A las placas de gel de sílice se les marcó una línea base a 0,5 cm con lápiz, sobre la cual se agregó la muestra y otra línea hasta la cual va llegar el disolvente. Con un tubo capilar se agregó.

Una muestra del extracto o fracciones a evaluar se colocó sobre la línea base. La placa se coloca en la cámara de disolventes, cuidando que el nivel del disolvente no pase la línea base, ya que disuelve el extracto y ya no hay un desplazamiento de los compuestos. La cámara se cubre y se cuida la placa hasta observar que el disolvente llegue a la segunda línea. Las placas se secan a 25 ± 2 °C, se le adicionan los reveladores y finalmente se calientan en una parrilla a 90 °C hasta la aparición de color.

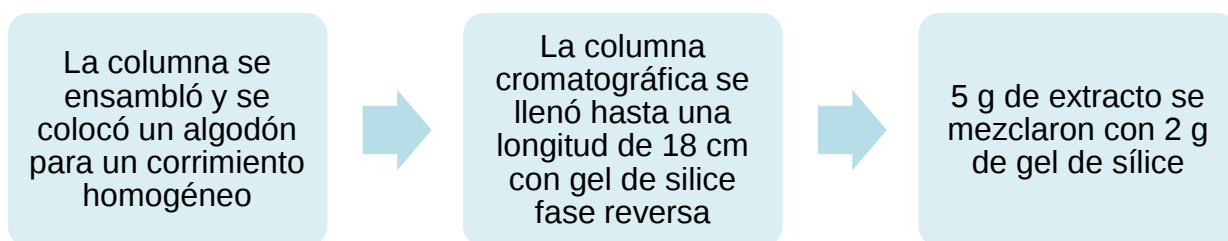
5. Interpretación: Las cromatoplasas se analizaron cualitativamente visualizándolas con una cámara de luz ultravioleta (UV) a una longitud de onda corta de 254 nm y una onda larga de 365 nm (antes y posterior al revelado).

Para la detección de ácidos grasos (omega) y terpenos se utilizó como agente cromogénico el reactivo de KOM, la coloración azul indica la presencia de ácidos grasos, el color rosa corresponde a β -sitoesterol, y el morado a terpenos. Por otro lado el reactivo de NP/PEG tiene la particularidad de unirse al grupo fenol de los flavonoides. Los colores característicos van del naranja intenso (rutina y glucósido de quercetina) al amarillo (quercetina y apigenina) (Mabry y col., 1970; Gagner y Bladt, 2001).

El factor de retención (R_f) se calculó como el cociente entre la distancia recorrida por el compuesto o soluto presente en el extracto desde el origen (d) y la distancia recorrida por el disolvente (h).

6.3 Cromatografía líquida en columna

El extracto metanólico de hoja de *A. muricata* (5 g) se fraccionó mediante cromatografía en columna con una columna abierta de fase reversa (20 cm de altura y 2 cm de diámetro interno), la cual se empacó con 1 g de gel de sílice 60 (Merck®). La fase móvil consistió en una mezcla de agua grado HPLC, acetonitrilo y metanol en una proporción inicial de 100:0:0 (v:v:v) con un aumento gradual de polaridad hasta finalizar con metanol al 100 %. Quince fracciones se recolectaron, las cuales se analizaron por cromatografía en capa fina y se agruparon en función de sus R_f .



6.4 Modelo experimental

El efecto del extracto metanólico de hoja de *A. muricata* se evaluó, se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar de 16 semanas de edad con pesos de 300 ± 50 g, se mantuvieron en ciclos de luz oscuridad de 12 h a una temperatura de 25 ± 2 °C, con acceso *ad libitum* al alimento y agua durante todo el estudio, los lineamientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, referente a Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999, 1999) se cumplieron.

Protocolo experimental

En los estudios *in vitro*, las ratas se dividieron en dos grupos experimentales:

- (1) Grupo control (normotensas)
- (2) Grupo hipertensas, el cual fue tratado durante 30 días con L-NAME a una dosis de 50 mg/kg/día, administrado por vía oral en el agua de beber. Este fármaco es un inhibidor competitivo de la Óxido Nítrico Sintasa, por lo que produce una disminución en la síntesis de óxido nítrico (Török, 2008).

6.4.1 Contracción en aorta aislada de rata

Las ratas se sedaron con pentobarbital sódico vía intraperitoneal (55 mg/kg de peso). A las ratas sedadas se les realizó una incisión abdominal, incluyendo el tórax para exponer la arteria aorta, una vez expuesta, esta se limpió de grasa, se diseccionó y colocó en una caja Petri con disolución de Krebs, se cortó en anillos 3-4 mm de longitud, el endotelio se removi6 a la mitad de los anillos de aorta al frotar suavemente la superficie interna de los vasos con un estilete metálico de superficie rugosa.

Los anillos a6rticos se colocaron en ganchos de nicrom y se introdujeron en c6maras para tejido aislado con 10 ml de disoluci6n Krebs-Henseleit. El tejido se

mantuvo a una temperatura de 37 °C, pH de 7,4 y con burbujeo constante de carbógeno (O₂ al 95 % con 5 % de CO₂). Cada anillo se fijó del fondo de la cámara y a un transductor de tensión Grass FT03 (Astro-Med, Inc., West Warwick, RI, EE.UU.), que a su vez estaba conectado a un sistema de adquisición de datos MP100 (Biopac Systems Inc., Santa Barbara, California, EE.UU).

Una tensión inicial de 3 g se aplicó a los anillos (tensión determinada para optimizar la respuesta del tejido), y se permitió un periodo de estabilización de 30 min. Los anillos fueron sometidos a un proceso de sensibilización a intervalos de 30 min con fenilefrina (100 µl) a una concentración de 1×10^{-7} M, con la finalidad de sensibilizar el tejido a responder a un estímulo externo, al final de cada sensibilización se realizaron tres lavados al final de cada sensibilización con disolución Krebs. La presencia y funcionalidad del endotelio se verificó con el uso de un agonista colinérgico, el carbacol a una concentración de 1×10^{-6} M (100 µl), el cual produce vasorrelajación en aquellos anillos con endotelio presente y fue adicionado cuando se alcanzó el efecto máximo posterior a la tercera sensibilización con fenilefrina.

Después de la sensibilización del tejido, se esperó un tiempo de 30 min para su estabilización. Una vez que la tensión del tejido regreso a una cifra basal estable, se realizó una curva concentración respuesta a la fenilefrina con concentraciones de 1×10^{-9} – 1×10^{-5} M (100 µl). Una vez que la curva se realizó, tres lavados se hicieron con disolución Krebs a intervalos de 10 min, se dejó un periodo de estabilización de 30 min para posteriormente incubar durante 30 min con el extracto de interés o el disolvente, para posteriormente realizar una segunda curva concentración respuesta a la fenilefrina a las concentraciones anteriormente mencionadas. Los cambios en la tensión de los anillos de aorta se registraron en gramos fuerza como unidad de medida.

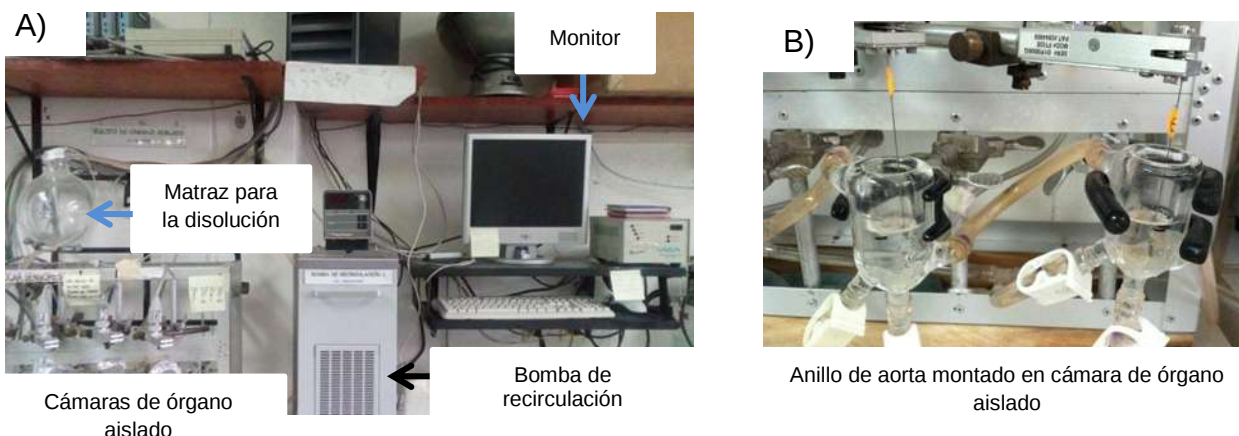


Figura 7. A) Equipo de órgano aislado B) Aortas montadas en vaso de órgano aislado

7 RESULTADOS

7.1 Rendimiento de los extractos de hoja de *A. muricata*

El material vegetal recolectado en los estados, Michoacán y Morelos, se procesaron y 6 extractos se obtuvieron de los que se calcularon los rendimientos con la finalidad de saber de cuales extractos se obtiene mayor cantidad de extracto para los ensayos según el lugar de colecta. En el cuadro 6 se muestran los diferentes extractos obtenidos según el lugar de recolección, el material vegetal procesado y los rendimientos de éstos.

Cuadro 6. Rendimiento de los extracto de hoja de *A. muricata*

Tipo de extracto	Material vegetal (g)		Rendimiento (%)	
	Tarétan	Jiutepec	Tarétan	Jiutepec
Hexánico	250	368	5,5	3,2
Diclorometánico	236	356	5,3	3,2
Metanólico	220	345	6,5	4

Los extractos de hoja de guanábano recolectada en Tarétan Michoacán presentaron mayor rendimiento en comparación con los extractos de hoja recolectada en Jiutepec Morelos. Un mayor rendimiento nos permite obtener mayor cantidad de extracto, necesario para los experimentos, sin tener que procesar de manera continua material vegetal, lo que ahorra tiempo, por lo que este criterio y otros nos permitirán seleccionar los extractos aptos para cumplir los objetivos.

8. DISCUSIÓN

Desde la antigüedad surgió la medicina tradicional debido a las observaciones de las personas de que algunas plantas servían para curar diversas enfermedades. El estudio de estas plantas llevó al descubrimiento de fitometabolitos que se desarrollaron como fármacos por ejemplo, la aspirina aislada en principio de la corteza de sauce, el digoxin es usado para tratamientos cardiacos y se obtuvo de *Digitalis purpurea*, la quinina se utiliza como medicamento contra la malaria y se extrajo de la corteza de *Chinchona officinalis* y la morfina a partir de la Amapola (*Papaver rhoeas*) (Sanjoy Kumar y Yogeshwer, 2003). *Annona muricata* tiene amplio uso en la medicina tradicional en lugares tropicales, de donde es originaria y uno de sus principales usos es para el tratamiento de la hipertensión (Coria Tellez y col., 2016).

En el presente trabajo se evaluó el efecto vasorrelajante de tres extractos de hoja de *A. muricata* provenientes de Tarétan, Michoacán y Jiutepec, Morelos. Los extractos se obtuvieron por maceración sucesiva con los disolventes hexano, diclorometano y metanol, lo que nos permite hacer una mejor separación de los compuestos de acuerdo a su polaridad. Por cromatografía en capa fina se observaron más señales cromatográficas en los extractos obtenidos de hoja provenientes de Tarétan. Además, en un ensayo preliminar se evaluaron los extractos metanólicos de hoja de los dos sitios de recolección. El extracto de hoja recolectada en Tarétan presentó mayor efecto vasorrelajante y por lo tanto los extractos de *A. muricata* de Tarétan se utilizaron para los ensayos posteriores.

El disolvente que se utilizó para los extractos, fue el dimetil sulfóxido (DMSO), el cual no tuvo ningún efecto vasorrelajante o vasoconstrictor a la concentración evaluada. Rodríguez en el 2013 determinó que el DMSO a una concentración del 0,5 % disminuye el 10 % la tensión de anillos de aorta.

El extracto metanólico de hoja de *A. muricata* tuvo mayor efecto vasodilatador en comparación de los extractos hexánico y diclorometánico en anillos con y sin endotelio. Este resultado concuerda con los reportes de su uso como antihipertensivo en la medicina tradicional de Bolivia, Malasia, Republica de Mauricio, Togo y Antillas (Hajdu y Hohmann, 2012; Samuel y col., 2010; Mootoosamy y Mahomoodally, 2013; Ross, 2010), ya que principalmente se usan decocciones o infusiones acuosas de hoja, los extractos acuosos son mayormente polares al igual que el extracto metanólico que tuvo el mayor efecto. Además, en este estudio se evaluó el efecto vasodilatador del extracto metanólico en ratas hipertensas y se encontró un efecto dependiente de la concentración. A la mayor concentración utilizada se observó una relajación del 100 % en aortas de ratas normotensas con y sin endotelio y en aortas con endotelio de ratas hipertensas.

El mecanismo de acción del extracto que se propone involucra vías dependientes e independientes del endotelio. Sin embargo, en condición hipertensa se observó que el extracto tuvo menor efecto en aortas sin endotelio, por lo que en esta condición el efecto del extracto puede estar sujeto a la integridad del endotelio, aunque en la condición de hipertensión se encuentre dañado, sigue estando presente, y se propone que el extracto aumenta el funcionamiento del endotelio aunque este dañado.

El efecto hipotensor de un extracto acuoso de hoja de *A. muricata* se valuó en ratas Sprague-Dawley normotensas, tanto *in vivo* como *in vitro*, donde la administración intravenosa del extracto provoca una reducción en la presión sanguínea dependiente de la concentración. *In vitro* se observó que en curvas concentración respuesta a fenilefrina el extracto provocó una disminución en la contracción del 40 % en anillos de aorta incubados con el extracto a una concentración de 1,32 mg/ml (Nwokocha, y col., 2012). En el presente trabajo el extracto metanólico mostró el mayor efecto vasorrelajante. A una concentración menor provocó una reducción de la contracción de 40 % en anillos con endotelio y del 30 % en anillos sin endotelio de ratas normotensas. Asimismo, Nwokocha y col., (2012) evaluaron el efecto vasorrelajante del extracto acuoso a diferentes concentraciones (1 - 5 mg/ml) y reportan que en anillos con endotelio se obtuvo una relajación de casi el 50 % y en anillos sin endotelio de alrededor del 20 %, lo que concuerda en parte con nuestros resultados. El extracto metanólico, a menor concentración provocó relajación tanto en anillos con y sin endotelio, pero a diferencia de lo reportado por Nwokocha y col., (2012) la relajación obtenida en este trabajo fue de casi el 100 % para las dos condiciones, con y sin endotelio. Además, el efecto en anillos de aorta de ratas hipertensas se evaluó y se observó la misma tendencia, una vasorrelajación de casi el 100 %, lo cual no se había reportado en otros estudios. Nwokocha y col., (2012) reportan el efecto hipotensor o vasodilatador en animales normotensos. Sin embargo, no se encontraron reportes de su efecto en animales hipertensos. Estos resultados, en ratas normotensas indican que el mecanismo por el cual el extracto ejerce el efecto vasorrelajante es tanto dependiente como independiente del endotelio.

Los resultados en anillos de rata hipertensa indican que el extracto actúa aun en condiciones en las cual el endotelio está dañado. Por otra parte, los resultados indican que el extracto metanólico tuvo efecto vasorrelajante a menor concentración que la reportada por Nwokocha y col., (2012), con su extracto acuoso, esto puede deberse a la variabilidad biológica de la planta al estar expuesta a diferentes factores bióticos y abióticos.

Además, el extracto metanólico se obtuvo por maceración sucesiva. Por lo tanto, al ser extraído con hexano y diclorometano se obtuvieron los compuestos menos

polares y los compuestos polares se concentraron mayoritariamente en el extracto metanólico. Por ejemplo: flavonoles, de los cuales está reportado su efecto antihipertensivo (Nileeka y Vasantha, 2011).

En un escrutinio de plantas medicinales utilizadas en Cuba, como cardiotónicas, hipotensores o broncodilatadores, se reporta que una decocción de hoja de *Annona muricata* tiene un efecto reductor de la presión sanguínea en ratas Wistar de ambos sexos de más del 30 % durante un periodo de 30 min de observación. Sin embargo, este estudio no se hizo en animales hipertensos, tampoco se atribuye el efecto hipotensor a algún compuesto por lo que los autores recomiendan hacer más estudios farmacológicos para establecer su efecto terapéutico (Carbajal y col., 1991).

En la fitoquímica de *A. muricata* se reportan alrededor de 212 compuestos con actividad biológica, los compuestos predominantes son las acetogeninas, después los alcaloides y fenoles. De estos compuestos a las acetogeninas se les atribuyen principalmente actividades citotóxica y anticancerígena. A los alcaloides se les reportan con actividad citotóxica, neurotóxica, antidepresiva, antimalárica y estimuladora del sistema inmune. Por último, los fenoles aislados tienen actividad principal como antioxidantes. Sin embargo, hay pocos estudios que correlacionen el efecto antihipertensivo a los compuestos ya reportados (Coria Tellez y col., 2016).

En la fitoquímica de hoja de *A. muricata* se encontró en un extracto acuoso-etanólico, un nuevo glicósido flavonol, quercetin 3-O- α -ramnosil- β -soforosido y otros doce compuestos fenólicos previamente reportados, ácido gálico, epicatequina, quercetin 3-O-rutinosido (rutina), quercetin 3-O-neohisprenosido, quercetin 3-O-robinosido, catequina, ácido clorogénico, argentinina, kaempferol 3-O-rutinosido, quercetin 3-O-glucosido, quercetina y kaempferol de los cuales se investigó la capacidad antioxidante *in vitro* con el método de capacidad de absorbencia de radicales oxígeno (ORAC). El compuesto rutina tuvo mayor actividad antioxidante que la quercetina (Nawar y col., 2012). De estos compuestos destacan los flavonoles quercetina y rutina ya que estos dos flavonoles tienen propiedades antioxidantes y antihipertensivas (Olaleye y col., 2014).

Flavonoles como el compuesto rutina y quercetina se encuentran en extractos de hoja de *A. muricata*. De estos, la quercetina es un compuesto ampliamente estudiado y se demostró que tiene efecto reductor de la presión sanguínea progresivo y es dependiente de la concentración cuando se administra de manera crónica en varios modelos animales de hipertensión como ratas espontáneamente hipertensas (Duarte y col., 2001), ratas tratadas con L-NAME (Duarte y col., 2002),

ratas hipertensas DOCA-sal (Galisteo y col., 2004), ratas Goldblatt (2 riñones-2 clip) (García Saura y col., 2005), ratas con constricción aortica (Jalili, y otros, 2006) y ratas hipertensas Dahl sensibles a la sal (Mackraj y col., 2008). Una dosis de quercetina (730 mg/día) redujo la presión sanguínea en pacientes con hipertensión estado 1 (presión arterial sistólica de 140-159 y/o diastólica de 90-99; Sociedad Europea de Hipertensión y Cardiología, 2007). Sin embargo, en ratas normotensas la quercetina no demostró tener efecto hipotensor. En los resultados del presente trabajo se observó que en ratas normotensas, el extracto metanólico de hoja de *A. muricata* tiene un efecto vasorrelajante, por lo que otros compuestos además de quercetina son los responsables de la actividad vasorrelajante que se obtuvo. Uno de ellos puede ser el compuesto rutina, que en los resultados se mostró como posible compuesto del extracto metanólico de hoja de *A. muricata* el cual está reportado como metabolito secundario de esta planta (Nawwar y col., 2011).

El efecto antihipertensivo que se le atribuye a *A. muricata* se propone que es por la capacidad antioxidante de sus compuestos. En la hipertensión las especies reactivas de oxígeno tienen una función importante ya que disminuye la disponibilidad de óxido nítrico (ON). Por ejemplo el radical superóxido (O_2^-) tiene preferencia por el ON y este se une al O_2^- y forma peroxinitrito, así, el ON funciona como antioxidante y vasodilatador. En condiciones normales, personas sanas, las defensas antioxidantes minimizan la interacción entre el ON y el O_2^- y mantienen un balance adecuado. Sin embargo, toda situación que provoque aumento de la concentración de O_2^- , aun con síntesis normal de ON, provocará la disminución de la biodisponibilidad de ON (Vittone y Mundiña-Weilenmann, 2008).

En comparación con los reportes existentes, encontramos que el extracto metanólico de hojas de *A. muricata* tuvo efecto vasorrelajante en anillos de aorta de rata hipertensa, lo cual no está reportado. Además, nuestros resultados en ratas normotensas coinciden con lo reportado por Nwokocha y col., (2012).

La naturaleza del extracto y los posibles componentes responsables del efecto observado, tal es el caso de los flavonoles (quercetina y rutina) ayuda a conocer la actividad que estos pueden tener y el posible mecanismo de acción para el tratamiento de la hipertensión y así validar su uso en la medicina tradicional.

Como perspectiva queda identificar el mecanismo de acción por el cual actúa el compuesto rutina en el modelo de órgano aislado de rata, lo cual se desconoce. También, evaluar su acción farmacológica del extracto metanólico de hoja de *A. muricata* *in vivo* en ratas hipertensas y del compuesto rutina.

Bibliografía

- Atlas de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009). *Guanábana*. Obtenido de Biblioteca digital de la Medicina Tradicional Mexicana: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Guan%C3%A1bana&id=7568>
- Amar, J., Chamontin, B., Genes, N., Cantet, C., Salvador, M., & Cambou, J. (2003). Why is hypertension so frequently uncontrolled in secondary prevention? *Journal of Hypertension*, 199-205.
- Aregullin Eligio, E. O., & Alcorta Garza, M. C. (2009). Prevalencia y factores de riesgo de hipertensión arterial en escolares mexicanos: caso Sabinas Hidalgo. *Salud pública México* , 14-18.
- August , P. (2003). Initial Treatment of Hypertension. *The New England Journal of Medicine*, 610-617.
- Bautista, S., Barrera , N., Bravo, L., & Bermudez, K. (2002). Antifungal activity of leaf and stem extracts from various plant species on the incidence of *Colletotrichum gloesporoides* of papaya and mango fruits after storage. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 8-12.
- Bradie, N., & Schauss, A. G. (2010). Soursop (*Annona muricata* L.): Composition, Nutritional Value, Medicinal Uses and Toxicology. En R. Ross Watson, *Bioactive Foods in Promoting Health* (pág. Capítulo 39). Oxford: Academic Press.
- Calero , M. J., Diaz Buschmann, I., Castro, A., Galve, E., Dalmau, R., Guzmán, G., y otros. (2012). Guía de práctica clínica de la Sociedad Española de Cardiología. *Revista Española de Cardiología*, 869-873.
- Campos Nonato, I., Rojas Martínez , R., Pedroza , A., Medina García , C., Barquera Cervera, S., & Hernández Barrera, L. (2013). Hipertensión arterial: prevalencia, diagnóstico oportuno, control y tendencias en adultos mexicanos. *Salud pública México*.
- Carbajal D., C. A., Arruzazabala , L., & Gonzalez, R. (1991). Pharmacological screening of plant decoctions commonly used in Cuban folk medicine. *Journal of Ethnopharmacology*.
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). (1998). Recuperado el 8 de Mayo de 2016, de La diversidad biológica de México. "Estudio de país": <http://www.conabio.gob.mx>

- CONABIO. (2006). *Species Plantarum 1. México*. Recuperado el Septiembre de 2015, de http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/5-annon2m.pdf
- Coria Tellez, A. V., Yahia, E. M., Obledo Vázquez, E. N., & Montalvo González, E. (2016). *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. *Arabian Journal of Chemistry*.
- Correa Gordillo, J., Ortiz, D., Larrahondo, J., Sánchez Mejía, M., & Pachón, H. (2012). Actividad antioxidante en guanábana: una revisión bibliográfica. *boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 111-126.
- Cowley, A., & Roman, R. (1996). The role of kidney in hypertension. *JAMA*, 1581-1589.
- Díaz, K., Da Silva Dias, C., Barbosa Filho, J., Almeida, R., De Azevedo, N., & Medeiros, I. (2004). Cardiovascular effects induced by reticuline in normotensive rats. *Planta Medica*, 328-333.
- Duarte, J., Jimenez, R., O'Valle, F., Galisteo, M., Perez Palencia, R., Vargas, F., y otros. (2002). Protective effect of the flavonoid quercetin in chronic nitric oxide deficient rats. *Journal of Hypertension*, 1843-1854.
- Duarte, J., Pérez Palencia, R., Vargas, F., Ocete, M., Pérez Vizcaino, F., Zarzuelo, A., y otros. (2001). Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Pharmacology*, 117-124.
- Dugdale, D., & Zieve, D. (Abril de 2011). *University of Maryland*. Recuperado el Diciembre de 2016, de umshoreregional.org
- ENSAUT. (2012). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición*. México.
- Ettner, R., Ettner, F., & White, T. (2012). Secrecy and the Pathogenesis of Hypertension. *International Journal of Family Medicine*.
- Ezzati, M., D Lopez, A., Rodgers, A., Vander Hoorn, S., Murray, C. J., & Group, t. C. (2002). Selected major risk factors and global and regional burden of disease. *The Lancet*, Vol. 360, 1347-1360.
- FAO. (2006). *Annona muricata*. Recuperado el 2014 de Abril de 10, de Fichas técnicas de la FAO: <http://www.fao.org>

- FDA. (1990). Cultivo de Guanábana. *Fundación de Desarrollo Agropecuario*. República Dominicana.
- Feldstein, C. (2008). Hipertensión arterial resistente. *Revista Medica Chile*, 528-538.
- Ferreira, L., Castro, P., Chagas, A., Franca, S., & Beleboni, R. (2013). In vitro anthelmintic activity of aqueous leaf extract of *Annona muricata* (Annonaceae) against *Haemonchus contortus* from sheep. *Experimental Parasitology*, 327-332.
- Flores Lodoño, Y., & Martínez Muñoz, E. (2010). Obtención y evaluación de extractos bioactivos presentes en semillas de *Annona muricata* de la región cafetera. *Tesis de licenciatura*. Pereira, Colombia.
- Frenk, J., Bobadilla, J. L., Stern, C., Frejka, T., & Lozano, R. (1991). Elements for a theory of transition in health. *Salud Pública Mexicana*, 448-462.
- Furones Mourelle, J. A., & Cruz Barrios, M. A. (2009). Fármacos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. En G. V. Vergel, M. J. Tasé Martínez, & E. Groning Roque, *Farmacología: Proceso de Atención en Enfermería* (pág. Capítulo 13). La Habana: Ciencias Médicas.
- Galisteo, M., García Saura, M., Jiménez, R., Villar, I., Wangenstein, R., Zarzuelo, A., y otros. (2004). Effects of quercetin treatment on vascular function in deoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. Comparative study with verapamil. *Planta Medica*, 334.341.
- Gamboa A., R. (2006). Fisiopatología de la hipertensión arterial esencial. *Acta Médica Peruana*, 76-82.
- García Aguirre, K. K. (2009). *Aislamiento y caracterización estructural de acetogeninas obtenidas de semillas de Annona cherimolia y Annona muricata, evaluación genotóxica y potencial quimioterapéutico*. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México: Tesis de Maestría.
- García Saura, M., Galisteo, M., Villar, I., Bermejo, A., Zarzuelo, A., Vargas, F., y otros. (2005). Effects of chronic quercetin treatment in experimental renovascular hypertension. *Molecular Cell Biochemistry*, 147-155.
- Garg, J., Elliot, W., Folker, A., Izhar, M., & Black, H. (2005). Resistant hypertension revisited. A comparison of two university based cohorts. *American Journal of Hypertension*, 619-626.

- Gómez Álvarez, E., & González Jaimes, A. (2012). Terapia combinada de dosis bajas para la hipertensión arterial: Un estudio de metas terapéuticas en condiciones de práctica clínica habitual. *Revista Mexicana de Cardiología*.
- Gordon, T., & Kannel, W. (1983). Drinking and its relation to smoking, blood pressure, blood lipids and uric acid. *Archives of Internal Medicine*.
- Greenberg, G., Thompson, S., & Brennan, P. (1987). The relationship between smoking and the response to antihypertensive treatment in mild hypertension. *International Journal of Epidemiology*, 25-30.
- Grotto, I., Huerta, M., & Sharabi, Y. (2008). Hypertension and socioeconomic status. *Current Opinion Cardiology*, 335-339.
- Guyton, A., & Hall, J. (2012). *Tratado de fisiología médica*. Ibiza: Elsevier.
- Hajdu, Z., & Hohmann, J. (2012). An ethnopharmacological survey of the traditional medicine utilized in the community of Porvenir, Bajo Parajuaí Indian Reservation, Bolivia. *Journal of Ethnopharmacology*, 838-857.
- Heywood, V. (1985). Annonaceae. En *Flowering Plants of the Worlds*. Englewood Cliffs: Prentice Hall.
- Hoffman B., B. (2007). Terapéutica de la hipertensión. En L. Brunton, J. Lazo, & K. Parker, *Las bases farmacológicas de la terapéutica* (págs. 845-868). McGraw-Hill Interamericana.
- Hyman, D., & Pavlik, V. (2001). Characteristic of patients with uncontrolled hypertension in the United States. *New England Journal of Medicine*, 479-486.
- Jalili, T., Carlstrom, J., Kim, S., Freeman, D., Jin, H., Wu, T., y otros. (2006). Quercetin-supplemented diets lower blood pressure and attenuate cardiac hypertrophy in rats with aortic constriction. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 531-541.
- Jaramillo, M., Arango, G., Gonzáles, M., & Velez, I. (2000). Cytotoxicity and antileishmanial activity of *Annona muricata* pericarp. *Elsevier, Fitoterapia; Vol. 71*.
- Kearney, P., Whelton, M., Reynolds, K., Whelton, P., & He, J. (2004). Journal of Hypertension. *Worldwide prevalence of hypertension: a systematic review*, 11-19.

- Kelly, L. M. (2000). Annonaceae. En UNAM, *Flora del valle de Tehuacán Cuicatlán* (pág. Fasículo 32).
- Lans, C. (2006). Ethnomedicines used in Trinidad and Tobago for urinary problems and diabetes mellitus. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*.
- London, S., Temporelli, K., & Monterrubblanesi, P. (2009). Vinculación entre salud, ingreso y educación. Un análisis comparativo para América Latina. *Economía y Sociedad*, 124-146.
- Mackraj, I., Govender, T., & Ramesar, S. (2008). The antihypertensive effects of quercetin in a salt-sensitive model of hypertension. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 239-245.
- Mandal, A. (Enero de 2014). *Hipertensión*. Recuperado el 15 de Enero de 2017, de News Medical Life Sciences: [http://www.news-medical.net/health/Hypertension-Symptoms-and-Effects-\(Spanish\).aspx](http://www.news-medical.net/health/Hypertension-Symptoms-and-Effects-(Spanish).aspx)
- Marcano, M. (2009). *Sitio web de jmarcano*. Recuperado el 22 de Abril de 2014, de www.jmarcano.com/mipais/recursos/alimentos/guanabana.html
- Martínez Meyer, E., & Alvarez, F. (2014). El estudio de la biodiversidad en México: ¿una ruta con dirección? *Revista Mexicana de Biodiversidad*.
- Minari, M., & Okeke, U. (2014). Chemopreventive effect of *Annona muricata* on DMBA-induced cell proliferation in the breast tissues of female albino mice. *Egyptian Journal of Medicinal Human Genetics*.
- Miranda Lasprilla, D., Barragán, Q., & Dairo Barreto, J. (2000). *Agronet*. Recuperado el 29 de Mayo de 2014, de <http://www.agronet.gov.co>: http://www.agronet.gov.co/www/docs_si2/2006718141849_Libro%20MIC%20de%20Guanabana.pdf
- Mootoosamy, A., & Mahomoodally, F. (2013). Ethnomedical application of native remedies used against diabetes and related complications in Mauritius. *Journal of Ethnopharmacology*, 413-444.
- Nawwar, M., Ayoub, N., Hussein, S., Hashim, A., El-Sharawy, R., Wende, K., y otros. (2011). A flavonol triglycoside and investigation of the antioxidant and cell stimulating activities of *Annona muricata* Linn. *Archives of Pharmacal Research*, 761-767.
- Ngueguim, T. F., Massa Zibi, B., Kouamouo, J., Tchuidjang, A., Dzeufiet Djomeni, P. D., & Kamtchouing, P. (25 de Septiembre de 2013). *Antidiabetic and antioxidant effects of Annona muricata (Annonaceae) aqueous extract on*

streptozotocin-induced diabetic rats. Recuperado el 19 de Octubre de 2013, de NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24076471>

Nileeka Balasuriya, B., & Vasantha Rupasinghe, H. (2011). Plant flavonoids as angiotensin converting enzyme inhibitors in regulation of hypertension. *Functional foods in Health and Disease*, 172-188.

NOM-030-2009. (24 de Noviembre de 2009). Normas Oficiales Mexicanas. *Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica*. México.

Nwokocha, C. R., Owu, D. U., Gordon, A., Thaxter, K., McCalla, G., Ozolua, R. I., y otros. (2012). Possible mechanisms of action of the hypotensive effect of *Annona muricata* in normotensive Sprague-Dawley rats. *Pharmaceutical Biology*, 1436-1441.

Olaleye, M., Crown, O., Akinmoladun, A., & Akinda, A. (2014). Rutin and quercetin show greater efficacy than nifedipin in ameliorating hemodynamic, redox, and metabolite imbalances in sodium chloride-induced hypertensive rats. *Human and Experimental Toxicology*, 602-608.

OMS. (Marzo de 2013). *Organización Mundial de la Salud*. Recuperado el 7 de septiembre de 2015, de Preguntas y respuestas sobre la hipertensión: <http://www.who.int/features/qa/82/es/>

Oparil, S., Zaman, A. M., & Calhoun, D. (2003). Pathogenesis of Hypertension. *Annals of Internal Medicine*, 761-776.

Oviedo, V., García, M., Díaz, C., Marder, M., Costa, M., & Rincón, J. (2009). Extracto y fracción alcaloidal de *Annona muricata* con actividad de tipo ansiolítica en ratones. *Rev. Colombiana de Ciencias Químico Farmacológicas*, 105-120.

Prieto González, S., Garrido Garrido, G., González Lavaut, J. A., & Molina Torres, J. (2004). Actualidad de la Medicina Tradicional Herbolaria. *Revista CENIC*, 19-36.

Radovanovic Trindade, C., dos Santos Afonso, L., Carvalho de Barros, M., & Marcon Silva, S. (2014). Hipertensión arterial y otros factores de riesgo asociados a las enfermedades cardiovasculares en adultos. *Revista Latinoamericana de Enfermagem*, 547-553.

Romero Cerecero, O., Reyes Moreales, H., Herrera Arellano, A., Lozoya Legorreta, X., & Tortoriello, J. (2004). Aceptación de los fitofármacos por

- médicos y pacientes en clínicas de atención primaria. *Revista Médica IMSS*, 125-130.
- Ross, I. A. (2010). *Annona muricata*. En I. A. Ross, *Medicinal Plants of the World* (págs. 133-142). Human press.
- Samuel, J. A., Kalusalingam, A., Chellappan, D. K., Gopinath, R., Radhamani, S., Husain, H. A., y otros. (2010). Ethnomedical survey of plants used by the Orang Asli in Kampung Bawong, Perak, West Malaysia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*.
- Santamaría, R., & Gorostidi, M. (2015). Hipertensión arterial secundaria: cuándo y cómo debe investigarse. *NefroPlus*, 11-21.
- Schlie Guzmán, M., Gonzáles Esquinca, A., & Luna Cazáres, L. (2009). Las acetogeninas de Annonaceae: efecto antiproliferativo en líneas celulares neoplásicas. *Redalyc*, 245-257.
- Sociedad Americana de Hipertensión. (2010). *American Society of Hypertension*. Recuperado el Diciembre de 2016, de www.ash-us.org/
- Taylor, L. (2005). *The Healing Power of Rainforest Herbs*. Recuperado el 3 de Febrero de 2014, de Rain Tree: <http://www.rain-tree.com/graviola.htm>
- Torres, P., Satyanarayana, R., Purohit, V., Pandey, P., Joshi, S., & Moore, D. (Octubre de 2012). Graviola: A novel promising natural derived drug that inhibits tumorigenicity and metastasis of pancreatic cancer cells in vitro and in vivo through altering cell metabolism. *Cancerletters*.
- Tortosa, A. i. (2007). *Sistema cardiovascular: anatomía*. Recuperado el 6 de septiembre de 2015, de Collegi Oficial Infermeres i Infermers Barcelona: <https://www.infermeravirtual.com/files/media/file/100/Sistema%20cardiovascular.pdf?1358605522>
- Vergel Rivera, G. M., & Salazar Domínguez, L. E. (2009). Farmacología del sistema nervioso autónomo y mediadores químicos. En G. V. Vergel, M. J. Tase Martínez, & E. Groning Roque, *Farmacología en el Proceso de Atención en Enfermería* (pág. Capítulo 4). La Habana: Ciencias Médicas.
- Vidal Hernández, L., López Moctezuma, H., Vidal Martínez, N., Ruiz Bello, R., Castillo Rocha, D., & Chiquito Contreras, R. (2013). La situación de las Annonaceae en México: principales plagas, enfermedades y su control. *Revista Brasileira de Fruticultura*.

- Villarreal Rios, E., Mathew Quiroz, A., Garza Elizondo, M. E., Nuñez Rocha, G., Salinas Martínez, A. M., & Gallegos Handal, M. (2002). Costo de la atención de la hipertensión arterial y su impacto en el presupuesto destinado a la salud en México. *Salud Pública México*, 7-13.
- Vishal, D., Akash, P., & Ashok, P. (2010). Adverse effects Associated with the use of Antihypertensive Drugs: An Overview. *International Journal of PharmTech Research*, 10-13.
- Vittone, L., & Mundiña-Weilenmann, C. (2008). Endotelio vascular e hipertensión. En F. de la Serna, & H. Cingolani, *Tratado de Cardiología*. Argentina: FAC.
- Waizel, H. S., & Waizel, B. J. (2009). Algunas plantas utilizadas en México para el tratamiento del asma. *An Orl Mex*, 145-171.
- Wisdom, S., & Mohammed, B. (2014). Phytochemical Screening and Antimicrobial activities of *Annona muricata* leaf extract. *American Journal of Biological, Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 1-7.
- Yakovlevitch, M., & Black, H. (1991). Resistant hypertension in a tertiary care clinic. *Archives of Internal Medicine*.