

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**EFFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO
HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE *Annona***

cherimola* (CHIRIMOYA) EN *Rattus rattus var.

Albinus

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL
GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER EN FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

AUTOR

MENDOZA ASECIO, MERLI

ORCID: 0000-0002-5056-5240

ASESOR

ZIVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA

ORCID: 0000-0003-2547-9831

CHIMBOTE – PERÚ

2019

TÍTULO

EFFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS
HOJAS DE *Annona cherimola* (CHIRIMOYA) EN *Rattus rattus*.

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Mendoza Asencio, Merli

ORCID: 0000-0002-5056-5240

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado, Chimbote,
Perú

ASESOR

Mgr. Zevallos Escobar, Liz Elva

ORCID: 0000-0003-2547-9831

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de La Salud,
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote, Perú

JURADO

Díaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Ramírez Romero, Teodoro Walter

ORCID: 0000-0002-2809-709X

Vásquez Corales, Edison

ORCID: 0000-0001-9059-6394

JURADO EVALUADOR DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Dr. DIAZ ORTEGA, JORGE LUIS

PRESIDENTE

Mgt

r. RAMIREZ ROMERO, TEODORO WALTER

MIEMBRO

Mgtr. VASQUEZ CORALES, EDISON

MIEMBRO

Mgtr. ZEVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA

ASESOR

AGRADECIMIENTOS

Doy gracias a Dios, por darme siempre la fuerza necesaria para seguir adelante, por darme la oportunidad de lograr esto.

***A mi querida madre, Ana Lucinda Asencio Martínez** por su gran sacrificio y esfuerzo para terminar mi carrera profesional, por todo el amor, esfuerzo y apoyo incondicional que me ha brindado en todas las etapas de mi vida. Gracias por tus sabios consejos y enseñanzas de la vida.*

***A mi hija, Briana Gonzales Mendoza** por todo el amor y comprensión que me das por ser mi motor y motivo de superación.*

***A mis abuelos, Julián Asencio Blas y Victoria Martínez Jaramillo** por todo el cariño y su apoyo a lo largo de etapa académica.*

*A mi hermano Yamil David Vílchez
Asencio por su apoyo, confianza que
siempre me ha brindado.*

*A todos mis amigos de la universidad, por
siempre brindarme su valiosa amistad.
Gracias por su apoyo y consejos que me
han ayudado a ser mejor persona.*

*A todos los docentes, por sus consejos,
conocimientos y experiencias recibida,
que me ayudó en mi formación académica
y profesional.*

*A mi asesor de Tesis Mg. Q.F Zevallos
Escobar Liz Elva por todo su apoyo,
consejos y enseñanzas a lo largo del
desarrollo de esta tesis, además de su
valiosa amistad que me ha brindado.*

DEDICATORIA

En primer lugar, a Dios por haberme permitido concluir con el trabajo de investigación de forma satisfactoria.

A mi madre Ana Lucinda Asencio Martínez por estar siempre alentándome, por su apoyo y dedicación, por sus sabios consejos.

A la Universidad Los Ángeles de Chimbote por acogerme y brindarme las enseñanzas a través de los docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica.

A mi asesora Mgtr. Liz Zevallos Escobar por su paciencia, orientación y apoyado en las revisiones de esta investigación.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación ha tenido como objetivo determinar el efecto antiinflamatorio de un extracto de las hojas de *Annona cherimola* (chirimoya) en *rattus rattus*. Este estudio corresponde a una investigación de tipo experimental permitiendo analizar el efecto antiinflamatorio siendo de nivel cuantitativo, la cual se llevó a cabo para determinar la influencia de la variable dependiente en la variable independiente. Este estudio de investigación se realizó con una muestra vegetal de 1 k de hojas de *Annona cherimola* (chirimoya) y una muestra animal de 12 ratas. Para el análisis se presentó a través de tablas y gráficos. Lo que la tabla indicará el contenido del promedio de los volúmenes y los gráficos muestran la curva de calibración de los grupos propuestos. Los resultados obtenidos del scrining fitoquímico de la *Annona cherimola* (chirimoya) posee flavonoides este es un metabolito secundario al que se le atribuye la actividad antiinflamatoria y el mayor porcentaje de inhibición de la inflamación se dio a las 3 horas.

Palabras claves: investigación, antiinflamatorio, flavonoides.

ABSTRACT

The aim of this research work was to determine the anti-inflammatory effect of an extract of the leaves of *Annona cherimola* (custard apple) in rattus. This study corresponds to an investigation of experimental type allowing to analyze the anti-inflammatory effect being of quantitative level, which was carried out to determine the influence of the dependent variable in the independent variable. This research study was conducted with a 1-k plant sample of *Annona cherimola* leaves (custard apple) and an animal sample of 12 rats. For the analysis, it was presented through tables and graphs. What the table will indicate the content of the average of the volumes and the graphs show the calibration curve of the proposed groups. The results obtained from the phytochemical scrutiny of the *Annona cherimola* (custard apple) possess flavonoids this is a secondary metabolite to which the anti-inflammatory activity is attributed and the highest percentage of inhibition of the inflammation occurred at 3 hours

Keywords: research, anti-inflammatory, flavonoids.

CONTENIDO

TÍTULO.....	ii
EQUIPO DE TRABAJO.....	iii
JURADO EVALUADOR DE TESIS.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIA.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	iv
CONTENIDO.....	x
INDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS.....	xii
I.INTRODUCCIÓN.....	1
II.REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	4
2.1 Antecedentes.....	4
2.2 Bases teóricas.....	5
III. HIPÓTESIS.....	13
IV.METODOLOGÍA.....	14
4.1 Diseño de la investigación.....	14
4.2 Población y muestra.....	16
4.3 Definición y operacionalización de variables.....	17
4.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos.....	18
4.5 Plan de análisis.....	18
4.6 Matriz de consistencia.....	19

4.7 Principios éticos.....	20
V.RESULTADOS.....	21
5.1 Resultados.....	21
5.2 Análisis de resultados.....	24
VI. CONCLUSIONES.....	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
ANEXOS.....	33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Identificación de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona cherimola</i> (chirimoya).....	21
Tabla 2. Porcentaje de inhibición del edema subplantar a diferentes tratamientos en <i>Rattus rattus</i>	22
Tabla 4. Diferencia entre el volumen desplazado de las patas según el grupo control, grupo estándar y el grupo tratamiento.....	32

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Porcentaje de Inhibición del edema subplantar del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona cherimola</i> (chirimoya) en <i>Rattus rattus</i>	23
Gráfico 2. Comparación del porcentaje de inhibición del edema subplantar entre el grupo estándar y grupo tratamiento.....	23

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido usadas como medicina alrededor del mundo por milenios: fueron la medicina original en todas las culturas y en las civilizaciones más grandes. Las plantas medicinales juegan un papel muy importante. En 1977 la Organización Mundial de la Salud (OMS) adoptó una resolución, lanzo una promoción mundial de la medicina tradicional dicha resolución insta a los gobiernos miembros, dar importancia a sus sistemas médicos tradicionales.

La chirimoya tiene su origen en la cordillera de Los Andes, concretamente en lo que en la actualidad serían países como Perú y Ecuador, aunque algunos historiadores amplían la zona a Colombia y Chile. Los conquistadores españoles la denominaron "manjar blanco", debido a su dulzura, aunque el nombre con el que se conoce en la actualidad proviene del quechua chirimuya o "semillas frías", ya que en esa zona germina en latitudes elevadas. La especie *Annona cherimola*, se caracteriza por la presencia de numerosas sustancias bioactivas de diversa naturaleza química, en hojas, raíz, frutas y semillas. Esta especie es también conocida como planta medicinal, se plantea que el té elaborado a partir de sus hojas es relajante, así como que sus frutos poseen efecto laxante y garantizan beneficios a la digestión. Los frutos de chirimoya han sido caracterizados, encontrándose que producen una amplia gama de compuestos volátiles. Se han reportado alcaloides, terpenoides, flavonoides, acetogeninas y aceites saponificables. La bioactividad de este tipo de metabolitos de plantas pertenecientes a las Anonáceas está asociada a su efecto como insecticidas, actividad citotóxica, antitumoral, antibacterial, pesticida, antimalarial, antileishmaniasis y propiedades antihelmínticas.³

La inflamación es un proceso tisular constituido por una serie de fenómenos moleculares, celulares y vasculares de finalidad defensiva frente a agresiones físicas, químicas o biológicas. Los aspectos básicos que se destacan en el proceso inflamatorio son en primer lugar, la focalización de la respuesta, que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor. En segundo lugar, la respuesta inflamatoria es inmediata, de urgencia y, por tanto, preponderantemente inespecífica, aunque puede favorecer el desarrollo posterior de una respuesta específica. En tercer lugar, el foco inflamatorio atrae a las células inmunes de los tejidos cercanos.¹⁹

La *Anona cherimola* es una planta no necesariamente medicinal y ha sido estudiada demostrando los siguientes estudios en Efecto de la concentración y del tipo de tratamiento sobre la actividad antioxidante de la chirimoya, Efecto citotóxico del extracto acuoso de las hojas de Annona Cherimola en una línea celular de cáncer de pulmón en medio cultivo con pH ácido. La investigación se enfocará en estudiar el efecto antiinflamatorio de la Annona cherimola (chirimoya) que será de importancia para elaborar un extracto que servirá y será de beneficio para toda la población, este producto por ser natural a base de hojas tiene menos probabilidades de causar reacciones adversas, así como un bajo costo para que personas de bajos recursos lo puedan obtener.

Se planteó el siguiente interrogante: **¿Tendrá efecto antiinflamatorio el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona cherimola* (chirimoya) en *Rattus rattus*?**

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

Objetivo general:

- Determinar el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona cherimola* (chirimoya) en *Rattus rattus*.

Objetivos específicos:

- Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona cherimola* (chirimoya).
- Determinar el porcentaje de inhibición de la inflamación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona cherimola* (chirimoya) en *Rattus rattus*. en un modelo del test del edema plantar

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

Nacionales

En el año 2011 Solís P. en su estudio denominado Efecto de la concentración y del tipo de tratamiento sobre la actividad antioxidante de la chirimoya (*Annona cherimola* Mill), se valoró la capacidad antioxidante de la pulpa, cáscara fresca y seca de la chirimoya a distintas concentraciones y también la capacidad antioxidante de la cáscara seca con y sin tratamiento con n-Hexano. Para estudiar la capacidad antioxidante se estableció el contenido de polifenoles totales, flavonoides y ácido ascórbico, también se estableció la capacidad antioxidante total usando técnicas de FRAP, ABTS+, DPPH y del Sistema Ascorbato/Cu dando resultados que la cáscara fresca de la chirimoya presentó valores muy altos en polifenoles totales, flavonoides, ácido ascórbico y valores de FRAP, así como altos porcentajes de reducción para radicales ABTS+, DPPH e Hidroxilo. Se concluye que la cáscara fresca de chirimoya presenta alta capacidad antioxidante que la pulpa y la cascara seca.¹

En el año 2018 Díaz E. en su trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de tres diferentes temperaturas de secado en la concentración de antioxidantes y contenido de polifenoles totales en hojas de guanábana (*Annona muricata*), mediante un diseño completamente al azar (DCA) a un nivel de significancia del 5%, teniendo como tratamientos de estudio: T1: Secado a 45°C

T2: Secado a 50°C, T3: Secado a 55°C. Las hojas de guanábana fueron secadas a distintas temperaturas los cuales fueron sometidos a análisis de contenido de polifenoles, actividad antioxidante y análisis fisicoquímico (pH, humedad, ceniza), en la evaluación de los tratamientos se encontró diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$), por lo que se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey ($\alpha=0.05$); siendo T1: secado a 45°C el mejor tratamiento pues presentó mayor capacidad antioxidante con respecto al radical DPPH con 0.022g mM TEAC/100 muestra seca, mayor contenido de polifenoles con valores de 2.207g EAG/100g muestra seca y presentó mejores características fisicoquímicas pH 5.29, humedad 9.38 y cenizas 6.36.²

2.2.BASES TEÓRICAS

Taxonomía *Annona cherimola*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Magnoliidae

Orden: Magnoliales

Familia: Annonaceae

Género: *Annona*

Nombre científico: *Annona cherimola* Miller

Nombre común: Chirimoya²¹

Descripción

El árbol de la chirimoya es de crecimiento lento, puede alcanzar en su madurez una altura de 7 a 8 m, presenta exuberante follaje, porte erguido y a veces ramificado. El tallo es cilíndrico de corteza gruesa. Las hojas son simples, enteras y de forma ovada u ovada-lanceolada. Las flores son muy aromáticas, hermafroditas, presentan 6 pétalos amarillentos jaspeados de púrpura, solitarias o en ramilletes de dos o tres, sobre un corto e inclinado pedúnculo inserto en las axilas de las hojas. La cáscara es delgada y frágil; su superficie verde oscura, casi lisa; el interior de la fruta es de color blanco tiene una textura carnosa, blanda, cremosa, moderadamente jugosa, y de sabor dulce; con numerosas semillas de color desde marrón oscuro a negro, el sabor es subácido y delicado, a veces descrito como una mezcla entre la piña, el mango y la fresa.³

Composición

Energía: 94,0 kcal, Proteínas: 1,30g, Carbohidratos: 21,6g, Fibra: 2,40g, Vitamina A: 1,00 ug ER, Vitamina B1: 0,100mg, Vitamina B2: 0,110mg, Niacina: 1,30mg EN, Vitamina B6: 0,200 mg EN, Folatos: 14,0ug, Vitamina C: 9,00mg, Calcio: 23,0mg, Fósforo: 40,0mg, Hierro: 0,500 mg, Grasa total: 0,400g y Sodio: 5,00mg.⁴

Origen y distribución

La chirimoya (*Annona cherimola* Mill) tiene su origen en los valles interandinos de Perú y Ecuador, situados entre los 1500 y 2000 msnm. El centro de origen donde se han recogido material genético diversos investigadores, ha sido en el Perú, en el que se encuentran cultivares muy promisorios para el desarrollo comercial. En la actualidad se cultiva en América Central, Bolivia, Chile, España, EE.UU, Israel, México, Nueva Zelanda, Perú y Sudáfrica. Tanto Chile, Perú, Costa Rica, Guatemala, EE.UU., México y España han desarrollado el cultivo en la línea de producción comercial, en tanto que otros países como Israel o Sudáfrica se encuentran en etapa de desarrollo, se considera que el centro de origen de esta especie está en la vertiente interandina cuyos ríos desembocan en el Marañón a una altura comprendida entre los 2200 y los 1500 m.s.n.m.⁵

Usos medicinales

La chirimoya posee propiedades digestivas, remineralizantes, laxantes, reguladoras del nivel sanguíneo de glucosa y antioxidantes; contribuye a la formación de colágeno, glóbulos rojos, huesos y dientes; favorece la absorción de hierro de los alimentos por la presencia de las vitaminas A y C. Es fuente de potasio (necesario para la transmisión y generación del impulso nervioso y actividad muscular normal), interviene en el equilibrio de agua dentro y fuera de la célula.⁶

PIEL

La piel es un órgano complejo que realiza diversas funciones resultantes de reacciones químicas y físicas, entre las que se encuentran: el servir como barrera ante el medio interno y externo para la protección contra agresiones físicas, químicas y microbiológicas, así como de la radiación ultravioleta; como órgano de percepción, termorregulación, evaporación, biosíntesis de la vitamina D, blanco de señales neuroendocrinas, absorción de sustancias, almacén de grasa, excreción por glándulas sudoríparas, y secreción de sebo además es un componente integral del sistema inmunitario y puede considerarse línea frontal de defensa.⁷

Histología

La epidermis es la parte más superficial y se encuentra constituida por dos grupos de células: queratinocitos o células no dendríticas y células dendríticas.

Los queratinocitos a su vez se organizan en capas o estratos, que de la más superficial hacia adentro son: capa córnea, capa lúcida, capa granulosa, capa espinosa, capa basal.

La dermis está situada por debajo de la epidermis y está constituida por tejido conectivo, sustancia fundamental y células. El tejido conectivo a su vez está formado por tres tipos de fibras: Colágenas, elásticas y reticulares. Las fibras colágenas son las más numerosas y las fibras elásticas se observan con tinciones

especiales de orceína, son fibras delgadas de 1 a 3 micras de diámetro. Las fibras reticulares también requieren de tinciones especiales para su observación miden de 0.2-1 micra de diámetro, son un tipo especial de fibra colágena de tipo III.

La hipodermis, llamada también panículo adiposo o tejido celular subcutáneo, está constituido por células grasas, que se conocen con el nombre de adipocitos, los cuales se disponen en lóbulos separados por tejido conectivo llamados septos o tabiques interlobulillares.⁸

Funciones

- Función de barrera
- Órgano de protección
- Mantenimiento del equilibrio hidroléctrico
- Producción de melanina
- Metabolismo de secreciones internas y externas
- Regulación de la temperatura
- Regulación del pH cutáneo (5.5)
- Función de lubricación
- Reparación de las heridas
- Reacciones inflamatorias
- Comunicación con el medio ambiente
- Función inmunológica

- Identificación personal⁹

INFLAMACIÓN

La inflamación es la respuesta, del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. Aunque dolorosa, la inflamación es, normalmente, una respuesta reparadora; un proceso que implica un enorme gasto de energía metabólica.¹⁰

Tipos de inflamación

La inflamación según su duración se divide en aguda y crónica. La aguda es de duración corta, se inicia rápidamente y se caracteriza por el exudado de fluidos plasmáticos y la migración de leucocitos. La inflamación crónica dura semanas, meses o inclusive años y se caracteriza histológicamente por el infiltrado de linfocitos y macrófagos con la proliferación de vasos sanguíneos y tejidos conectivos.¹¹

Agentes causales

- **Biológicos:** Bacterias, virus, hongos, parásitos.
- **Químicos:** Se deben considerar, además de los productos industriales los ácidos y álcalis, sustancias que, por ser de uso común o cotidiano, pasan desapercibidas como generadoras de procesos inflamatorios, por lo que se incluyen:
 - Artículos de uso personal: desodorantes, lociones, tintes, cosméticos.

- Artículos de uso doméstico: detergentes, pegamentos, halogenados o cáusticos en aerosol, desinfectantes, insecticidas, aromatizantes.
- Productos alimenticios. Elementos utilizados en la conservación, el procesamiento y la industrialización de bebidas y alimentos.
- Medicamentos. La automedicación, así como la polifarmacia y la falta de cuidado por parte del médico que, en ocasiones, se olvida de indicar al paciente medidas que contrarresten los efectos nocivos de algunos fármacos
- Alcohol, tabaco y contaminantes ambientales., quemaduras y radiaciones.
- **Físicos:** Relacionados con traumatismos, cirugías, quemaduras y radiaciones.¹²

2.2.4. Diseños experimentales para evaluar la actividad antiinflamatoria

Método de la bolsa de aire

El método utilizado es una adaptación de la técnica de la “bolsa de aire” descrita por Edwards; se basa en la formación de una cavidad de aire estéril a nivel dorsal en el hámster; dicha cavidad puede utilizarse como cámara de cultivo celular a la cual se le añaden diversos xenobióticos con el fin de estudiar sus efectos en cuanto a morfología, histopatología, actividad enzimática, producción de mediadores de la inflamación y otras funciones del revestimiento.¹³

Método de edema plantar inducida por carragenina

Se basa en la inducción de la inflamación por inyección subplantar (pata posterior izquierda de la rata) de una suspensión de λ carragenina al 1% (0.1 mL), cuyo principal signo es la formación de edema, el cual es medido con el pletismómetro digital PANLAB LE7500.¹⁴

Modelo de edema auricular inducido por TPA (acetato de tetradecanoil-forbol)

La administración tópica de TPA provoca un edema agudo con infiltración leucocitaria, actúa por la activación de la proteína quinasa C (PKC) que desempeña un papel importante en la transducción de señales de una gran variedad de sustancias, activando funciones celulares y de proliferación como la fosfolipasa A2 (PLA2) y el incremento de radicales libres.¹⁵

III. HIPOTESIS

El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona cherimola* (chirimoya) tiene efecto antiinflamatorio.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación

El presente estudio se desarrolló los siguientes procedimientos lo cual se obtuvo respuestas para nuestra pregunta de investigación.

4.1.1 Obtención del extracto

El estudio se realizó con las hojas de la planta de chirimoya recolectadas en la Urb. Nicolás Garatea II etapa, en óptimo estado de desarrollo vegetativo y fitosanitario. Estas fueron lavadas, secadas, cortadas y llevadas a la estufa a una temperatura de 50 °C, posteriormente fueron pulverizadas en un molino hasta obtener partículas finas, llevándose a maceración por siete días luego de ello se filtró con ayuda de una bomba al vacío.

4.1.2 Determinación de metabolitos secundarios

Reacción de Fehling

Fehling A: En un tubo de ensayo colocar 1 ml de la muestra problema más 0.5 ml del reactivo de fehling A, llevar a baño a maría hasta la aparición de una coloración rojo ladrillo, que identifica la presencia de azúcares reductores.

Fehling B: En un tubo de ensayo colocar 1 ml de la muestra problema más 0.5 ml del reactivo de fehling B, llevar a baño a maría hasta la aparición de una coloración rojo ladrillo, que identifica la presencia de azúcares reductores.

Reacción de FeCl₃

En un tubo de ensayo colocar 1 ml de la muestra problema más 3 gotas del reactivo de Cl₃Fe hasta la aparición de una coloración negro azulado que identifica la presencia de taninos y fenoles.

Reacción de Shinoda

En un tubo de ensayo colocar 1 ml de la muestra problema más 1ml de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio hasta la formación de una coloración roja que identifica la presencia de flavonoides.

Reacción de Mayer

En un tubo de ensayo colocar 0.5 ml de la muestra problema llevar a baño maría hasta evaporar y luego añadir 1 ml de ácido clorhídrico 1% mas 3 gotas del reactivo de mayer hasta la formación de un precipitado blanco que identifica la presencia de alcaloides.

Reacción de Lieberman-Bourchard

En un tubo de ensayo colocar 0.5 ml de la muestra problema llevar a baño maría hasta evaporar y luego añadir 1 ml de cloroformo más 0.5 ml anhídrido acético más 1ml de ácido acético y 3 o 4 gotas de ácido sulfúrico hasta la aparición de una coloración rojo, verde o azul que identifica la presencia de triterpenos y/o esteroides.^{22,23}

4.1.3 Determinación de la actividad antiinflamatoria

Primero se inició midiendo el diámetro plantar basal de la patita trasera del lado derecho (Vo) se realizó de todos los animales mediante la medición en el pletismómetro. Se empleó como estándar el Ibuprofeno de 120 mg/kg. Donde se administró por vía oral a través de una sonda esofágica la siguiente manera:

Grupo I: Control. – Cloruro de Sodio 9 %.

Grupo II: Estándar. - Ibuprofeno 120 mg /Kg de peso corporal.

Grupo III: Tratamiento. - Extracto concentración 1%

Luego de transcurrir unos 30 min, se procedió a elaborar la inflamación inyectando una suspensión de carragenina al 1% en suero fisiológico en un volumen de 0.1 ml en la aponeurosis subplantar de la pata trasera derecha. La medida de la evolución del edema se realizó entre las 0.5; 1.2; 3, 5 y 7 horas después que se administrará la carragenina a través del volumen de desplazamiento de la patita de la rata en el pletismómetro.

Se usó la fórmula para saber el porcentaje de inflamación (% Inflamación):

$$\% \text{Inflamación} = \frac{(V_{tx} - V_{t0})}{V_{t0}} \times 100$$

Donde V_{tx} es el volumen de la pata inflamada a un tiempo x y V_{t0} es el volumen normal de la pata.²⁰

4.2. Población y muestra

Población vegetal: Conjunto de hojas de *Annona cherimola* (chirimoya).

Muestra vegetal: Se empleó aproximadamente 1Kg de hojas de chirimoya, luego fueron secadas a 50°C por 12 horas en la estufa luego fueron pulverizadas y se consiguió un polvillo de aproximadamente 100.40 gr que fue utilizado para el extracto hidroalcohólico.

Muestra animal: 12 ratas obtenidas en el Bioterio ULADECH CATÓLICA de 150 a 250 g de peso, fueron sometidos a ayuno 12 horas antes de iniciarse el ensayo con libre acceso de agua y finalmente serán distribuidos aleatoriamente en 3 grupos de 4 ratas cada uno.

Criterios de inclusión: Hojas en buen estado vegetativo de *Annona cherimola* (chirimoya).

Colecta de la especie: La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Farmacología y en el Bioterio pertenecientes a la Escuela de Farmacia y Bioquímica en la Universidad Los Ángeles de Chimbote.

4.3. Definición y operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
Dependiente: Efecto antiinflamatorio	Se reducen prostaglandinas y tromboxanos	Medición del edema subplantar de la pata trasera de <i>Rattus rattus</i> en el pletismómetro digital	-Volumen de desplazamiento - % de inhibición de la inflamación
Independiente: Concentración del Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona cherimola</i>	Los extractos hidroalcohólicos son extractos líquidos concentrados, obtenidos de la extracción de una planta o parte de ella, utilizando como solvente alcohol y agua.	Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona cherimola</i> (chirimoya) al 1%	-Grupo control Na Cl 9%: 2ml -Grupo Estándar Ibuprofeno 140mg/Kg -Grupo Tratamiento Extracto de <i>Annona cherimola</i> al 1 %: 500mg/Kg

4.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos

Se utilizó la observación directa, medición y registro de los volúmenes de desplazamiento en el pletismómetro y otras características que se observen en la evaluación del efecto antiinflamatorio de las hojas de *Annona cherimola* (chirimoya). Los datos obtenidos fueron registrados en fichas de recolección de datos.

4.5 Plan de análisis

El análisis se presentó a través de tablas y gráficos. La tabla indicará el contenido del promedio de los volúmenes, de la pata trasera al evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto. El gráfico muestra la curva de calibración del estándar. Los cálculos se realizaron con los datos de los lotes expresado como los promedios del error estándar. Además del porcentaje de inhibición de la inflamación.

4.6 Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS:	HIPÓTESIS	VARIABLES	TIPO DE INVESTIGACIÓN	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	POBLACIÓN Y MUESTRA
Efecto Antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona cherimola</i> (chirimoya) en <i>Rattus rattus</i>	¿Tendrá las hojas de <i>Annona cherimola</i> efecto antiinflamatorio?	<p>4.2.1 OBJETIVO GENERAL:</p> <p>-Determinar el efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona cherimola</i> (chirimoya) en <i>Rattus rattus</i></p> <p>4.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:</p> <p>. Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona cherimola</i> (chirimoya)</p> <p>. Determinar el porcentaje de inhibición de la inflamación del extracto hidroalcohólico de <i>Annona cherimola</i> (chirimoya) en <i>Rattus rattus</i></p>	El extracto de hojas de <i>Annona cherimola</i> (chirimoya) tiene efecto antiinflamatorio.	<p>VARIABLE DEPENDIENTE:</p> <p>Efecto antiinflamatorio</p> <p>VARIABLE INDEPENDIENTE: Concentración del Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona cherimola</i> (chirimoya)</p>	Estudio de tipo experimental	1.Obtención del extracto 2.Determinación de metabolitos secundarios.	<p>Población vegetal: Conjunto de hojas de <i>Annona cherimola</i> (chirimoya)</p> <p>Muestra animal: 12 ratas</p>

4.7 Principios éticos

Teniendo en cuenta la Declaración de Helsinki, se promovió la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso de las plantas medicinales, no solo para preservar su legado cultural, sino también para registrar información relevante y demostrar científicamente sus efectos terapéuticos que servirán como nuevas fuentes de medicamentos y otros beneficios para la humanidad. En el caso del manejo de animales de experimentación se realizó con respeto de su bienestar de acuerdo a los propósitos de la investigación, promoviendo su adecuada utilización y evitándoles sufrimiento innecesario.

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

Tabla 1. Identificación de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona cherimola* (chirimoya).

Reacción	Metabolitos secundarios	Leyenda
Fehling	Azucares Reductores	++
FeCl ₃	Fenoles y Taninos	+++
Shinoda	Flavonoides	++
Mayer	Alcaloides	++
Lieberman	Triterpenos y/o esteroides	+

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: +++: alta ++: moderada +: leve

Tabla 2. Porcentaje de inhibición del edema subplantar en *Rattus rattus* por efecto del grupo estándar (ibuprofeno) y grupo tratamiento (extracto hidroalcohólico de *Annona cherimola* al 1%)

% de Inhibición				
Grupos	Tiempo			
	1h/20min	3h	5h	7h
Estándar	39.58%	52.08%	25%	6.25%
Ibuprofeno 120mg/Kg				
Tratamiento	32.69%	46.15%	23.08%	5.79%
Extracto <i>Annona cherimola</i> 1%				

Fuente: Elaboración propia

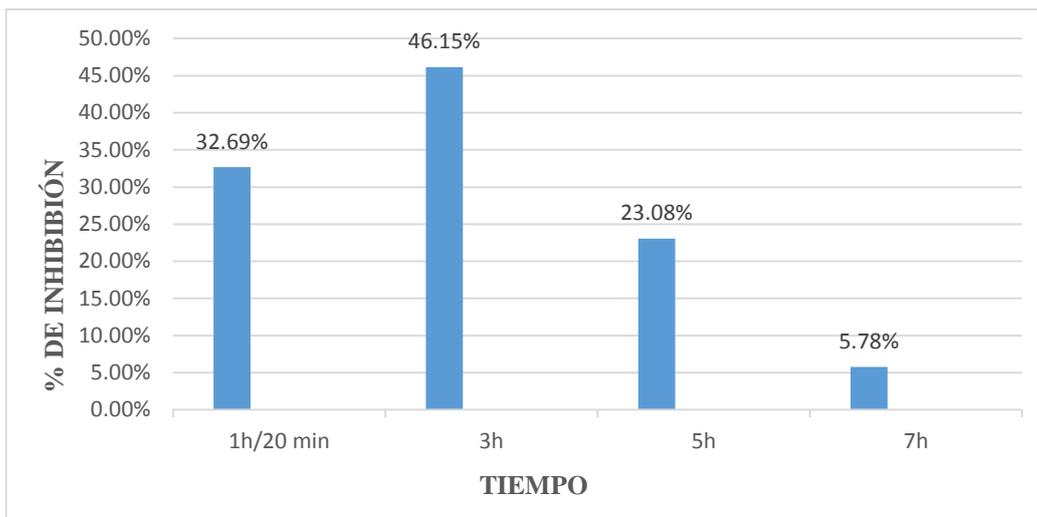


Gráfico 1: Porcentaje de inhibición del edema subplantar en *Rattus rattus* por efecto del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona cherimola* al 1%.

Fuente: Elaboración propia (Microsoft Excel)

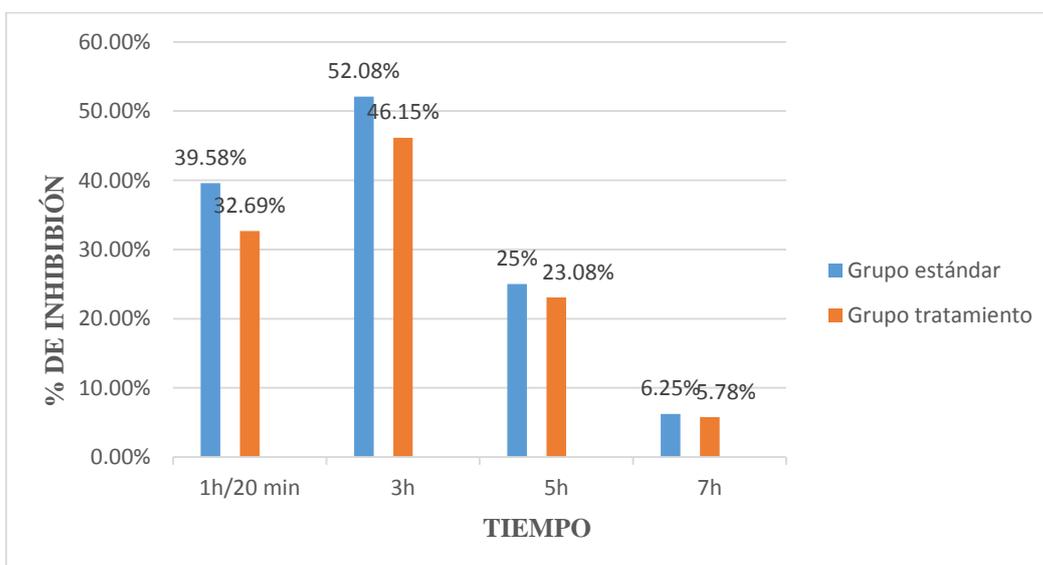


Gráfico 2: Comparación del porcentaje de inhibición del edema subplantar en *Rattus rattus* por efecto del grupo estándar (ibuprofeno) frente al grupo tratamiento (extracto hidroalcohólico de *Annona cherimola* al 1%).

Fuente: Elaboración propia (Microsoft Excel)

5.2. Análisis de resultados

En la tabla 01 muestra la identificación de los metabolitos secundarios que contiene el extracto de *Annona cherimola* (chirimoya), en ella se puede apreciar que contiene en mayor cantidad taninos, alcaloides, flavonoides, azúcares reductores y triterpenos y/o esteroides. Según Carbajal T. en su investigación realizó un estudio fitoquímico de las hojas de *Annona cherimola* identificando metabolitos secundarios como carbohidratos, compuestos fenólicos, aminoácidos libres y amino grupos, flavonoides, chalconas, auronas, catequina e isoflavona, triterpenoides y esteroides, naftoquinonas, antranas y antranonas, alcaloides, antocianinas y flavonoides catéquicos, saponinas, glicósidos y azúcares reductores.¹⁶

La chirimoya presenta diferentes metabolitos secundarios principalmente flavonoides que es el tema de estudio para la actividad antiinflamatoria no solo esta planta presente este metabolito también su familia Annonaceas, según Poma y Requis en su artículo denominado Estudio fitoquímico y Actividad Antiinflamatoria de la *Annona muricata* L. (guanábana) de Cuzco identificó metabolitos secundarios como carbohidratos, compuestos polifenólicos, esteroides libres, saponinas, alcaloides y también flavonoides expresados como quercetina.¹⁷

En la tabla 2 muestra el % de inhibición del edema subplantar a diferentes tratamientos en *Rattus rattus* en el grupo estándar fue a la 1h/20min. de 39.58%, a las 3h de 52.08 %, a las 5h de 25% y a las 7 h de 6.25% y en el grupo tratamiento fue a la 1h/20min de 32.69%, a las 3h de 46.15 %, a las 5h 23.08% y a las 7h de 5.78% vimos la comparación del ibuprofeno y del extracto hidroalcohólico elaborado a base de hojas de *Annona cherimola* (chirimoya) siendo el de mayor porcentaje a las 3 horas, no hay mucha diferencia en el efecto antiinflamatorio debido a que el grupo tratamiento a las

3 h tiene 46.15% obteniendo efecto antiinflamatorio significativo al ibuprofeno que fue de 52.08% debido a que el extracto fue realizado al 1%. No hay estudios de actividad antiinflamatoria de la chirimoya por lo tanto se realizó la búsqueda de estudios relacionados a su familia según Pomas y Requis en su investigación determinó la actividad antiinflamatoria de la *Annona muricata* (guanábana) con una eficacia del 53,18% en comparación con el grupo patrón (indometacina).¹⁷

Hay estudios que demuestran que los flavonoides intervienen ante la respuesta inflamatoria según Enciso y Arroyo en su investigación denominado Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas determinaron que la fracción flavónica extraída de las hojas del matico de puna tienen una eficiencia antiinflamatoria dosis dependiente de 32,8%, 38,4% y 43,8%, a las dosis de 25, 50 y 100 mg/kg, respectivamente, efecto próximo al ibuprofeno (47,7%) y superior a dexametasona (40,95%). La acción antiinflamatoria que poseen muchos flavonoides se relaciona con la inhibición de diversas enzimas implicadas en el metabolismo del ácido araquidónico como la ciclooxigenasa, lipooxigenasa, fosfato dinucleótido adenina nicotinamida (NADPH) oxidasa y xantina oxidasa y de radicales libres que reducen el estrés oxidativo.¹⁸

VI. CONCLUSIONES

6.1 Conclusiones

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona cherimola* (chirimoya) tiene efecto antiinflamatorio.
2. Los principales metabolitos secundarios identificados en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona cherimola* (chirimoya) fueron taninos, alcaloides, flavonoides, azúcares reductores y triterpenos y/o esteroides.
3. El porcentaje de inhibición del edema subplantar del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona cherimola* (chirimoya) en *Rattus rattus* fue a las 1h/20 min de 32.69%, 3h. de 46.15, %, 5h. de 23.08, % y a las 7 h. de 5.78%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Solís P. Efecto de la concentración y del tipo de tratamiento sobre la actividad antioxidante de la chirimoya [tesis]. Lima: Universidad Científica del Sur. Facultad de Nutrición y Dietética; 2011 [consultado 10 noviembre 2017]. Disponible en: <http://repositorio.cientifica.edu.pe:8080/handle/UCS/223>
2. Díaz E. Efecto de tres niveles de temperaturas de secado en la concentración de antioxidantes y contenido de polifenoles totales presentes en hojas de guanábana (*Annona muricata*), Pucallpa, Perú [tesis]. Perú: Universidad Nacional de Ucayali. Facultad de Ciencias Agropecuarias; 2018 [consultado 13 setiembre 2019]. Disponible en: http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/3902/UNU_AGROINDUSTRIAS_2019_T_ERIKADIAZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y
3. Gonzales M. Chirimoya (*Annona cherimola* Miller), frutal tropical y subtropical de valores promisorios. Cultivos Tropicales [Revista en línea]. 2013 [Consultado 16 noviembre 2017]; 34(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362013000300008
4. Gayoso G. y Chang L. *Annona cherimola* Mill. “chirimoya” (Annonaceae), una fruta utilizada como alimento en el Perú prehispánico. *Arnaldoa* [revista en línea]. 2017 [consultado 15 junio 2019]; 24 (2): 619-634. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v24n2/a13v24n2.pdf>

5. Gonzales J. MANEJO POSCOSECHA DE Annona cherimola EN EL VALLE DE PUCHKA- ANCASH PARA LA PRODUCCIÓN DE PULPA [tesis]. Perú: Universidad Nacional Agraria la Molina. Facultad de Agronomía; 2015 [consultado 15 junio 2019]. Disponible en <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1411/T007211.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Arribasplata R. Efecto de la aplicación foliar de calcio, en pre cosecha, en la calidad de fruta del cultivo de chirimoya (Annona cherimola Mili.) [tesis]. Perú: Universidad Nacional de Cajamarca. Facultad de Ciencias Agrarias; 2013 [consultado 15 junio 2019]. Disponible en: <http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/396/T%20F04%20A775%202013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
7. Castrillón L, Palma A y Padilla C. La función inmunológica de la piel. Rev. Dermatología [Revista en línea]. 2008 [Consultado 26 setiembre 2018]; 52(5):211-24. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2008/rmd085b.pdf>
8. Navarrete G. Histología de la piel. Facultad de Medicina [Revista en línea]. 2003 [Consultado 16 noviembre 2017]; 46(4): 130-133. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2003/un034d.pdf>
9. Jiménez J. Control de Calidad In Vivo de Constructos de Control de Piel Humana por Ingeniería Tisular [tesis doctoral]. Universidad de Granada. Facultad de Medicina; 2009. [consultado 14 diciembre 2017]. Disponible en: <https://hera.ugr.es/tesisugr/18339098.pdf>

10. García P. Inflamación. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales [revista en línea]. 2008 [consultado 15 junio 2019]; 102(1): 91-159. Disponible en: <http://www.rac.es/ficheros/doc/00681.pdf>
11. Santamaría L. Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria de Extractos de Verdolaga (*Portulaca oleracea*) en ratas (*Rattus norvegicus*) edema inducido por carregenina, en el Bioterio ESPOCH [tesis]. Ecuador: Escuela Superior Tecnológico de Chimborazo. Facultad de Ciencias; 2011. [consultado 14 diciembre 2017]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1609/1/56T00287.pdf>
12. Vega G. Inflamación. Rev. Facultad de Medicina UNAM [revista en línea]. 2008 [consultado 14 diciembre 2017]; 51(5). pág. 220-222. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2008/un085k.pdf>
13. Jiménez N, Restrepo J, Arango G, Juan A y Puerta J. Estandarización del método de la “bolsa de aire” para su utilización en la evaluación in vivo de sustancias con actividad leishmanicida. Rev. Colombiana de Ciencias Pecuarias [revista en línea]. 2002 [consultado 2 de octubre 2018]; 15(2). Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3242994.pdf>
14. Camacho M y Honorio C. Evaluación del efecto antiinflamatorio en ratas albinas según el modelo edema plantar y efecto analgésico en ratones albinos según el modelo tail flick del extracto etanólico de *Dalea isidori* Barneby “Yerbechil” [tesis]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2017. [consultado 02 octubre 2018]. Disponible en: http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/01/877268/evaluacion-del-efecto-antiinflamatorio-en-ratas-albinas-segun-e_z8A6owc.pdf

15. Moreno C. Estudio Biodirigido de la Actividad Antiinflamatoria y Antioxidante de *Ternstroemia sylvatica* [tesis]. México: Universidad Veracruzana. Unidad de Servicios de Apoyo en Resolución Analítica; 2013.[consultado 2 octubre 2018] Disponible en: <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/46856/MorenoQuirosClaudia.pdf;jsessionid=80D339EEA023B30420D00D6BDE98A95E?sequence=2>
16. Carbajal J. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE CHIRIMOYA (*Annona Cherimola*) EN EL CRECIMIENTO DE LAS CEPAS DE *Staphylococcus aureus* Y *Escherichia coli* [tesis]. Perú: Universidad Alas Peruanas. Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud; 2016. [consultado 2 junio 2019]. Disponible en: http://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/uap/3776/2/CARBAJAL_TOVAR-Resumen.pdf
17. Poma E, Requis E, Gloria C Gordillo y Fuertes M. ESTUDIO FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LA *Annona muricata* L. (GUANÁBANA) DE CUZCO. Ciencia e investigación [Revista |en línea]. 2011 [consultado 4 diciembre 2018]; 14(2): 29-33. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/viewFile/3168/2642>

18. Enciso E y Arroyo J. Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. *Anales de la Facultad de Medicina* [Revista en línea]. 2011 [consultado 10 junio 2019]; 72(4):231-7. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v72n4/a02v72n4>
19. Gonzales M. Beltrán M. Olivares E y Barrilao R. El proceso Inflamatorio. Universidad de Granada [revista en línea]. 2010 [consultado 10 junio 2019]; 11(54):21 Disponible en: <https://ruidera.uclm.es/xmlui/bitstream/handle/10578/266/1994-5.pdf?sequence=1>
20. Becerra E. y Heredia L. Actividad Analgésica y Antiinflamatoria del Extracto Hidroalcohólico de las hojas de *Ruellia graecizans* Backer (Paque-paque) en ratones [tesis]. Perú: Universidad Wiener. Facultad de Farmacia Bioquímica; 2017 [consultado 15 junio 2019]. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/999/TITULO%20%20Heredia%20Luis%2C%20Lizeth%20Fiorella.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
21. Gutiérrez M. DESTILACION DE LICOR DE DOS VARIEDADES DE CHIRIMOYA (*Annona cherimola* Miller), EN LA COMUNIDAD DE LLOJA PERTENECIENTE AL MUNICIPIO DE CAIROMA QUINTA SECCION [tesis]. Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Agronomía; 2011 [consultado 16 junio 2019]. Disponible en: <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/10261/T-1523.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

22. Lock, O.: “Investigación Fitoquímica”. 1ª ed. Ed. Pontificia Universidad Católica del Perú. 1 998. pp 1–3.
23. Miranda, M.; Cuellar, A.: “Manual de Prácticas de Laboratorio: Farmacognosia y Productos Naturales”. 1ª ed Ed. Universidad de la Habana. Cuba. 2 000. pp.: 1, 34–50

ANEXOS

Anexo 1

Tabla 4. Diferencia entre el volumen desplazado de las patas según el grupo control, grupo estándar y el grupo tratamiento.

	Basal (ml)	Carragenina (ml)	1H 20 min (ml)	3H (ml)	5H (ml)	7H (ml)	Grupos
R1	2.48	3.93 * ^a	3.30	3.38	3.74	2.8	Control NaCl 9%
R2	3.27	4.22	4.52	5.04	3.61	3.53	
R3	4.29	5.18	6.24	5.38	5.11	4.66	
R4	3.1	3.56	4.33	3.1	4.09	3.36	
Promedio	3.29	4.22	4.60	4.23	4.14	3.59	
desviación estándar	0.75	0.69	1.22	1.15	0.68	0.78	
%Inhibición	0	0	0%	28.79%	34.85%	76.52%	
R5	0.50	0.58 * ^a	0.61	0.69	0.55	0.48	Estándar ibuprofeno
R6	0.42	0.55	0.74	0.80	0.66	0.52	
R7	0.55	0.61	0.69	0.74	0.58	0.49	
R8	0.46	0.52	0.63	0.70	0.61	0.54	
Promedio	0.48	0.57	0.67	0.73	0.6	0.51	
desviación estándar	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.03	
%Inhibición	0	0	10.29%	77.94%	120%	86.76%	
R9	0.48	0.55 * ^a	0.66	0.73	0.61	0.54	Tratamiento extracto Annona cherimola 1%
R10	0.57	0.64	0.72	0.80	0.65	0.58	
R11	0.64	0.75	0.81	0.87	0.75	0.61	
R12	0.39	0.48	0.58	0.63	0.53	0.46	
Promedio	0.52	0.61	0.69	0.76	0.64	0.55	
desviación estándar	0.11	0.14	0.10	0.10	0.09	0.07	
%Inhibición	0	0	32.69%	46.15%	23.08%	5.74%	

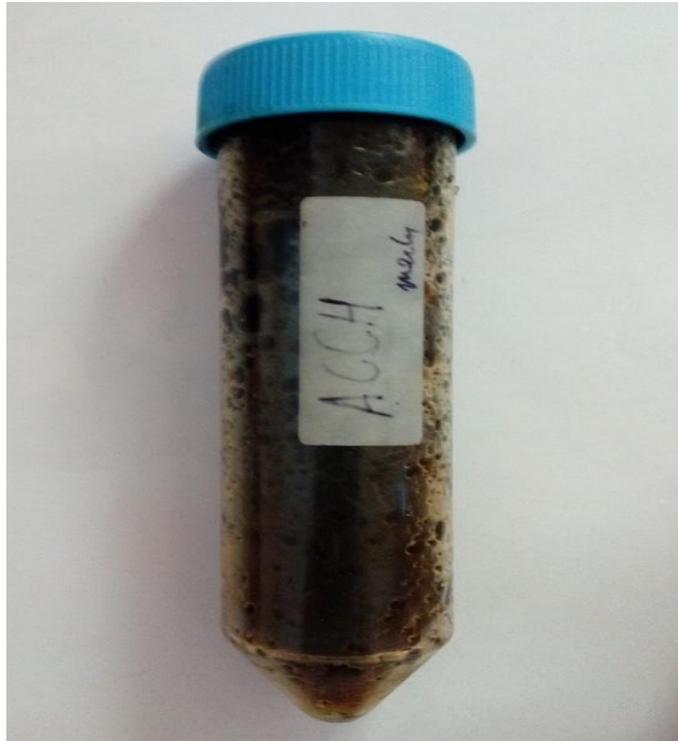
Fuente: Elaboración propia

Anexo 2

Evidencias fotográficas del estudio fitoquímico



Evidencias fotográficas de la evaluación antiinflamatoria del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona cherimola* (chirimoya) en *Rattus rattus*.



Extracto de *Annona cherimola* (chirimoya)



Midiendo la inflamación en el pleetismómetro digital

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Magnoliales
- Orden: Magnoliales
- Familia: Annonaceae
- Género: **Annona**
- Especie: **A. cherimola** Mill.
- Nombre común: "chirimoya"

Muestra alcanzada a este despacho por MERLI MENDOZA ASENCIO, identificado con DNI: 76962534, con domicilio Urb. Nicolás Garatea Mz. 88 Lote. 10- Chimbote. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto- Taller de Investigación IV: Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de las hojas de **Annona cherimola** "chirimoya".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 07 de junio del 2019



Dr. JOSE MOSTAERO LEON
Director del Herbario HUT

Constancia taxonómica