

**Efecto antihiperlipidémico del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) en ratas dislipidémicas por colesterol**

**Antihyperlipidemic effect of extract ethanolic of *Annona muricata* L. (guanábana) in rats dyslipidemic for cholesterol**

**Antihiperlipidémico efeito do extrato etanólico das folhas de *Annona muricata* L. (graviola) em dislipidêmica ratos colesterol**

Christian Palomino Flores<sup>1</sup>, Jorge Arroyo Acevedo<sup>2,3</sup>, José Valencia Chumpitaz<sup>4</sup>, y César B. Cisneros Hilario<sup>5</sup>

**Resumen**

Las investigaciones realizadas con las hojas, semillas y raíces de la *Annona muricata* L. han mostrado que posee actividades farmacológicas tales como antidiabética, citotóxica, antiparasitaria y pesticida. El objetivo del presente estudio fue investigar el efecto antihiperlipidémico del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) en ratas con dislipidemia inducido con colesterol. El peso corporal, niveles de colesterol total, triglicérido y lipoproteínas fueron medidos. El extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. se administró vía oral a dosis de 50mg/kg, 100mg/kg y 200mg/kg y el grupo control recibió atorvastatina a dosis de 20mg/kg vía oral el periodo de tratamiento en ambos fue de 45 días. Se obtuvo disminución de los niveles de colesterol total (CT) con dosis de 50mg de extracto etanólico (20%) y atorvastatina (30%)  $p < 0.00$ ; los niveles de triglicéridos (TG) disminuyeron con dosis de extracto etanólico 50mg/kg (20%) y atorvastatina (15%)  $p < 0.00$ ; los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) aumentaron con dosis de extracto etanólico 100mg/kg (40%) y atorvastatina (30%)  $p < 0.004$  y los niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) disminuyeron con dosis de extracto etanólico 100mg/kg (40%) y atorvastatina (30%)  $p < 0.00$ ; la disminución de peso corporal fue mejor con dosis de extracto etanólico 100mg/kg y 200mg/kg  $p < 0.00$ . Los resultados sugieren que el extracto etanólico de *Annona muricata* L reduce la dislipidemia con incremento del HDL-c y evitando la ganancia de peso corporal en ratas.

Palabras clave: antihiperlipidémico, dislipidemia, *Annona muricata* L, colesterol

**Abstract**

The investigations made with the leaves, seeds and roots of *Annona muricata* L. were shown to possess pharmacological activities such as anti-diabetic, cytotoxic, antiparasitic and pesticide. The aim of this study was to investigate the antihyperlipidemic effect of ethanol extract of leaves of *Annona muricata* L. (soursop) in rats with induced cholesterol dyslipidemia. Body weight, biochemical plasma total cholesterol, triglyceride and lipoprotein were measured. The ethanolic extract of *Annona muricata* L. leaves was administered orally at a dose of 50mg/kg, 100mg/kg and 200mg/kg and the control group received atorvastatin at a dose of 20mg/kg oral treatment period in both was 45 days. Decreased levels of total cholesterol (TC) at a dose of 50mg of ethanolic extract (20%) and atorvastatin (30%)  $p < 0.00$  was obtained; triglyceride levels decreased with dose 50mg/kg ethanolic extract (20%) and atorvastatin (15%)  $p < 0.00$ ; levels of high density lipoprotein (HDL -c) increased with dose of 100mg/kg ethanolic extract (40%) and atorvastatin (30%)  $p < 0.004$  and levels of low density lipoprotein (LDL-c) decreased with doses of 100mg/kg ethanolic extract (40%) and

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Salud-OGITT ; chpalflores@gmail.com

<sup>2</sup> Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú

<sup>3</sup> Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú

<sup>4</sup> Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú

<sup>5</sup> Facultad de Medicina Humana, Universidad San Pedro. Chimbote, Perú

Recibido, 21 de enero de 2015

Aceptado, 18 de marzo de 2015

atorvastatin (30%)  $p < 0.00$ ; decreased body weight was better with doses of 100mg/kg and 200mg/kg ethanolic extract  $p < 0.00$ . The results suggest that the administration of ethanol extract of *Annona muricata* L reduces dyslipidemia with increase of HDL-c and avoid body weight gain in rats.

Keywords: antihyperlipidemic, dyslipidemia, *Annona muricata* L, cholesterol

### Resumo

Pesquisa com folhas, sementes e raízes de *Annona muricata* L. demonstrado possuir atividades farmacológicas, tais como anti-diabético, citotóxica, anti-parasitários e pesticidas. O objetivo deste estudo foi investigar o efeito antihiperlipidémico do extrato etanólico das folhas de *Annona muricata* L. (graviola) em ratos com dislipidemia induzida colesterol. O peso corporal, colesterol total, triglicérides e lipoproteína foram medidos. O extracto de etanol de folhas de *Annona muricata* L. administrado por via oral numa dose de 50 mg / kg, 100 mg / kg e 200 mg / kg e o grupo de controlo receberam atorvastatina, a uma dose de 20mg / kg por via oral no período de tratamento foi tanto 45 dias. A diminuição dos níveis de colesterol total (TC) a uma dose de 50 mg de extracto de etanol (20%) e atorvastatina (30%)  $p < 0,00$  foi obtido; triglicéridos (TG) declinou com doses de extracto etanólico de 50 mg / kg (20%) e atorvastatina (15%)  $p < 0,00$ ; os níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL-C) aumentaram com doses de extracto de etanol de 100 mg / kg (40%) e atorvastatina (30%)  $p < 0,004$  e níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-C) diminuiu com dosagem extracto etanólico 100 mg / kg (40%) e atorvastatina (30%)  $p < 0,00$ ; diminuição do peso corporal foi melhor com doses de extrato etanólico de 100mg / kg e 200 mg / kg  $p < 0,00$ . Os resultados sugerem que a administração do extracto de etanol de gravioleira dislipidemia G reduz com o aumento de HDL-c e prevenção do ganho de peso corporal em ratos.

Palavras-chave: antihiperlipidémico, dislipidemia, *Annona muricata* L, colesterol

### Introducción

La dislipidemia es caracterizada por aumento de los niveles de colesterol total (CT), triglicérido (TG) y lipoproteína de baja densidad (LDL-C) y disminución de los niveles de lipoproteína de alta densidad (HDL-C) en suero. La dislipidemia es uno de los principales factores de riesgo para enfermedad cardiovascular y accidente cerebro vascular. (Hu D. Y., et al; 2009). El 2013 la “Guía de tratamiento de colesterol en suero para disminuir el riesgo cardiovascular en adultos” de la ACC/AHA enfatizo que la progresiva regulación de la dislipidemia es el principal método de control para eventos de factores de riesgo isquémico cardiovasculares (Stone N.J, et al; 2013). Un gran número de evidencia demuestra que las estatinas (inhibidor 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima A reductasa) disminuye significativamente la morbilidad y mortalidad de los eventos cardiovasculares y cerebrovasculares, tales como infarto de miocardio y accidente cerebro cardiovascular (McKenney J. M; 2005). El uso prolongado de las estatinas solas o en combinación con otros fármacos hipolipemiantes es seguro. Sin embargo, la principal intolerancia con las estatinas son los eventos adversos que afectan a nivel muscular, pero hay muchos otros eventos adversos que no son comunes o difíciles de establecer una relación concluyente con las estatinas (Mancini G.B, et al; 2011). Como resultado, hay mucho interés en el uso de medicina alternativa en el tratamiento de la dislipidemia y la investigación en plantas con actividad hipolipemiente o antihiperlipidémica y pocos eventos adversos.

*Annona muricata* L es encontrada y cultivada desde el nivel del mar a 1000 metros de altura en las Antillas y sur de México a Perú y norte de Argentina. También, es ampliamente distribuida en Asia del Sur de India al norte de Australia, Polinesia y África. En el Oeste de la India varias partes de la planta incluyendo las hojas, corteza y raíces han sido usadas para tratar diferentes enfermedades tales como la diabetes y artritis (Bonavia D,

et al; 2004). Otros reportes de uso medicinal tradicional de la *A. muricata* incluye anticancerígeno, antimicrobiano y acciones antifúngicas, así como también, efectos anti-inflamatorias y anticonceptivas (De Sousa O, et al; 2010).

El screening fitoquímico de las hojas de *A. muricata* muestra que contiene alcaloides tales como reticulina, coreximina, coclarina, anomurina, annomuricina E, annomuricina C, muricatocina C, gigantetronenin y muricapentocin con propiedades antioxidantes y antitumorales. Asimismo, aceites esenciales tales como  $\beta$ -caryophyllene,  $\delta$ -cadinene, epi- $\alpha$ -cadinol y  $\alpha$ -cadinol. (Kossouh C, et al; 2007; Péliissier Y, et al; 1994)

Hasta la fecha no se ha evidenciado científicamente el efecto antihiperlipidémico de la *A. muricata*. Por lo tanto, el presente estudio evaluó los posibles efectos antihiperlipidémicos del extracto etanólico de hojas de *A. muricata* en ratas machos de cepa Holtzmann con dislipidemia inducido con colesterol.

## Material y métodos

Se utilizaron 36 ratas machos de la cepa Holtzmann con peso promedio de  $200 \pm 20$  gramos procedentes del Bioterio de la Universidad Agraria de la Molina (Lima, Perú). Los animales fueron acondicionados durante 7 días en el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM) a un ciclo de luz de 12 horas continuas día/noche y una temperatura de 20-25°C con acceso a agua y alimento a libertad.

La dislipidemia fue inducida considerando el método seguido por Ruiz-Roso *et al.* modificado por Arroyo *et al.*, el colesterol se administró vía oral a dosis de 200mg/kg suspendido en una solución de polisorbato de sodio 80 (Tween 80)

Se trabajó con 6 grupos de seis ratas cada uno, al grupo control negativo no se le indujo dislipidemia solo se administró suero fisiológico a dosis de 2ml/kg. Los otros cinco grupos se les indujo dislipidemia, uno de ellos recibió solo colesterol a dosis de 200mg/kg, los demás recibieron tratamiento con dosis de extracto etanólico de hojas de *A. muricata* (50mg, 100mg y 200mg/kg) por un periodo de 45 días.

Las muestras de hojas de *Annona muricata* L (guanábana) fueron recolectadas en el caserío de San José Bajo, Distrito de Santiago de Cao, Provincia de Ascope, Departamento de la Libertad, Perú, durante los meses de enero-marzo del 2013. La identificación taxonómica fue realizada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. La muestra vegetal (planta completa) fue estudiada y clasificada según el sistema de Cronquist (1988).

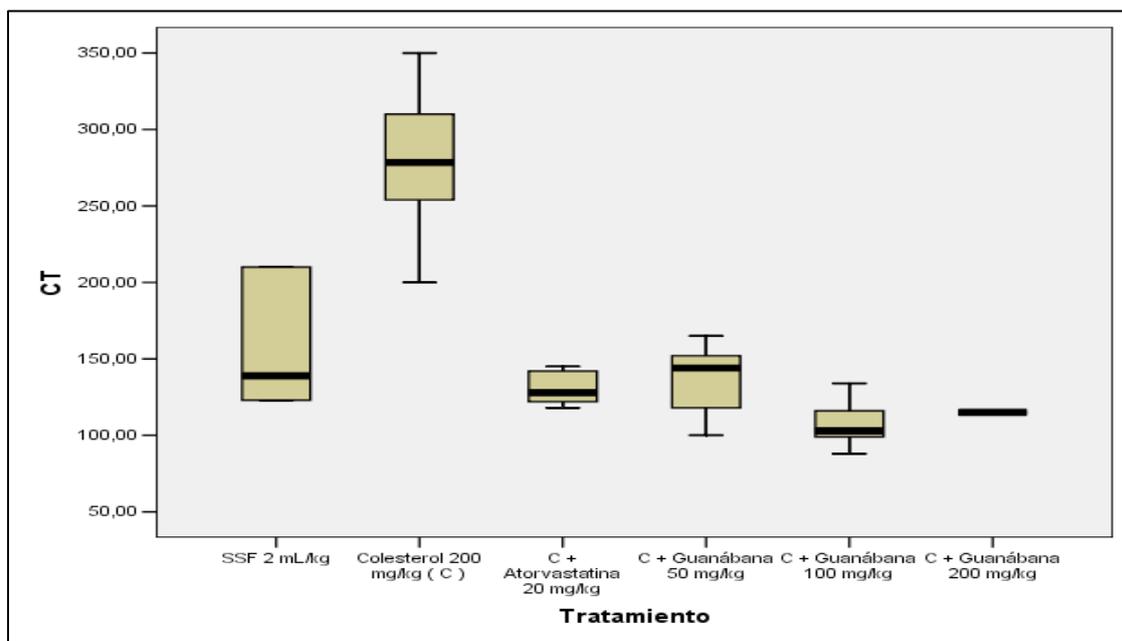
Para la preparación del extracto etanólico, las hojas de la planta *A. muricata* fueron lavadas y secadas, luego fueron sometidas a molienda en un molino eléctrico se pesaron 700g y se llevó a maceración alcohólica al 95%, siete días de maceración, posteriormente se filtró y concentro a 30°C hasta obtener un residuo seco a peso constante.

Luego de los 45 días, se extrajeron muestras de sangre para evaluar el nivel de colesterol total, triglicéridos, LDL y HDL, según el método enzimático utilizado por el laboratorio clínico. El peso fue medido cada semana durante el periodo de inicio hasta la finalización del estudio. Los datos de dislipidemia fueron sometidos a un análisis de varianza, seguido de una prueba de Tukey, para buscar diferencias significativas entre los

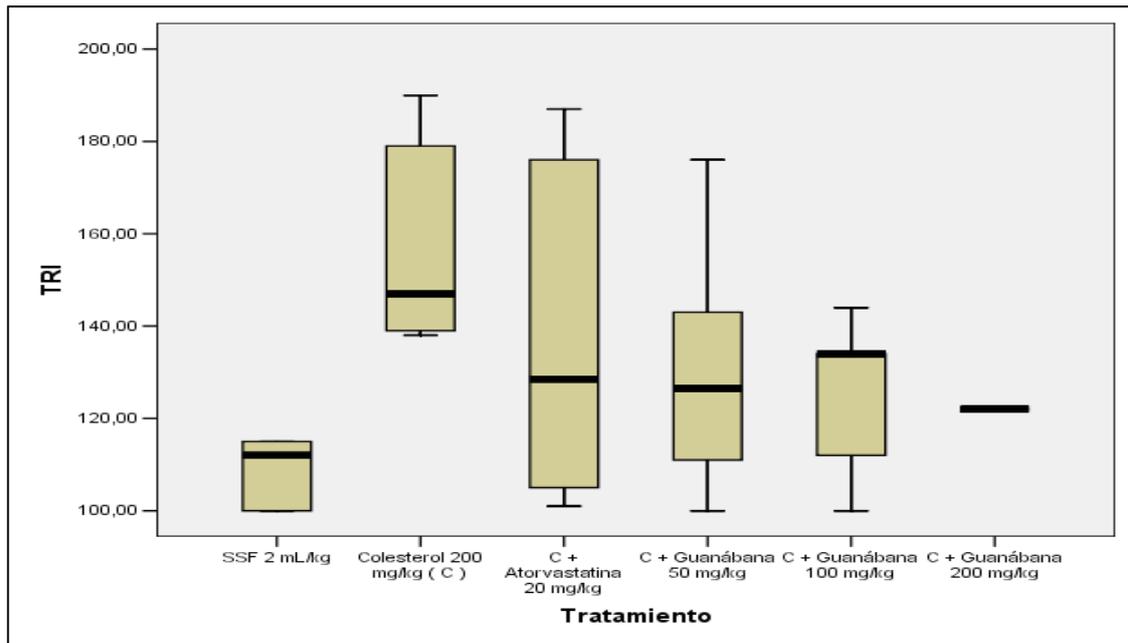
grupos. Se consideró que existe diferencias significativas cuando  $p < 0.05$ . Los resultados de los experimentos son presentados como la media  $\pm$  el error estándar.

## Resultados

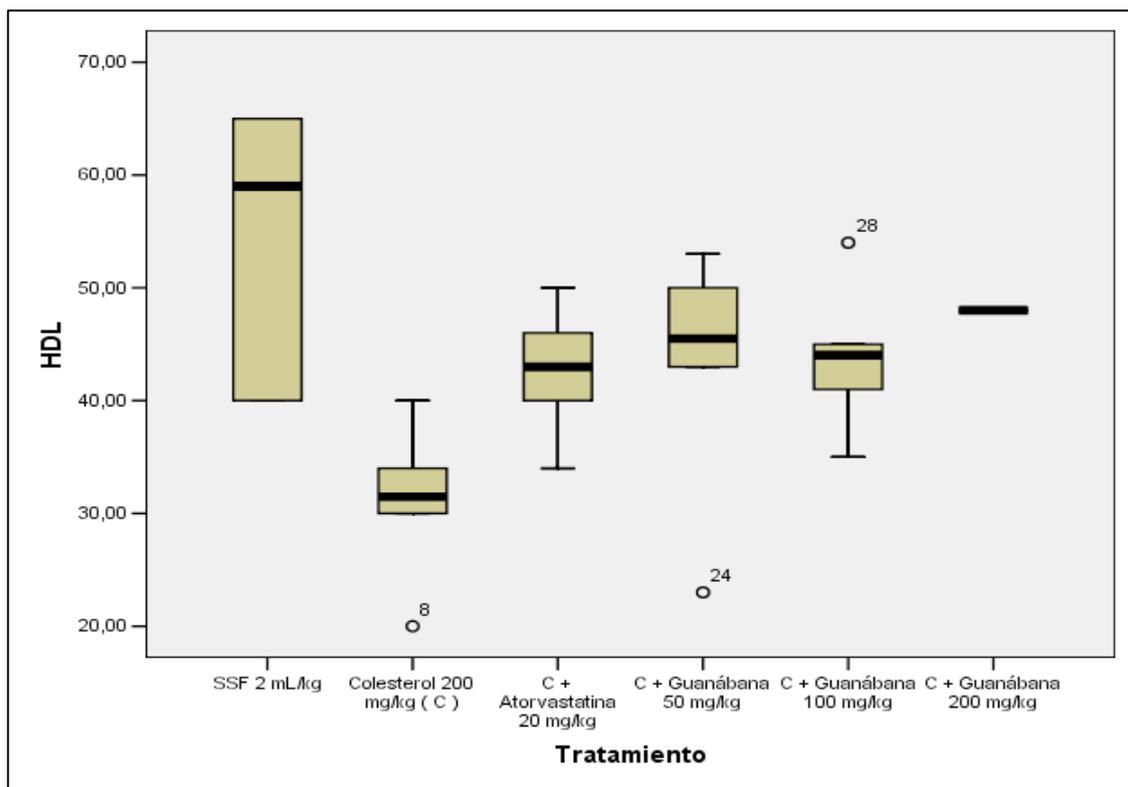
La figura 1 muestra el efecto del extracto etanólico de hojas *A. muricata* sobre el perfil lipídico en ratas. Después de la administración del extracto etanólico a diferente dosis (50mg, 100mg y 200mg/Kg) se observó cambio en el perfil lipídico (CT, TG, HDL-c y LDL-c). Los aumentos de los niveles de colesterol total, triglicéridos y LDL-c y disminución de los niveles de HDL-c se observó en el grupo control negativo. La disminución de los niveles de colesterol total (CT) se obtuvo con extracto etanólico a dosis de 50mg (20%) y atorvastatina (30%)  $p < 0.00$ ; los niveles de triglicéridos (TG) disminuyeron con extracto etanólico a dosis de 50mg (20%) y atorvastatina (15%)  $p < 0.00$ ; los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) aumentaron con extracto etanólico a dosis 100mg/kg (40%) y atorvastatina (30%)  $p < 0.004$  y los niveles de lipoproteína de baja densidad (LDL-c) disminuyeron extracto etanólico a dosis 100mg/kg (40%) y atorvastatina (30%)  $p < 0.00$ .



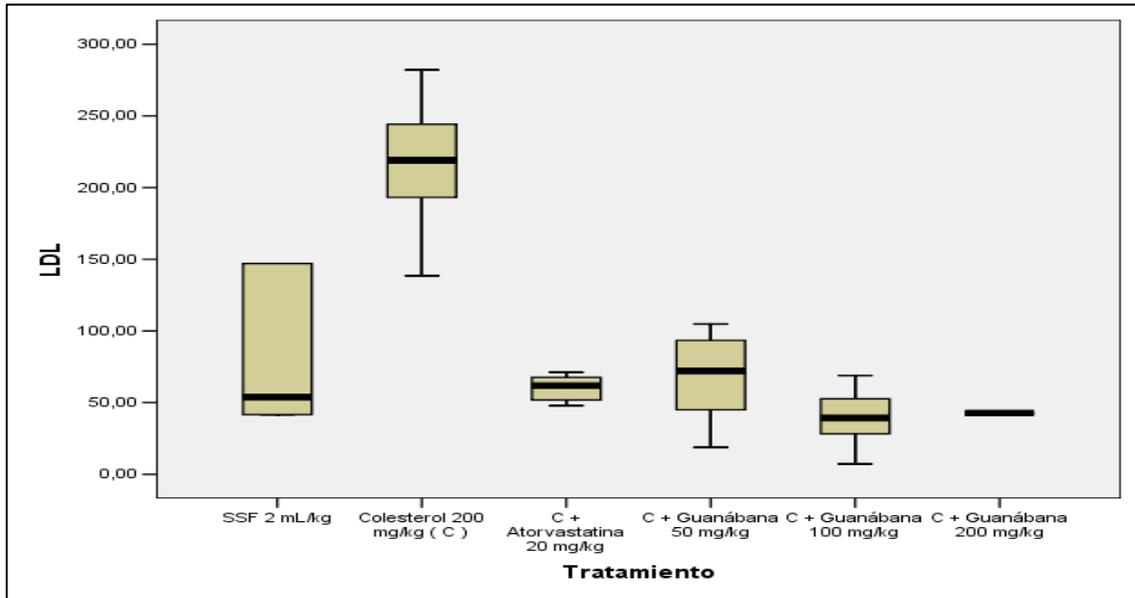
**Figura 1.** Efecto del extracto etanólico de *A. muricata* sobre los niveles de colesterol total en ratas con inducción de dislipidemia.



**Figura 2.** Efecto del extracto etanólico de *A. muricata* sobre los niveles de triglicéridos en ratas con inducción de dislipidemia.



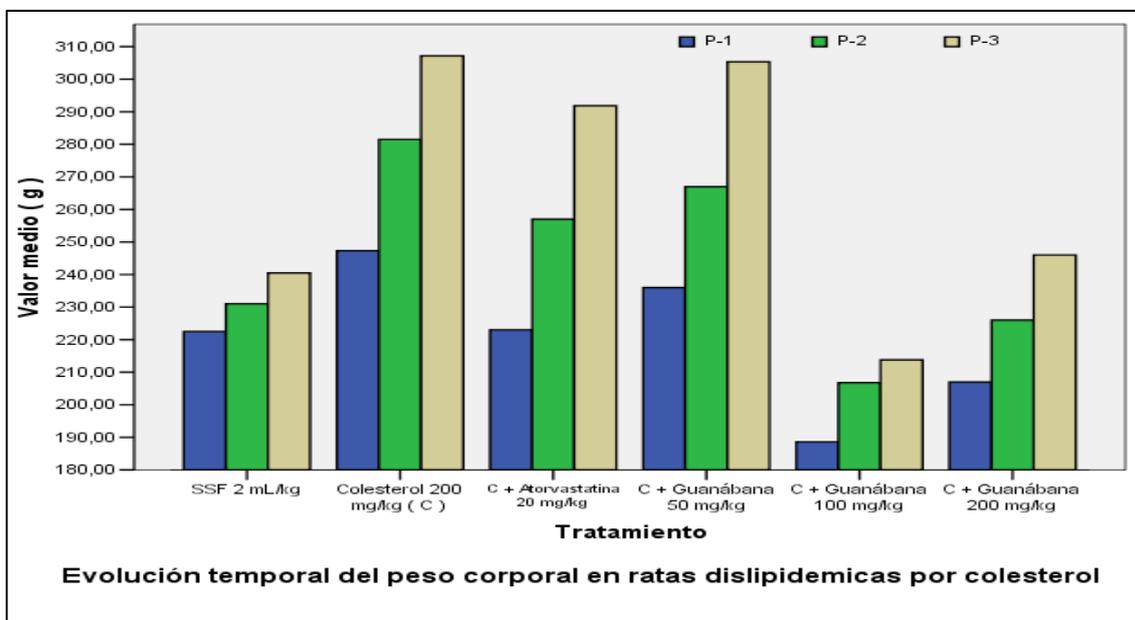
**Figura 3.** Efecto del extracto etanólico de *A. muricata* sobre los niveles de HDL-c en ratas con inducción de dislipidemia.



**Figura 4.** Efecto del extracto etanólico de *A. muricata* sobre los niveles de LDL-c en ratas con inducción de dislipidemia.

**Efecto del extracto etanólico de hojas de *A. muricata* en el cambio de peso corporal**

La figura 2 muestra la disminución de peso corporal a diferentes dosis del extracto etanólico de *A. muricata*. El grupo control negativo mostro un aumento de peso considerable comparado con los grupos que recibieron tratamiento durante el periodo de investigación. Los grupos que recibieron el extracto etanólico de *A. muricata* a dosis de 100mg/kg y 200mg/kg mostraron una mejor disminución del peso corporal ( $p < 0.00$ ).



**Figura 5.** Efecto del extracto etanólico de hojas de *A. muricata* en el cambio de peso corporal en ratas con inducción de dislipidemia.

## Discusión

La dislipidemia son alteraciones del metabolismo de lipoproteínas, incluyendo una sobreproducción o deficiencia. Estas alteraciones pueden ser manifestadas por aumento de los niveles de colesterol total, triglicéridos (TG), lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) y disminución de los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) (Syed M. A, et al; 1998).

Diversos estudios epidemiológicos, angiográficos y postmortem documentaron la relación causal entre los niveles de colesterol y la génesis de las enfermedades coronarias. Los estudios angiográficos mostraron que una reducción agresiva del colesterol por una variedad de métodos, opuestos solo a la modificación de una dieta, resulta en aumento de regresión de la placa y estabilización (Philbin E. F, et al; 1994). El tratamiento con fármacos hipolipemiantes parece estar acompañado con una disminución del contenido de lípidos de la placa aterosclerótica, de allí se hace más estable y menos propenso a ruptura. (Levine G. N, et al; 1994)

Recientes estudios han sustentado muchos de los usos de la *A. muricata* en la medicina tradicional y también han mostrado que varias partes de la planta contiene acetogeninas, las cuales han demostrado ser responsables de las propiedades farmacológicas. A la fecha aproximadamente 82 acetogeninas de 10 diferente grupos han sido reportado de *A. muricata*. Las acetogeninas annonaceous son una serie de derivados ácidos grasos policíclicos que poseen anillos tetrahidrofurano y metilado- $\gamma$ -lactona (algunas veces reordenados a metil ketolactona) con varios grupos hidroxilo, acetoxilo y ketoxil a lo largo de la cadena de hidrocarburos. (Rupprecht J.K, et al; 1990)

El extracto etanólico de hojas de *A. muricata* con dosis de 50mg/kg y 100mg/kg mostro una disminución de los niveles de colesterol, triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad (LDL-c). A dosis de 100mg/kg aumento los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL-c). Estos resultados sugieren que el extracto de *A. muricata* posee efecto en mejorar el metabolismo lipídico. Se han realizado estudios de extracto etanólico y acuoso de *A. muricata* donde se evaluó la actividad hipoglicemiante en ratas diabéticas inducida con aloxano y estreptozotocina respectivamente, durante el tratamiento se observó una disminución significativa de los niveles de glucosa, especies reactivas de oxígeno (SRO), triglicéridos (TG), colesterol total (CT) y lipoproteínas de baja densidad (LDL-c). El efecto antihiperlipidémico de extracto etanólico *A. muricata* puede ser debido a la acción sinérgica de diferentes compuestos, incluyendo acetogeninas, flavonoides, alcaloides, glicósidos y aceites esenciales. Aunque el mecanismo exacto de acción antihiperlipidémico no está claro la hipótesis del efecto anti-dislipidémico es debido a la disminución de la síntesis de colesterol y más importante por sus propiedades antioxidantes. (Adewole SO, et al; 2006; Palomino C M; 2007)

## Conclusión

Se demuestra el efecto antihiperlipidémico del extracto etanólico de *A. muricata*. También, la actividad de evitar la ganancia de peso corporal, tomando en cuenta que el sobrepeso y la obesidad corporal o central contribuyen al desarrollo de la dislipidemia.

## Agradecimiento

A la Dirección del Instituto de Investigaciones Clínicas de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

## Referencias bibliográficas

- Adewole, S.O., Caxton-Martins, E.A. (2006). Morphological changes and hypoglycemic effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) leaf aqueous extract on pancreatic B-cells of Streptozotocin-treated diabetic rats. *Afr J Biomed Res.*9:173–187.
- De Sousa, O., Vieira, G. D., De Jesús, R., De Pinho, J, et al. (2010). Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the ethanol extract of *Annona muricata* L. leaves in animal models. *Int J Mol Science.* 11: 2067-2078.
- Hu, D. Y., and Wang, J. H. (2009).The status of chinese prevention and treatment of dislipidemia. *Chinese Journal of Practical Internal Medicine.* 29(1):2-3.
- Kossouh, C., Moudachirou, M., Adjakdje, V., Chalchat, J. et al. (2007). Essential oil chemical composition of *Annona muricata* L. leaves from Benin. *Journal Essen Oil Res.* 19:307-309.
- Levine, G. N., Keaney, J. F., Vita, J. A. (1995). Cholesterol reduction in cardiovascular disease. Clinical benefits and possible mechanisms. *N Engl J Med.* 332:512–21
- Mancini, G.B., Bergeron B.S. Bergeron, et al. (2011). Diagnosis, prevention, and management of statin adverse effects and intolerance: proceedings of a Canadian working group consensus conference. *Can J Cardiol.* 27:635-62.
- McKenney, J. M. (2005). Pharmacologic options for aggressive lowdensity lipoprotein cholesterol lowering: benefits versus risks. *The American Journal of Cardiology.* 96 (4):60-66.
- Palomino, C. M. (2007). Efecto del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) sobre la hiperglicemia inducida con aloxano en ratas. Tesis para optar al Grado Académico de Magister en Farmacología con Mención en Farmacología Experimental. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNMSM.
- Pélissier, Y., Marion, C., Kone, D., Lamaty, G., Menu, C. et al. (1994). Volatile components of *Annona muricata* L. *Journal Essent Oil Res.* 6: 411-414.
- Philbin, E. F., Pearson, T. A. (1994). How does lipid-lowering therapy rapidly reduce ischemic events. *J Myocard Ischemia.* 6:13–8.
- Rupprecht, J. K., Hui, Y. H., McLaughlin, J. L. (1990). Annonaceous acetogenins: a review. *J Nat Prod.* 53(2):237–278.
- Stone, N. J., Robinson, J., Lichtenstein, A. H. et al. (2013). ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American college of cardiology/American heart association task force on practice guidelines. *Circulation.*
- Syed, M. A., and John, F. D. (1998). Management of Dyslipidemia in Adults. *American Family Physician.* 57 (9): 2192-2204.