

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS:

**Efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de las
hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas.
Ayacucho 2024**

Para optar el título profesional de:
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:
Bach. Melissa LIMACO CARPIO

ASESOR:
Dr. Q.F. Edwin Carlos ENCISO ROCA

AYACUCHO - PERÚ

2025

A mis padres, por acompañarme y guiarme siempre en mi formación profesional; y a Dios, quien ilumina y orienta cada paso que doy.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, mi *Alma Mater*, por brindarme la oportunidad de estudiar en sus instalaciones durante mi tiempo académico, por permitirme adquirir los conocimientos necesarios para mi vida profesional y de esta manera contribuir a la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud y la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, a su plana de docente, por su invaluable orientación y apoyo en mi formación personal y profesional.

Al Dr. Q.F. Edwin Carlos Enciso Roca, por su asesoría, orientación y generosidad al compartir sus conocimientos.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	xv
ABSTRACT	xvii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO II. DESARROLLO DE LA PERSPECTIVA TEÓRICA	3
2.1. Marco Referencial	3
2.1.1. <i>Antecedentes Internacionales</i>	3
2.1.2. <i>Antecedentes Nacionales</i>	4
2.1.3. <i>Antecedentes Locales</i>	6
2.2. Marco Teórico	8
2.2.1. <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”	8
2.2.2. <i>Fisiología Renal</i>	12
2.2.3. <i>Fármacos Diuréticos</i>	14
2.3. Marco Conceptual	19
2.3.1. <i>Extracto Hidroalcohólico</i>	19
2.3.2. <i>Liofilización</i>	19
2.3.3. <i>Efecto Diurético</i>	19
2.4. Marco Ético y Legal	19
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3.1. Alcance de Investigación	21
3.2. Diseño de Investigación	21
3.3. Unidad de Análisis	21
3.4. Población de Estudio	21
3.5. Muestra	21
3.6. Criterios de Selección	21
3.7. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos	22
3.8. Análisis de Datos	24
3.9. Consideración Ética	24
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	25
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN	31

CAPÍTULO VI. CONCLUSIÓN	37
CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES	39
BIBLIOGRAFÍA	41
ANEXOS	47

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Distribución de grupos	23
Tabla 2. Screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”.	25

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. A) Tallos; B) hojas; c) inflorescencia y flores; D) cultivos de hinojo.	9
Figura 2. Estructura química de un fenol	11
Figura 3. Estructura molecular base de los flavonoides	12
Figura 4. Sistema de transporte de los túbulos y los sitios de acción de los diuréticos. ADH: Hormona antidiurética; PTH: Hormona paratiroidea	13
Figura 5. Sistema renina-angiotensina-aldosterona clásico. Angiotensina (Ang); Enzima convertidora de angiotensina (ECA); Receptor de la angiotensina tipo 1 (R AT1) y receptor de la angiotensina tipo 2 (R AT2)	14
Figura 6. Estructura química de la furosemida	16
Figura 7. Estructura química de la espironolactona	18
Figura 8. Volumen total de orina por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas.	26
Figura 9. Porcentaje de excreción volumétrica urinaria (% EVU) por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas.	27
Figura 10. Porcentaje de la actividad diurética (% AD) por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas usando como referencia la hidroclorotiazida.	28
Figura 11. Porcentaje de la actividad diurética (% AD) por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas, usando como referencia la furosemida.	29

ÍNDICE DE ANEXOS

	Página
Anexo 1. Matriz de definición y operacionalización de variables	49
Anexo 2. Matriz de consistencia	50
Anexo 3. Constancia de clasificación taxonómica de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	51
Anexo 4. Recolección de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”	52
Anexo 5. Hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”.	53
Anexo 6. Esquema de obtención del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”.	54
Anexo 7. Obtención y secado del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”.	55
Anexo 8. Ensayo de screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”.	56
Anexo 9. Identificación de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”.	57
Anexo 10. Flujograma de la evaluación del efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”.	58
Anexo 11. Volumen de orina obtenido en función del tiempo por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas.	59
Anexo 12. Volumen de orina acumulado en el tiempo obtenido por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas.	60
Anexo 13. Datos del volumen total de orina en 6 horas, por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas.	61
Anexo 14. Datos del porcentaje de excreción volumétrica urinaria (%EVU) por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas.	62
Anexo 15. Datos del porcentaje de actividad diurética (%AD) en relación al estándar hidroclorotiazida, por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas.	63
Anexo 16. Datos del porcentaje de actividad diurética (%AD) en relación al estándar furosemida, por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas.	64

Anexo 17.	Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas del volumen total de orina por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas.	65
Anexo 18.	Análisis de varianza (ANOVA) del volumen total de orina por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas.	66
Anexo 19.	Prueba de Tukey del volumen total de orina por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas.	67
Anexo 18.	Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas del porcentaje de excreción volumétrica urinaria (% EVU).	68
Anexo 20.	Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de excreción volumétrica urinaria (% EVU).	69
Anexo 21.	Prueba de Tukey del porcentaje de excreción volumétrica urinaria (% EVU).	70
Anexo 22.	Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas del porcentaje de la actividad diurética (% AD) en función de la hidroclorotiazida.	71
Anexo 23.	Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de la actividad diurética (% AD) en función de la hidroclorotiazida.	72
Anexo 24.	Prueba de Tukey del porcentaje de la actividad diurética (% AD) en función de la hidroclorotiazida.	73
Anexo 25.	Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas del porcentaje de la actividad diurética (% AD) en función de la furosemida.	74
Anexo 26.	Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de la actividad diurética (% AD) en función de la furosemida.	75
Anexo 27.	Prueba de Tukey del porcentaje de la actividad diurética (% AD) en función de la furosemida.	76

RESUMEN

El *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, es una planta herbácea originaria de Europa; sin embargo, es utilizada en el Perú en la medicina tradicional debido a su propiedad diurética. En este sentido en la presente investigación se planteó como objetivo evaluar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas. El efecto diurético fue evaluado según la metodología propuesta Lipschitz, y descrita por Arroyo y Cisneros. Se formó seis grupos con seis ratas cada uno, grupo 1 suero fisiológico al 0,9 %; grupo 2 EHL 100 mg/kg; grupo 3 EHL 200 mg/kg; grupo 4 EHL 400 mg/kg; grupo 5 Hidroclorotiazida y grupo 6 Furosemida. Los resultados muestran que el porcentaje de excreción volumétrica urinaria (% EVU), para las dosis de 100, 200 y 400 mg/kg fueron de 62,86 %; 81,27 % y 94,27 %; mientras que la hidroclorotiazida registró un valor de 85,87 % y la furosemida de 101,29 % ($p < 0,05$). Siendo la dosis de 400 mg/kg la que presenta mayor % EVU y estadísticamente semejante a ambos fármacos de referencia ($p > 0,05$). Mientras que el porcentaje de actividad diurética (% AD) para la dosis del extracto a 400 mg/kg fue de 97,43 % en función de la hidroclorotiazida ($p > 0,05$) y de 77,71 % en función de la furosemida ($p < 0,05$). En conclusión, el extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, presenta efecto diurético en ratas albinas.

Palabras clave: *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, efecto diurético, extracto hidroalcohólico liofilizado.

ABSTRACT

Foeniculum vulgare Mill. "hinojo" is an herbaceous plant native to Europe; however, it is used in Peru in traditional medicine due to its diuretic property. In this sense, the objective of the present investigation was to evaluate the diuretic effect of the lyophilized hydroalcoholic extract of the leaves of *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" in albino rats. The diuretic effect was evaluated according to the methodology proposed by Lipschitz, and described by Arroyo and Cisneros. Six groups were formed with six rats each: group 1 received 0,9% saline solution; group 2 EHL 100 mg/kg; group 3 EHL 200 mg/kg; group 4 EHL 400 mg/kg; group 5 received hydrochlorothiazide; group 6 received furosemide. The results show that the percentage of urinary volumetric excretion (% VUE), for the doses of 100, 200 and 400 mg / kg was 62,86%; 81,27% and 94,27%; while hydrochlorothiazide registered a value of 85.87% and furosemide 101.29% ($p < 0,05$). The dose of 400 mg / kg was the one with the highest % VUE and statistically similar to both reference drugs ($p > 0,05$). Meanwhile, the percentage of diuretic activity (% AD) for the dose of the extract at 400 mg / kg was 97.43% depending on hydrochlorothiazide ($p > 0,05$) and 77,71% based on furosemide ($p < 0,05$). In conclusion, the lyophilized hydroalcoholic extract of the leaves of *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" presents a diuretic effect in albino rats.

Keywords: *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo", diuretic effect, freeze-dried hydroalcoholic extract.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Las variaciones en el volumen de los líquidos corporales y en el equilibrio de electrolitos representan trastornos clínicos frecuentes, las cuales se manifiestan en diversas enfermedades, como son el fallo cardíaco, insuficiencia cardíaca congestiva, edema agudo pulmonar, edema del síndrome nefrótico y en la hipertensión arterial (Villacís, 2021). Frente a estas patologías que involucran la alteración del volumen del líquido corporal, diversas guías de práctica clínica recomiendan el uso de fármacos diuréticos como terapia en primera línea, produciendo una reducción significativa de la mortalidad y riesgo de hospitalización (Sotomayot *et al.*, 2024; Vergel, 2009).

A lo largo de la historia y por diferentes culturas, se ha ido utilizando diversas sustancias medicinales naturales en aplicaciones mágico religiosas, los cuales según ellos permitían expulsar toxinas, venenos y malos espíritus del cuerpo de los pacientes enfermos. La purga, inductores del sudor, uso de laxantes naturales, expectorantes y diuréticos son elementos muy importantes en el sistema médico tradicional (Halberstein, 2012). Las hiervas diuréticas se han recetado con mucha frecuencia para eliminar el exceso de líquidos del cuerpo mediante un aumento en la producción de la orina, así como la desintoxicación y la sobrehidratación (Halberstein, 2012; Maestro, 2009). En la actualidad la Organización Mundial de la Salud (OMS), impulsa que la medicina tradicional sea utilizada en base a investigaciones que demuestren su uso seguro y eficaz, pudiendo ser de esta manera una nueva alternativa terapéutica a la medicina convencional, el cual viene ocasionando inconvenientes en la población ya sea por su limitada accesibilidad como por la manifestación de diversas reacciones adversas (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2013).

El *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” es una especie de la familia Apiaceae, destacada por su uso medicinal y aromática. En el Perú esta especie es utilizada en la medicina local y tradicional, en el tratamiento de la depuración de la sangre, cálculos renales, como agente diurético, digestivo, expectorante y como un antiinflamatorio ocular, también para calmar los dolores abdominales, artritis, estreñimiento, gastritis,

entre otros (Villacís, 2021; Camasca, 2012). Dichas propiedades medicinales se le es atribuida a su contenido de compuestos fenólicos, flavonoides, y aceites esenciales.

Frente a estas alteraciones del volumen corporal que involucran la retención de los líquidos, la presente investigación intenta dar mayor sustento científico al uso medicinal que se le imputa al *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”. Limitándose a demostrar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas, planteándose los siguientes objetivos:

Objetivo General

Evaluar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas.

Objetivos Específicos

- Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.
- Determinar el porcentaje excreción volumétrica urinaria y el porcentaje de actividad diurética en ratas, tras la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.
- Comparar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” con la furosemida e hidroclorotiazida.

CAPITULO II. DESARROLLO DE LA PERSPECTIVA TEÓRICA

2.1. Marco Referencial

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Maestro *et al.* (2009) realizaron la revisión de siete plantas medicinales del género Apiaceae (Umbelliferae), en cuyas monografías incluyeron, además del estudio botánico de cada especie, su composición química, acción farmacológica e indicaciones terapéuticas. Refieren que las especies *Anethum graveolens* L. (hinojo falso), *Angelica archangelica* L. (angélica), y *Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss, (perejil), exhiben propiedades diuréticas.

En el artículo de revisión realizado por Badgujar *et al.* (2014) se presenta una recopilación de información disponible en la literatura respecto a la aplicación farmacológica contemporánea y toxicológica del hinojo. Los resultados de la búsqueda sistemática de artículos de investigación sobre *Foeniculum vulgare*, menciona que esta es una especie ampliamente utilizada, en el tratamiento de más de cuarenta tipos de trastornos en todo el mundo. Asimismo, se ha demostrado su eficacia en diversas propiedades farmacológicas, tales como actividades antimicrobianas, antivirales, antiinflamatorio, antipirético, antiespasmódico, cardiovasculares, antitumorales, hipoglucémicos. Con relación a los estudios fitoquímicos, identificaron metabolitos secundarios, entre ellos compuestos fenólicos, flavonoides, ácidos grasos y aminoácidos. El artículo concluye afirmando que el hinojo forma parte de una fuente importante de la medicina tradicional, proporcionando una base notable para la biología farmacéutica.

También Pratz (2018) en su revisión exhaustiva sobre la actividad farmacológica de *Foeniculum vulgare*, indica que muchos estudios realizados en modelos *in vitro* e *in vivo*, demostraron la capacidad del hinojo para exhibir actividades antifúngicas, antibacteriano, antioxidante, ansiolítico, antihipertensivo, entre otros, respaldando su uso terapéutico, y atribuirles su actividad farmacológica a sus compuestos fenólicos.

Abdurazak (2015) estudió las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill., y su actividad diurética en ratas, utilizando extractos acuosos y metanólicos al 80 %. Para el estudio se formaron ocho grupos: el grupo control tratado con agua destilada 10 mL/kg, el grupo de referencia con hidroclorotiazida (10 mg/kg) y a los grupos de prueba se les administró el extracto por vía oral a dosis de 100, 200 y 400 mg/kg. La orina producida fue recolectada por 24 h. Los resultados presentaron que las ratas tratadas con las dosis de 200 y 400 mg/kg de ambos extractos, muestran un aumento significativo del volumen urinario, siendo el extracto acuoso el que evidenció mejores resultados en comparación con el metanólico. Asimismo, los principales metabolitos secundarios identificados, fueron los flavonoides, taninos, terpenoides y alcaloides los cuales podrían ser responsables de la actividad diurética observada.

El Bardai *et al.* (2001) estudiaron la actividad antihipertensiva del extracto acuoso de *Marrubium vulgare* y *Foeniculum vulgare* en ratas hiper y normotensas. Los resultados muestran que la administración oral de los extractos redujo la presión arterial en las ratas espontáneamente hipertensas, pero no en las normotensas. La administración del extracto de *Foeniculum vulgare* aumentó la excreción de agua, sodio y potasio, mientras que el *Marrubium vulgare* inhibió las respuestas contráctiles de la aorta de las ratas. Debido a que los efectos vasculares de *Foeniculum vulgare* fueron menores que los de *Marrubium vulgare*, se indica que la actividad hipotensora de *Foeniculum vulgare* parece estar mediada por su actividad diurética y natriurético, mientras que *Marrubium vulgare* actuó como un relajante muscular.

También Barros *et al.* (2009) evaluaron el potencial antioxidante de diferentes partes de *Foeniculum vulgare* Mill., el estudio fue realizado sobre los brotes, hojas, tallos e inflorescencia del hinojo. Los resultados muestran que los brotes parecen tener la mayor actividad de eliminar los radicales libres, lo que concuerda con el mayor contenido de fenoles ($65,85 \pm 0,74$ mg/g) y ácido ascórbico ($570,89 \pm 0,01$ µg/g), también los brotes revelaron una alta concentración de tocoferoles ($34,54 \pm 1,28$ µg/g) y fueron la única parte con flavonoides.

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Camasca (2012) desarrolló un estudio sobre la demanda y estimación del valor cultural y económico de plantas medicinales comercializadas en la ciudad de Ayacucho, colocando al hinojo como una especie con un alto valor cultural, debido a que sus propiedades medicinales, usada en el tratamiento de cálculos renales, actividad

diurética, se usa también para reducir las inflamaciones, bronquitis y es buen expectorante. La forma de uso de esta planta medicinal es a través de la infusión de las hojas y tallos, mientras que la actividad antiinflamatoria se obtiene mediante el lavado de las partes afectadas con una infusión de las hojas, estas actividades se le atribuyen al alto contenido que metabolitos secundarios presentes en la planta, entre los que destacan los compuestos fenólicos. Es así que en una revisión de varios autores realizada por Badgujar *et al.* (2014) sobre el contenido de fitoconstituyentes de *Foeniculum vulgare* M. describieron la presencia de flavonoides como es la quercetina, kaempferol, isoramnetina y eriodictiol como heterósidos acoplados a moléculas de glucosa, rutina, galactora, arabinosa y glucurónico.

También Lucana (2018) estudió el *Foeniculum vulgare* Mill. y pudo demostrar que una dosis de 20 mg/kg de su extracto hidroalcohólico administrado en ratas *Rattus norvegicus* presentó un efecto hipolipemiente estadísticamente similar a la atorvastatina. Además, su estudio incluyó la identificación de flavonoides utilizando la metodología de cromatografía de capa fina, metabolitos a los cuales se les atribuyen sus propiedades hipocolesterolemiantes.

Arotinco y Delgado (2020) evaluaron la actividad ansiolítica y antidepresiva que tiene el aceite esencial de las semillas de *Foeniculum vulgare* Mill. al ser administrado en ratones albinos. El aceite esencial fue obtenido a través de la hidrodestilación, y mientras que la actividad ansiolítica y antidepresiva fueron evaluadas con los métodos de enterramiento de esferas y el método de natación forzada, utilizando dosis de aceite esencial de 2,5; 5 y 10 mg/kg, administrados por vía oral. Los resultados muestran que el aceite esencial a dosis de 10 mg/kg inhibe la ansiedad en un 98 %, un valor bastante elevado en comparación con el diazepam que fue de 37 %. Mientras que la actividad antidepresiva a la misma dosis alcanzó un 62 %, también muy superior a la fluoxetina, con la cual se obtuvo un 43 % de inhibición. El estudio concluye que el aceite esencial de hinojo presenta actividad ansiolítica y antidepresiva a dosis de 2,5; 5 y 10 mg/kg.

Jaramillo (2021) realizó un estudio sobre la actividad diurética del extracto acuoso de las flores de *Cordia lutea* L. (Flor de overo) en *Rattus rattus var. albinus*. El estudio fue desarrollado a través de un diseño experimental, para lo cual se formaron tres grupos (problema, control y blanco). Los animales fueron sometidos a ayuno por 18 h, previos al desarrollo del estudio. El grupo problema fue tratado con 0,7 mL del

extracto al 20 %, mientras que el grupo control recibió furosemida (1 mg/kg), finalmente el grupo blanco fue tratado solo con cloruro de sodio. Se registró la orina excretada a intervalos de 30, 60, 90 y 360 minutos. Los resultados mostraron que el volumen urinario promedio del extracto acuoso fue de 2,25 mL, mientras que con la furosemida se obtuvo 7,1 mL y con el suero fisiológico fue de 1,6 mL. Concluye que el extracto acuoso de la flor de overo, presenta efecto diurético en *Rattus rattus*.

Sovero y Apaestegui (2020) desarrollaron también un estudio sobre la actividad diurética, evaluaron el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Asclepia curassavica* L. (globito) en ratas albinas Holtzman. En su estudio se realizó una extracción hidroalcohólica usando alcohol al 65 % y macerado durante 10 días, y se prepararon concentraciones de 10, 25 y 40 % del extracto, los cuales fueron administrados en las ratas, tras 18 horas de ayuno. Se formaron 6 grupos de prueba, donde el primer grupo no recibió ningún tratamiento, mientras que los otros 5 grupos fueron hidratados 20 minutos antes de administrar los tratamientos, los cuales incluyeron las concentraciones de los extractos y la furosemida a 8 mg/kg, se recolectó la orina a las 1, 2, 3, 4, 5 y 6 horas. Los resultados mostraron que el volumen de orina promedio recolectado fue de 4,8; 5,8 y 6,23 mL para cada concentración del extracto usado, mientras que con la furosemida se obtuvo un volumen de orina de 6,85 mL. El estudio concluye afirmando que el extracto de las hojas de *Asclepia curassavica* L. presenta actividad diurética significativa, aunque inferior a la furosemida.

2.1.3. Antecedentes Locales

A nivel de nuestra región, también se llevaron a cabo algunos estudios sobre el hinojo, como el de Ochoa (2017), quien evaluó el efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill., en ratones. El autor empleó el método de rojo fenol para secreción traqueobronquial *in vitro*, usando dosis de 50, 100, 200 y 400 mg/kg, además incluyó un grupo blanco y bromhexina (25 mg/kg) como control estándar. El efecto expectorante basado en el porcentaje de absorbancia fue de 14,7 %; 33,9 %; 60,8 % y 70,5 %; respectivamente para cada dosis evaluada, mientras que el estándar alcanzó un efecto del 64,7 %. El estudio concluye que el hinojo presenta efecto expectorante en ratones.

También está la investigación de Arango (2020), quien estudió el efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Baccharis peruviana* Cutrec. “taya”, además del dosaje de electrolitos utilizando cobayos. En su estudio realizó una

preparación del extracto con alcohol al 80 %, además de conformaron seis grupos de trabajo, el grupo I fue el grupo control, el grupo II y III recibieron furosemida y espironolactona, mientras que los grupos IV, V y VI recibieron dosis de 100, 200 y 400 mg/kg del extracto. Se calculó el porcentaje del efecto diurético y el dosaje de electrolitos (sodio, potasio y cloro) por el método de ion selectivo. Los porcentajes del efecto diurético para las tres concentraciones del extracto fueron de 13,8 %; 36,7 % y 61,2 % respectivamente, mientras que la furosemida alcanzó un 82,8 % y la espironolactona 63,8 %. El estudio concluye que el extracto de las hojas de taya presenta actividad diurética.

Llantoy (2015) también determinó la actividad diurética, de la especie *Ocimum basilicum* L. “albahaca” en cobayos. En su estudio se conformaron cinco grupos experimentales. El grupo control fue tratado con cloruro de sodio, al grupo 2 se le administró furosemida, mientras que los grupos 3, 4 y 5 recibieron dosis del extracto de 100, 200 y 400 mg/kg de peso. Los resultados muestran que las dosis de los extractos tuvieron un porcentaje de excreción volumétrica de 58 %; 95,2 % y 101,2 % respectivamente, mientras que la furosemida registró un 102,6 %. El trabajo concluye que el extracto hidroalcohólico de la albahaca presenta actividad diurética en cobayos.

Existen diferentes estudios que evalúan la actividad diurética de especies vegetales potencialmente terapéuticas, como las que se han ido mencionando, y en las que refieren el uso de furosemida y espironolactona como medicamentos de referencia. Pero también están los que usaron la hidroclorotiazida como el descrito por Arcce (2024), quien estudió sobre el efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de la mazorca del maíz morado en ratas albinas. En su investigación se preparó el extracto hidroalcohólico utilizando alcohol al 70 % en una proporción de 1 en 10, y macerando por 10 días, posteriormente se sometió a un proceso de liofilización para su mejor conservación. El método consistió en la formación de seis grupos integrados por seis animales cada uno. Al grupo I, se le administró suero fisiológico, a los grupos II, III y IV, se les administró el extracto a dosis de 125, 250 y 500 mg/kg, mientras que los grupos V y VI, recibieron la hidroclorotiazida y furosemida a dosis de 20 mg/kg. Los resultados muestran que la dosis con mayor porcentaje de excreción volumétrica urinaria fue la de 250 mg/kg con un 48,9 %, mientras que los estándares hidroclorotiazida y furosemida obtuvieron valores de 44,4 % y 94,4 %,

respectivamente. El trabajo concluye refiriendo que el extracto hidroalcohólico liofilizado del maíz morado, presenta efecto diurético.

2.2. Marco Teórico

2.2.1. *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”

2.2.1.1. Clasificación taxonómica de Cronquist. A. (1998)

DIVISIÓN:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE:	ROSIDAE
ORDEN	APIALES
FAMILIA:	APIACEAE
GÉNERO:	<i>Foeniculum</i>
ESPECIE	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.

NOMBRE VULGAR: “hinojo”

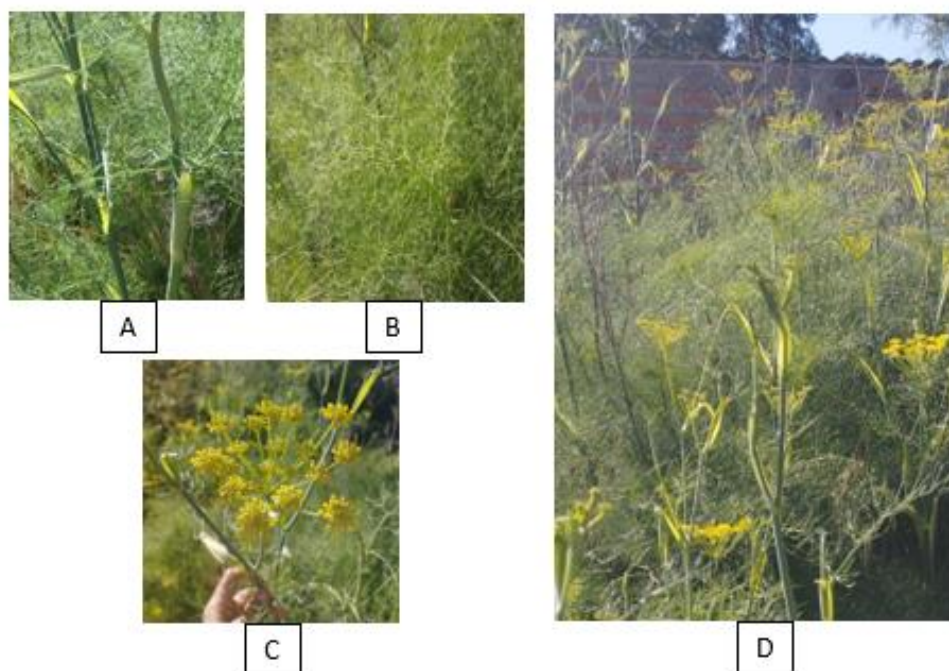
Nota. Constancia emitida por la Blga. Laura Aucasime Medina, especialista en Taxonomía y sistemática de plantas (Anexo 3).

2.2.1.2. Descripción Botánica

Es una planta herbácea aromática, perenne, vertical y ramificada, tiene un follaje suave, plumoso, que crece hasta 2 metros de altura. Presenta un tallo verde brillante, suave y resbaladizo. Sus ramas son verticales y rígidas, con múltiples hojas alternas, ramificadas, cortadas en los segmentos más finos. Las hojas son largas y delgadas, que acaban en forma de aguja. Las flores son bisexuales, regulares y pequeñas, tienen una coloración amarilla brillante, encontrándose en umbelas. El fruto es un esquizocarpo diaquenio, formado por dos mericarpios claramente separados, poseen un color pardo oscuro hasta negruzco. Las semillas del hinojo son pequeñas con una longitud de aproximadamente 8 mm y anchura 3 mm, con olor aromático y sabor dulce. Las semillas son estrechas, largas, ligeramente curvadas, tienen un color amarillo verdoso, parecido al heno, por lo cual proviene la denominación de hinojo (Badguar, 2014; Cervantes, 2019; Kooti *et al.*, 2015).

Figura 1.

Foeniculum vulgare Mill. A) Tallos; B) hojas; C) inflorescencia y flores; D) cultivos de hinojo.



Nota. Elaboración Propia

2.2.1.3. Distribución y Hábitat

El hinojo se originó en la región sur del Mediterráneo. Crece forma cultivada y silvestre, específicamente en Asia, América del Norte y Europa. Esta especie vegetal fue ampliamente conocida por los antiguos egipcios, romanos, indios y chinos (Badguiar, 2014). En el Perú, es cultivada en huertos, jardines, bordes de chacras y puede crecer espontáneamente en terrenos modificados y alternados (Carrión, 2010).

2.2.1.4. Composición Química

El hinojo es cultivado ampliamente por sus frutos y semillas comestibles, los cuales son una de las fuentes más altas de potasio, sodio, fósforo y calcio. Los hidratos de carbono son muy abundantes en todas sus partes, pueden variar de 18,44 a 22,82 g/100 g; las semillas de hinojo contienen 6,3 % de agua, 9,5 % de proteínas, 10 % de grasas, 13,4 % de minerales y 42,3 % de carbohidratos. Sus hojas contienen vitaminas y minerales como calcio, potasio, sodio, hierro, fósforo, tiamina, riboflavina, niacina y vitamina C, entre otros. Los frutos presentan de un 10 a 12 % de aceite almacenado en los cotiledones de las semillas. El aceite obtenido del hinojo presenta 4 % de ácido palmítico, 22 % de ácido oleico, 14 % de ácido linoleico y 6 % de ácido petroselinico.

Existen más de 30 tipos de compuestos terpénicos en el aceite esencial de hinojo, siendo los más relevantes el trans-anetol (50 a 80 %), el fenchona (8 %) y el limoneno (5 %). Esta hierba también contiene compuestos fenólicos, como flavonoides, ácidos fenólicos, ácidos hidroxicinámicos, cumarina y taninos (Badguar, 2014; Kooti *et al.*, 2015). Entre los ácidos fenólicos se incluye el ácido 3-O-cafeoilquínico, ácido 4-O-cafeoilquínico, ácido clorogénico, ácido gálico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido cinámico (Badguar, 2014; Kooti *et al.*, 2015). Se identificaron y cuantificaron alrededor de 21 ácidos grasos, entre los cuales destacan el ácido caproico, ácido caprílico, ácido cáprico, ácido láurico, ácido miristoleico entre otros (Badguar, 2014).

2.2.1.5. Uso Medicinal

Los tallos, frutos, hojas, semillas y en sí todas las partes del hinojo han sido utilizadas con mucha frecuencia para tratar diversas dolencias. En varios países a nivel mundial, como Bolivia, Brasil, Ecuador, Etiopía, India, Irán, Italia, México, Pakistán, Portugal, España, Sudáfrica, el hinojo es aplicado en la etnomedicina para el tratamiento de más de 43 tipos de dolencias. Se emplean en casos que van desde la tos, resfrío o heridas leves, hasta dolencias renales e incluso del cáncer. Entre la serie de enfermedades que pueden ser tratadas con el hinojo se encuentran, dolores abdominales, como antiemético, artritis, cólicos, conjuntivitis, estreñimiento, depurativo, diarreas, diuresis, fiebre, flatulencias, gastralgia, gastritis, insomnio, colon irritable, enfermedades renales, laxante, úlceras bucales y dolor de hígado (Badguar, 2014).

2.2.1.6. Fitoquímica

Diversas investigaciones fitoquímicas realizadas sobre el hinojo, han logrado aislar diversos compuestos como son los ácidos grasos, compuestos fenólicos, hidrocarburos, compuestos volátiles y entre otros metabolitos secundarios. Encontrándose la mayoría de estos en sus aceites esenciales, sin embargo, también presenta un alto contenido en sus demás partes (Badguar, 2014).

Compuestos Fenólicos.

Los compuestos fenólicos constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de las plantas, se biosintetizan por medio de rutas como la del ácido shikimico o la del acetato-malonato (Martin, 2018). Los compuestos fenólicos intervienen en el crecimiento y reproducción de las plantas, también participan en procesos de defensa frente a patógenos, predadores o radiación UV, y les brindan el

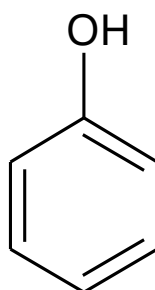
sabor y la coloración característica (Navarro, 2017). Los compuestos fenólicos están constituidos por una estructura molecular común, presenta uno o más grupos hidroxilos (-OH), unidas a un anillo aromático (grupo fenol), y al cual se adhieren diferentes grupos funcionales destacándose los ésteres, metil-ésteres, glicósidos. Es así que en este grupo de metabolitos pueden encontrarse moléculas sencillas como los ácidos fenólicos, hasta polímeros complejos como los taninos condensados y la lignina (Martin, 2018; Navarro, 2017; Rojas, 2021).

En la actualidad cerca de 8000 compuestos fenólicos han sido reconocidos, siendo clasificados como flavonoides (que incluyen flavanoles, flavanonas, flavonoles, flavonas, isoflavonoides y antocianinas) y no flavonoides (entre los que están ácidos hidroxibenzoicos y ácidos hidroxicinámicos) (Navarro, 2017).

El extracto de hinojo está constituido por una alta variedad de compuestos fenólicos, muchos de ellos con actividad antioxidante y propiedades hepatoprotectoras. Lo que ha generado gran interés por los nutricionistas, científicos de los alimentos y consumidores, debido a su impacto positivo en la salud humana (Badguar, 2014).

Figura 2

Estructura química de un fenol



(Hidroxibenceno)

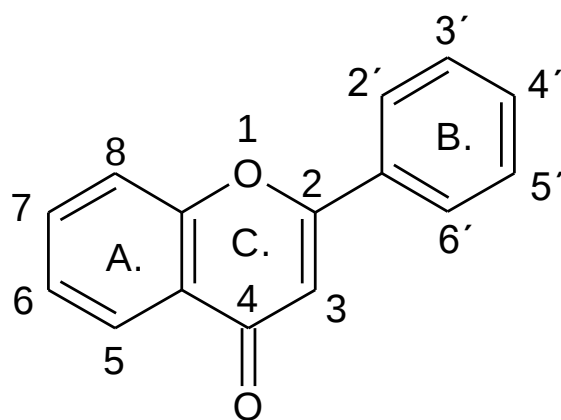
Nota. Tomado de Carrion y candia, 2010.

Flavonoides.

Constituyen un grupo amplio de los fenoles naturales, se encuentran tanto agliconas libres o en forma de heterósidos. Los flavonoides están ampliamente distribuidos en las partes aéreas como son las hojas, flores o frutos de las plantas superiores. Estos compuestos bioactivos, proceden de la ruta del ácido shikimico un tipo de metabolismo secundario (Carrión, 2010).

Figura 3

Estructura molecular base de los flavonoides



(2-fenil-1,4-benzopirona)

Nota. Tomado de Carrión y Candida, 2010.

Los flavonoides son abundantes en la familia apiaceae. Siendo aisladas del hinojo flavonoide como eridictyrol-7-rutinoside, quercetin-3-arabinósido, ácido rosmarínico. También se han identificado en el hinojo flavonoides como la quercetina-3-glucurónido, isoquercitrina, quercetina-3-arabinósido, kaempferol-3-glucurónido y kaempferol-3-arabinósido, e isorhamnetin glucósido, Quercetina-3-O-galactosido, kaempferol-3- O -rutinósido, y kaempferol-3- O- glucósido. Estos flavonoides exhiben notable actividad antinociceptiva y antiinflamatoria. Además, la quercetina, la rutina y la isoquercitrina tienen actividad inmunomoduladoras (Badguar, 2014).

2.2.2. Fisiología Renal

El sistema urinario permite que el organismo mantenga su homeostasis debido a las diversas funciones que desempeña. Está formado por dos riñones y un sistema colector de orina: cálices menores, cálices mayores, pelvis renal, uréteres, una vejiga y una uretra. La fisiología renal está diseñada de tal forma que mantenga un flujo de orina unidireccional. Este flujo hace que la orina, la cual tiene como lugar de formación en los riñones, pase a través de los uréteres a la vejiga urinaria, donde se almacena, para finalmente ser eliminada a través de la uretra. Esta actividad es llevada a cabo por la amplia vascularización que presentan los riñones, además presenta una destacada innervación de fibras nerviosas simpáticas (Carracedo y Ramírez, 2014).

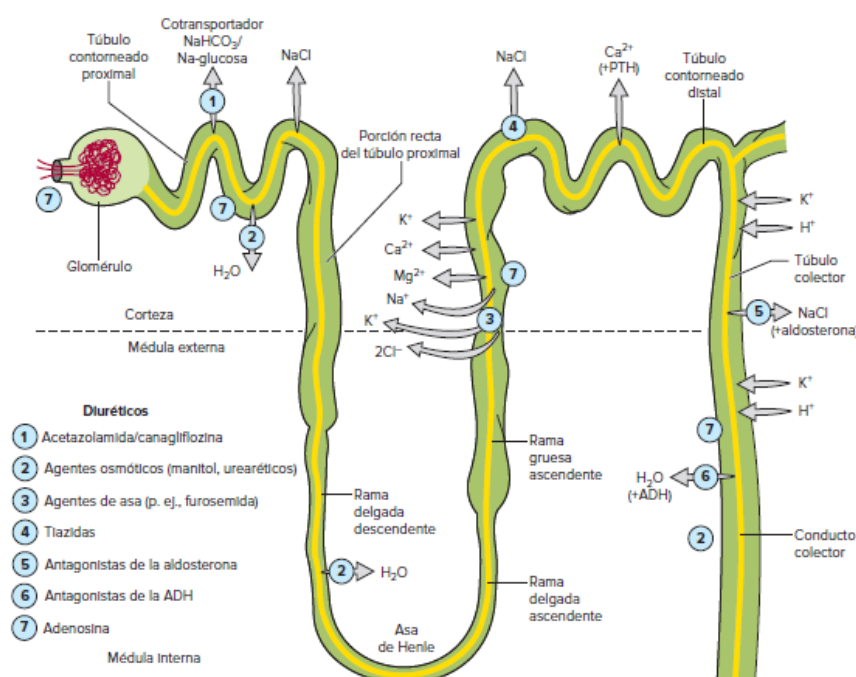
Los riñones tienen como unidad funcional a la nefrona, la cual está constituido por dos partes. El glomérulo, donde se produce la ultrafiltración del plasma, formándose

el filtrado glomerular, y los túbulos, que, mediante procesos de reabsorción y secreción, convierten el filtrado en orina.

A través de la filtración glomerular y los procesos de reabsorción y secreción tubular, la nefrona realiza sus funciones primordiales, que son la excreción de productos de desecho derivados del metabolismo (urea, creatinina y otros) y sustancias extrañas (fármacos), regulación del balance hídrico, equilibrio de electrolitos y equilibrio ácido-básico. Entre otras funciones que desempeña los riñones se encuentran la secreción de eritropoyetina y la regulación de la presión arterial, a través de la volemia y la secreción de renina, además de la gluconeogénesis y el catabolismo de algunas hormonas (Laso, 2010).

Figura 4

Sistema de transporte de los túbulos y los sitios de acción de los diuréticos. ADH: Hormona antidiurética; PTH: Hormona paratiroidea.



Nota. Tomado de Katzung, 2019, p.255.

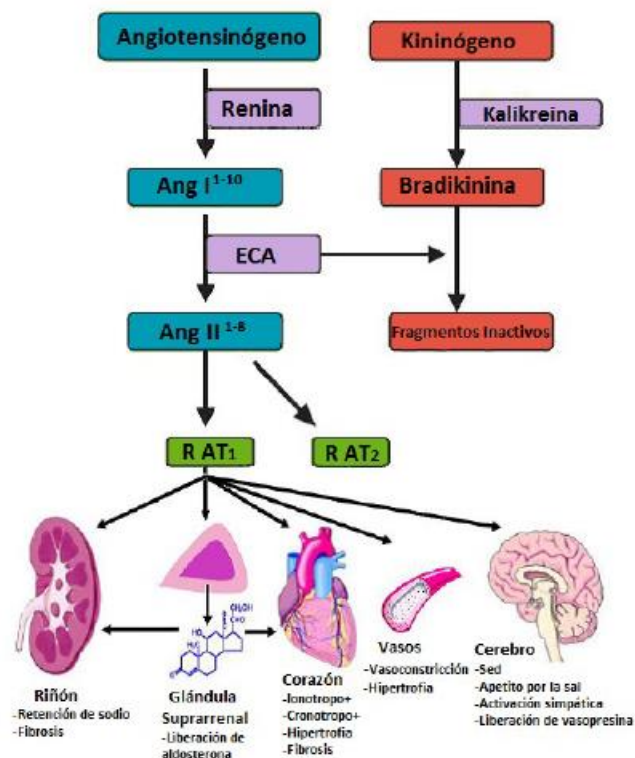
2.2.2.1. Regulación de la Presión Arterial

La presión arterial es regularizada a través de diversos mecanismos a corto, mediano y largo plazo, siendo la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona una de las más importantes. La renina es producida y secretada por los riñones, específicamente por las células yuxtaglomerulares del riñón, cuando los niveles de presión arterial disminuyen. Esta enzima es secretada al torrente sanguíneo,

convirtiendo el angiotensinógeno en angiotensina I, la cual es relativamente inactiva. Posteriormente interviene la enzima convertidora de angiotensina (IECA), dando lugar a la angiotensina II una hormona muy activa, que produce la contracción de las paredes vasculares de las arteriolas, aumentando la presión arterial. También la angiotensina II, estimula la liberación de aldosterona a nivel de la corteza suprarrenal y de la vasopresina por parte de la hipófisis. La aldosterona y la vasopresina provocan la retención de sodio y agua por parte de los riñones, aumentando el volumen sanguíneo y la presión arterial (Nieto, 2011; Botey, 2006).

Figura 5

Sistema renina-angiotensina-aldosterona clásico. Angiotensina (Ang); Enzima convertidora de angiotensina (ECA); Receptor de la angiotensina tipo 1 (R AT1) y receptor de la angiotensina tipo 2 (R AT2).



Nota. Tomado de Ponce y Ponce, 2012, p. 289.

2.2.3. Fármacos Diuréticos

Los diuréticos son agentes que incrementan el volumen y la excreción urinaria. Esta acción se debe al aumento de la excreción renal de sodio y electrolitos, la reducción de la reabsorción de agua, la inhibición enzimática o la interferencia con receptores hormonales en las células epiteliales renales (Katzung, 2019).

2.2.3.1. Farmacología de los Agentes Diuréticos

Una de las razones comunes para utilizar agentes diuréticos es la disminución del edema periférico o pulmonar, el cual es el resultado de enfermedades cardíacas, renales o vasculares que reducen el flujo sanguíneo al riñón, como en el caso de la insuficiencia cardíaca y la cirrosis hepática. Debido a las acciones diuréticas y vasodilatadoras que presentan estos fármacos, algunas clases son empleadas en el tratamiento de la hipertensión esencial, así como en la nefrolitiasis y la hipercalcemia (Katzung, 2019; Velázquez, 2017).

Entres la clasificación de diuréticos se considera:

- **Inhibidores de la anhidrasa carbónica:** Mitigan la reabsorción de HCO_3 en el túbulo contorneado proximal, causando diuresis. Dentro de este grupo se encuentra la acetazolamida (Katzung, 2019).
- **Inhibidores del cotransportador de sodio y glucosa 2 (SGTL2):** Bloquean los cotransportadores de sodio y glucosa, impiden la reabsorción de la glucosa a nivel de los túbulos contorneados proximales, ocasionando glucosuria. Dentro de este grupo se fármacos se encuentran empagliflozina, canagliflozina, ipragliflozina, entre otros.³¹
- **Diuréticos de asa:** Inhiben al cotransportador NKCC2, los cuales facilitan el cotransporte de sodio, potasio y cloro, a nivel de la rama gruesa ascendente del asa de Henle. Al inhibir este cotransportador los diuréticos de asa reducen la reabsorción de cloruro de sodio. Dentro de este grupo se encuentran la furosemida, torsemida, ácido etacrínico (Katzung, 2019).
- **Tiazidas:** Inhiben la reabsorción del cloruro de sodio, desde el lado luminal de las células epiteliales en el túbulo contorneado distal al bloquear el transportador de Na^+/Cl^- . Los fármacos de este grupo son hidroclorotiazida, clorotiazida, hidroflumetiazida, etc (Katzung, 2019).
- **Diuréticos ahorradores de potasio:** Reducen la absorción de Na^+ en los túbulos y conductos colectores, además previenen la secreción de K^+ antagonizando los efectos de la aldosterona en los túbulos colectores. Ejemplo, Espironolactona, amilorida, eplerenona (Katzung, 2019).
- **Diuréticos osmóticos:** Presentan sus efectos en los túbulos proximales y la rama descendente del asa de Henle. Impiden que se reabsorba el agua al interponer una

fuerza osmótica contraria, dando como resultado que el volumen de orina aumente. El diurético osmótico prototipo es el manitol (Katzung, 2019).

- **Antagonistas de la hormona antidiurética:** Inhiben los efectos de la hormona antidiurética en el túbulo colector. El conivaptán y el tolvaptán son antagonistas directos del receptor de la hormona antidiurética, mientras que el demeclociclina reduce cAMP inducido por la hormona antidiurética por mecanismo desconocidos (Katzung, 2019).

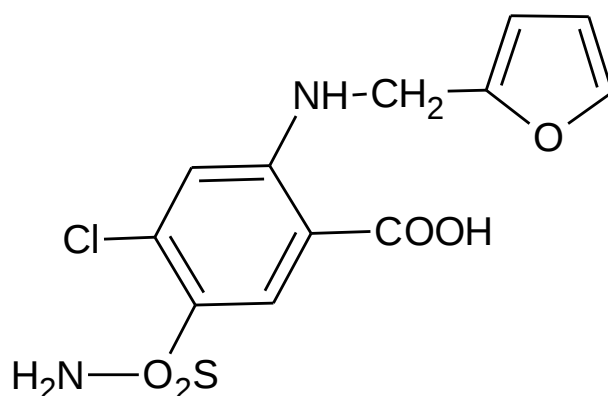
a) Furosemida.

La furosemida es un diurético del asa que presenta una estructura sulfamídica.

Mecanismo de Acción: Una de las principales razones para emplear agentes diuréticos es la reducción del edema periférico o pulmonar, el cual suele originarse en enfermedades cardíacas, renales o vasculares que disminuyen el flujo sanguíneo renal, como ocurre en la insuficiencia cardíaca y la cirrosis hepática. Además, gracias a sus efectos diuréticos y vasodilatadores, algunas clases de estos fármacos se utilizan en el tratamiento de la hipertensión esencial, así como en la nefrolitiasis y la hipercalcemia (Katzung, 2019; Velázquez, 2017).

Figura 6.

Estructura química de la furosemida



(Ácido 5-(aminosulfonil)-4-cloro-2-[(2-furanilmetil)amino]benzoico)

Nota. Tomado de Katzung, 2019.

La furosemida debido a que actúa reduciendo la volemia y el aumento de la eliminación del sodio, muestra un marcado efecto antihipertensivo, de igual forma se ha descrito que presenta un efecto vasodilatador (relajación de la fibra lisa vascular), aún desconocido (Goodman y Gilman, 2019; Velazquez, 2017).

Farmacocinética: La furosemida presenta una absorción rápida, con un t_{max} de 1–1,5 h y una biodisponibilidad del 50–70 %. La ingesta de alimentos puede producir una ligera reducción de la c_{max} y un retraso del t_{max} (≈ 2 h); por ello, se recomienda su administración en ayunas. Este fármaco presenta una elevada unión a proteínas plasmáticas (≈ 98 %), principalmente a la albúmina, y un volumen de distribución (V_d) de 0,1–0,2 L/kg. Atraviesa la placenta y sufre un metabolismo parcial, dando lugar al metabolito ácido 4-cloro-5-sulfamoilantranílico y a un metabolito glucuronado. La eliminación ocurre principalmente por vía renal (60–70 %), de los cuales alrededor del 50 % se excreta sin cambios, mientras que el resto se elimina en las heces. Su semivida ($t_{1/2}$) es de 1–1,5 h (Goodman & Gilman, 2019; Velázquez, 2017).

Reacciones Adversas: Las reacciones adversas de la furosemida son dosis dependientes, lo cual constituye una consecuencia natural de su propia actividad farmacológica. Entre las RAM muy frecuentes se encuentran el aumento de creatinina sérica, la deshidratación, la hipovolemia y la hipertrigliceridemia. Entre las reacciones frecuentes se incluyen la poliuria, la hiponatremia, la hipocloremia, la hipopotasemia, la hiperuricemia y la gota. Finalmente, entre las poco frecuentes se han descrito náuseas, prurito, urticaria, erupciones cutáneas, dermatitis, reacciones de fotosensibilidad, ototoxicidad e hipocalcemia (Goodman & Gilman, 2019; Velázquez, 2017).

b) Hidroclorotiazida

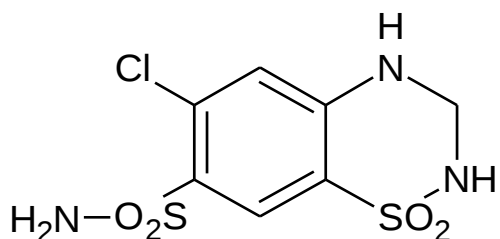
Mecanismo de Acción: Como diurético tiazídico, la hidroclorotiazida favorece la eliminación de electrolitos, principalmente sodio y cloro, junto con agua. Aunque su mecanismo de acción no está completamente definido, se acepta que a nivel de la nefrona inhibe el cotransportador de sodio y cloro en los túbulos contorneados distales, lo que incrementa la carga osmótica del filtrado y, en consecuencia, favorece la excreción de agua (Goodman & Gilman, 2019; Velázquez, 2017).

Debido a la menor carga de sodio y agua que alcanza el sitio de acción de la hidroclorotiazida como consecuencia de la reabsorción previa en el asa de Henle, este diurético tiazídico elimina un volumen relativamente menor de agua y sodio. No obstante, su efecto es superior al de los diuréticos ahorradores de potasio, favoreciendo la excreción del 5–10 % del sodio filtrado (Goodman & Gilman, 2019; Velázquez, 2017).

A corto plazo, la hidroclorotiazida produce una disminución de la volemia. Sin embargo, a largo plazo activa el sistema renina-angiotensina-aldosterona, lo que restablece el volumen plasmático a niveles basales. Además, por su acción vasodilatadora directa, la hidroclorotiazida reduce la resistencia periférica, ejerciendo así efectos antihipertensivos (Goodman & Gilman, 2019; Velázquez, 2017).

Figura 7

Estructura química de la espironolactona



(6-Cloro-3,4-dihidro-2H-1,2,4-benzotiadiazino-7-sulfonamida 1,1-dióxido)

Nota. Tomado de Katzung, 2019.

Farmacocinética: La hidroclorotiazida presenta una buena absorción tras su administración por vía oral, aunque esta puede retrasarse en presencia de alimentos. Su biodisponibilidad es de 60–80 %, con una Cmax alcanzada entre 1,5 y 2,5 h. Los efectos diuréticos aparecen alrededor de las 2 h tras la administración, alcanzan su máximo entre las 3 y 6 h, y tienen una duración de 6–12 h. El efecto antihipertensivo se observa a partir del tercer o cuarto día de tratamiento. Presenta una baja unión a proteínas plasmáticas (40 %) y un volumen de distribución de 3–4 L/kg. La hidroclorotiazida se elimina principalmente en forma inalterada por la orina (50–70 %) y tiene una semivida de 10–12 h (Goodman & Gilman, 2019; Velázquez, 2017).

Reacciones Adversas: La hidroclorotiazida suele ser bien tolerada en dosis bajas, aunque se han descrito reacciones adversas frecuentes, principalmente relacionadas con los trastornos hidroelectrolíticos derivados de la pérdida de electrolitos y metabolitos. Entre las RAM se incluyen náuseas, vómitos, dolor abdominal, mialgias, astenia, visión borrosa y sequedad ocular. También son comunes la hipopotasemia, hiponatremia, hipomagnesemia, alcalosis hipoclorémica e hipotensión. Asimismo, se ha observado un aumento del nitrógeno ureico y casos de hipercalcemia e hiperglucemia moderada (Goodman & Gilman, 2019; Velázquez, 2017).

2.3. Marco Conceptual

2.3.1. Extracto Hidroalcohólico

Es el producto que se obtiene al mezclar un material vegetal triturado con un disolvente hidroalcohólico, mediante técnicas específicas como la maceración o la percolación. Al final del proceso se obtiene, por un lado, el sólido agotado y, por otro, un extracto constituido por el disolvente y las sustancias disueltas en él (Tituaña *et al.*, 2018).

2.3.2. Liofilización

La liofilización, o secado por congelación, es un proceso en el cual el producto a secar se congela mediante la exposición a temperaturas muy bajas y posteriormente se coloca en una cámara de vacío, donde el solvente se sublima y elimina (El Naker, 2021). Este método se emplea especialmente en productos sensibles al calor, siendo el más adecuado para la conservación de extractos de plantas medicinales. El proceso comprende tres etapas principales: la congelación hasta aproximadamente $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, la sublimación y la desorción (Ramírez, Cortes e Hincapié, 2019).

2.3.3. Efecto Diurético

Es la capacidad que presentan los extractos vegetales medicinales, para incrementar tanto la excreción de agua y marcadores diuréticos (concentraciones de sodio y potasio en la orina) similares a los fármacos diuréticos utilizados en la práctica clínica (Angappan, 2018; Arroyo y Cisneros, 2012). Contribuyendo así con la reducción de la morbilidad y mortalidad cardiovascular, involucrada en diferentes afecciones como son la hipertensión arterial, insuficiencia cardiaca, síndrome nefrótico, entre otros (Arroyo y Cisneros, 2012).

2.4. Marco Ético y Legal

Para garantizar el bienestar de los animales de investigación utilizados en el estudio, se aplicaron los principios internacionales que guían el uso responsable de animales en la actividad científica, establecidos por el Consejo Internacional de Organizaciones de las Ciencias Médicas (CIOMS) y el Consejo Internacional para la Ciencia de Animales de Laboratorio (ICLAS) (2012). Estos principios, descritos en la *International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals*, se centran en minimizar el sufrimiento y el estrés en los animales mediante la aplicación del principio de las Tres Erres: reemplazo, reducción y refinamiento.

Dentro de las normas nacionales vigente, el 8 de enero de 2016, se aprobó la Ley N° 30407 – Ley de Protección y Bienestar animal, el cual tiene por finalidad proteger la vida y la salud de los animales de granja y animales silvestres en cautiverio, o cuando son utilizados en experimentación, investigación o docencia. Donde nuestra investigación se acogió a lo que establece dicha Ley.

También se tomó en cuenta las directrices internacionales como la ARRIVE 2.0 (2020), la cual consiste en una lista de comprobación de la información a incluir en las publicaciones de investigación con animales. Estas directrices aseguran que los estudios cuenten con suficientes detalles como para aumentar la base del conocimiento.

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Alcance de Investigación

La investigación es de tipo básica experimental (Hernández, 2018).

3.2. Diseño de Investigación

El diseño de investigación planteado es con posprueba únicamente y grupo control (Hernández, 2018), que en forma simbólica se presenta de la siguiente manera:

$$\begin{array}{ccc} RG_1 & --- & O_1 \\ RG_2 & X & O_2 \end{array}$$

Donde, RG son los grupos experimentales, X es la administración de los tratamientos, O es la observación del efecto y $---$ es la ausencia del estímulo.

3.3. Unidad de Análisis

Orina recolectada de las ratas albinas macho cepa Wistar, con 200 ± 20 g de peso corporal, que fueron adquiridas en el Instituto Nacional de Salud, una semana antes al desarrollo del estudio para su adecuación a las condiciones del laboratorio.

3.4. Población de Estudio

Hojas *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, que fueron recolectas en la provincia de Huamanga en la región Ayacucho

3.5. Muestra

Dos kilogramos de hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, recolectadas en la provincia de Huamanga en la región de Ayacucho.

3.6. Criterios de Selección

3.6.1. Criterios de Inclusión:

- Las hojas deben presentar una coloración característica.
- Las hojas se encuentren libres de contaminación bacteriana, hongos o cualquier tipo de impurezas.
- Las hojas no deben presentar estados de descomposición o putrefacción.

3.6.2. Criterios de Exclusión:

- Hojas de coloración amarilla y oscura.

- Hojas con alguna plaga presente.
- Hojas maltratadas y sucias.

3.7. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

Las fases que involucraron el desarrollo de la investigación fueron:

- Selección, recolección, desecación e identificación del material vegetal.
- Obtención del extracto hidroalcohólico liofilizado.
- Tamizaje fitoquímico
- Determinación de la actividad diurética

3.7.1. Selección, Recolección, Desecación e Identificación del Material Vegetal

Se seleccionaron hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” que cumplieran con los criterios de inclusión y exclusión, recolectadas mediante un muestreo por conveniencia en horas de la mañana y trasladadas al laboratorio de Toxicología de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Una muestra fue remitida para su identificación taxonómica por una especialista en taxonomía y sistemática de plantas (Anexo 3). Las hojas fueron lavadas con abundante agua y secadas durante diez días a la sombra, extendidas en una capa delgada sobre papel kraft, hasta lograr un secado uniforme (Arcce, 2024).

3.7.2. Obtención del Extracto Hidroalcohólico Liofilizado

Las hojas lavadas y secas fueron trituradas en un molino hasta obtener un polvo fino. Se pesaron 500 g de muestra pulverizada, la cual fue sometida a maceración durante siete días en un frasco de vidrio con alcohol al 70 % (1:9), agitándose diariamente durante al menos 30 minutos y conservándose en un lugar fresco y oscuro. Pasado el tiempo de maceración, el extracto fue filtrado mediante papel filtro, desechando el residuo y conservando únicamente el filtrado. Posteriormente, el extracto filtrado fue concentrado en baño maría y secado a 40 °C en una estufa, hasta lograr un secado completo (Cervantes, 2019).

3.7.3. Tamizaje Fitoquímico

Se realizó según el procedimiento propuesto por Miranda (1996), consistente en reacciones de coloración y precipitación para identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto obtenido (Anexo 8).

3.7.4. Determinación de la Actividad Diurética

El efecto diurético fue evaluado según el método propuesta por Lipschitz *et al*, (1943, como se citó en Arroyo y Cisneros, 2012, p. 91).

- Para el estudio se utilizaron 36 ratas albinas de peso 190 ± 10 g, las cuales tuvieron una aclimatación previa de siete días, en condiciones de iluminación y temperatura estándar, con acceso a agua y alimento a libertad.
- Los animales de prueba fueron pesados, identificados y clasificados aleatoriamente, formando seis grupos, conformado por seis animales cada uno, el cual es representado de la tabla 1.

Tabla 1

Distribución de grupos.

Grupos	Tratamientos	Dosis
1	Suero fisiológico al 0,9 %	50 mL/kg
2	Extracto hidroalcohólico liofilizado	100 mg/kg
3	Extracto hidroalcohólico liofilizado	200 mg/kg
4	Extracto hidroalcohólico liofilizado	400 mg/kg
5	Hidroclorotiazida	20 mg/kg
6	Furosemida	20 mg/kg

- Los animales de prueba fueron sometidos a ayuno durante 18 horas, posteriormente fueron hidratados por vía oral con suero fisiológico a 50 mL/kg de peso. Simultáneamente a la hidratación se administró por vía oral los diferentes tratamientos, según fue establecido en la tabla 1.
- Luego, las ratas fueron trasladadas a las jaulas metálicas, y se procedió con la recolección de su orina cada dos horas hasta un total de seis horas posteriores, haciendo uso de una probeta graduada.
- El efecto diurético fue evaluada a través del cálculo del porcentaje de la excreción volumétrica urinaria (%EVU), según la siguiente formula:

$$\%EVU = \frac{\text{Volumen de orina excretado}}{\text{Volumen total de líquido administrado}} \times 100$$

El porcentaje de la actividad diurética (%AD), fue calculada con la siguiente formula:

$$\%AD = \frac{\text{Volumen de orina excretado}}{\text{Volumen de orina del diurético estándar}} \times 100$$

Pérez *et al*, (2011), detalla que la escala de medición se puede medir como, Alta: %AD $\geq$ 90, Moderada: %AD (89 - 70), Baja: %AD (69 – 50), Nula: %AD < 50.

3.8. Análisis de Datos

Los resultados se presentaron en tablas y gráficos de barras. Se calcularon las medias y las desviaciones estándar de los valores obtenidos en cada grupo. Posteriormente, las medias fueron evaluadas estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 95 %, seguido de la prueba post hoc de Tukey, utilizando el paquete estadístico SPSS (versión 27,0).

3.9. Consideración Ética

El presente trabajo de investigación fue desarrollado bajo los estrictos principios éticos para la utilización de animales en investigación científica, siguiendo las Tres Erres (reemplazo, reducción y refinamiento) descritos en la *International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals* (Consejo Internacional de Organizaciones de las Ciencias Médicas – CIOMS, y Consejo Internacional para la Ciencia de Animales de Laboratorio – ICLAS, 2012), con el objetivo de minimizar el sufrimiento y el estrés animal, asegurando su uso justificado y necesario (Rebuelto, 2022).

Se adoptaron otras consideraciones éticas, como la selección adecuada de la especie animal, adquirida a través de proveedores certificados que garantizaron su buen estado nutricional y de salud general. Además, se aseguró un alojamiento óptimo bajo condiciones controladas de temperatura, iluminación y alimentación (CIOMS-ICLAS, 2012). La manipulación de los animales se realizó de manera humanitaria durante todo el proceso de investigación, minimizando su estrés y angustia, supervisada de forma continua por un científico capacitado (CIOMS-ICLAS, 2012).

De acuerdo con el artículo 19 de la Ley 30407 – Ley de Protección y Bienestar Animal, las instituciones de educación superior pueden emplear animales con fines de investigación científica o docencia, siempre que se realice bajo supervisión profesional, evitando el sufrimiento innecesario y aplicando métodos alternativos cuando sea posible. Al finalizar el estudio, los animales fueron reubicados y los resultados reportados de manera clara y transparente, asegurando la reproducibilidad de los hallazgos (Directrices ARRIVE 2.0, 2020).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

Tabla 2

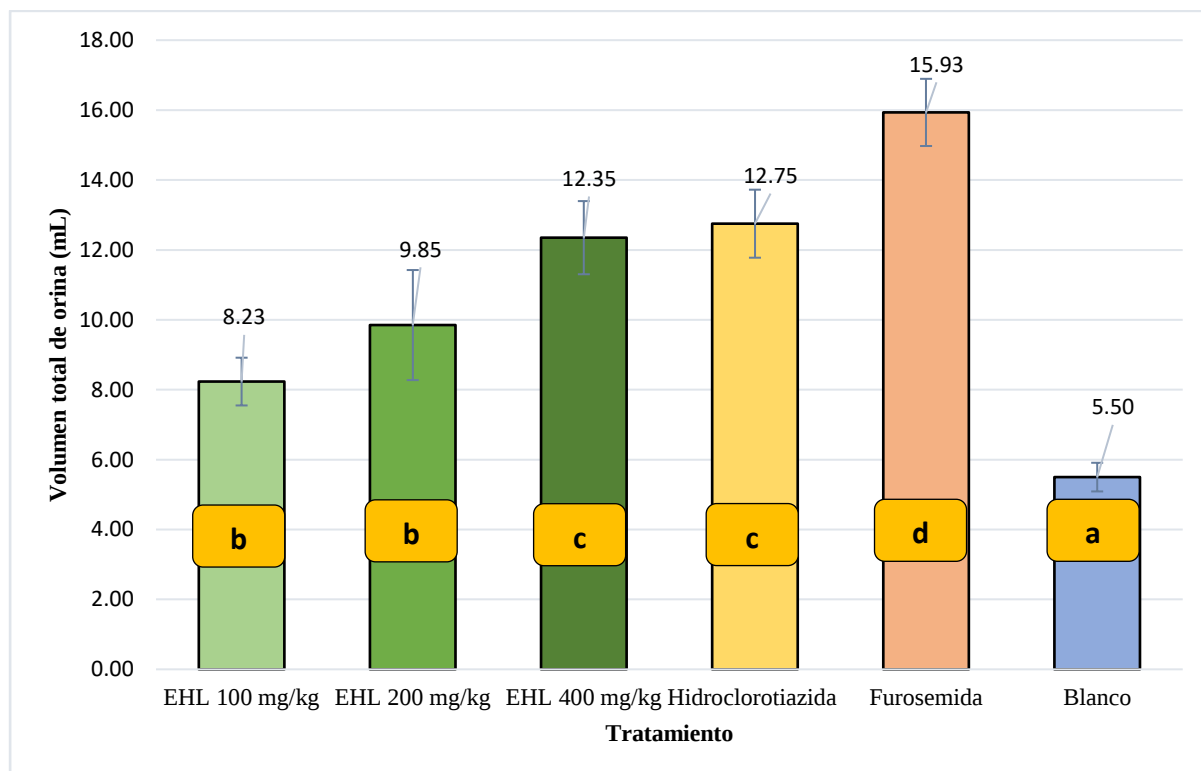
*Screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”*

Ensayos	Observaciones	Resultados
Compuestos fenólicos (Cloruro Férrico)	Azul verdoso	(++)
Flavonoides (Shinoda)	Coloración amarillo, naranja, carmelita o rojo	(+++)
Azúcares reductores (Benedict)	Coloración naranja	(++)
Aminoácidos (Ninhidrina)	Color azul violáceo	(++)
Terpenos/Triterpenos/esteroides (Liebermann-Burchard)	Rosado, azul rápido Verde intenso, visible rápido Verde oscuro, negro final	(++)
Taninos (Gelatina 1 %)	Presencia de precipitado	(+)
Alcaloides (Mayer)	Presencia precipitado blanquecino, turbidez	(++)
Alcaloides (Dragendorff)	Opalescencia turbidez definida o precipitado	(+)
Alcaloides (Wagner)	Opalescencia, turbidez definida o precipitado	(++)
Quinonas (Borntrager)	Formación de coloración rosada o roja	(-)
Glicósidos cardiotónicos (Kedde)	Coloración púrpura, rosa o azul violeta (persistente de 1 a 2)	(-)
Cumarinas	Coloración rojiza	(++)

Nota. Ausente (-), Escaso (+), Moderado (++) , Abundante (+++).

Figura 8

Volumen total de orina por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de Foeniculum vulgare Mill. “hinojo” en ratas albinas

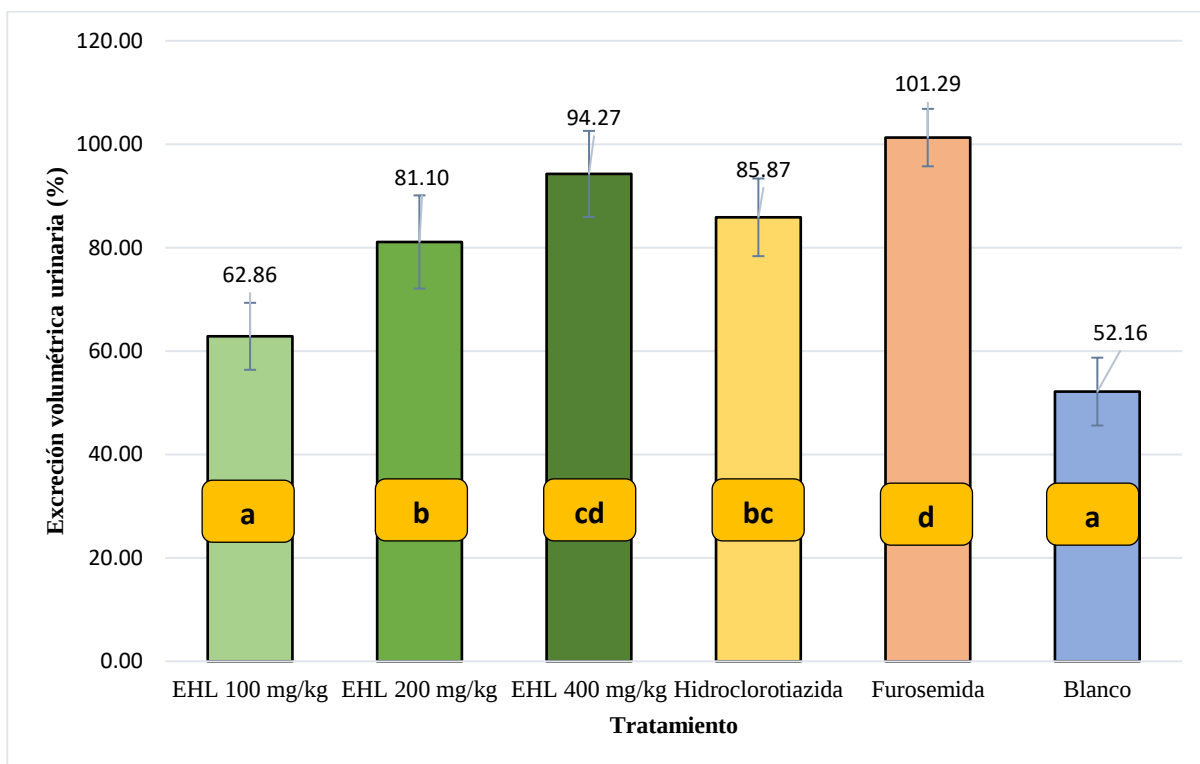


ANOVA ($p=1,78 \times 10^{-16}$)

Nota. EHL: Extracto hidroalcohólico liofilizado

Figura 9

*Porcentaje de excreción volumétrica urinaria (% EVU) por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas*

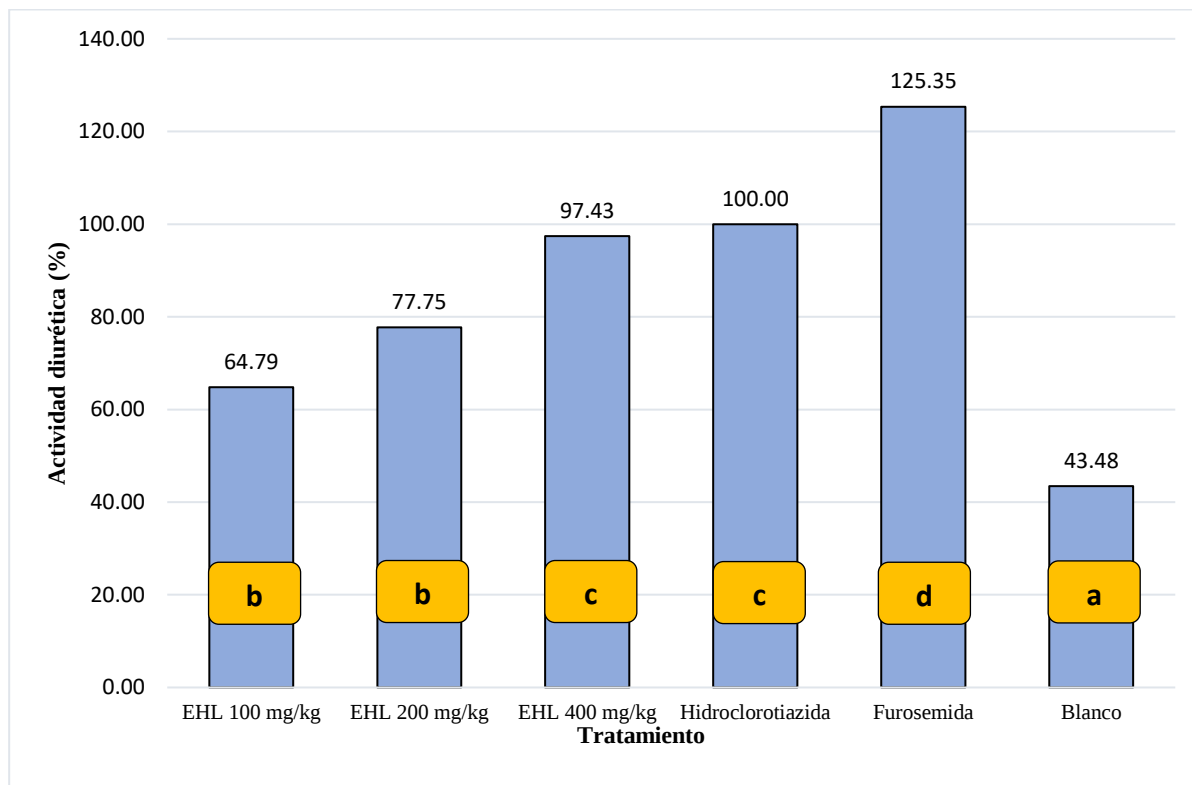


ANOVA ($p=2,87 \times 10^{-12}$)

Nota. EHL: Extracto hidroalcohólico liofilizado

Figura 10

Porcentaje de la actividad diurética (% AD) por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de Foeniculum vulgare Mill. “hinojo” en ratas albinas usando como referencia la hidroclorotiazida

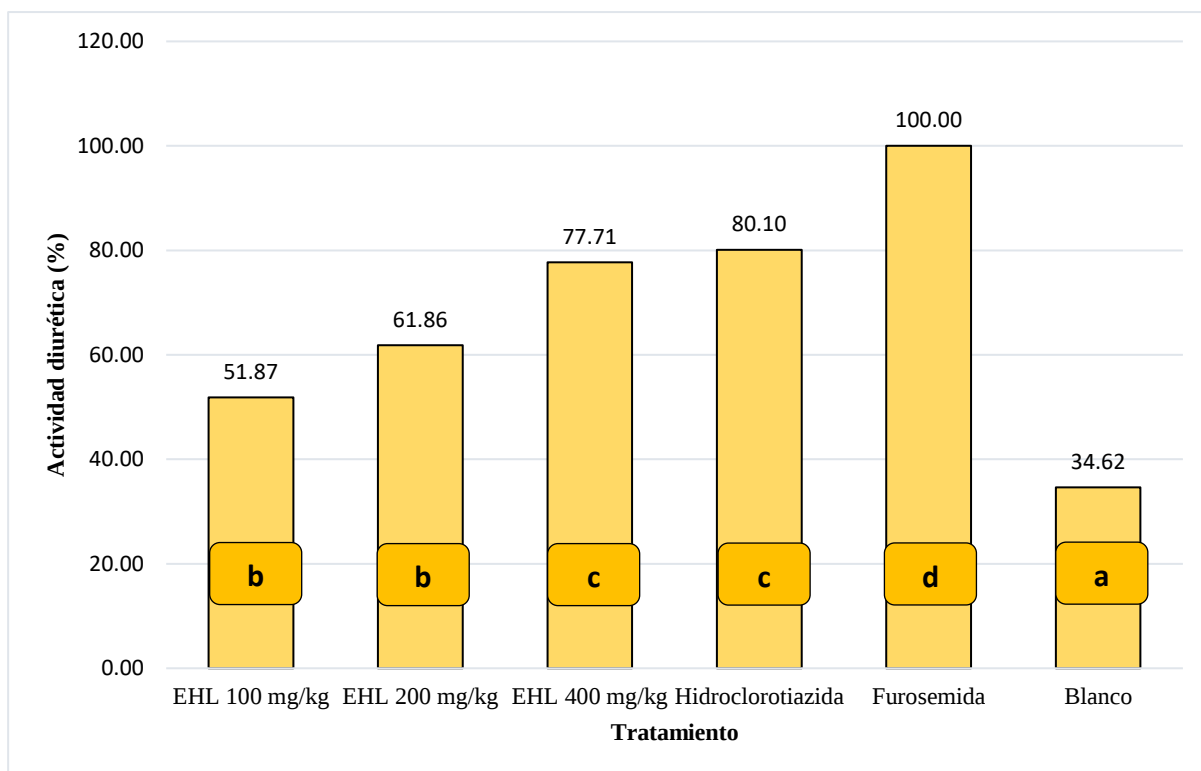


ANOVA ($p=1,32 \times 10^{-14}$)

Nota. EHL: Extracto hidroalcohólico liofilizado

Figura 11

*Porcentaje de la actividad diurética (% AD) por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas, usando como referencia la furosemida*



ANOVA ($p=9,06 \times 10^{-17}$)

Leyendo: EHL: Extracto hidroalcohólico liofilizado

CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

En diferentes países del mundo y a lo largo de la historia, se le han atribuido diversas propiedades medicinales al hinojo. Esta planta aromática si bien, tiene su origen en Europa, se ha ido extendiendo en diversos países de América y Asia, convirtiéndose en una fuente importante en la medicina tradicional y proporcionando una base para el desarrollo y formulación de nuevos fármacos y futuros usos clínicos (Badguar, 2014). En relación a su uso medicinal, se le atribuyen propiedades antiinflamatorias, antiespasmódicas, antibacterianas, antifúngicas, antitumorales, antisépticas, diuréticas y analgésicas. También se describe su utilidad en el tratamiento de la diabetes, cálculos renales, conjuntivitis, enfermedad renal, como laxante, favorece la producción de leche materna y por su acción antioxidante es usada en el tratamiento de trastornos neurológicos (Badguar, 2014; Cisneros, 2022). Es así que en el reciente estudio descrito por Ñañez (2024), se recolectó información mediante encuestas sobre el uso medicinal del hinojo en un mercado limeño. Siendo las hojas y flores las partes de la planta más utilizadas, en forma de infusión, y utilizadas de manera cotidiana por un 85,9 % de la población encuestada para tratar dolores estomacales. También se reportó que lo utilizan en el control de la fiebre, como antiinflamatorio, antibacteriano, antidiabético, y como diurético, pero solo en un 2,1 % de los encuestados. Si bien esta especie herbácea es conocida y utilizada a lo largo del territorio peruano, la evidencia clínica que respalda su uso para cualquier indicación es limitada. Existen pocos estudios que fortalecen su uso como agente diurético y estos no emplearon las hojas como material de análisis, es así que se describe el trabajo de Oriundo (2003), el cual utilizó el extracto hidroalcohólico de la raíz del hinojo como material de análisis para determinar su efecto diurético. Por tanto, el desarrollo del actual trabajo de investigación pretende darle mayor sustento científico al uso medicinal que se le da al hinojo como un agente diurético ya utilizado en la población.

Foeniculum vulgare “hinojo” es una planta herbácea, ampliamente utilizada en el mundo por sus diversos fines medicinales, lo cual se atribuye en gran medida a la gran cantidad de componentes bioactivos presentes en sus diversas partes (Villacís, 2021;

Camasca, 2012), como son ácidos grasos, compuestos fenólicos, flavonoides, ácidos fenólicos, cumarinas, taninos, entre otros metabolitos los cuales se encuentran en gran parte en sus aceites esenciales (Badguar, 2014). En la **table 2**, se presenta la identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto de las hojas de hinojo, identificando cualitativamente y gran cantidad los flavonoides, también se identificaron en cantidad moderada los compuestos fenólicos, azúcares reductores, aminoácidos, alcaloides y cumarinas, finalmente, los taninos se identificaron en cantidad escasa. Ochoa (2018), en su estudio del efecto expectorante del extracto de hinojo, identificó según tamizaje fitoquímico los flavonoides, fenoles, azúcares reductores, aminoácidos, taninos y esteroides. Dando énfasis al contenido de los compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, por referir que son los responsables que darle su actividad terapéutica. También está el estudio de Huamaní (2010), quien en su análisis fitoquímico del extracto etanólico del hinojo identificó diversos metabolitos secundarios como son los taninos, fenoles, esteroides, azúcares reductores, flavonoides y cumarinas, los mismos que también se identificaron en nuestro estudio.

Entre los modelos experimentales para la determinación del efecto diurético en ratas se encuentran los métodos propuestos por Lipschitz *et al.* (1943, como se citó en Arroyo *et al.*, 2012), donde se utiliza la hidroclorotiazida y furosemida como fármacos de referencia. La furosemida incrementa notablemente la excreción de sales, especialmente la excreción de Na^+ y Cl^- , por esta razón es utilizada como fármaco patrón en modelos biológicos para la determinación de la actividad diurética de extractos vegetales medicinales (Ayca, 2014). Este modelo experimental explica que el efecto diurético de los extractos vegetales se produce por incremento de la excreción de agua, sodio y potasio (Arroyo y Cisneros, 2012). Se tiene los estudios descritos por Ayca *et al.* (2014), quien también utilizó la metodología de Lipschitz *et al.* (1943), usando la furosemida a dosis de 20 mg/kg como fármaco patrón, registrando un valor de volumen de diuresis de 13 mL en 24 horas y el de Martínez *et al.* (2012), quien también en su estudio sobre la evaluación diurética utiliza la furosemida a dosis de 20 mg/kg como fármaco patrón, produciendo 38,33 mL de orina en 24 horas.

En la **figura 8**, se presenta el volumen total de orina excretado por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de hinojo a dosis de 100, 200 y 400 mg/kg, y los fármacos de referencia, la hidroclorotiazida y furosemida ambos a 20 mg/kg, en ratas albinas. Se puede observar que con la dosis de 400 mg/kg

se presenta un volumen total de orina recolectado en 6 horas de 12,35 mL, inferior a la hidroclorotiazida (12,75 mL) y la furosemida (12,93 mL), este último el de mayor actividad, pudiendo confirmarse en forma experimental que los diuréticos del asa presentan mayor eficacia en comparación con otro tipo de diuréticos (Vijay, 2023), como en el estudio desarrollado por Arcce (2024), quien también utilizó la furosemida como fármaco de referencia registrando un volumen total de orina de 13,1 mL; y el de Llantoy (2015), que registró un valor de volumen de orina de 23,10 mL. Por otro lado, las dosis del extracto a 200 y 100 mg/kg, registraron volúmenes totales de orina inferiores con valores de 9,85 mL y 8,23 mL respectivamente. En primera instancia apreciación, se podría afirmar que a medida que se aumenta la dosis del extracto de las hojas del hinojo se obtendrá mayor volumen de orina recolectada. Los resultados obtenidos contrastan con los datos descritos por Abdurazak (2015), quien también estudió la actividad diurética de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill, pero utilizando un extracto acuoso y metanólico al 80 % en ratas Spargue-Dawley. En su estudio la dosis de 400 mg/kg, es la que registró mayor actividad, con valores de volumen de orina en 24 h de 8,60 mL para el extracto acuoso, y de 8,20 mL con el extracto metanólico, a diferencia de la dosis de 100 mg/kg el cual fue la de menor actividad con valores de 4,68 mL; y de 4,66 mL, para ambos extractos. El autor finaliza el estudio haciendo énfasis que la planta posee actividad diurética significativa, y además que el extracto acuoso es superior al metanólico al 80 %. También se cuenta con el estudio de Beaux (1997) que evaluó la acción diurética de las raíces de *Foeniculum vulgare* en ratas, afirmando que las dosis del extracto de 50, 100 y 200 mg/kg, provoca un aumento significativo de la orina, siendo la dosis de 200 mg/kg la de mayor actividad diurética, mientras que una dosis de 25 mg/kg, no influyó en el flujo urinario. Al someter los resultados a análisis de varianza (Anexo 18), se muestra que las medias de los grupos presentan una diferencia significativa ($p < 0,05$); por tanto, al utilizar la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Anexo 19), se puede apreciar que el grupo que recibió la dosis de 400 mg/kg del extracto, es estadísticamente similar al grupo que recibió la hidroclorotiazida ($p > 0,05$).

En la **figura 9**, se presenta el porcentaje de excreción volumétrica urinaria (% EVU) por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de hinojo a dosis de 100, 200 y 400 mg/kg, y los estándares de referencia, la hidroclorotiazida y furosemida ambos a 20 mg/kg en ratas albinas. En correlación con la **figura 8**, la dosis

de extracto a 400 mg/kg es la que presenta un mayor % EVU, con un valor de 94,27 %; superior a la hidroclorotiazida (85,87 %); pero inferior a la furosemida (101,29 %). Mientras que las demás dosis del extracto de hinojo a 200 y 100 mg/kg registraron valores inferiores de % EVU con datos de 81,10 % y 62 % respectivamente. Ramírez (2024) también reportó en su estudio sobre la actividad diurética un %EVU creciente en función de la dosis utilizada siendo su extracto hidroalcohólico liofilizado de *Erodium cicutarium* (L) L'Her, a dosis de 400 mg/kg la de mayor valor con un 84,54 %; seguida de la dosis de 200 y 100 mg/kg, mientras que la furosemida registró un valor de 121,13 %. En la discusión sobre la dependencia de la actividad diurética con la dosis, el estudio hace alusión a que la concentración de flavonoides, saponinas y aceites esenciales, en las dosis utilizadas son las responsables de la actividad diurética. El análisis de varianza (Anexo 21), muestra que los grupos son estadísticamente diferentes ($p < 0,05$); y al recurrir a la prueba de Tukey (Anexo 22), se registra que el grupo que recibió la dosis de extracto de 400 mg/kg es estadísticamente semejante a la hidroclorotiazida ($p > 0,05$); y a la furosemida ($p > 0,05$).

En la **figura 10**, se presenta el porcentaje de actividad diurética (% AD) del extracto hidroalcohólico del hinojo, comparado con la hidroclorotiazida. Se puede apreciar que la dosis del extracto de 400 mg/kg presenta un porcentaje de actividad diurética de 97,43 % (Escala Alta), bastante superior a las demás dosis de 200 y 100 mg/kg que registraron valores de 77,75 % y 64,79 %, sin embargo, inferiores a la actividad que registra la furosemida con un valor de 125,35 %; pudiendo justificar su uso como medicamento de referencia en ensayos experimentales, por su alta eficacia diurética (Ayca, 2014). Al realizar la prueba de análisis de varianza (Anexo 24), se muestra que no existe similitud entre los grupos ($p < 0,05$); y con la prueba de Tukey (Anexo 25), se observa que el extracto a dosis de 400 mg/kg es similar a la hidroclorotiazida ($p > 0,05$). En la **figura 11**, también se presenta el porcentaje de actividad diurética (% AD) del extracto hidroalcohólico del hinojo, pero utilizando la furosemida como estándar de referencia, en este caso la dosis de 400 mg/kg del extracto presenta un % AD de 77,71 % (Escala Moderada), mientras que las demás dosis de 200 y 100 mg/kg, registraron valores de 61,86 % y 51,87 %. Mientras que para el caso de la hidroclorotiazida su % AD es la de 80,10 %. La prueba de análisis de varianza (Anexo 27), detalla que no existe relación significativa entre los grupos ($p < 0,05$); mientras que la prueba Tukey (Anexo 28), como en los datos de la figura 10, establece relación

estadística entre la dosis administrada del extracto de 400 mg/kg y la hidroclorotiazida, ($p > 0,05$). Es así, que se podría afirmar que nuestro extracto hidroalcohólico liofilizado a dosis de 400 mg/kg, tendría la misma actividad diurética que la hidroclorotiazida, el cual es un diurético tipo tiazídico, que actúa impidiendo la reabsorción de sodio en los túbulos contorneados distales del riñón, al inhibir el cotransportador de sodio. Sin embargo, este fármaco está englobado dentro del grupo de los diuréticos de bajo techo, los cuales eliminan volúmenes de agua y sodio mucho menores que los diuréticos del asa (Herman, 2023), aun así, es utilizado como fármaco de referencia según el método *in vivo* Test de Lipschitz, que permite evaluar la actividad diurética de plantas medicinales utilizando ratas (Pérez *et al.* 2011).

Pérez *et al.* (2011), en su estudio sobre la validación de un método *in vivo* para evaluar la actividad diurética, encontró que a la dosis de 400 mg/kg se presenta la mejor respuesta farmacológica, además de establecer correlaciones positivas entre la dosis y el efecto, después de haber estudiado 8 plantas medicinales con potencial diurético, las cuales después de 6 horas de recolección de orina presentaron una escala alta de actividad. En la investigación de Santoso (2019) quien estudió la actividad diurética de *Apium graveolens* L. “apio” en ratones, otra especie perteneciente a la familia Apiaceae como nuestra planta en estudio. En sus resultados muestra que el extracto de las hojas de apio a dosis de 560 mg/kg, presenta un % AD en relación a la furosemida de 100%, seguida de la dosis de 420 mg/kg, el cual registra un % AD de 91,47 %. Mientras que Widiyastuti *et al.* (2021), también pudieron demostrar que una combinación de la hierba de apio (*Apium graveolens* L.) y las hojas de laurel (*Syzygium polyanthum* W.) en un extracto etanólico al 70 %, presentan un % AD de 79 %, 79 % y 91,3 %, para tres tipos de combinaciones de ambas especies (1,125 mg/kg:6,25 mg/kg; 2,25 mg/kg:12,5 mg/kg; y 4,5 mg/kg:25 mg/kg), respectivamente. Estos dos últimos estudios hacen énfasis a la presencia de flavonoides en las especies vegetales, como un compuesto activo que permite la acción diurética, al obstruir la reabsorción de sodio y agua.

También está el estudio de Oriundo (2003), quien realizó el tamizaje fitoquímico y determinación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Foeniculum vulgare* “hinojo” en cobayos, atribuyendo que la actividad diurética de la especie se debe a la presencia de metabolitos secundarios como son los flavonoides, cumarinas, triterpenos y esteroides, alcaloides, fenoles y taninos. Obteniendo un mayor efecto diurético a la concentración de 250 mg/kg y una eficacia de 42,73 %.

La presencia de flavonoides y otros metabolitos de tipo esteroide, que tienen naturaleza polar, podrían ser responsables de la actividad diurética de los extractos vegetales, actuando en forma individual o sinérgica (Arroyo y Cisneros, 2012). Hailu *et al.* (2014), en su estudio refiere que otros metabolitos también serían responsables de los efectos diuréticos, entre ellos las saponinas u otros ácidos orgánicos. Produciendo su efecto estimulando el flujo sanguíneo regional o la vasodilatación inicial, o debido a la inhibición de la reabsorción tubular de agua y aniones, resultando en ambos casos en diuresis.

Los mecanismos por los cuales los flavonoides presentan actividad diurética se deben a que estos compuestos bioactivos afectan la permeabilidad de la membrana celular e inhiben la anhidrasa carbónica. Además, su efecto vasoprotector capilar mejora la circulación en todo el organismo (Ramírez, 2025). Pérez *et al.* (2011) mencionan que la acción diurética de los flavonoides podría producirse principalmente a nivel glomerular, más que en los túbulos. Esto provoca un aumento de la circulación renal, incrementando la tasa de filtración glomerular y la formación de orina primaria, lo que resulta en acuarexis.

En nuestro estudio se demostró que el extracto del hinojo a dosis de 400 mg/kg, tiene un efecto diurético equivalente a la hidroclorotiazida, esta acción es debida al contenido de flavonoides identificados en el extracto, los cuales son uno de los grupos más importantes de compuestos con actividad farmacológica, caracterizados por su alta reactividad química, y presentar efectos sobre diversos sistemas biológicos (Ramírez, 2025). Con este trabajo se pretende dar mayor sustento científico al uso tradicional como agente diurético, que se le da al hinojo en nuestro país, que si bien se cuentan con escasas investigaciones que evalúan esta actividad, no utilizaban a las hojas como muestra de investigación, además que en los últimos años, se ha producido un creciente interés en mejorar el rendimiento agrícola del hinojo, debido justamente a las diversas propiedades medicinales que se le atribuyen, a su contenido en aceites esenciales (Badguar *et al*, 2014) y a la seguridad en su uso, así lo reporto Cervantes (2019), quien determino que el extracto hidroalcohólico de las hojas del hinojo, no presentan toxicidad aguda y la DL₅₀ se encuentra por encima de los 2000 mg/kg de peso corporal.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIÓN

1. El extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” presenta efecto diurético en ratas albinas.
2. Los metabolitos secundarios identificados en el extracto hidroalcohólico liofilizado de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” corresponde a flavonoides, compuestos fenólicos, azúcares reductores, aminoácidos, terpenos, alcaloides, cumarinas y taninos.
3. El porcentaje de excreción volumétrica urinaria (%EVU) a dosis de 400 mg/kg fue de 94,27 %, y su porcentaje de actividad diurética (%AD) fue de 97,43 % y 77,71 % usando la hidroclorotiazida y furosemida, como fármacos de referencia respectivamente.
4. El extracto hidroalcohólico liofilizado de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” a dosis de 400 mg/kg presenta efecto diurético estadísticamente similar a hidroclorotiazida ($p > 0,05$), y diferente a furosemida ($p < 0,05$).

CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar con los estudios *in vivo* en animales de investigación, evaluando el dosaje de electrolitos de tal forma que se permita tener un mayor panorama respecto a la eliminación o retención de estos iones.
2. Realizar estudio del efecto diurético del extracto de hinojo utilizando otras partes de la planta como son los tallos, frutos, inflorescencias y las flores, determinando cuando de estas partes tiene mayor actividad.
3. Realizar estudios toxicológicos de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo a fin de evaluar su seguridad.
4. Aislar los compuestos bioactivos de tal forma que se pueda establecer responsabilidad directa del efecto diurético.
5. Desarrollar formas farmacéuticas a base del hinojo, de forma que se pueda aprovechar de mejor manera las propiedades medicinales que se le atribuyen.

BIBLIOGRAFÍA

- Sotomayor J, Delgado C, Carrión J, Galván D, Mejía J, Nuñez L *et al.* (2024). *Guía de práctica clínica para el manejo de la Hipertensión arterial esencia Seguro Social del Perú (EsSalud)*. [Artículo]. Rev. Cuerpo Med. HNAAA; 17 (1).
- Vergel G, Tase M, Groning E. (2009). *Farmacología, proceso de atención en enfermería*. La Habana: Editorial Ciencias Médicas.
- Halberstein R. (2012). *Botanical Medicines for Diuresis: Cross – cultural comparisons*. [Artículo]. Studies in Natural Products Chemistry. 37: 1 – 41. <https://n9.cl/w5qkx>
- Maestro C, Ladero M, Santos T, Alonso T y Ladero I. (2009). *Plantas medicinales españolas. Familia UMBELLIFERAE (APIACEAE)*. Boletín. Instituto de Estudios Giennenses. 200: 13 – 72.
- Organización Mundial de la Salud - OMS. (2013). *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014 – 2023*. Ginebra. <https://n9.cl/cyj0nv>.
- Villacís G. (2021). *Actividades biológicas de la especie Foeniculum vulgare Mill. (Hinojo)*. [Artículo de revisión]. Universidad Central del Ecuador.
- Camasca A. (2012). *Estudio de la demanda y estimación del valor cultural y económico de plantas medicinales comercializadas en la ciudad de Ayacucho*. [Tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Badgujar S, Patel V, Bandivdekar A. (2014). *Foeniculum vulgare Mill: una revisión de su botánica, fitoquímica, farmacología, aplicación contemporánea y toxicología*. [Artículo de revisión]. Biomed research International.
- Pratp S. A (2018). *Comprehensive review on pharmacological activity of Foeniculum vulgare*. [Artículo]. Editores Juniper inc. 7 (1): 23 – 27.
- Abdurazak J. (2015). *Evaluation of the diuretic activity of aqueous and 80 % methanol extracts of Foeniculum vulgare Mill (apiaceae) leaf in rats*. [Tesis]. Addis Ababa University. <http://thesisbank.jhia.ac.ke/5763/>
- El Bardai S, Lyoussi B, Wibbo M and Morel N. (2001). Pharmacological evidence of hypotensive activity of *Marrubium vulgare* and *Foeniculum vulgare* in spontaneously hypertensive rat. [Artículo]. Clinical and Experimental Hypertension. 23: 329 – 343. <https://n9.cl/p8okm>
- Barros L, Heleno S, Carvalho A and Ferreira I. (2009). Systematic evaluation of the antioxidant potential of different parts of *Foeniculum vulgare* Mill. From

- Portugal. [Artículo]. Food and Chemical Toxicology. 47 (10): 2458 – 2464.
<https://n9.cl/fp1fv>
- Badgujar S, Patel V and Bandivdekar A. (2014). “*Foeniculum vulgare* Mill: a review of its botany, phytochemistry, pharmacology, contemporary application, and toxicology”. BioMed Research International, 32 pages. <https://n9.cl/zvc1q6>
- Lucana F. (2018). *Efecto hipolipidémico del extracto hidroalcohólico de hinojo (Foeniculum vulgare M.) en ratas hipercolesterolémicas*. [Tesis]. Universidad Católica de Santa María.
- Arotinco K y Delgado C. (2021). *Actividad ansiolítica y antidepresiva del aceite esencial de las semillas de Foeniculum vulgare Mill. “Hinojo” en ratones albinos*. [Tesis]. Universidad Norbert Wiener.
- Jaramillo S. (2021). *Actividad diurética del extracto acuoso de las flores de Cordia lutea L. (Flor de overo) en Rattus rattus var. Albinus*. [Tesis]. Universidad Católica los Ángeles Chimbote.
- Sovero J y Apaestegui E. (2020). *Actividad diurética del extracto hidroalcohólico de las hojas de Asclepia curassavica L. (Globito) en ratas albinas Holtzman*. [Tesis]. Universidad María Auxiliadora.
- Ochoa K. (2018). *Efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de las hojas de Foeniculum vulgare Mill., “hinojo” en Mus musculus “ratón”. Ayacucho 2017*. [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- Arango M. (2020). *Efecto diurético del extracto hidroalcohólico de las hojas de Baccharis peruviana Cuatrec. “Taya” y dosaje de electrolitos en cobayos de experimentación. Ayacucho 2018*. [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- Llantoy R. (2015). *Actividad diurética y dosaje de electrolitos del extracto hidroalcohólico de las hojas de Ocimum basylicaum L. “albahaca” Ayacucho 2015*. [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- Arcce V. (2024). *Efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de la mazorca de Zea mays L. “maíz morado” en ratas albinas. Ayacucho 2023*. [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- Cervantes F. (2019). *Toxicidad aguda y genotoxicidad del extracto hidroalcohólico de Foeniculum vulgare Mill., “hinojo” en Mus musculus “ratón”. Ayacucho 2019*. [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

- Kooti W, Moradi M, Ali S, Sharafi N, Asadi M, Ashtary D. (2015). *Therapeutic and pharmacological potential of Foeniculum vulgare Mill: a review*. [Artículo]. Journal of HerbMed Pharmacology; 4 (1): 1 – 9.
- Carrión A y Cándida G. (2010). *Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia metódica*. [Tesis]. Universidad de Cuenca.
- D.A. Martín G. (2018). *Los compuestos fenólicos: un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica*. [Artículo]. Revista de Investigación Agraria y Ambiental. 9 (1).
- Navarro I, Periago M, García F. (2017). *Estimación de la ingesta diaria de compuestos fenólicos en la población española*. [Artículo]. Revista Española de Nutrición Humana y Dietética. 21 (4).
- Rojas F. (2021). *Revisión bibliográfica de compuestos fenólicos, su efecto en la salud, método de encapsulación y digestión simulada in vitro*. [Tesis]. Universidad de Chile. <https://n9.cl/272vl>.
- Carracedo J y Ramírez R. (2020). *Fisiología renal*. Nefrología al día. p: 2659 – 2606.
- Aranalde G. (2014). *Fisiología renal*. 1er Edición. Editorial Corpus, Argentina.
- Laso F. (2010). *Introducción a la medicina clínica. Fisiopatología y semiología*. 2da Edición. Elsevier Masson, España.
- Katzung B. (2019). *Farmacología. Básica y clínica*. 14ª edición, editorial McGraw-Hill.
- Nieto J, Robles N y Liébana. (2011). *El sistema renina-angiotensina: ¿hasta dónde se expande?, ¿es posible bloquearlo?* [Artículo]. Nefrología Sup Ext. 2 (5): 48 – 56.
- Botey A. (2006). *Sistema renina-angiotensina-aldosterona. Su utilidad clínica*. [Artículo]. Endocrinol Nutr. 53 (4): 270-278.
- Ponce Y y Ponce A. (2012). *El sistema renina-angiotensina desde la circulación hasta la célula: Implicaciones más allá de la hipertensión*. [Artículo]. CorSalud. 4 (4): 287 – 293.
- Goodman y Gilman. (2019). *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 13ª Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana Editores.
- Velazquez, Loreno P, Moreno A, Leza J, Lizasoain, Moro M y Portolés A. (2017) *Farmacología Básica y Clínica*. 19ª Edición. Editorial Medica Panamericana.
- Miranda M. (1996). *Métodos de análisis de drogas y extractos*. Cuba-La Habana.

- Arroyo C y Cisneros H. (2012). *Modelos Experimentales de Investigación Farmacológica* (1^{ra} ed.). Lima – Perú: Publicaciones Asdimor.
- Hernández R. (2018). *Metodología de la investigación: Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta* (1^{ra} ed.) México: McGraw-Hill.
- Cisneros C, Bedoya M, Lazaro B, Mendoza K y Cisneros E. (2022). *Foeniculum vulgare (Hinojo): Alternativa terapéutica femenina*. [Artículo]. Rev Cienc Méd. 25 (1). <https://n9.cl/6oq5s>
- Ñañez S. (2024). *Uso tradicional de “Foeniculum vulgare” (Hinojo) en los pobladores que acuden al mercado de Olivar de Cerro Candela, Lima 2024*. [Tesis]. Universidad Norbert Wiener.
- Oriundo S. (2003). *Tamizaje fitoquímica y determinación de la actividad diurética del extracto hidroalcohólico de la raíz de Foeniculum vulgare “hinojo” en cobayos*. [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- Huamaní M. (2010). *Actividad antitusígena del extracto etanólico de las hojas de Foeniculum vulgare Mill. “hinojo”*, [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- Ayca D, Flores E, Gonzales E y Arias J. (2014). *Evaluación de la toxicidad aguda y la actividad diurética de la especie Lachemilla pinnata en animales de experimentación*. [Artículo]. Rev. Cs. Farma. Y Bioq. 2 (1). <https://n9.cl/z2yn8>
- Martínez M, Jiménez M, Del Río B, Pérez D, Maceira C, Morales R, Curí H. (2012). *Evaluación diurética del producto natural Noni-C (Morinda Citrifolia L.) en un modelo experimental en ratas*. [Artículo]. Rev. Cubana Plant Med. 17 (4). <https://n9.cl/mhjid>
- Vijay A y Mohamed S. (2023). *Usos terapéuticos de los agentes diuréticos*. [Artículo]. StatPearls Publishing. <https://n9.cl/j66bh>
- Abdurazak J. (2015). *Evaluation of the Diuretic Activity of Aqueous and 80 % Methanol Extracts of Foeniculum Vulgare Mill (Apiaceae) Leaf in Rats*. [Tesis]. Addis Ababa University, 2015. <https://n9.cl/kztml>
- Beaux D, Fleurenti n J and Mortier F. (1997). *Diuretic Action of Hydroalcohol Extracts of Foeniculum vulgare var dulce (D.C) Roots in Rats*. [Artículo]. Phytotherapy research. 11: 320 – 322.

- Ramírez N. (2025). *Efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de *Erodium cicutarium* (L) L'Her "auja auja" en ratas albinas. Ayacucho 2024*. [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
- Herman L, weber P and Bashir K. (2023). *Hydrochlorothiazide*. [Artículo]. StatPearls Publishing. <https://n9.cl/3z08c>
- Pérez M, Sueiro M, Boffill M, Morón F y Marrero E. (2011). *Validación de un método in vivo para evaluar la actividad diurética*. [Trabajo original]. Rev cubana Invest Biomed. 30 (3). <https://n9.cl/qmboc9>
- Santoso J. (2019). *Efektivitas Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* Linn) terhadap Diuretic Actiun pada Mencit (*Mus musculus*) sebagai Obat Hipertensi Jurnal Permata Indonesia*. 10 (1): 1 – 5.
- Widiyastuti L, Putranti W, Saiful M and Hijriati W. (2021). *Diuretic Effect on Combination of Celery Herb (*Apium graveolens* L.) and Bay Leaf (*Syzygium polyanthum* W.) Ethanol Extract towards Wistar Male Mice (*Rattus norvegicus* L.)*. [Artículo]. Advanced Materials Research. 1162: 129 – 136.
- Hailu W and Engidawork E. (2014). *Evaluation of the diuretic activity of the aqueous and 80 % methanol extracts of *Ajuga remota* Benth (Lamiaceae) leaves in mice*. [Artículo]. Complementary and Alternative Medicine. 14:135.
- Tituaña G, Cordova I, Tobar M y Lascano A (2018). *Estudio del proceso de obtención de extractos de plantas medicinales*. [Artículo]. Rev. Caribeña de Ciencias Sociales (mayo 2018).
- Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas - Consejo Internacional para la Ciencia de Animales de Laboratorio. (2012). *International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals*. [En línea]. <https://n9.cl/qtib>
- Rebuelto M (2022). *Una referencia valiosa para el uso responsable de los animales en la investigación científica: el documento guía "Principios rectores internacionales para la investigación biomédica con animales CIOMS-ICLAS"*. [Artículo]. Rev. Bioética y Derecho, 55. <https://n9.cl/mmz84>
- Percie N, Huret V, Ahluwalia A, Alam S, Avery M, Baker M, Browne W, Clark A, Cuthill I, et al. (2020) *Directrices ARRIVE 2.0*. [Artículo]. PLOS Biology.
- El Naker N, Daou M, Ochsenkuhn M, Amin S, Yousef A and Yousef L. *A metabolomics approach to evaluate the effect of lyophilization versus over*

drying on the chemical composition of plant extracts. (2021). [Artículo]. Scientific Repots. 11 (22679). <https://n9.cl/4pd1k>

Ramírez J, Cortes M e Hincapié C. *Optimización del proceso de liofilización y comparación con el secado por convicción de estragón ruso (Artemisia dracunculus L.)*. (2019). [Artículo]. Acta Agronómica. 68 (3): 167 – 174. <https://n9.cl/4l65k4>

ANEXOS

Anexo 1

Matriz de definición y operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Valoración	Escala de medición	Ítem del instrumento
Extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hi nojo”.	Preparado que se obtiene al extraer compuestos activos solubles de una sustancia vegetal, previamente sometida a secado y molienda, utilizando alcohol al 70 % como solvente (Tituaña, 2018), además de un proceso de liofilización para la adecuada conservación.	Se maceró 500 g de hojas secas y trituradas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill, con alcohol al 70% en proporción de 1:9, finalmente fue sometido a liofilización.	Compuestos activos de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	Dosis de 100, 200 y 400 mg/kg de peso corporal	Concentración de compuestos activos	Razón	Tamizaje fitoquímico
Efecto diurético en ratas Wistar	Capacidad de una sustancia para aumentar la producción de orina (Arroyo, 2012).	El efecto diurético fue determinado mediante el método propuesto por Lipschitz <i>et al</i> , (1943, como se citó en Arroyo y Cisneros, 2012)	Cantidad de volumen de orina recolectado	• Porcentaje de diuresis relativa (%DR) • Excreción volumétrica urinaria (EVU)	Alta: %AD $\geq$ 90. Moderada: %AD (89 - 70). Baja: %AD (69 – 50). Nula: %AD < 50	Razón	Medición del volumen de orina cada 2 horas hasta un total de 6 horas, usando una probeta graduada.

Anexo 2

Matriz de consistencia

Título: Efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas. Ayacucho 2024

Autor: Bach. Melissa, LIMACO CARPIO

PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	MARCO TEÓRICO	VARIABLES	METODOLOGÍA
Problema general ¿Tendrán efecto diurético el extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill, “hinojo” en ratas albinas?	Objetivo General: Evaluar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas. Objetivos Específicos: • Identificar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. • Determinar el porcentaje de actividad diuresis y excreción volumétrica urinaria en ratas por la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado. • Comparar el efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado con furosemida e hidroclorotiazida.	Hi: El extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” presenta efecto diurético en ratas albinas. Ho: El extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” no presenta efecto diurético en ratas albinas.	• Antecedente. • <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” • Clasificación taxonómica • Descripción botánica • Distribución y hábitad • Composición química • Usos medicinales • Fitoquímica • Compuestos fenólicos • Flavonoides • Fisiología renal • Fármacos diuréticos	Variable independiente: Extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. indicadores: Dosis 100, 200, 400 mg/kg peso corporal. Variable dependiente: Efecto diurético en ratas Wistar Indicadores: • Porcentaje de excreción volumétrica urinaria (%EVU). • Porcentaje de la actividad diurética (%AD).	Tipo investigación: Basica, experimental. Definición de la población y muestra. Población: Hojas <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. Muestra: Dos kilogramos de hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”, que fueron recolectadas en la provincia de Huamanga región de Ayacucho. Análisis estadísticos: Los resultados serán presentados en forma de tablas y figuras de barras. Las medias de los grupos serán evaluadas mediante la prueba de análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia 95 %. Las diferencias o similitudes serán determinadas mediante la prueba Post hoc de Tukey.

Anexo 3

Constancia de Clasificación taxonómica de *Foeniculum vulgare* Mill.

CONSTANCIA

**LA BIÓLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN
TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:**

Que, la Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Srta. Melissa, LÍMACO CARPIO**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988. siendo su taxonomía el siguiente:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	APIALES
FAMILIA	:	APIACEAE
GENERO	:	Foeniculum
ESPECIE	:	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.
N.V.	:	"hinojo"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 27 de setiembre del 2024


LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

Anexo 4

Recolección de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.



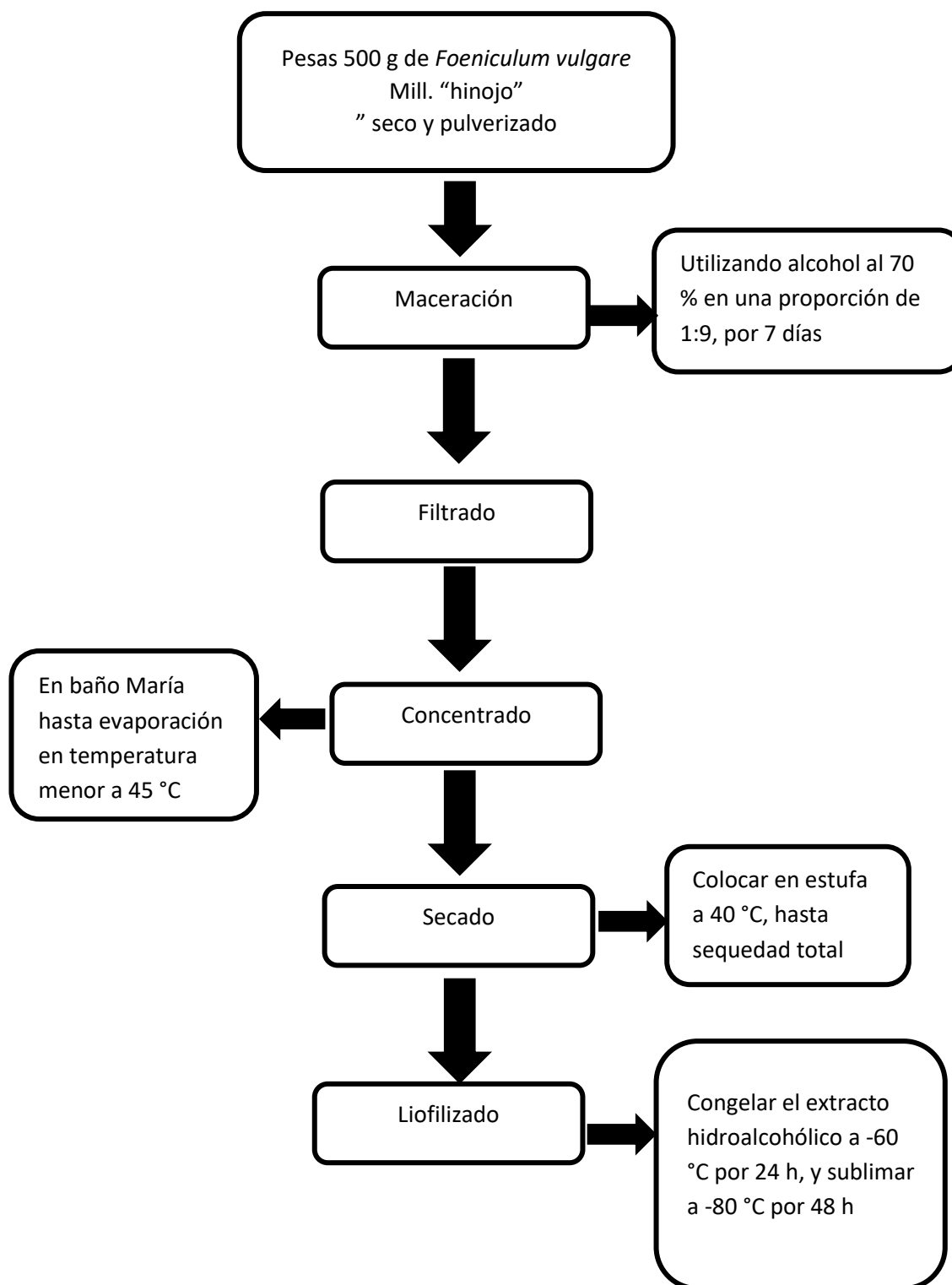
Anexo 5

Hojas de Foeniculum vulgare Mill. “hinojo”.



Anexo 6

Esquema de obtención del extracto hidroalcohólico liofilizado de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.



Anexo 7

Obtención y secado del extracto hidroalcohólico liofilizado de Foeniculum vulgare Mill. “hinojo”.



A



B



C



D



E

- A. Maceración de muestra seca y molida, con alcohol al 70% por 7 días.
- B. Filtrado del extracto hidroalcohólico.
- C. Concentración en baño maría.
- D. Secado en estufa a 40 °C.
- E. Extracto hidroalcohólico.

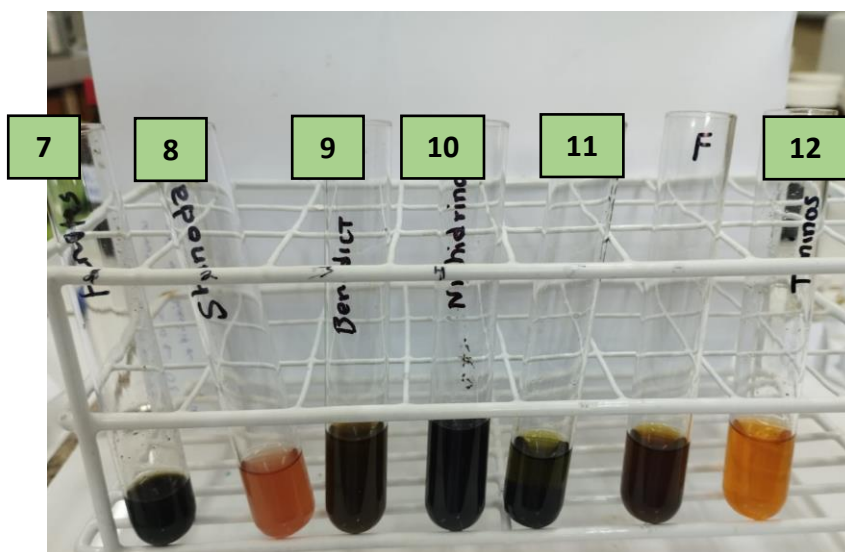
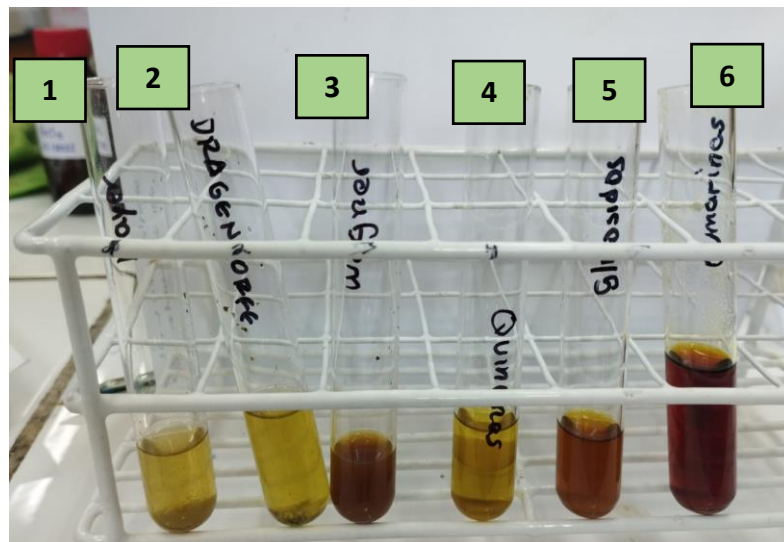
Anexo 8

*Ensayo de screening fitoquímico del extracto hidroalcohólico liofilizado de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.*

Ensayos	Procedimiento	Observaciones
Compuestos fenólicos (Cloruro Férrico)	2 mL de muestra + 3 gotas de cloruro férrico	Azul verdoso
Flavonoides (Shinoda)	2 mL de muestra + 4 gotas de HCl + pedazo de Mg°	Coloración amarillo, naranja, carmelita o rojo
Azúcares reductores (Benedict)	2 mL de muestra + 4 gotas de solución de Benedict en baño maría	Coloración naranja
Aminoácidos (Ninhidrina)	2 mL de muestra + 2 mL de ninhidrina 2% en baño María	Color azul violáceo
Terpenos/Triterpenos/e steroides (Liebermann-Burchard)	2mL de muestra + 1mL de anhídrido acético + gotas de H ₂ SO ₄	Rosado, azul rápido Verde intenso, visible rápido Verde oscuro, negro final
Taninos	2mL de muestra + 2 mL de solución de gelatina 1%	Presencia de precipitado
Alcaloides (Mayer)	2mL de muestra + HCl + reactivo de Mayer	Presencia precipitado blanquecino, turbidez
Alcaloides (Dragendorff)	2mL de muestra + HCl + reactivo de Dragendorff	Opalescencia turbidez definida o precipitado
Alcaloides (Wagner)	2mL de muestra + HCl + reactivo Wagner	Opalescencia, turbidez definida o precipitado
Quinonas (Borntrager)	2mL de muestra + cloroformo + 1mL de hidróxido de sodio e hidróxido de potasio al 5%	Formación de coloración rosada o roja
Glicosidos cardiotónicos (Kedde)	2mL de muestra + 1mL de sol. Kedde (ácido dinitrobenzoico 2% + hidróxido de potasio 5,7%)	Coloración purpura, rosa o azul violeta (persistente de 1 a 2)
Cumarinas	2mL muestra + ácido pícrico + hidróxido de sodio en baño maría	Coloración rojiza
Ausente (-), Escaso (+), Moderado (++), Abundante (+++).		

Anexo 9

Identificación de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico liofilizado de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.



- | | |
|---|------------------------------------|
| 1. Ensayo de Mayer | 8. Ensayo de Shinoda |
| 2. Ensayo de dragendorff | 9. Ensayo de Benedict |
| 3. Ensayo de Wagner | 10. Ensayo de Ninhidrina |
| 4. Ensayo de Borntrager | 11. Ensayo Liebermann-
Burchard |
| 5. Ensayo d glicósidos
cardiotónicos | 12. Ensayo de Tanino |
| 6. Ensayos de Cumarinas | |
| 7. Ensayo de Cloruro férrico | |

Anexo 10

*Flujograma de la evaluación del efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.*

Hidratación de los animales con suero fisiológico 0,9%, a dosis de 50 mL/kg, previo ayuno de 18 horas



Administración de los tratamientos a cada grupo



Animales colocados en las jaulas de diuresis, para la recolección de orina cada 2 horas por 6 horas

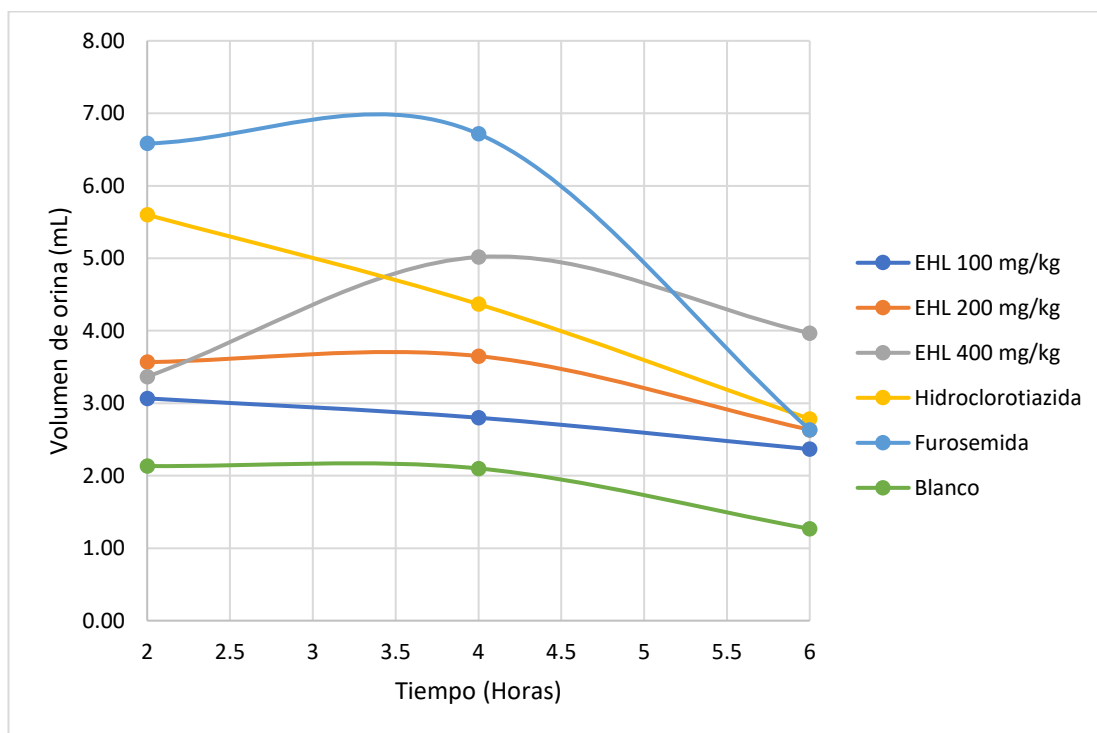


Medición y registro del volumen de orina recolectado



Anexo 11

Volumen de orina obtenido en función del tiempo por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas.



Anexo 12

*Volumen de orina acumulado en el tiempo obtenido por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas.*

Volumen acumulado de orina (mL)						
Tiempo (Horas)	Blanco NaCl 50 mg/kg	Extracto hidroalcohólico liofilizado			Hidroclorotiazi da 20 mg/kg	Furosemida 20 mg/kg
		100	200	400		
		mg/kg	mg/kg	mg/kg		
2	2,13	3,37	3,57	3,07	5,60	6,58
4	4,23	8,38	7,22	5,87	9,97	13,30
6	5,50	12,35	9,85	8,23	12,75	15,93

Anexo 13

*Datos del volumen total de orina en 6 horas, por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas.*

Volumen total de orina (mL) en 6 horas						
Rata	Blanco NaCl 50 mg/kg	Extracto hidroalcohólico liofilizado			Hidroclorotiazida 20 mg/kg	Furosemida 20 mg/kg
		100	200	400		
		mg/kg	mg/kg	mg/kg		
1	4,9	12,6	10,7	8,8	12,6	15,8
2	5,7	13,4	6,9	7,6	12,7	15,4
3	6,0	12,8	10,3	8,1	11,1	15,2
4	5,8	11,1	11,5	7,3	12,7	16,8
5	5,4	13,2	9,7	8,6	14,0	17,4
6	5,2	11,0	10,0	9,0	13,4	15,0
X	5,50	12,35	9,85	8,23	12,75	15,93
DE	0,410	1,046	1,574	0,683	0,973	0,961

Anexo 14

Datos del porcentaje de excreción volumétrica urinaria (%EVU) por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado de Foeniculum vulgare Mill. “hinojo” en ratas albinas.

%EVU						
Rata	Blanco NaCl 50 mg/kg	Extracto hidroalcohólico liofilizado			Hidroclorotiazida 20 mg/kg	Furosemida 20 mg/kg
		100	200	400		
		mg/kg	mg/kg	mg/kg		
1	44,34	100,00	92,40	70,85	90,00	105,33
2	55,88	102,92	69,28	62,09	77,20	101,18
3	44,12	85,33	76,52	60,54	85,25	106,15
4	52,73	86,45	90,84	53,36	81,36	103,70
5	60,00	102,33	76,26	69,58	98,52	100,46
6	55,91	88,57	81,30	60,73	82,87	90,91
X	52,16	94,27	81,10	62,86	85,87	101,29
DE	6,565	8,320	9,019	6,477	7,510	5,554

Anexo 15

Datos del porcentaje de actividad diurética (%AD) en relación al estándar hidroclorotiazida, por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado de Foeniculum vulgare Mill. “hinojo” en ratas albinas.

%AD						
Rata	Blanco NaCl 50 mg/kg	Extracto hidroalcohólico liofilizado			Hidroclorotiazida 20 mg/kg	Furosemida 20 mg/kg
		100	200	400		
		mg/kg	mg/kg	mg/kg		
1	38,89	100,00	84,92	69,84	100,00	125,40
2	44,88	105,51	54,33	59,84	100,00	121,26
3	54,05	115,32	92,79	72,97	100,00	136,94
4	45,05	87,40	90,55	57,48	100,00	132,28
5	38,57	94,29	69,29	61,43	100,00	124,29
6	38,81	82,09	74,63	67,16	100,00	111,94
X	59,50	97,43	77,75	64,79	100,00	125,35
DE	16,27	12,15	14,64	6,12	0,00	8,72

Anexo 16

Datos del porcentaje de actividad diurética (%AD) en relación al estándar furosemida, por efecto de la administración del extracto hidroalcohólico liofilizado de Foeniculum vulgare Mill. “hinojo” en ratas albinas.

%AD						
Rata	Blanco NaCl 50 mg/kg	Extracto hidroalcohólico liofilizado			Hidroclorotiazida 20 mg/kg	Furosemida 20 mg/kg
		100	200	400		
		mg/kg	mg/kg	mg/kg		
1	31,01	79,75	67,72	55,70	79,75	100,00
2	37,01	87,01	44,81	49,35	82,47	100,00
3	39,47	84,21	67,76	53,29	73,03	100,00
4	34,52	66,07	68,45	43,45	75,60	100,00
5	31,03	75,86	55,75	49,43	80,46	100,00
6	34,67	73,33	66,67	60,00	89,33	100,00
X	34,62	77,71	61,86	51,87	80,20	100,00
DE	3,32	6,96	9,63	5,76	5,68	0,00

Anexo 17

Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas del volumen total de orina por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de Foeniculum vulgare Mill. “hinojo” en ratas albinas.

Prueba de normalidad				
Tratamiento		Shapiro-Wilk	gl	Sig.
VOLUMEN TOTAL DE ORINA	EHL 100 mg/kg	0,931	6	0,589
	EHL 200 mg/kg	0,860	6	0,189
	EHL 400 mg/kg	0,845	6	0,142
	Hidroclorotiazida 20 mg/kg	0,922	6	0,518
	Furosemida 20 mg/kg	0,891	6	0,324
	Blanco	0,969	6	0,885

Prueba de homogeneidad de varianzas						
			Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
VOLUMEN TOTAL DE ORINA	Se basa en la media	1,001		5	30	0,434

Anexo 18

Análisis de varianza (ANOVA) del volumen total de orina por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de Foeniculum vulgare Mill. “hinojo” en ratas albinas.

Indicador		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
VOLUMEN TOTAL DE ORINA	Entre grupos	408,785	5	81,757	80,703	1,7806x10 ⁻¹⁶
	Dentro de grupos	30,392	30	1,013		
	Total	439,176	35			

Anexo 19

Prueba de Tukey del volumen total de orina por efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de Foeniculum vulgare Mill. “hinojo” en ratas albinas.

HSD Tukey					
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		a	b	c	d
Blanco	6	5,500			
EHL 100 mg/kg	6		8,233		
EHL 200 mg/kg	6		9,850		
EHL 400 mg/kg	6			12,350	
Hidroclorotiazida 20 mg/kg	6			12,750	
Furosemida 20 mg/kg	6				15,933
Sig.		1,000	0,088	0,982	1,000

Anexo 20

Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas del porcentaje de excreción volumétrica urinaria (% EVU).

Prueba de normalidad				
Tratamiento		Shapiro-Wilk	gl	Sig.
% EXCRECION VOLUMETRICA URINARIA	EHL 100 mg/kg	0,922	6	0,516
	EHL 200 mg/kg	0,923	6	0,531
	EHL 400 mg/kg	0,809	6	0,070
	Hidroclorotiazida 20 mg/kg	0,947	6	0,718
	Furosemida 20 mg/kg	0,841	6	0,133
	Blanco	0,876	6	0,250

Prueba de homogeneidad de varianzas						
			Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
%	EXCRECIÓN	Se basa en la media	0,898	5	30	0,495
VOLUMÉTRICA						
URINARIA						

Anexo 21

Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de excreción volumétrica urinaria (% EVU).

Indicador		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
% EXCRECIO N VOLUMET RICA URINARIA	Entre grupos	10553,381	5	2110,676	39,157	2,866x10 ⁻¹²
	Dentro de grupos	1617,093	30	53,903		
	Total	12170,474	35			

Anexo 22

Prueba de Tukey del porcentaje de excreción volumétrica urinaria (% EVU).

HSD Tukey					
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		a	b	c	d
Blanco	6	52,1633			
EHL 100 mg/kg	6	62,8583			
EHL 200 mg/kg	6		81,1000		
Hidroclorotiazida mg/kg	20 6		85,8667	85,8667	
EHL 400 mg/kg	6			94,2267	94,2267
Furosemida 20 mg/kg	6				101,2883
Sig.		0,149	0,867	0,381	0,564

Anexo 23

Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas del porcentaje de la actividad diurética (% AD) en función de la hidroclorotiazida.

Prueba de normalidad - Shapiro-Wilk					
	Tratamiento	Estadístico	gl	Sig.	
% ACTIVIDAD DIURETICA-HIDROCLOROTIAZIDA	EHL 100 mg/kg	0,941	6	0,665	
	EHL 200 mg/kg	0,932	6	0,599	
	EHL 400 mg/kg	0,985	6	0,973	
	Hidroclorotiazida 20 mg/kg	.	6	.	
	Furosemida 20 mg/kg	0,977	6	0,934	
	Blanco	0,830	6	0,108	

Prueba de homogeneidad de varianzas					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
%ACTIVIDAD DIURÉTICA-HIDROCLOROTIAZIDA	Se basa en la media	4,389	5	30	0,004

Anexo 24

Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de la actividad diurética (% AD) en función de la hidroclorotiazida.

Indicador		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
% ACTIVIDAD DIURÉTICA - HIDROCLO ROTIAZIDA	Entre grupos	25156,881	5	5031,376	58,922	1,318x10 ⁻¹⁴
	Dentro de grupos	2561,734	30	85,391		
	Total	27718,615	35			

Anexo 25

Prueba de Tukey del porcentaje de la actividad diurética (% AD) en función de la hidroclorotiazida.

HSD Tukey					
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		a	b	c	d
Blanco	6	43,4783			
EHL 100 mg/kg	6		64,7867		
EHL 200 mg/kg	6		77,7517		
EHL 400 mg/kg	6			97,4350	
Hidroclorotiazida 20 mg/kg	6			100,0000	
Furosemida 20 mg/kg	6				125,3517
Sig.		1,000	0,178	0,997	1,000

Anexo 26

Prueba de normalidad y homogeneidad de varianzas del porcentaje de la actividad diurética (% AD) en función de la furosemida.

Prueba de normalidad - Shapiro-Wilk				
	Tratamiento	Estadístico	gl	Sig.
PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DIURETICA-FUROSEMIDA	EHL 100 mg/kg	0,982	6	0,959
	EHL 200 mg/kg	0,751	6	0,120
	EHL 400 mg/kg	0,977	6	0,936
	Hidroclorotiazida 20 mg/kg	0,964	6	0,852
	Furosemida 20 mg/kg	.	6	.
	Blanco	0,922	6	0,519

Prueba de homogeneidad de varianzas						
			Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DIURÉTICA-FUROSEMIDA	DE	Se basa en la media	4,116	5	30	0,006

Anexo 27

Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de la actividad diurética (% AD) en función de la furosemida.

Indicador		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
	Entre grupos	16058,438	5	3211,688	84,727	9,0586x10 ⁻¹⁷
% ACTIVIDAD DIURÉTICA- FUROSEMIDA	Dentro de grupos	1137,193	30	37,906		
	Total	17195,631	35			

Anexo 28

Prueba de Tukey del porcentaje de la actividad diurética (% AD) en función de la furosemida.

HSD Tukey					
Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		a	b	c	d
Blanco	6	34,6183			
EHL 100 mg/kg	6		51,8700		
EHL 200 mg/kg	6		61,8600		
EHL 400 mg/kg	6			77,7050	
Hidroclorotiazida mg/kg	20	6		80,1067	
Furosemida 20 mg/kg	6				100,0000
Sig.		1,000	0,083	0,983	1,000

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

RESOLUCIÓN DECANAL N°787-2025-UNSCH-FCSA-D

BACHILLER: MELISSA LIMACO CARPIO

En la ciudad de Ayacucho, siendo las once en punto de la mañana del día veinticuatro del mes de octubre del año dos mil veinticinco, se reunieron en el auditorium de la Facultad de Ciencias de la Salud los docentes miembros del jurado evaluador, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado: **Efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" en ratas albinas. Ayacucho 2024**, presentado por la bachiller MELISSA LIMACO CARPIO para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. El jurado evaluador está conformado por:

Presidente : Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo (delegado por la Decano)

Miembros : Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo

: Prof. Roxana León Aronés

Prof. Tania Mendoza Almeida

Asesor : Prof. Edwin Carlos Enciso Roca

Secretario Docente : Prof. Danny Roosvell Cordova De la Cruz

Con el quorum de reglamento se dio inicio la sustentación de tesis, como acto inicial el presidente de la comisión pide al secretario docente dar lectura a la RESOLUCIÓN DECANAL N° 787-2025-UNSCH-FCSA-D, de fecha 24 de octubre de 2025, también manifiesta que los documentos presentados por la recurrente no tienen ninguna observación, dando algunas indicaciones a la sustentante.

Seguidamente se da inicio a la exposición la Bachiller: **MELISSA LIMACO CARPIO**, y una vez concluida, el presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas, seguidamente se da pase al asesor de tesis, para que pueda aclarar algunas preguntas, interrogantes, aclaraciones.

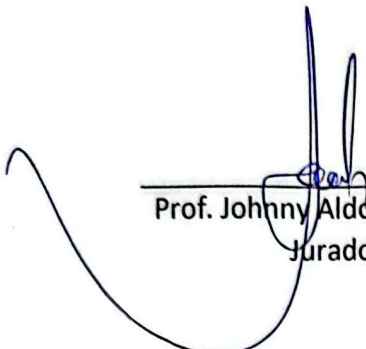
El presidente invita a la sustentante abandonar el auditorium para que pueda proceder con la calificación.

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN FINAL

Bachiller: **MELISSA LIMACO CARPIO**

JURADOS	Texto	Exposición	Preguntas	P. Final
Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo	16	16	16	16
Prof. Roxana León Aronés	17	17	16	17
Prof. Tania Mendoza Almeida	18	17	15	17
PROMEDIO FINAL				17

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar al Bachiller MELISSA LIMACO CARPIO; quien obtuvo la nota final de diecisiete (17) para la cual los miembros del jurado evaluador firman al pie del presente, siendo las 12:20 de la tarde, se da por concluido el presente acto académico.



Prof. Johnny Aldo Tinto Jayo
Jurado



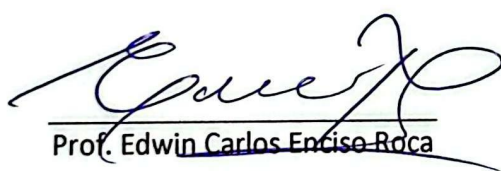
Prof. Roxana León Aronés
Jurado



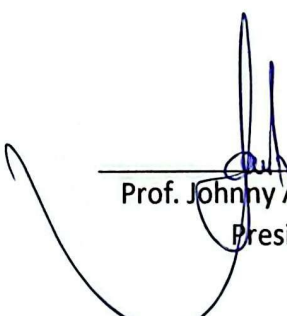
Prof. Tania Mendoza Almeida
Jurado



Prof. Danny Roosevelt Córdova
De la Cruz
Secretario docente



Prof. Edwin Carlos Enciso Roca
Asesor



Prof. Johnny Aldo Tinto Jayo
Presidente

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE
HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

El Instructor en Segunda Instancia, en virtud de la RCU N.º 039-2021-UNSCU, y en calidad de director de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, emite la presente

CONSTANCIA

DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

A **Melissa, LIMACO CARPIO**, Bachiller de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en mérito a que la tesis titulada: **Efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas. Ayacucho 2024**; ha alcanzado un índice de similitud de 23% (veintitrés); cumpliendo satisfactoriamente lo establecido en el Art. 13 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga mediante el uso del SOFTWARE TURNITIN.

En ese sentido, se emite la presente constancia en señal de conformidad.

Ayacucho, 30 de setiembre de 2025.



Dr. Johnny Aldo TINCO JAYO
Director (e)

Firmado digitalmente
por Dr. Johnny Aldo
TINCO JAYO
Fecha: 2025.09.30
18:15:02 -05'00'

Efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas. Ayacucho 2024

por Melissa LIMACO CARPIO

Fecha de entrega: 19-sept-2025 10:59a. m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2755797750

Nombre del archivo: 00 Borrador de Tesis- Melissa LIMACO CARPIO.pdf (1.77M)

Total de palabras: 16585

Total de caracteres: 88623

Efecto diurético del extracto hidroalcohólico liofilizado de las hojas de Foeniculum vulgare Mill. “hinojo” en ratas albinas.

Ayacucho 2024

INFORME DE ORIGINALIDAD

23%

INDICE DE SIMILITUD

22%

FUENTES DE INTERNET

7%

PUBLICACIONES

16%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

Submitted to Universidad Nacional de San
Cristóbal de Huamanga

Trabajo del estudiante

10%

2

repositorio.unsch.edu.pe

Fuente de Internet

6%

3

hdl.handle.net

Fuente de Internet

2%

4

wolveslegacy.es

Fuente de Internet

2%

5

vbook.pub

Fuente de Internet

1%

6

repositorio.uladech.edu.pe

Fuente de Internet

1%

7

core.ac.uk

Fuente de Internet

<1%

8	Submitted to ITESM: Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey	<1 %
Trabajo del estudiante		
9	idoc.pub	<1 %
Fuente de Internet		
10	Submitted to Aliat Universidades	<1 %
Trabajo del estudiante		
11	revistes.ub.edu	<1 %
Fuente de Internet		
12	repositorio.uroosevelt.edu.pe	<1 %
Fuente de Internet		
13	docplayer.es	<1 %
Fuente de Internet		
14	Submitted to Universidad Anahuac México Sur	<1 %
Trabajo del estudiante		

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 30 words

Excluir bibliografía

Activo