

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



Efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de las
hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" en *Mus
musculus* "ratón". Ayacucho 2017.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR EL:
Bach. OCHOA AYALA, Kenyi Brayand

AYACUCHO – PERÚ
2018

A Dios, mis padres: Ana María, Saturnino y abuela Margarita por el apoyo y sacrificio que me brindaron en todo momento para concluir mi carrera y ser un excelente profesional en desarrollo.

A mis hermanos y para usted especialmente, gracias.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de San Cristóbal De Huamanga, *Alma Mater* forjadora de buenos y excelentes profesionales al servicio de la sociedad y del país, por haberme acogido cinco años en sus aulas durante la formación de esta digna profesión.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, en especial a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica y a sus docentes que en ella laboran por sus enseñanzas de las informaciones necesarias y dedicación con el objetivo de transmitir conocimientos e inculcar valores, para mi desarrollo profesional.

Un reconocimiento especial a mi asesor Dr. Enciso Roca, Edwin Carlos por permitirme recurrir a su capacidad y experiencia para que sea posible realizar y culminar esta investigación.

Asimismo expreso mi gratitud a todas las personas que me brindaron su apoyo sugerencias y consejos en la ejecución de mi trabajo.

ÍNDICE DE GENERAL

	página
ÍNDICE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
INDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”	7
2.3. Mecanismos de acción de las plantas como expectorantes	10
2.4. Aparato respiratorio	10
2.5. Farmacoterapia de la secreción bronquial	13
2.6. Rojo fenol	15
2.7. Uso del rojo fenol para evaluar la acción expectorante	15
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Ubicación del trabajo de investigación	17
3.2. Definición de la población y muestra	17
3.3. Diseño metodológico y recolección de datos	18
3.4. Determinación del efecto expectorante	20
3.5. Cálculo del porcentaje del efecto expectorante	21
3.6. Tipo de investigación	21
3.7. Diseño de investigación	22
3.8. Análisis de datos	23
IV. RESULTADOS	25
V. DISCUSIÓN	29
VI. CONCLUSIONES	37
VII. RECOMENDACIONES	39
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
IX. ANEXOS	45

ÍNDICE DE TABLAS

	página
Tabla 1. Composición centesimal (g/100 g) y valor energético (kcal/100 g) de hinojo silvestre (sobre sustancia fresca).	8
Tabla 2. Composición centesimal (g/100 g) y valor energético (kcal/100 g) de hinojo cultivado (sobre sustancia fresca).	9
Tabla 3. Distribución de los grupos de experimentación.	22
Tabla 4. Metabolitos secundarios presentes según el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill "hinojo". Ayacucho 2018.	26

ÍNDICE DE FIGURAS

	página
Figura 1. Estructura de la bromhexina.	15
Figura 2. Porcentaje de efecto expectorante por tratamientos del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en <i>Mus musculus</i> “ratón” Ayacucho - 2018.	27
Figura 3. Representación de la prueba Tukey para el porcentaje de efecto expectorante por tratamientos del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en <i>Mus musculus</i> “ratón” Ayacucho - 2018.	28

ÍNDICE DE ANEXOS

	página
Anexo 1. Certificado de la identificación taxonómica de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. Ayacucho 2018.	46
Anexo 2. Flujograma de obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. Ayacucho 2018.	47
Anexo 3. Flujograma del procedimiento para la determinación del efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en <i>Mus musculus</i> “ratón”. Ayacucho 2018.	48
Anexo 4. Recolección de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. Ayacucho 2018.	49
Anexo 5. Preparación de la muestra: secado, triturado y pesado de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. Ayacucho 2018.	50
Anexo 6. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. Ayacucho 2018.	51
Anexo 7. Procedimiento de obtención y secado del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en el laboratorio de Toxicología. Ayacucho 2018.	52
Anexo 8. Procedimiento experimental pesado, marcado del ratón; preparación del rojo fenol y del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en el laboratorio de Farmacología. Ayacucho 2018.	53
Anexo 9. Administración oral del blanco, estándar y los tratamientos del extracto, a cada uno de los grupos a ensayar en el laboratorio de Farmacología. Ayacucho 2018.	54
Anexo 10. Sacrificado del ratón y obtención del líquido de lavado y colectado de la secreción traqueobronquial de los ratones, en el laboratorio de Farmacología. Ayacucho 2018.	55
Anexo 11. Preparación de las mezclas (blanco, estándar y tratamientos) para la lectura espectral, en el laboratorio de Farmacología. Ayacucho 2018.	56

Anexo 12.	Método instrumental recolección de los datos, medición de la concentración de rojo fenol en el espectrofotómetro UV - Vis a una longitud de onda de 560 nm para determinar el efecto expectorante, en el laboratorio de Toxicología. Ayacucho 2018.	57
Anexo 13.	Esquema de las reacciones a realizar en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. Ayacucho 2018.	58
Anexo 14.	Fotografía del tamizaje fitoquímico para identificar metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill “hinojo”. Ayacucho 2018.	59
Anexo 15.	Absorbancias obtenidas del espectrofotómetro UV – Vis de las concentraciones de rojo fenol en secreción traqueobronquial de <i>Mus musculus</i> “ratón” del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”, en el laboratorio de Toxicología. Ayacucho 2018.	60
Anexo 16.	Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de efecto expectorante a diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en <i>Mus musculus</i> “ratón”. Ayacucho 2018.	61
Anexo 17.	Prueba de comparaciones múltiples de Tukey para el porcentaje de efecto expectorante a diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en <i>Mus musculus</i> “ratón”. Ayacucho 2018.	62
Anexo 18.	Matriz de consistencia. Ayacucho 2018.	63

RESUMEN

En la actualidad los estudios farmacológicos de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, se ha convertido en una buena fuente de medicina tradicional, la industria farmacéutica usa la naturaleza, buscando moléculas bioactivas para el desarrollo de nuevos medicamentos o fitoterápicos que podrían curar o prevenir muchas enfermedades. El uso tradicional de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” destacan como antialérgico, expectorante, broncodilatador, antiinflamatorio, antimicrobiano, antiviral, antioxidante y otros. Estas acciones sugieren un uso para el hinojo como tratamiento de afecciones bronquiales y broncopulmonares. El presente trabajo de investigación se realizó con el objetivo de demostrar el efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en *Mus musculus* “ratón”, recolectadas en el distrito de Vinchos, región Ayacucho, de noviembre del 2017 a abril del 2018 en los laboratorios de Farmacología y Toxicología en la Facultad de Ciencias de la Salud de la UNSCH. Los metabolitos secundarios se determinaron según lo propuesto por Miranda y Cuellar. El estudio se centra en un modelo experimental, el efecto expectorante se realizó mediante el método *in vitro* de rojo fenol en secreción traqueobronquial de ratón, a diferentes dosis del extracto de 50, 100, 200 y 400 mg/kg, blanco (agua destilada) y como estándar (bromhexina 25 mg/kg). El extracto hidroalcohólico presenta los siguientes metabolitos secundarios: fenoles, flavonoides, catequinas, saponinas, azúcares reductores, aminoácidos libres, taninos, triterpenos y/o esteroides, etc. El efecto expectorante basado en el porcentaje de absorbancia fue de 14,7%, 33,9%, 60,8% y 70,5% a las dosis de trabajo respectivamente y 64,7% de la bromhexina siendo estadísticamente significativo ($p < 0,05$). Concluyéndose que en las condiciones experimentales se ha demostrado que las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” presentan efecto expectorante en *Mus musculus* “ratón”.

Palabras clave: *Foeniculum vulgare* Mill, efecto expectorante, extracto hidroalcohólico.

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años la Organización Mundial de la Salud (OMS) en su informe menciona que alrededor del 65 - 80% de la población del mundo en los países emergentes dependen principalmente de las plantas para sus atenciones primarias de salud debido a la pobreza y la falta de acceso a servicios médicos modernos.¹ El tratamiento de las enfermedades es un problema real en la comunidad rural para lo cual utilizan muchas sustancias producidas a partir de plantas medicinales.² El reino vegetal proporciona agentes con un grado de potencia farmacológica y toxicológica muy favorables, con márgenes terapéuticos muy adecuados.^{3, 4} El *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” las hojas, el bulbo y las semillas como alimentos o té no presentan ninguna toxicidad ni reacción adversa, dan un agradable aroma y sabor.⁵ Los extractos de plantas que pertenecen a la familia Apiaceae como es el *Foeniculum vulgare* Mill “hinojo”, representan una buena fuente de compuestos bioactivos naturales que podrían ser valiosos para la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética.⁶

Los diversos extractos de esta planta, poseen acciones farmacológicas como: antialérgica, expectorante, antiinflamatoria, antimicrobiana, antiviral, antioxidante y otros,⁷ con metabolitos secundarios: fenoles, flavonoides, taninos, saponinas, triterpenoides y esteroides. Además son excelentes fuentes de aceites esenciales y se pueden extraer de todas las partes de la planta.⁶ El uso de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” como expectorante y/o mucolítico, es debido a que estimulan la motilidad ciliar del aparato respiratorio y mejoran el transporte externo de corpúsculos extraños,^{7, 8} esta actividad gracias a los aceites esenciales volátiles presentes.^{7,9} Por otra parte las saponinas al irritar los nervios vágales, estos aumentan la secreción y conducen a la dilución de la flema para su fácil expectoración.¹⁰ Estas acciones sugieren un uso para el hinojo como tratamiento de afecciones bronquiales y broncopulmonares,^{7, 8} en enfermedades relacionadas

con el sistema respiratorio.⁶ Fisiológicamente el moco es un gel de baja viscosidad y elasticidad, mientras que el moco patológico tiene mayor viscosidad y elasticidad debido a la modificación en la calidad, cantidad y las características fisicoquímicas del moco, estos dependen de la reología de la mucosidad para su expulsión.¹¹

El estudio se basa en el método *in vitro* de rojo fenol para evaluar el efecto expectorante.³ Este consiste en la medición de la concentración de rojo fenol en la secreción traqueobronquial del ratón, dicha concentración se determina espectrofotométricamente utilizando una longitud de onda de 560 nm.^{3,12} Los datos se expresan como un porcentaje de absorbancia de cada muestra experimental en relación al blanco (agua destilada 1 mL), el efecto expectorante fue evaluado por el aumento de las absorbancias.¹³

Los fármacos expectorantes y/o mucolíticos al igual que todo medicamento inducen efectos secundarios en los pacientes, el cloruro de amonio conlleva a acidosis de tipo hiperclorémico y la guayafenesina provoca vómitos o urticaria¹⁴ por lo tanto es indispensable contar con nuevas alternativas terapéuticas con efecto expectorante, con menores reacciones adversas y costo, como es el caso de *Foeniculum vulgare* Mill “hinojo”, cuya propiedad expectorante es igual a los fármacos usados actualmente y se debe a la estimulación de la contracción del músculo liso traqueal, lo que facilita la expectoración en resfriados.⁷

El presente trabajo de investigación se realizó para demostrar mediante procesos experimentales el efecto expectorante, del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en *Mus musculus* “ratón”, para el cual se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general.

Determinar el efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en *Mus musculus* “ratón”.

Objetivos específicos.

- Identificar la presencia de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.
- Evaluar la dosis con mayor efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.
- Comparar el efecto expectorante de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” con bromhexina.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

En un estudio realizado por López *et al.*³ se plantearon como objetivo evaluar la actividad expectorante y toxicológica de una formulación elaborada a partir de *Eucalyptus globulus* Labill, *Borago officinalis* L y *Sambucus Nigra* L por el modelo de rojo fenol en secreciones de ratón, a dos concentraciones alcohólicas de la formulación 30% y 70% administradas a 1 mL/20 g de peso corporal y tomando como estándar al bromhexina a 25 mg/kg. Los resultados mostraron que los extractos hidroalcohólicos al 30 y 70% presentaron efecto mucolítico ($p < 0,05$), con una efectividad ligeramente superior para el extracto en alcohol al 70%. Concluyendo que en las condiciones experimentales el estudio de la formulación alcohólica a base de *Eucalyptus globulus* Labill, *Borago officinalis* L y *Sambucus Nigra* L presenta actividad expectorante.

Song *et al.*¹³ realizaron un estudio que tuvo como objetivo investigar el efecto aditivo de la mezcla de extractos de *Hedera helix* y *Rhizoma coptidis* sobre la actividad expectorante en animales, por el método de rojo de fenol en la tráquea de ratones. Los extractos aumentaron significativamente la secreción traqueal. La mezcla de extractos en una concentración 1:1 a una dosis de 200 mg/kg mostró un efecto más potente sobre la secreción de rojo fenol ($25,25 \pm 3,14$) que el uso individual de cada extracto secreción roja de fenol; HH $13,39 \pm 4,22$ ($p < 0,000$), RC $20,78 \pm 2,50$ ($p < 0,010$). La mezcla 3:1 demostró un efecto expectorante óptimo ($p < 0,001$), y esta mezcla mostró efectos expectorantes y de una manera dependiente de la dosis. Concluyendo que el estudio proporciona evidencia del efecto antitusivo y expectorante de la mezcla 3:1 *Hedera helix* y *Rhizoma coptidis*, que puede ser una opción terapéutica útil para las enfermedades respiratorias.

En un estudio realizado por Zhou *et al.*¹⁵ plantearon como uno de sus objetivos evaluar el efecto expectorante del extracto etanólico al 80% de *Sorghum bicolor* (L.), a 50, 100 y 200 mg/kg de tratamiento, mediante el método de rojo fenol en ratones. Obteniendo como resultado que todos los tratamientos habían aumentado significativamente ($p < 0,05$) la cantidad de producción de rojo fenol para 0,39, 1,18 y 1,96 pliegues en las tráqueas de ratones. Concluyéndose que *Sorghum bicolor* (L.), según el estudio demuestra una efectiva actividad expectorante.

Han *et al.*¹⁶ evaluaron la actividad expectorante y antitusiva in vivo del extracto acuoso y las fracciones alcohólicas de *Reineckia carnea* a 30%, 60% y 90% respectivamente. Obteniendo como resultado que el extracto al 60% de etanol a la dosis de 0,570 g/kg ($p < 0,05$) y al 90% de etanol a la dosis de 0,372 g/kg ($p < 0,05$) eran curativamente efectivos en la expectoración y la tos, respectivamente. Concluyendo que el estudio en las condiciones experimentales apoya el uso de *Reineckia carnea* como expectorante y antitusígeno.

Barzaga *et al.*¹² realizaron un estudio el cual consistía en determinar la actividad expectorante de extractos, jarabes y tabletas obtenidas a partir de partes aéreas secas de *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng, mediante el método de coloración con rojo fenol de la secreción traqueobronquial en ratones, usando como fármacos estándar a la bromhexina 25 mg/kg y el salbutamol 2 mg/kg. Obtuvieron como resultado ($p < 0,05$) que tanto el extracto acuoso como el hidroalcohólico presentan actividad expectorante; el jarabe preparado con extracto acuoso fue efectivo a dosis de 50 mL/kg, con una dosis efectiva media de 41,91 mL/kg; el jarabe preparado con extracto fluido fue efectivo a dosis de 50 y 37,5 mL/kg, con dosis efectiva media de 34,64 mL/kg y las tabletas de 100 mg ejercieron efecto expectorante a las dosis de 34 y 68 mg/kg. A su vez la administración aguda de tabletas de 100 mg ejerció un efecto expectorante, similar al de la bromhexina y el salbutamol. Concluyéndose que las formulaciones mostraron efecto expectorante en las condiciones experimentales del estudio.

En un trabajo realizado por Castañeda¹⁷ sobre el efecto antifúngico del extracto etanólico de las semillas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” sobre cepa *Candida albicans* ATCC 10804 *in vitro*. Se reportaron el contenido de los siguientes metabolitos secundarios: flavonoides, fenoles, glicósidos fenólicos y saponinas, etc. Gracias a la presencia de metabolitos secundarios, las plantas medicinales

pueden ejercer algún efecto sobre la bioquímica humana. La actividad antifúngica presente en estas se producen gracias a diversos metabolitos secundarios.

En un estudio realizado en la Universidad Nacional de Trujillo por Rojas y Calderón¹⁸ evaluaron el efecto del extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare* mill. "hinojo" sobre *Rattus rattus* var. albinus "ratas" dislipidémicas. Analizando el perfil lipídico constituyente en niveles de colesterol total, triglicéridos, HDL, LDL Y VLDL en sangre cuando las ratas son sondeadas previamente con extracto de hojas y tallos de hinojo a 250 mg/kg y 500 mg/kg para cada uno por 15 días. Se concluye que el extracto hidroalcohólico independientemente sean de hojas o tallos tienen efecto hipolipemiente en los niveles altos de colesterol total, triglicéridos. HDL, LDL Y VLDL y el resultado del análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *foeniculum vulgare* mill. "hinojo" demostró la presencia de los siguientes metabolitos secundarios: alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas y glicósidos cardiotónicos.

En un estudio de la UNMSM realizado por Camasca¹⁹ sobre la demanda y estimación del valor cultural y económico de plantas medicinales comercializadas en la ciudad de Ayacucho. Se ha confirmado que Ayacucho cuenta con una diversidad de especies de plantas medicinales y la comercialización diaria como la utilización de estas especies de plantas, demuestran que son actividades tradicionales en la vida económica y social de los huamanguinos en los mercados. Se reporta el número de informantes o vendedores que hacen referencia sobre el uso de las plantas medicinales en las categorías de dolencias y enfermedades, las más usadas en estas categorías son para las enfermedades del aparato respiratorio. El hinojo (*Foeniculum vulgare* Mill.), con 11 informantes; eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill), con 8 informantes; yuraq muña (*Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb.), pacha salvia (*Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling.), con 5 informantes; borraja (*Borago officinalis* L.), nogal (*Juglans neotropica* Diels), Marco (*Ambrosia arborescens* Mill.), con 4 informantes y otras con menores informantes. En este grupo de especies el hinojo y el eucalipto tienen mayor consenso de informantes, que se usan para combatir la bronquitis, tos y como expectorantes. Estos conocimientos y la gran cantidad de especies para su uso, es posible que lo hayan desarrollado los pobladores, porque Ayacucho se encuentra enclavada en los andes a una altura de 2750 msnm, y en los meses más fríos de mayo a agosto la población padece de afecciones respiratorias, por las bajas temperaturas.

Chacón²⁰ evaluó el efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borraja”, mediante el método rojo fenol en la secreción traqueobronquial de ratones albinos. Los resultados revelan que las tres concentraciones de 100, 200 y 400 mg/kg presentan efecto expectorante, siendo sus medias $2,11 \pm 20,41 \mu\text{g/ml}$, $1,98 \pm 0,27 \mu\text{g/ml}$ y $1,96 \pm 0,36 \mu\text{g/ml}$ de concentración de rojo fenol respectivamente. La concentración 100 mg/kg de extracto hidroalcohólico, tiene mejor efecto expectorante ya que su media de $2,11 \pm 20,41 \mu\text{g/ml}$ es la que más se asemeja al fármaco estándar bromhexina 30 mg/kg cuya media es de $3,11 \pm 0,37 \mu\text{g/ml}$. El efecto expectorante se expresó en porcentaje del incremento de la concentración de rojo fenol respecto al fármaco estándar bromhexina. La concentración de rojo fenol fue determinada por espectrofotometría y los resultados fueron expresados como la media \pm de la desviación estándar.

En un trabajo realizado por Huamaní²¹ sobre la actividad antitusígena del extracto etanólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, reporta el contenido de los siguientes metabolitos secundarios: taninos, fenoles, triterpenos y/o esteroides, azúcares reductores, flavonoides, lactonas, cumarinas, catequinas y quinonas. Esta identificación se llevó a cabo siguiendo el procedimiento propuesto por Miranda y Cuellar.

2.2. *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”

2.2.1. Clasificación taxonómica según el sistema de Cronquist. A. (1988).

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

Fuente: Certificado emitido por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. (Anexo 1).

2.2.2. Nombres comunes

Foeniculum vulgare Mill. “hinojo” recibe una gran variedad de nombres vernáculos, tanto en castellano como en las distintas lenguas oficiales en cada país; algunos de estos nombres son: Quechua y Aymara (Inuju), Brasil (Endro, funcho), España (Fenoll, fonoll), China (Hui xiang, xiao hui xiang), Francia (Fenouille), Alemania (Fenchel, fenchle), Italia (Finocchio, finucchiello), Ecuador y México (hinojo), etc.⁷

2.2.3. Descripción botánica

Foeniculum vulgare Mill. “hinojo”, es una planta perenne que puede llegar a medir hasta 2 metros. Su tallo es erecto, estriado, glauco, glabro, sin restos fibrosos en la base y ramificado en su mitad superior. Las hojas 3 - 4 pinnatisectas poseen un contorno triangular y son pecioladas y glabras; las caulinares son alternas y progresivamente menos divididas y más cortas, mientras que las superiores se reducen a un pequeño apéndice más corto que la vaina. Las inflorescencias son umbelas terminales y laterales que carecen de brácteas; la corola de las flores es amarilla, los pétalos poseen un ápice incurvado, el cáliz carece de dientes, el estilopodio es cónico y los estilos divaricados y ambos alcanzan la misma longitud en la fructificación. Los frutos son ovoideos, glabros y comprimidos en los laterales y sus mericarpos poseen cinco costillas prominentes.^{7,22}

2.2.4. Distribución geográfica

Actualmente se encuentra distribuido prácticamente por todo el mundo y en algunas zonas actúa como especie invasiva, desplazando a la flora autóctona. Esta planta crece en los márgenes de los caminos, en campos de cultivo y matorrales y está presente a nivel del mar y hasta los 1200 metros de altitud. Crece

silvestre en la mayor parte de la Europa templada, pero generalmente se considera indígena del Mediterráneo.^{7,23}

2.2.5. Composición química

Existen diversos estudios sobre la composición de las distintas partes del hinojo. Los frutos de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” contiene sustancias volátiles como anetol, metilchavicol, fenchone y limoneno, así como piperitenone. El ácido clorogénico, el ácido cafeico y la cinarina también se han aislado de la planta.²⁴

Según recogen Badgujar *et al*, el compuesto volátil mayoritario es el trans-anetol, que representa hasta el 75% del aceite esencial; el segundo componente más abundante es la fenchona, entre 8 y 15%, seguido del estragol, o metilchavicol, con un 5-9%. El d-limoneno representa casi el 7% del aceite esencial, mircenol y p-cimeno se encuentran en menor cantidad.⁷ El metabolito secundario, acetite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” como expectorante contrae el músculo liso traqueal, lo que facilita la expectoración en resfriados.^{7,9}

En la Tabla 1 se recogen datos de las plantas silvestres^{7,25} y en la Tabla 2 de las cultivadas.²⁵

Tabla 1. Composición centesimal (g/100 g) y valor energético (kcal/100 g) de hinojo silvestre (sobre sustancia fresca)

	Brotes	Tallos	Inflorescencias	Hojas
Humedad	73,88 ± 0,83	77,46 ± 1,03	71,31 ± 4,01	76,36 ± 0,33
Proteínas	1,33 ± 0,04	1,08 ± 0,00	1,37 ± 0,05	1,16 ± 0,03
Grasa	0,49 ± 0,05	0,45 ± 0,07	1,28 ± 0,28	0,61 ± 0,16
Carbohidratos	21,91 ± 0,55	19,39 ± 0,65	22,82 ± 3,06	18,44 ± 0,06
Cenizas	2,39 ± 0,02	1,62 ± 0,12	3,23 ± 0,02	3,43 ± 0,04
Valor energético	97,37 ± 2,44	85,91 ± 3,02	108,23 ± 10,37	83,90 ± 1,34

Fuente: Badgujar S, Patel V, Bandivdekar A. *Foeniculum vulgare* Mill: A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology.2014.⁷

Fuente: Alonso Esteban J. El hinojo (*Foeniculum vulgare* Mill.) en las Ciencias Farmacéuticas.2015.²⁵

Tabla 2. Composición centesimal (g/100 g) y valor energético (kcal/ 100 g) de hinojo cultivado (sobre sustancia fresca)

	Semillas	Hojas	Bulbo
Humedad	8,81 ± 0,74	73,88 ± 0,83	93,80 ± 1,51
Proteínas	15,80 ± 0,93	1,33 ± 0,04	1,42 ± 0,10
Grasas	14,87 ± 1,04	0,49 ± 0,05	0,17 ± 0,04
Carbohidratos disponibles*	12,49	1,32 ± 0,05	1,92 ± 0,40
Fibra	39,8	4,33 ± 0,18	1,62 ± 0,20
Cenizas	8,22 ± 0,26	1,93 ± 0,12	0,77 ± 0,15
Valor energético	345	40,49	18,13

*expresados en g de glucosa/100 g

Fuente: Alonso Esteban J. El hinojo (*Foeniculum vulgare* Mill.) en las Ciencias Farmacéuticas. 2015.²⁵

2.2.6. Usos y efectos farmacológicos

Es una hierba tradicional y popular con una larga historia de uso como una medicina. Una serie de estudios mostró que *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” controla efectivamente numerosos trastornos infecciosos de origen bacteriano, fúngico, viral y protozoario, así mismo se ha demostrado que presenta actividad antioxidante, antiinflamatorio, antitumoral, quimiopreventivo, citoprotector, actividad hepatoprotectora, hipoglucémicos y estrógenas.^{7,23,24} el aceite esencial presenta propiedades broncodilatadoras, mucolíticas y expectorantes.^{8,9} Otras publicaciones afirman que *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” tiene un tipo especial de efecto de mejora de la memoria y puede reducir el estrés. Experimentos con animales y ensayos clínicos limitados sugieren que el uso crónico de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” no es dañino, es consumido diariamente, en forma cruda como ensaladas, en estofados, hervido, a la parrilla o al horno en varios platos e incluso utilizado en la preparación de tés de hierbas o espíritus, por ende una dieta con la cantidad deseada de hinojo podría traer consigo una buena salud.^{7,23}

2.2.7. Efecto expectorante

Las semillas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” estimulan la motilidad ciliar del aparato respiratorio y mejoran el transporte externo de los corpúsculos extraños. Esta acción sugiere un uso para el hinojo en el tratamiento de afecciones bronquiales y broncopulmonares y en ambientes particularmente contaminados. El aceite volátil de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” estimula la contracción de los

músculos lisos de la tráquea, una acción que podría facilitar la expectoración de moco, bacterias y otros corpúsculos extraños a las vías respiratorias.^{7,8,9}

2.3. Mecanismos de acción de las plantas como expectorantes

2.3.1. Secretolítico: Mediante el aumento de la secreción de la flema, esto conduce a la producción de la flema con menor viscosidad para su fácil eliminación tanto de partículas bacterianas y/o corpúsculos extraños, mediante el aclaramiento mucociliar, que luego conlleven a una expectoración rápida.¹⁰

2.3.2. Mucolítico: Por la modulación de las propiedades físicas y químicas de la flema, regulan la composición y disminuyen de este modo su viscosidad. Estos conducen a la fisión de los enlaces disulfuros de la cadenas de la flema.¹⁰

2.3.3. Secretomotor: Aumentan el movimiento de los cilios en el epitelio ciliar de las vías respiratorias. Este mecanismo mejora la efectividad del aclaramiento mucociliar y controlan una vía aérea limpia.¹⁰

2.4. Aparato respiratorio

El aparato respiratorio abarca el conjunto de estructuras especializadas en ejecutar las funciones respiratorias. Esta actividad unificadora no es la única, pues componentes suyos, como las fosas nasales, contribuyen a la función olfatoria y la laringe es el órgano de la fonación. Desde el punto de vista de la anatomía funcional, describiremos una parte conductora del aire, las vías aéreas, y una parte donde se realiza el intercambio gaseoso, los pulmones. El aire que llega al alveolo debe ser limpio, húmedo y caliente. Las modificaciones que hacen que adquiera estas condiciones se producen durante su tránsito por las diferentes partes del aparato respiratorio.²⁶

2.4.1. Partes del aparato respiratorio

a. Vías respiratorias: Forman parte de las vías respiratorias la pirámide nasal (nariz), las fosas nasales y los senos paranasales, la faringe (nasofaringe, orofaringe, laringofaringe), la laringe, la tráquea y los bronquios.²⁶

b. Órganos de la respiración: Los órganos de la respiración son los pulmones.²⁶

Como ya se sabe al describir la vía aérea hablamos de varios componentes, la cavidad nasal, una estructura relevante debido a la serie de funciones que tiene entre ellas la humidificación, calentamiento y aumento de la resistencia de la vía aérea permitiendo un mayor flujo respecto a la boca. Dicha cavidad generalmente localizada en línea media (de dos áreas que confluyen), la primera es la cavidad oral la cual se limita por el paladar blando y duro, los dientes y la lengua. La orofaringe limita con la nasofaringe por arriba y por debajo con la punta de la

epiglotis. La segunda es la cavidad nasal la cual se extiende desde las narinas hasta las coanas, ésta ofrece una mayor resistencia al flujo de aire. La cavidad nasal está dividida en dos cámaras por el tabique nasal. Las paredes laterales tienen tres proyecciones óseas denominadas cornetes, debajo de los cuales se sitúan las turbinas.^{27,28} La parte del aparato respiratorio de mayor importancia en cuanto a la secreción o expectoración son la tráquea y los bronquios, es por ello que se estudiarán dichas partes del aparato respiratorio.

- **Tráquea**

La tráquea con una longitud de 20 cm³ y un diámetro de 12 mm está formada por 16-20 anillos cartilagosos, cuya forma semeja una “U”, que se diferencian del cricoides por tener en su pared posterior una estructura mucosa con fibras musculares longitudinales y transversas que participan en algunas funciones como la tos. La forma de la tráquea en la infancia es circular, pero en la edad adulta tiende a ser ovalada. La irrigación de la tráquea en su porción cervical está dada primordialmente por la arteria tiroidea inferior, la cual da tres ramas traqueo esofágicas, mientras que la porción distal de la tráquea, la carina y los bronquios fuente son irrigados por las arterias bronquiales en especial por la bronquial superior y algunas ramas de la arteria mamaria interna. A medida que la tráquea avanza hacia la carina y los bronquios fuente, el diámetro interno se va estrechando.²⁸

- **Bronquios**

El bronquio derecho tiende a ser más paralelo a la tráquea, mientras el bronquio izquierdo es más perpendicular a ésta, predisponiendo de este modo a un mayor riesgo de daño por esta característica anatómica. El bronquio derecho mide 3 cm es más ancho que el izquierdo y tiene tres bronquios segmentarios el superior medio e inferior. El bronquio fuente izquierdo es más largo 4 - 5 cm y más estrecho; éste tiene dos bronquios segmentarios: el superior y el inferior, se considera que el superior tiene una división adicional superior e inferior o línula. Son en total 23 ramificaciones que sufre la vía respiratoria; recordemos que tiene cartílago hasta la división número 11 y que hasta la división número 16 no tenemos intercambio gaseoso; hacen parte del espacio muerto anatómico, el cual es aproximadamente 2 cm³ x kg de peso.²⁸

- **Los pulmones**

Los pulmones tienen una gran variedad de funciones, pero podríamos decir que la de mayor importancia es la relacionada con el intercambio gaseoso. Estas

estructuras se encuentran protegidas o recubiertas por una membrana denominada la pleura; como toda serosa posee dos membranas, una que se adhiere íntimamente al pulmón (pleura visceral) y otra que reviste el interior de la cavidad torácica (pleura parietal). Los pulmones son fáciles de distender, y el proceso retroelástico de la pared torácica le ayuda a recuperar su volumen inicial de reposo. Éstos son los dos movimientos principales con relación al intercambio de gases del sistema respiratorio, la inspiración facilitada principalmente por el diafragma en un 75% y el resto por los intercostales durante el reposo; la inspiración inicia con una caída de las presiones intratorácicas haciendo que sea aún mayor la atmosférica, facilitando de este modo la entrada del aire; la espiración es casi un movimiento pasivo de la pared torácica.²⁸

2.4.2. Fisiología de la secreción bronquial

La secreción traqueobronquial constituye, junto al componente ciliar, el sistema más importante de aclaramiento y limpieza de los diversos componentes depositados en la vía aérea (partículas, microorganismos, detritos orgánicos, células, etc.) El origen de los componentes de la secreción traqueobronquial se encuentra en las células mucosas y serosas de la superficie epitelial de la mucosa respiratoria. Los constituyentes mayores de esta secreción forman una mezcla compleja, compuesta en una mayor parte por agua (95%), glicoproteínas ácidas (2%), lípidos (0,5 a 1%) y otras proteínas en menor proporción.²⁹

La viscoelasticidad de la matriz glicoproteica (fase gel) de la secreción traqueobronquial es un factor decisivo en la sincronización de la motilidad ciliar y en el atrapamiento de partículas, favoreciendo asimismo la humidificación e impermeabilización de la superficie mucosa. Esta viscosidad está relacionada con la cantidad de agua en las capas de moco y con la concentración de glicoproteínas ácidas. Las cadenas de mucopolisacáridos del moco están interconectadas mediante numerosas uniones químicas y físicas, que pueden romperse con medicamentos apropiados y modificar de ese modo su viscosidad.

En determinadas enfermedades broncopulmonares se producen incrementos significativos del volumen fisiológico de las secreciones, cambios cualitativos de las mismas que condicionan una mayor viscosidad y pérdida del número efectivo de cilios. Mediante fármacos se ha intentado modificar la secreción traqueobronquial de dos formas: potenciando la eliminación del moco de las vías bronquiales con expectorantes o disminuyendo su viscosidad mediante la administración de los mucolíticos. La terapia de los estados hipersecretivos de las

vías respiratorias mediante estos fármacos continúa siendo objeto de controversias y debates.^{27,29}

2.5. Farmacoterapia de la secreción bronquial

2.5.1. Expectorantes

Son aquellas sustancias que potencian la eliminación de moco de las vías bronquiales.²⁹

Son fármacos que estimulan a las células caliciformes o glándulas mucosas incrementando las secreciones traqueobronquiales, a la vez que disminuyen su viscosidad, facilitando su eliminación. Además, el mucus secretado se comporta como un demulcente natural, protegiendo a la mucosa inflamada y disminuyendo el reflejo tusígeno, por lo tanto los expectorantes se comportan también como antitusígenos cuando la tos es improductiva.¹⁴

Mecanismo de acción y clasificación^{14,29}

Expectorantes de acción refleja

Son fármacos que al ser administrados por vía oral, actúan sobre la mucosa gástrica estimulando las terminaciones sensitivas del nervio vago, lo cual por un mecanismo reflejo vagal, estimula el incremento de las secreciones de las glándulas traqueobronquiales.

a. Expectorantes salinos

- Cloruro de amonio
- Guaifenesina

b. Expectorantes nauseativos

- Ipecacuana
- Seneguina - ácido poligálico

Expectorantes de acción directa

Estas sustancias actúan poniéndose en contacto con la mucosa y las glándulas traqueobronquiales, estimulando en forma directa el incremento del volumen de las secreciones, facilitando su expulsión.

a. Esencias (aceites esenciales)

Son líquidos oleosos, volátiles, formados por una mezcla de hidrocarburos alifáticos llamados terpenos y sus productos de oxidación (alcoholes, aldehídos, cetonas). Se extraen de vegetales.

- Esencia de trementina
- Esencia de eucalipto
- Esencia de aguja de pino

b. Bálsamos

Son oleo resinas (mezcla de esencias y resinas), que contienen los ácidos benzoico y cinámico. Su acción expectorante es muy escasa. Los principales son:

- Bálsamo de benjuí
- Bálsamo de tolú

2.5.2. Mucolíticos

Son sustancias que tienen la capacidad de destruir las distintas estructuras químico-físicas de la secreción bronquial anormal, consiguiendo una disminución de la viscosidad y de esta forma una más fácil y pronta eliminación.

- Acetilcisteína
- Ambroxol
- Bromhexina
- Carbocisteína
- Tiloxapol

Bromhexina

Es un compuesto sintético derivado del bencilamonio.

Mecanismo de acción: aumenta el volumen del esputo y reduce la viscosidad de las secreciones bronquiales, induce la despolimerización de las mucoproteínas y estimula la actividad del epitelio ciliar. Mejora la función pulmonar facilitando la expectoración, incrementa la secreción de las glándulas exocrinas y la producción de surfactante pulmonar.¹⁴

Farmacocinética: se administra por vía oral e intramuscular, se absorbe en forma rápida en el tracto gastrointestinal, sufre metabolismo de primer paso (biodisponibilidad = 15 - 20%), se distribuye en la mayoría de los tejidos, especialmente broncopulmonar, se une a las proteínas en 90-99%, cruza la placenta y se excreta en la leche materna. Se elimina por vía renal (85% como metabolitos) y por vía fecal.¹⁴

Reacciones adversas:

- piel (rash).
- TGI (nauseas, vómitos, diarrea, epigastralgia).
- SN (mareo, cefaleas).

La bromhexina es bien tolerado y los estudios muestran baja incidencia de efectos secundarios.¹¹

Interacciones:

- Eritromicina: bromhexina aumenta la penetración del antibiótico en las secreciones bronquiales.
- No mezclar la formulación parenteral con soluciones alcalinas.

Preparados comerciales en el Perú:

- Bisolvon: TAB 8 mg, SUSP 8 mg/4 mL, INY 4mg
- Broncomed: SUSP 3,5 mg/mL
- Lisomucin: SUSP 4 y 8 mg/5 mL
- Solubron: SUSP 8 mg/5 mL

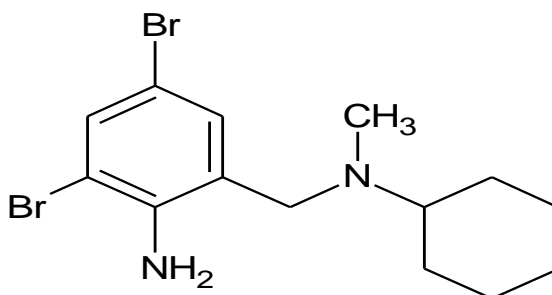


Figura 1. Estructura de la bromhexina¹⁴

2.6. Rojo fenol

El rojo fenol o conocido como Fenolsulfonftaleína, Sulfental, Sulfonftal, es un compuesto orgánico usado en el laboratorio como indicador de pH. Se presenta en polvo o cristales de color rojo, inodoro, la temperatura de fusión es de 285 °C, poco soluble en agua, soluble en disoluciones de hidróxidos alcalinos, ligeramente solubles en acetona y alcohol etílico. En los medios de cultivo se utiliza como indicador de pH. A pH inferiores 6,8, el cultivo vira amarillo, a pH superiores a 8 el cultivo se torna de color rojo, los pH entre 6,8 y 8 dan tonalidades graduales de color naranja. Su fórmula química es (C₁₉H₁₄O₅S), y su masa molecular 354,38 g/mol.³⁰

2.7. Uso del rojo fenol para evaluar la acción expectorante

Se ha comprobado que el rojo fenol es un indicador adecuado para determinar la capacidad expectorante en ensayos preclínicos, después de la aplicación ip de una solución de rojo fenol, parte del colorante se secretó en el lumen traqueal, esta secreción basal aumenta tanto por parasimpaticomiméticos como por simpaticomimético, los expectorantes también son capaces de aumentar la secreción del rojo fenol en la tráquea. Por lo tanto, este método es adecuado para el estudio de fármacos que pueden ser capaces de influir en la secreción traqueobronquial.^{31,32}

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del trabajo de investigación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Farmacología y Toxicología, de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga durante los meses de noviembre del 2017 a abril del 2018.

3.2. Definición de la población y muestra

3.2.1. Población: Hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” que crecen a 3150 msnm., en el distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, región Ayacucho.

3.2.2. Muestra: Cuatro kg de hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.

La recolección se llevó a cabo en horas de la mañana, en bolsas de papel, seleccionándose las hojas que presentan buen estado, para su posterior traslado y desecación, las hojas fueron secadas a temperatura ambiente, previa limpieza de las mismas, bajo sombra y bien extendido, previamente acondicionada y teniendo como base un papel que se cambió constantemente, para un secado uniforme evitando el deterioro por la humedad.

3.2.3 Muestreo

No probabilístico: por conveniencia.

Una parte de la planta recolectada se llevó al *Herbarium Huamangensis* para su respectiva identificación y su clasificación taxonómica.

Criterios de inclusión: Hojas en buen estado, no dañadas o maltratadas.

Criterios de exclusión: Hojas en mal estado.

3.2.4 Unidad experimental o animales de experimentación

48 ratones albinos machos cepa Balb/C1 con pesos de 25 - 30 g de peso corporal,³ de 2-3 meses de edad, que fueron adquiridos de la Universidad Nacional Agraria La Molina Lima. El tiempo de aclimatación fue de una semana en los ambientes del Bioterio de Farmacia de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

3.3. Diseño metodológico y recolección de datos

3.3.1. Preparación del extracto hidroalcohólico

El extracto hidroalcohólico al 80%, se preparó por la técnica de maceración,^{33,34} utilizando un envase de vidrio color ámbar más 800 g de hojas secas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, las cuales fueron trituradas hasta su pulverización, el cual se mantuvo en un lugar oscuro por un lapso de 7 días, agitándose durante 15 minutos dos veces al día, luego se procedió a filtrar con la ayuda de un papel de filtro whatman, finalmente se llevó a concentrar y obtener un extracto seco en baño maría a una temperatura de 50 °C y estufa a una temperatura de 37 – 40 °C respectivamente.

3.3.2. Preparación de las concentraciones

Las concentraciones se prepararon, disolviendo 3 g de rojo fenol en 100 mL de agua destilada y de extracto seco 0,15 g, 0,3 g, 0,6 g y 1g c/u en 50 mL de agua destilada, para la dosificación de las diferentes tratamientos de 50, 100, 200 y 400mg/Kg respectivamente, se tomó en cuenta los pesos de los ratones, para determinar las dosis exactas mediante cálculos matemáticos.

3.3.3. Métodos instrumentales para la recolección de datos

Para la recolección de los datos se empleó el espectrofotómetro UV - Vis a una longitud de onda de 560 nm.^{3,12,13, 15} Posteriormente se registró las absorbancias obtenidas del blanco, estándar y los tratamientos del extracto, para luego calcular el porcentaje de efecto expectorante del extractos hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”. Los datos se expresaron como un porcentaje de la absorbancia de cada muestra experimental en relación al blanco (agua destilada 1 mL). El efecto expectorante fue evaluado por el aumento de las absorbancias.¹³

3.3.4. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” (Tabla 4)

El extracto seco que se obtuvo se diluyó con agua destilada para realizar las reacciones de coloración y precipitación para identificar los metabolitos secundarios, siguiendo los procedimientos propuestos por Miranda y Cuellar.³⁴

Fenoles:

Ensayo de cloruro férrico: en un tubo de ensayo se colocó 2 mL de extracto, se agregó gotas de solución de FeCl₃ al 5%, un color verde intenso o azul es positivo.³⁴

Flavonoides:

Ensayo de Shinoda: en un tubo de ensayo se colocó 2 mL de extracto, se agregó unas cuantas grajeas de Mg metálico más gotas de HCl concentrado, un color carmelita o rojo es positivo.³⁴

Antraquinonas:

Ensayo de Borntrager: 2 mL de extracto, se redisuelve en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de KOH al 5%, se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea rosado o roja, el ensayo se considera positivo.³⁴

Catequinas:

Ensayo de catequinas: se tomó 1 gota del extracto, con la ayuda de un capilar y se aplicó sobre el papel de filtro. Sobre la mancha se aplicó una solución de Na₂CO₃. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica ensayo positivo.³⁴

Saponinas:

Ensayo de espuma: en un tubo de ensayo se colocó 2 mL de extracto, se agregó 2 mL de agua destilada, luego se agita fuertemente, la producción de espuma por más de 2 minutos es positivo.³⁴

Azucares reductores:

Reacción de Benedict: en un tubo de ensayo se colocó 2 mL de extracto y se agregó 1 mL de reactivo de benedict llevar a baño maría y hervir por 3 minutos luego observar. Si la reacción es positiva aparece un precipitado rojizo, verde o amarillo.³⁴

Aminoácidos libres o compuestos nitrogenados:

Ensayo de ninhidrina: en un tubo de ensayo se colocó 2 mL de extracto, se agregó gotas de reactivo al 0,1%, llevar a baño maría y hervir por 3 minutos, si se observa un color azul violáceo es positivo.³⁴

Taninos:

Gelatina: en un tubo de ensayo se colocó 2 mL de extracto, se agregó 1 gota de solución de gelatina al 1%, un precipitado de color blanco denso es positivo.³⁴

Triterpenos y/o esteroides:

Ensayo de Lieberman-Burchart: en un tubo de ensayo se colocó 2 mL de extracto y se redisuelve con 1 mL de cloroformo, luego se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla. Por la pared del tubo se dejó resbalar 3 gotas de H₂SO₄

concentrado sin agitar, un color verde intenso o visible oscuro, azul o naranja es positivo.³⁴

3.4. Determinación del efecto expectorante.

3.4.1. Método para evaluar el efecto expectorante

Método *in vitro* de rojo fenol.

El estudio se centra en la determinación del efecto expectorante mediante el método *in vitro* de rojo fenol para evaluar la actividad mucolítica y/o expectorante basada en las propiedades que presenta este colorante para eliminarse en los fluidos del tracto respiratorio, lo que permite medir el efecto de sustancias que alteran las propiedades físicas del mucus o su aclaramiento mucociliar.^{3,12,32}

El método consiste en la medición de la concentración de rojo fenol en la secreción traqueobronquial del animal (ratón) de experimentación, dicha concentración se determinó espectrofotométricamente utilizando una longitud de onda de 560 nm.^{3,12,13,15}

3.4.2. Procedimiento experimental

- Los animales se aclimataron una semana antes de iniciar el experimento, en las condiciones adecuadas del bioterio (a una temperatura controlada de 22 ± 2 °C, ciclos de luz - oscuridad de 12 h, cama con viruta y cambio cada 48 horas).¹²
- Todo los animales fueron sometidos a un período de ayuno de 16 horas, solo tuvieron libre acceso a agua, que se les retirara 1 hora antes de efectuar los tratamientos.¹²
- Posteriormente los animales se pesaron, marcaron y fueron distribuidos de manera aleatoria en seis grupos de ocho ratones cada uno.
- Luego se calcularon y administraron las dosis de los extractos del objeto de estudio a cada uno de los grupos a ensayar por vía oral, empleando para ello una cánula intragástrica, la cual fue de la siguiente manera: el primer grupo recibió solo agua destilada 1 mL, el segundo bromhexina 25 mg/kg, el tercero, cuarto, quinto y sexto recibieron los extractos a la dosis de 50, 100, 200 y 400 mg/kg respectivamente.
- La bromhexina fue administrada en un volumen de 0,6 mL/20 g de peso corporal del ratón y los extractos a 1 mL/20 g de peso corporal del ratón.³
- 30 minutos después se le administró a todos los grupos el rojo fenol por vía intraperitoneal a una dosis de 500 mg/kg (0,5 mL/20 g de peso corporal del ratón).³

- Luego de 30 minutos de la inyección del colorante los animales se sacrificaron y las tráqueas fueron expuestas y canutadas con catéteres. Cada tráquea se lavó durante 30 minutos en 1 mL de solución salina fisiológica, el líquido de lavado fue colectado y centrifugado a 1 600 rpm por 30 minutos.¹²
- Luego a 1 mL del sobrenadante se le adicióno 0,1 mL de NaOH 0,01 N para medir la absorbancia a una longitud de onda de 560 nm. Usándose como blanco o control negativo 1 mL de agua destilada.^{3,12,13}

3.5. Cálculo del porcentaje del efecto expectorante

Los datos se expresaron como un porcentaje de absorbancia de cada muestra experimental en relación al control negativo o blanco (agua destilada 1 mL). El efecto expectorante fue evaluado por el aumento de las absorbancias, mediante el uso de la siguiente formula.¹³

$$\% EE = \frac{(Abs t - Abs c)}{Abs c} X 100$$

Dónde:

% EE = Porcentaje efecto expectorante.

Abs t = Absorbancia del grupo de tratamiento.

Abs c = Absorbancia del grupo control negativo o blanco.¹³

3.6. Tipo de investigación

Experimental³⁵

La investigación cuantitativa clasifica los diseños de la investigación experimental en: preexperimental, experimentos “puros” y cuasi experimentos.

- El termino experimento en su acepción general se refiere a “elegir o realizar una manipulación intencional de la acción” y después observar las consecuencias. Es posible experimentar con seres humanos, seres vivos y ciertos objetos.
- Los experimentos manipulan tratamientos, estímulos, influencias o intervenciones (denominadas variables independientes - causas) para observar sus efectos sobre otras variables (las dependientes) en una situación de control.
- A la variable independiente se le llama “tratamiento experimental”, “intervención experimental” o “estimulo experimental”.
- La variable dependiente no se manipula, sino que se mide para ver el efecto que la manipulación de la variable independiente tiene en ella.

- Los experimentos “puros” reúnen dos requisitos para lograr el control y la validez interna: grupos de comparación (manipulación de la variable independiente) y equivalencia de los grupos.

Los requisitos de un experimento son:

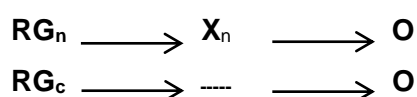
- Manipulación intencional de una o más variables independientes.
- Medir el efecto que la variable independiente tiene en la variable dependiente.
- Lograr y cumplir el control o la validez interna de la situación experimental, es el objetivo metodológico y principal de todo experimento.
- La asignación aleatoria o al azar nos asegura probabilísticamente que dos o más grupos son equivalentes entre sí (semejantes). Es el mejor método para hacer equivalentes los grupos del experimento (más preciso y confiable).

3.7. Diseño de investigación

3.7.1 Diseño experimental³⁵

El diseño planteado es un diseño con pos prueba únicamente y grupo de control.

Este diseño se diagrama del siguiente modo



Dónde:

RG_n = Corresponde a los grupos experimentales organizados aleatoriamente (randomizado).

RG_c = Corresponde al grupo control.

X_n = Es el estímulo.

O = Es la observación.³⁵

El diseño experimental para evaluar el efecto expectorante se realizó con seis tratamientos y con ocho repeticiones del modo siguiente:

Tabla 3. Distribución de los grupos de experimentación.

Grupos	Tratamientos	Dosis
1	Agua destilada (blanco) + rojo fenol	1ml+500 mg/kg
2	Bromhexina (estándar) + rojo fenol	25 mg/kg+500 mg/kg
3	Extracto + rojo fenol	50 mg/kg+500 mg/kg
4	Extracto + rojo fenol	100 mg/kg+500 mg/kg
5	Extracto + rojo fenol	200 mg/kg+500 mg/kg
6	Extracto + rojo fenol	400 mg/kg+500 mg/kg

3.8. Análisis de datos

Los datos que se obtuvieron de la evaluación de los estudiados fueron procesados en una base de datos con el paquete estadístico SPSS 22. Se determinaron en forma de medias y desviación estándar, y se representaron mediante gráficos en forma de barras. Se realizó análisis de varianza (ANOVA) para determinar las diferencias significativas en los diferentes ensayos a un nivel de confianza de 95% ($p < 0,05$) y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

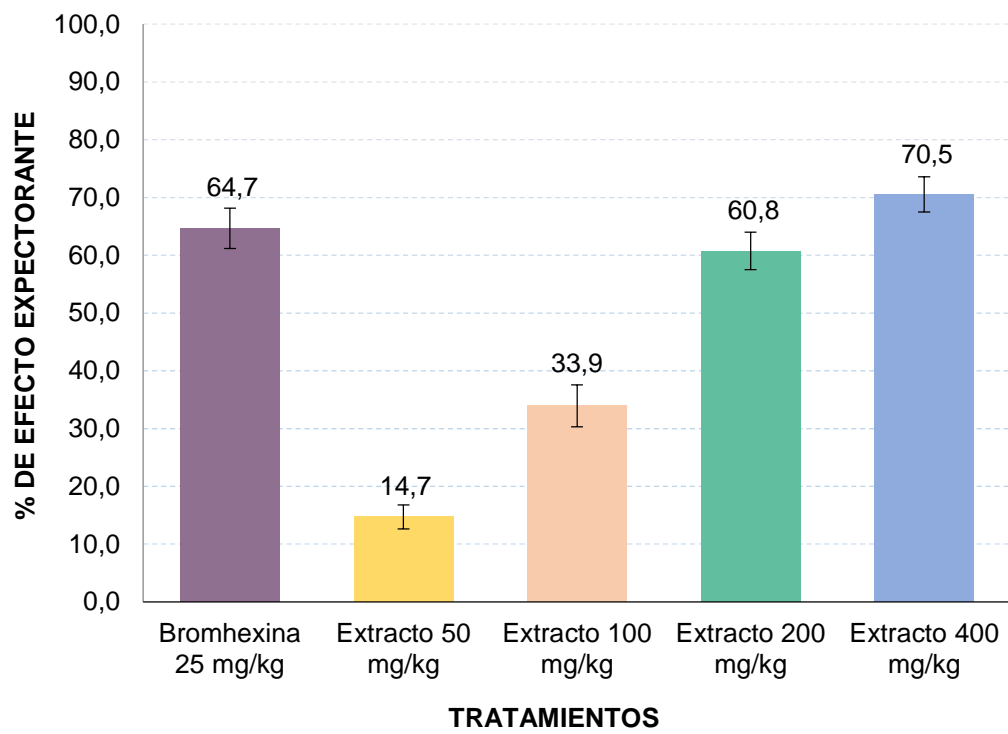
IV. RESULTADOS

Tabla 4. Metabolitos secundarios presentes según el tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill “hinojo”. Ayacucho 2018.

Metabolitos Secundarios	Reacciones y/o Ensayos	Resultado	Observaciones
Fenoles	Cloruro férrico	+++	Coloración verde oscuro intenso.
Flavonoides	Shinoda	++	Coloración rosa.
Antraquinonas	Borntrager	+	Forma una coloración capa roja luego amarillenta.
Catequinas	Catequinas	++	Coloración verde carmelita a luz UV.
Saponinas	Espuma	+++	Formación de espumas en la superficie.
Azúcares Reductores	Benedic	++	Forma un precipitado rojo con tonalidad verde.
Aminoácidos libre o compuestos nitrogenados	Ninhidrina	+++	Forma una coloración azul violeta intenso.
Taninos	Gelatina	+++	Coloración amarilla con un precipitado blanco denso.
Triterpenos y/o esteroides	Lieberman - Buchard	+++	Forma una coloración verde azulada.

LEYENDA:

- (+) : Escaso / Leve.
- (++) : Moderada.
- (+++): Abundante / Intenso.



ANOVA: $p < 0,05$

Figura 2. Porcentaje de efecto expectorante por tratamientos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" en *Mus musculus* "ratón" Ayacucho - 2018.

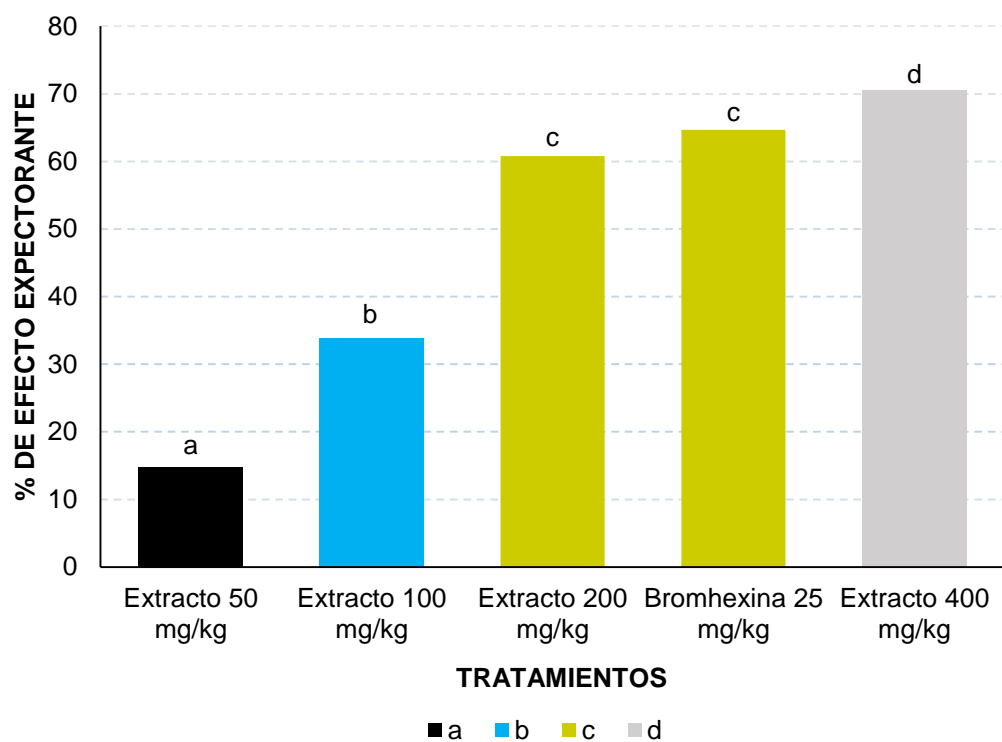


Figura 3. Representación de la prueba Tukey para el porcentaje de efecto expectorante por tratamientos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en *Mus musculus* “ratón” Ayacucho - 2018.

V. DISCUSIÓN

Las enfermedades respiratorias son las principales causas de muerte en épocas de frío, los expectorantes y fármacos similares son ampliamente prescritos para el tratamiento de estas enfermedades pulmonares, la eficacia y seguridad de tales fármacos se cuestionan,³⁶ por ello la necesidad de realizar estudios en plantas medicinales que se puedan usarse como alternativa.

La excesiva acumulación del moco y la tos afecta a toda la población y puede presentarse en todo el año, aunque con mayor frecuencia en el invierno.¹⁴

Con el presente trabajo de investigación se pretende demostrar el efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en *Mus musculus* “ratón”. Se basó en trabajos realizados de modelos experimentales con animales y ensayos clínicos limitados que sugieren que el uso crónico no es dañino,⁷ a través del método *in vitro* de rojo fenol en secreciones de ratón.^{3,12,32} Se eligió realizar este estudio ya que es un excelente ejemplo como expectorante, usado en medicina tradicional.⁷

Los estudios e investigaciones de extractos de plantas que pertenecen a la familia Apiaceae como es el *Foeniculum vulgare* Mill “hinojo”, representan una buena fuente de compuestos bioactivos naturales que podrían ser valiosos para la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética. Tanto así usándose para tratar diversas enfermedades relacionadas con el sistema respiratorio, digestivo y reproductivo.⁶

Todas las partes de la planta y frutos se valoran por su agradable aroma, sabor y abundante propiedades nutricionales y medicinales. Además no presentan ninguna toxicidad significativa ni reacción adversa en dosis terapéuticas, esto referido al uso como té o alimento.⁵

Según estudios realizados el uso de *Foeniculum vulgare* Mill como expectorante y/o mucolítico, es por que estimula la motilidad ciliar del aparato respiratorio y

mejora el transporte externo de corpúsculos extraños, esta acción sugiere un uso para el tratamiento de afecciones bronquiales y broncopulmonares.^{7,8}

Para obtener el extracto hidroalcohólico usado en la investigación, las hojas secas y molidas fueron sometidas a maceración con alcohol al 80% por 7 días, posteriormente fue filtrado y concentrado a sequedad en baño maría a 50 °C y finalmente se dejó en una estufa a 37 - 40 °C para obtener el extracto deseado.³³

Miranda *et al.*³⁴ afirmaron que los extractos hidroalcohólicos son los que extraen la mayor diversidad de componentes químicos presentes en la droga, en donde la concentraciones de principios activos es óptima y facilitan la dosificación.

En la tabla 4 se observa los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” tales como fenoles, flavonoides, catequinas, saponinas, azúcares reductores, aminoácidos libres, taninos, triterpenos y/o esteroides, etc.

En un trabajo realizado por Huamani²¹ sobre la actividad antitusígena del extracto etanólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, reportan los metabolitos secundarios presentes en la planta: taninos, fenoles, triterpenos y/o esteroides, azúcares reductores, flavonoides, cumarinas y catequinas, reportan los mismos metabolitos secundarios presentes, a excepción de cumarinas.

Estudios fitoquímicos realizados del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” por Badgujar *et al.*⁷ evidenciaron la presencia de numerosos compuestos valiosos, como compuestos volátiles, flavonoides, compuestos fenólicos, ácidos grasos y aminoácidos, reportan los mismos metabolitos secundarios, a excepción de ácidos grasos.

También los resultados obtenidos concuerdan con la familia Apiaceae, a la cual pertenece el *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” debido a que son ricas en metabolitos secundarios como: terpenoides, triterpenoides, saponinas, flavonoides, taninos, fenoles y esteroides. Además son excelentes fuentes de aceites esenciales y se pueden extraer de todas las partes de la planta.⁶

Se evaluó el efecto expectorante por el método *in vitro* rojo fenol,^{3,12,32} del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, luego de administrar por vía oral a los ratones. Los tratamientos utilizados fueron: el primer grupo solo agua destilada 1 mL, segundo grupo jarabe de bromhexina 25 mg/kg (estándar), el tercero, cuarto, quinto y sexto reciben los extractos a las dosis de (50, 100, 200 y 400 mg/kg) respectivamente. Como resultado se observó que presentó efecto expectorante a las diferentes dosis de los extractos.

En la figura 2 se observa el porcentaje de efecto expectorante por tratamiento del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" en *Mus musculus* "ratón" y su respectivo estándar bromhexina. Los resultados de los tratamientos del extracto hidroalcohólico, mostraron que a las dosis de (50, 100, 200 y 400 mg/kg) presentaron un aumento de la secreción traqueobronquial de rojo fenol en 14,7%, 33,9%, 60,8% y 70,5% respectivamente y el estándar bromhexina 25 mg/kg con 64,7%. Mostrándose mayor porcentaje de efecto expectorante al utilizar los extractos a las dosis de 200 y 400 mg/kg, siendo la dosis de 400 mg/kg con mayor porcentaje de efecto expectorante, seguido del estándar (bromhexina) y de la dosis 200 mg/kg. Los que presentan menor porcentaje de efecto expectorante son las dosis de 100 y 50 mg/kg del extracto. Por lo que se demuestra que la dosis de 400 mg/kg dan mejores resultados en la secreción traqueobronquial de rojo fenol relacionada con el mayor aumento de absorbancia, mientras que la dosis de 200 mg/kg es estadísticamente similar ($p < 0,05$) al porcentaje del efecto expectorante ejercida por la bromhexina, es decir la dosis 200 mg/kg posee efecto expectorante estadísticamente similar al estándar. (Anexo 17)

El análisis de varianza (ANOVA) se realizó para analizar si más de dos grupos difieren significativamente entre sí en cuanto a sus medias y varianzas.³⁵

Del análisis estadístico (Anexo 16), se observa el análisis de varianza del porcentaje de efecto expectorante a diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" en *Mus musculus* "ratón", se demuestran que son significativas a un nivel de confianza del 95%, indicando que sí existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en los tratamientos ensayados para el porcentaje de efecto expectorante, ejercida por las diferentes dosis del extracto (50, 100, 200 y 400 mg/kg) y del estándar bromhexina 25 mg/kg, las cuales fueron evaluadas mediante la prueba de comparaciones múltiples HSD de Tukey figura 3 y el (Anexo 17).

En la figura 3 el resultado muestra que los datos obtenidos a través de la prueba HSD de Tukey para el porcentaje de efecto expectorante por tratamiento del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" en *Mus musculus* "ratón", se observa que el extracto hidroalcohólico a la dosis de 200 mg/kg es estadísticamente similar, respecto al efecto expectorante ejercida por el estándar bromhexina 25 mg/kg, según la prueba HSD de Tukey presentaron similar efecto expectorante ($p < 0,05$). Mientras las dosis de 50 y 100 mg/kg son

estadísticamente diferente con menor efectos expectorantes, por tal razón la dosis de 400 mg/kg presentó mayor efecto expectorante ($p < 0,05$) (Anexo 17).

Song *et al.*¹³ evaluaron la actividad expectorante de la mezcla del extracto etanólico de *Hedera hélix* (HH) y *Rhizoma coptidis* (RC) por el método rojo fenol en tráquea de ratones. A las dosis de (50, 100 y 200 mg/kg) de mezclas de (HH) + (RC) (1:1), los resultados mostraron que la secreción de rojo fenol fue 25,25% a 200 mg/kg. Y a la mezcla de extractos de (HH) + (RC) (3:1) a 200 mg/kg fue 27,48% ($p < 0,001$) demostró un efecto más potente, que el uso individual de cada extracto a las dosis de 200 mg/kg (HH) 13,39% y (RC) 20,78% y para el estándar ambroxol 250 mg/kg fue de 25,80%.

Zhou *et al.*¹⁵ evaluaron el efecto expectorante, del extracto acuoso etanólico al 80% de raíz de *Sorghum bicolor* (L.), a las dosis de (50, 100 y 200 mg/kg), con el método de secreción de rojo fenol en tráquea de ratones. Los resultados mostraron que la producción de rojo fenol a la dosis de 50 mg/kg fue 0,39 ug/mL, 100 mg/kg fue 1,18 ug/mL y 200 mg/kg fue 1,96 ug/mL ($p < 0,05$) mejor que el estándar guaifenesina 50 mg/kg con 1,88 ug/mL.

Así mismo, en los estudios realizados por Han *et al.*¹⁶ al evaluar la actividad expectorante *in vivo* del extracto acuoso y fracciones alcohólicas de *Reineckia carnea* a 30%, 60% y 90%, por el método rojo fenol. Obtuvieron como resultado que el extracto al 60% de etanol a dosis 0,570 g/kg y al 90% de etanol a dosis 0,372 g/kg ($p < 0,05$) eran efectivas en la salida de rojo fenol traqueal en ratones, sin embargo el extracto acuoso mostro pobre actividad expectorante.

Así mismo, en los estudios evaluados por Ge *et al.*³⁷ sobre la actividad expectorante de las hojas de *Elaeagnus pungens in vivo* del extracto etanólico al 70% y fracciones, por el método de rojo fenol en tráquea de ratones. Como estándar cloruro de amonio 1000 mg/kg, extracto etanólico al 70% a 2269 mg/kg, fracción de acetato de etilo 156 mg/kg, fracción de 1-butanol 219 mg/kg y fracción de agua 1714 mg/kg, aumentó la producción de rojo de fenol en un 48,58%, 25,22%, 45,90%, 35,75%, 57,76% respectivamente.

Así mismo en los estudios realizados por Lin *et al.*³⁸ al determinar la actividad expectorante realizadas con la naringenina, metabolito principal flavonoide del *Exocarpium Citri grandis* en la secreción traqueal de la salida de rojo de fenol en ratones. Los resultados mostraron que a la dosis de 30 mg/kg aumentó la salida de rojo fenol en 29,1% ($p < 0,05$), también a 67mg/kg ($p < 0,05$).

Yu *et al.*³⁹ trabajaron con la raíz de *Aster tataricus* (RA) y evaluaron la actividad expectorante, por el modelo de secreción de rojo fenol en ratón. Usó el extracto etanólico al 70% (RA - 70) 1,630 mg/kg y lo dividieron en fracciones de diferentes polaridades, Fr - 0 y Fr - 50 cada uno a 40 mg/kg y estándar cloruro de amonio 250 mg/kg. Los resultados tratados (RA - 70), Fr - 0 y Fr - 50 aumentaron en 65,3%, 56,5% y 76,9% respectivamente.

Así mismo en los estudios realizados por Jiang *et al.*⁴⁰ evaluaron la actividad expectorante con el modelo de secreción de rojo fenol en ratones, del epicarpio de *Exocarpium Citri grandis*. Los resultados mostraron que el grupo estándar cloruro de amonio a 1000 mg/kg, extracto acuoso a 1005 mg/kg, extracto etanólico 70% a 247 mg/kg y el extracto etanólico 90% a 501 mg/kg aumentaron la salida de rojo fenol en 66,67%, 27,78%, 36,11% y 8,33% respectivamente.

Como se observan en los antecedentes y trabajos científicos mencionados anteriormente arriba sobre el efecto expectorante, a través del método de rojo fenol en secreción traqueobronquial de ratón, que ejercieron los extractos de *Hedera hélix* (HH) + *Rhizoma coptidis* (RC) mezcla, *Elaeagnus pungens*, Naringenina, *Aster tataricus* y *Exocarpium Citri grandis*, se difieren uno del otro observándose que *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo", presenta mayor efecto expectorante que el resto, por ejemplo según Song *et al.*¹³ a la dosis de 200 mg/kg de la mezcla del extracto etanólico de *Hedera hélix* (HH) + *Rhizoma coptidis* (RC) (1:1), el aumento de la secreción traqueal de rojo fenol en ratón fue de 25,25%. Y (HH) + (RC) (3:1) fue de 27,48%, respecto al uso individual de cada extracto a la misma dosis (HH) 13,39% y (RC) 20,78% y del estándar ambroxol 250 mg/kg con 25,80%. Respecto a los 60,8% ejercida por el extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" a la misma dosis 200 mg/kg, demostrando un efecto expectorante mayor y más potente que el estándar de dicha investigación mencionada, estas variaciones se deben a los diferentes metabolitos secundarios presentes en el *Foeniculum vulgare* Mill. (Tabla 4) en su resaltado efecto expectorante. Según Song *et al.*¹³ el efectos expectorantes de *Hedera hélix* + *Rhizoma coptidis* mezcla de extracto, son debido a sus componentes principales en (HH) tales como saponina (hederina), flavonoides y derivados fenólicos y en la (RC) alcaloides (berberina).

Otro ejemplo según Ge *et al.*³⁷ que ejerce del extracto etanólico al 70% y fracciones, de las hojas de *Elaeagnus pungens in vivo*, se difieren uno del otro observándose que *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" presenta mayor efecto

expectorante. Se usó como estándar cloruro de amonio a 1000 mg/kg, extracto etanólico al 70% a una dosis 2269 mg/kg, fracción de acetato de etilo a 156 mg/kg, fracción de 1-butanol a 219 mg/kg y fracción de agua a 1714 mg/kg, aumentó la producción de rojo fenol en tráquea de ratones en un 48,58%, 25,22%, 45,90%, 35,75%, 57,76% respectivamente. Respecto al extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" ejercida a las dosis de 50, 100, 200 y 400 mg/kg con 14,7%, 33,9%, 60,8% y 70,5% mostrando mayor efecto expectorante que el estándar, los extractos y fracciones de la hoja de *Elaeagnus pungens*, teniendo en cuenta los metabolitos secundarios presentes y que dichos ensayos se realizaron a dosis altas, respecto a los de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" con mejor eficacia expectorante, de acuerdo a los resultados según Ge *et al.*³⁷ el extracto de las hoja de *Elaeagnus pungens* en pruebas fitoquímicas de la fracción de agua indicó la presencia de flavonoides y alcaloides, los constituyentes pueden ser antiasmático, antitusivo y expectorante.

Otro ejemplo según Lin *et al.*³⁸ que ejerce la naringenina, metabolito principal flavonoide del *Exocarpium Citri grandis*, se difieren uno del otro observándose que *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" presenta menor efecto expectorante debido a su uso como extracto bruto y no más así como un aislado de un metabolito específico. La naringenina a la dosis de 30 mg/kg pudo aumentar la salida de rojo fenol en 29,1% en tráquea de ratón, respecto a las dosis de 50, 100, 200 y 400 mg/kg con 14,7%, 33,9%, 60,8% y 70,5% ejercidas por el extractos hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo". Se demostró efecto expectorante de ambos extractos de la naringenina y *Foeniculum vulgare* Mill ésta por su metabolitos secundarios presentes. Según Lin *et al.*³⁸ estos resultados se muestran debido a que se trabajó con un aislado de un metabolito flavonoide específico y principal que es la naringenina el cual le dio ventaja a los ensayos de dicha investigación.

Otro ejemplo según Yu *et al.*³⁹ que ejerce el extracto etanólico al 70% de la raíz de *Aster tataricus* (RA), se difieren uno del otro observándose que *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" presenta mayor efecto expectorante. El extracto etanólico al 70% (RA - 70) a 1,630 mg/kg aumentó la cantidad de secreción de rojo fenol en 65,3%, respecto a los 70,5% ejercida por el extracto hidroalcohólico del *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" a la dosis de 400 mg/kg, demostrando un máximo efecto expectorante a pesar de que la dosis fue mayor del *Aster tataricus*, estas variaciones del efecto expectorante son debido a los metabolitos secundarios presentes en el *Foeniculum vulgare* Mill y el extracto hidroalcohólico fue al 80%.

Según Yu *et al.*³⁹ las astersaponinas y asterininas contenidas en la raíz de *Aster tataricus* pueden ser los principales componentes responsables de disipar la flema, pero también son muy tóxicas las asterininas.

Otro ejemplo según Jiang *et al.*⁴⁰ que ejerce los diferentes extractos del epicarpio de *Exocarpium Citri grandis*, se difieren uno del otro observándose que *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” presenta mayor efecto expectorante. Se usó como estándar cloruro de amonio a 1000 mg/kg, extracto acuoso a 1005 mg/kg, extracto etanólico 70% a 247 mg/kg y el extracto etanólico 90% a 501 mg/kg aumentaron la salida de rojo fenol en 66,67%, 27,78%, 36,11% y 8,33%. Respecto a las dosis de 50, 100, 200 y 400 mg/kg con 14,7%, 33,9%, 60,8% y 70,5% ejercidas por el extractos hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, demostrando un efecto máximo expectorante al estándar y más potente en la secreción de rojo fenol, a pesar de que las dosis fueron mayor del *Exocarpium Citri grandis*, estas variaciones del efecto expectorante son debido a los metabolitos secundarios presentes en el *Foeniculum vulgare* Mill “hinojo” y el extracto hidroalcohólico fue al 80%.

Las condiciones de trabajo son similares respecto a los anteriores estudios mencionados. El extracto hidroalcohólico de las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill “hinojo” por su parte tienen una composición rica en compuestos fenólicos, flavonoides, saponinas, taninos y otros. Lo cual se explicaría la extensa acción que poseen dichos metabolitos secundarios en su potente efecto expectorante, respecto al estándar bromhexina y a los trabajos mencionados anteriormente.

Los estudios de diversos extractos de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” poseen una serie de acciones farmacológicas, tales como antialérgica, expectorante, antiinflamatoria, antimicrobiana, antiviral, antioxidante, antiestrés y otros.⁷

Las saponinas son sustancias activas responsables del efecto antitusivo y expectorante.¹⁰ Según los estudios e investigaciones realizadas sobre el *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” acerca del efecto expectorante y mejora de las funciones de las vías respiratorias se debe a la presencia de las saponinas que son sustancias activas responsables de modular los parámetros de la tos y la calidad de la flema.¹⁰ Las saponinas al igual que los fármacos expectorantes, tienen como mecanismo de acción: aumentar la secreción de las células serosas de las glándulas de las vías respiratorias, también irritan los nervios vágales reflexivamente conduciendo a la dilución de la flema, agilización del despacho

mucociliar y el aumento de la secreción de la flema. También el efecto expectorante y secretolítico se debe a la alta concentración en la raíz y flores.¹⁰ Los compuestos fenólicos identificados en el hinojo, también son las principales sustancias bioactivas responsables del efecto expectorante y mucolítico.⁷ Los extractos metanólicos de partes aéreas del hinojo muestran compuestos fenólicos y flavonoides inhibiendo la acción de los mediadores de la inflamación.⁶ La inflamación de las vías respiratorias deterioran la depuración mucociliar.¹¹ También son excelentes antioxidantes naturales^{7,5} que influyen positivamente en el curso de algunas enfermedades respiratorias.¹⁰ Los oxidantes pueden causar daño pulmonar crónico y tos con flema, por el estrés oxidativo.⁴¹ Según estudios el aceite esencial volátil de *Foeniculum vulgare* Mill “hinojo” estimula la contracción de los músculos lisos de la tráquea, una acción que facilita la expectoración del moco, bacterias y otros corpúsculos extraños de las vías respiratorias,^{7,9} también son antioxidantes.¹⁰ Se ha revelado grandes cantidades de anetol en toda la planta, aunque principalmente en las semillas.⁵ También podría mencionarse que el efecto broncodilatador influye en la expectoración. El anetol tiene un parecido sorprendente a la catecolaminas adrenalina, noradrenalina y dopamina. Esta similitud estructural parece ser responsable de la actividad simpaticomimética del *Foeniculum vulgare* Mill “hinojo” broncodilatador.^{7,23} La actividad farmacológica del anetol, mediante ensayos *in vitro* e *in vivo* se han comprobado que actúan sobre el epitelio bronquial, aumentando la producción de secreciones bronquioalveolares.⁴² Los simpaticomiméticos, los agonistas de receptores adrenérgicos tienen acciones farmacológicas en el tratamiento del asma, aparte de ello aumentan el transporte mucociliar y modifican la composición de las secreciones mucosas.¹⁴ La familia Apiaceae poseen una fuerte actividad antimicrobiana²³ ante *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, por lo que se pueden utilizar como antibióticos naturales.⁴³ Durante una infección, las vías aéreas incrementan la secreción del moco como procesos de defensa.⁴⁴ Finalmente se ha demostrado experimentalmente que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” poseen efecto expectorante en *Mus musculus* “ratón” y puede ser utilizado como un expectorante alternativo.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” presenta efecto expectorante en *Mus musculus* “ratón”.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” fueron: fenoles, flavonoides, catequinas, saponinas, azúcares reductores, aminoácidos libres, taninos, triterpenos y/o esteroides.
3. La dosis con mayor efecto expectorante fue de 400 mg/kg en comparación con los demás tratamientos del extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.
4. La dosis de 400 mg/kg del extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, mostró mayor efecto expectorante en relación al estándar (bromhexina), estadísticamente similar la dosis de 200 mg/kg y menor efecto expectorante las dosis de 100 y 50 mg/kg.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda trabajar con metabolitos secundarios aislados, que sean responsables específicos y exclusivos de la actividad expectorante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” y de sus mecanismos de acción.
2. Formular preparados galénicos como jarabes, tabletas y capsulas, apartir del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.
3. Utilizar otros disolventes para la obtención y/o extracción del extracto de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.
4. Se recomienda utilizar otros diferentes modelos experimentales en la determinación del efecto expectorante de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.
5. Realizar estudios con aceites esenciales que son los compuestos mayoritarios en el *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” para la determinación del efecto expectorante.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kayani S, Ahmad M, Zafar M, Sultana S, Khan MP, Ashraf MA, Hussain J, Yaseen G. Ethnobotanical uses of medicinal plants for respiratory disorders among the inhabitants of Gallies - Abbottabad, Northern Pakistan. *J Ethnopharmacol. Pakistán*. 2014; 156: 47 - 60.
2. Lock De Ugaz O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2da edición. Lima: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994.
3. López A, Miranda M, Bello A, García G. Actividad expectorante y toxicológica de una formulación elaborada a partir de *Eucalyptus globulus* Labill, *Borago officinalis* L, y *Sambucus nigra* L. *Rev Cubana Plant Med. Cuba*. 2016; 21 (4): 1-9.
4. Cañigüeral S. La Fitoterapia: ¿una terapéutica para el tercer milenio? *Revista de Fitoterapia. Catalunya*. 2002; 2 (2):101-121.
5. Malhotra, Suresh. Fennel and fennel seed. *India*. 2012: 275-302.
6. Bouchra S.A, Thierry T, Zeinab S, Akram H, Othmane M. The Apiaceae. The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses. *Industrial Crops & Products*. editor: Elsevier, vol 109. Líbano. 2017: 661–671.
7. Badgujar S, Patel V, Bandivdekar A. *Foeniculum vulgare* Mill: A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology. *BioMed Res Int. India*. 2014; 2014 (1): 1-32.
8. Mueller W, Froehlich H. Effect of various phytotherapeutic expectorants on mucociliary transport. *Fortschritte der Medizin. Alemania*. 1980; 98 (3): 95-101.
9. Reiter M, Brandt W. Relaxant effects on tracheal and ileal smooth muscles of the guinea pig. *Arzneimittel Forschung. EE.UU*. 1985; 35 (1): 408-414.
10. Franova S, Nosalova G, Mokry J. Phytotherapy of cough. *Advances in Phytomedicine, Elsevier, Vol 2. Eslovaquia*. 2006, pág 111-131.
11. Zanasi A, Mazzolini M, Kantar A. A reappraisal of the mucoactive activity and clinical efficacy of bromhexine. *Multidiscip Respir Med. Italia*. 2017, 20; 12:7.
12. Barzaga P, Tillán J, Marrero G, Carrillo C, Bellma A, Montero C. Actividad expectorante de formulaciones a partir de *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng (orégano francés). *Rev Cubana Plant Med. Cuba*. 2009; 14 (2): 1-10.
13. Song K, Shin Y, Lee K, Lee E, Suh Y, Kim K. Expectorant and Antitussive *Effect of Hedera helix* and *Rhizoma coptidis* Extracts Mixture. *Yonsei Med J. Corea del Sur*. 2015; 56 (3): 819-824.
14. Tinco J.A. Farmacología básica y avanzada. 1ra ed. Vol 2. Huamanga: Editorial Dermofarm-Perú; 2014.
15. Zhou Q, Liang D, Deng A, Zhang J, Wu C, Nie Z, Jiang J, Wang Y. Efectos antitusivos, expectorantes y broncodilatadores del extracto de etanol de las raíces de Moench *Sorghum bicolor* (L.). *J Ethnopharmacol. China*. 2013; 149 (1): 297-302.
16. Han N, Chang C, Wang Y, Huang T, Liu Z, Yin J. The in vivo expectorant and antitussive activity of extract and fractions from *Reineckia carnea*. *J Ethnopharmacol. China*. 2010; 131 (1): 220-223.
17. Castañeda J. Efecto antifúngico del extracto etanólico de las semillas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” sobre cepa *Candida albicans* ATCC 10804 *in vitro*. [Tesis de pregrado]. Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo - Perú; 2016.
18. Rojas K, Calderón A. Efecto del extracto hidroalcohólico de *foeniculum vulgare* mill. “hinojo” sobre *Rattus rattus* var. *Albinus* “ratas” dislipidémicas. *Sagasteguiana. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo - Perú*. 2014. 2(2): 139 - 144.

19. Camasca A. Estudio de la demanda y estimación del valor cultural y económico de plantas medicinales comercializadas en la ciudad de Ayacucho. [Tesis de post - grado]. Lima – Perú. UNMSM; 2012.
20. Chacón K. Efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borraja”. [Tesis de pregrado]. Ayacucho. UNSCH; 2012.
21. Huamaní M. Actividad antitusígena del extracto etanólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”. [Tesis de pregrado]. Ayacucho. UNSCH; 2010.
22. Bruneton J. Plantas medicinales. Fitoquímica y farmacognosia. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza-España. 2001.
23. Rahimi R, Ardekani M. Medicinal Properties of *Foeniculum Vulgare* Mill in Traditional Iranian Medicine and Modern Phytotherapy. *Chin J Integr Med. Irán.* 2013; 19 (1): 73-79.
24. Nassar M, Aboutabl E, Makled Y, Khryy E, Osman A. Secondary metabolites and pharmacology of *Foeniculum vulgare* Mill. Subsp. *Piperitum*. *Rev. Latinoam Quím. Egipto.* 2010; 38 (2); 103-112.
25. Alonso Esteban J. El hinojo (*Foeniculum vulgare* Mill.) en las Ciencias Farmacéuticas, [Tesis de grado]. Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, España; 2015.
26. Suárez J.A. Anatomía Humana para estudiantes de Ciencias de la Salud. 1ra edición. Barcelona: S.A. Elsevier. España; 2017.
27. Reznik G. Comparative anatomy, physiology, and function of the upper respiratory tract. *Environ Health Perspect. Alemania.* 1990; 85 (1):171-176.
28. García H, Gutiérrez S. Aspectos básicos del manejo de la vía aérea: anatomía y fisiología. *Revista Mexicana de Anestesiología. Colombia.* 2015; 38 (2): 98-107.
29. Tiberio G, Hueto J. Mucolíticos y Expectorantes. *Boletín de información farmacoterapéutica de Navarra. España.* 1996; 4 (1): 1-7.
30. Córdor G. Evaluación de la actividad expectorante de Molle (*Schinus molle* L.), Iso (*Dalea coerulea*), Jacaranda (*Jacaranda mimosifolia*), Jengibre (*Zingiber officinale*), Romero (*Rosmarinus officinalis*), Marrubio (*Marrubium vulgare*), en ratones (*Mus musculus*)” [Tesis de pregrado]. Ecuador, Escuela politécnica de Chimborazo - Escuela de Bioquímica y Farmacia; 2014.
31. Espinoza J. Determinación cuantitativa de alcaloides en doce plantas medicinales y su actividad expectorante. [Tesis de pregrado]. Ecuador, Universidad Técnica de Machala - Carrera de bioquímica y farmacia; 2014.
32. Engler H, Szelenyi I. Tracheal phenol red secretion, a new method for screening mucosecretolytic compounds. *J Pharmacol Methods. Alemania.* 1984 11(3):151-157.
33. Aguilar E., Bonilla P. Actividad antioxidante e inmunológica de flavonoides aislados de hojas de *Smilax sonchifolia* (Yacón). Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú. Instituto de investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara”, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú Ciencia e Investigación. Lima – Perú; 2009.
34. Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio, farmacognosia y productos naturales. Instituto de farmacia y alimentos, Universidad la Habana. Habana. Cuba; 2000.
35. Hernández R, Fernández C, Baptista P. Metodología de la investigación. 5ta edición. México: Editorial McGraw-Hill; 1991.
36. De Barros G.M, de Sousa M.B, de Souza E, Galvão A.M, da Silva T.G, Gomes R.M, Martins M.B, da Silva E.P, de Castro C.M, da Silva N.H. Expectorant and

- antioxidant activities of purified fumarprotocetraric acid from *Cladonia verticillaris* lichen in mice. *Pulm Pharmacol Ther. Brazil*. 2014; 27(2):139-43.
37. Ge Y, Liu J, Su D. In vivo evaluation of the anti-asthmatic, antitussive and expectorant activities of extract and fractions from *Elaeagnus pungens* leaf. *J Ethnopharmacol. China*. 2009; 126 (3): 538-542.
 38. Lin BQ, Li PB, Wang YG, Peng W, Wu Z, Su WW, Ji H. The expectorant activity of naringenin. *Pulm Pharmacol Ther. China*. 2008; 21(2):259-263.
 39. Yu P, Cheng S, Xiang J, Yu B, Zhang M, Zhang C, Xu X. Expectorant, antitussive, anti-inflammatory activities and compositional analysis of *Aster tataricus*. *J Ethnopharmacol. China*. 2015; 164:328-33.
 40. Jiang K, Song Q, Wang L, Xie T, Wu X, Wang P, Yin G, Ye W, Wang T. Antitussive, expectorant and anti-inflammatory activities of different extracts from *Exocarpium Citri grandis*. *J Ethnopharmacol. China*. 2014; 156:97-101.
 41. Dapaah G, Koffuor GA, Mante PK, Ben IO .The possible mode of antitussive and expectorant activity of the ethanol seed extracts of *Picralima nitida* ((Stapf) Th. & H. Durand). *J Tradit Complement Med. Ghana*. 2016 .7(1):133-140.
 42. Tarek Ahmed, Fahmi Eissa. Estudio de la actividad sobre el sistema nervioso central de especies vegetales procedentes de la flora egipcia [Tesis doctoral] España. Universidad Complutense de Madrid; 2013.
 43. Aćimović G; Kostadinović M; Popović J; Dojčinović S. Apiaceae seeds as functional food. *Journal of Agricultural Sciences, Belgrade. Serbia*. 2015. 60(3):237-246.
 44. Iannarelli R, Marinelli O, Morelli M, Santoni G, Amantini C, Nabissi M, Maggi F.et Al. Aniseed (*Pimpinella anisum* L.) essential oil reduces pro-inflammatory cytokines and stimulates mucus secretion in primary airway bronchial and tracheal epithelial cell lines. *Industrial Crops & Products. Italia*. 2018, 114:81-86.

IX. ANEXO

Anexo 1. Certificado de la identificación taxonómica de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo". Ayacucho 2018.



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE
"SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA"

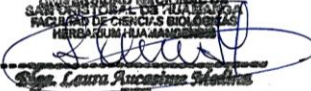
C E R T I F I C A

Que, el Bachiller en Farmacia y Bioquímica, **Sr. Kenyi Brayand, OCHOA AYALA**, 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. y es como sigue:

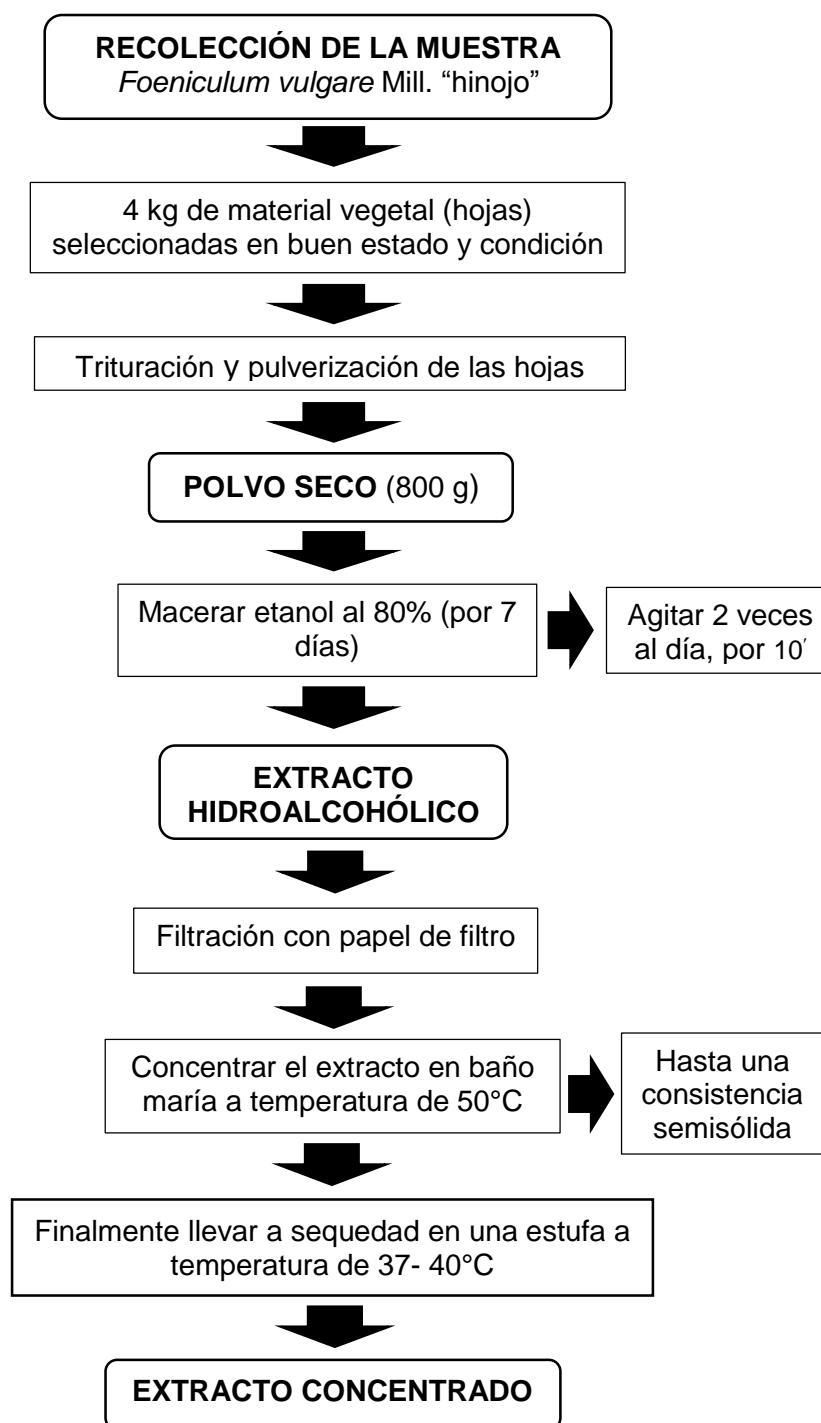
DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ROSIDAE
ORDEN	:	APIALES
FAMILIA	:	APIACEAE
GENERO	:	Foeniculum
ESPECIE	:	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.
N.V.	:	"hinojo"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

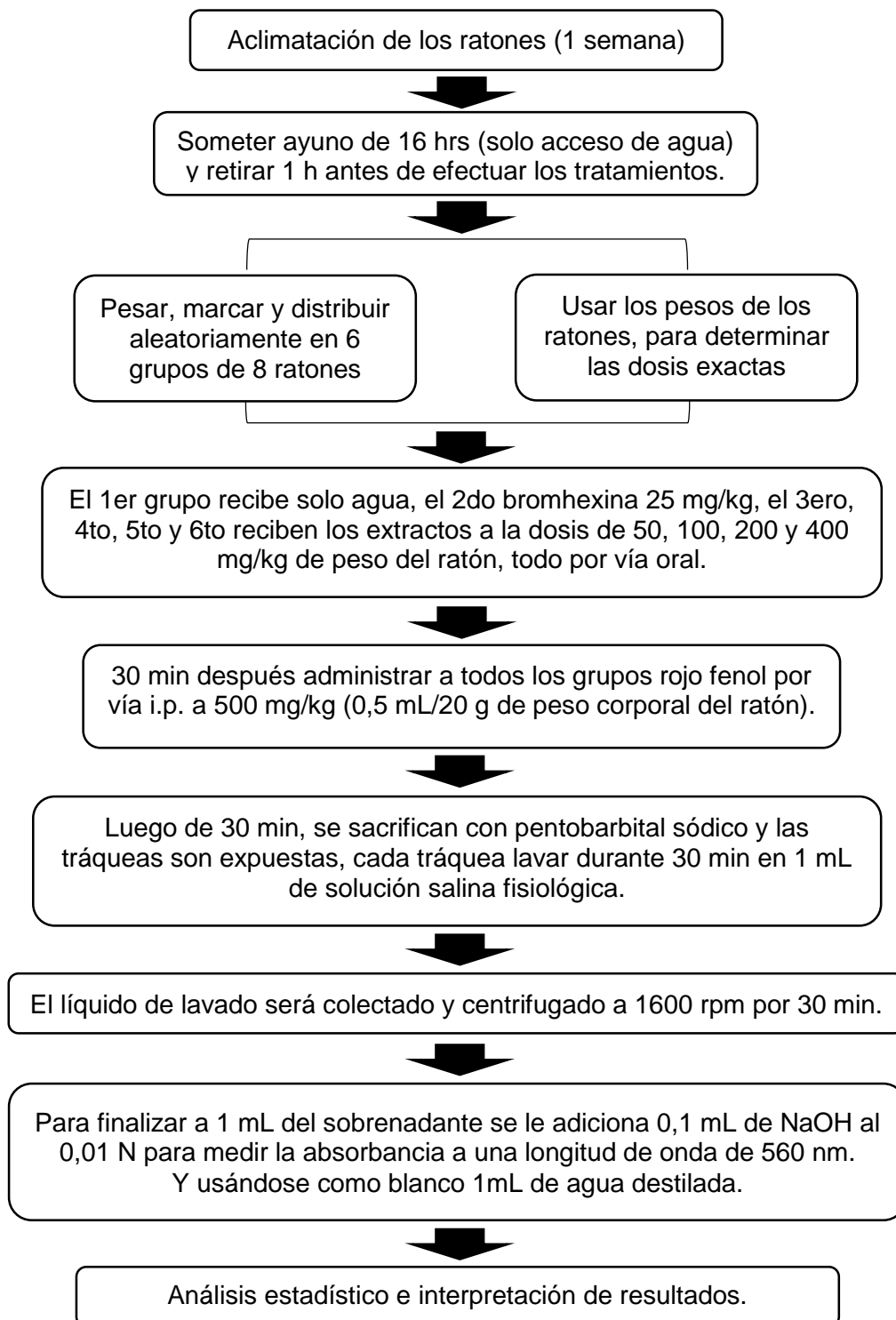
Ayacucho, 8 de Setiembre del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
HERBARIUM HUAMANGENSIS

Sra. Laura Rocasino Molinos
JEFE

Anexo 2. Flujograma de obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo". Ayacucho 2018.



Anexo 3. Flujograma del procedimiento para la determinación del efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" en *Mus musculus* "ratón". Ayacucho 2018.

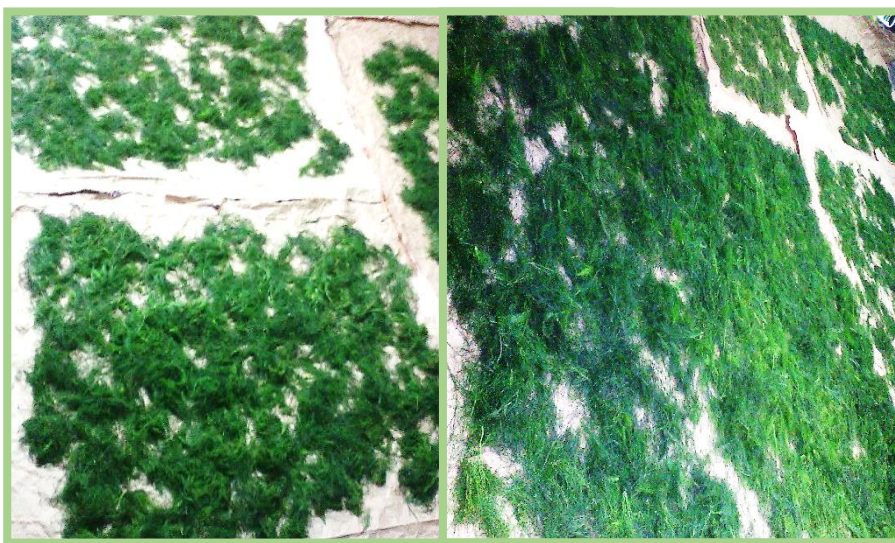


Anexo 4. Recolección de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”. Ayacucho 2018.



Anexo 5. Preparación de la muestra: secado, triturado y pesado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo". Ayacucho 2018.

Secadas a temperatura ambiente y bajo sombra



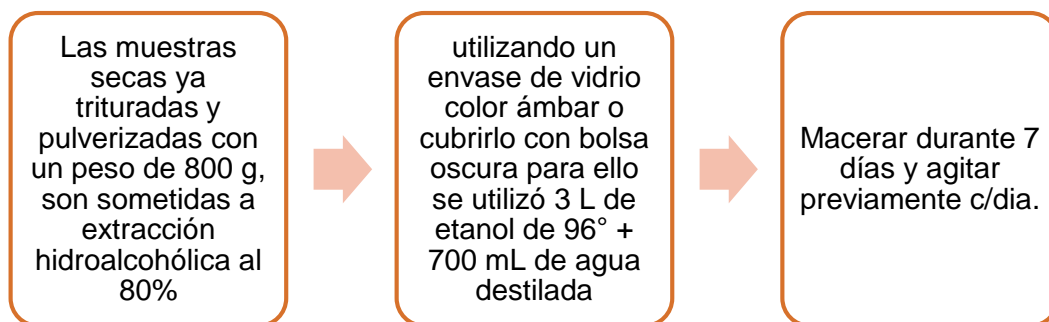
Triturado y/o pulverizadas.



Pesado de las hojas ya trituradas



Anexo 6. Preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo". Ayacucho 2018.



Anexo 7. Procedimiento de obtención y secado del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" en el laboratorio de Toxicología. Ayacucho 2018.



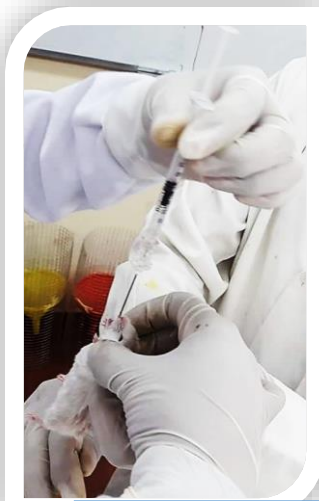
- (1) Filtrar.
- (2) Concentrar en baño maría a una temperatura de 50°C.
- (3) Por ultimo llevar a sequedad en la estufa a una temperatura de 37 - 40°C.

Anexo 8. Procedimiento experimental pesado, marcado del ratón; preparación del rojo fenol y del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" en el laboratorio de Farmacología. Ayacucho 2018.



- (1) Pesado y marcado de los ratones.
- (2) Preparación de la dosis de los extractos: 50, 100, 200 y 400 mg/kg, rojo fenol 500 mg/kg y estándar bromhexina (bisolvon).

Anexo 9. Administración oral del blanco, estándar y los tratamientos del extracto, a cada uno de los grupos a ensayar en el laboratorio de Farmacología. Ayacucho 2018.



El 1er grupo recibe solo agua destilada, el 2do bromhexina 25mg/kg



El 3er, 4to, 5to y 6to reciben los extractos a la dosis de 50, 100, 200 y 400 mg/kg respectivamente.



30 min después administrar a todos los grupos el rojo fenol 500 mg/kg por vía i.p



Anexo 10. Sacrificado del ratón y obtención del líquido de lavado y colectado de la secreción traqueobronquial de los ratones, en el laboratorio de Farmacología. Ayacucho 2018.

Ratón sacrificado



Tráquea expuesta y extraída



C/u de las tráqueas son lavadas por 30 min en 1mL de solución salina fisiológica

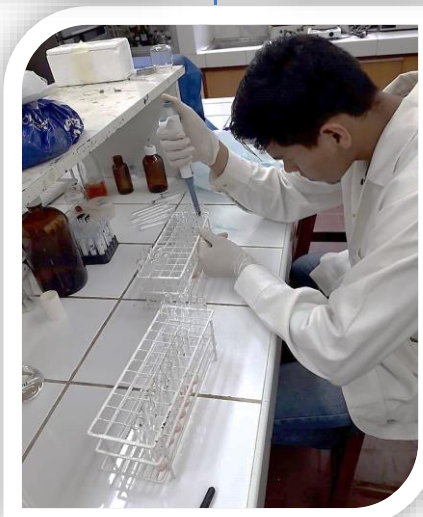


Colectar el líquido de lavado y centrifugar a 1600 rpm por 30 min

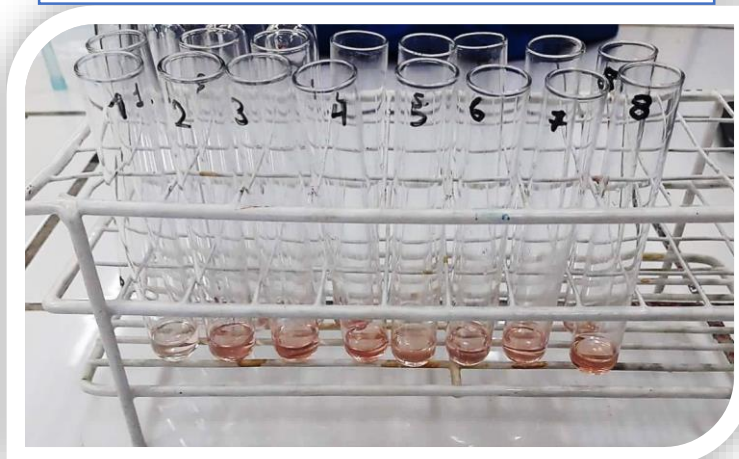


Anexo 11. Preparación de las mezclas (blanco, estándar y tratamientos) para la lectura espectral, en el laboratorio de Farmacología. Ayacucho 2018.

A 1 mL del sobrenadante adicionar 0,1 mL de NaOH al 0,01 N



(Tratamientos a (50, 100, 200 y 400 mg/kg), blanco (agua destilada) y estándar (bromhexina))



Anexo 12. Método instrumental recolección de los datos, medición de la concentración de rojo fenol en el espectrofotómetro UV - Vis a una longitud de onda de 560 nm para determinar el efecto expectorante, en el laboratorio de Toxicología. Ayacucho 2018.

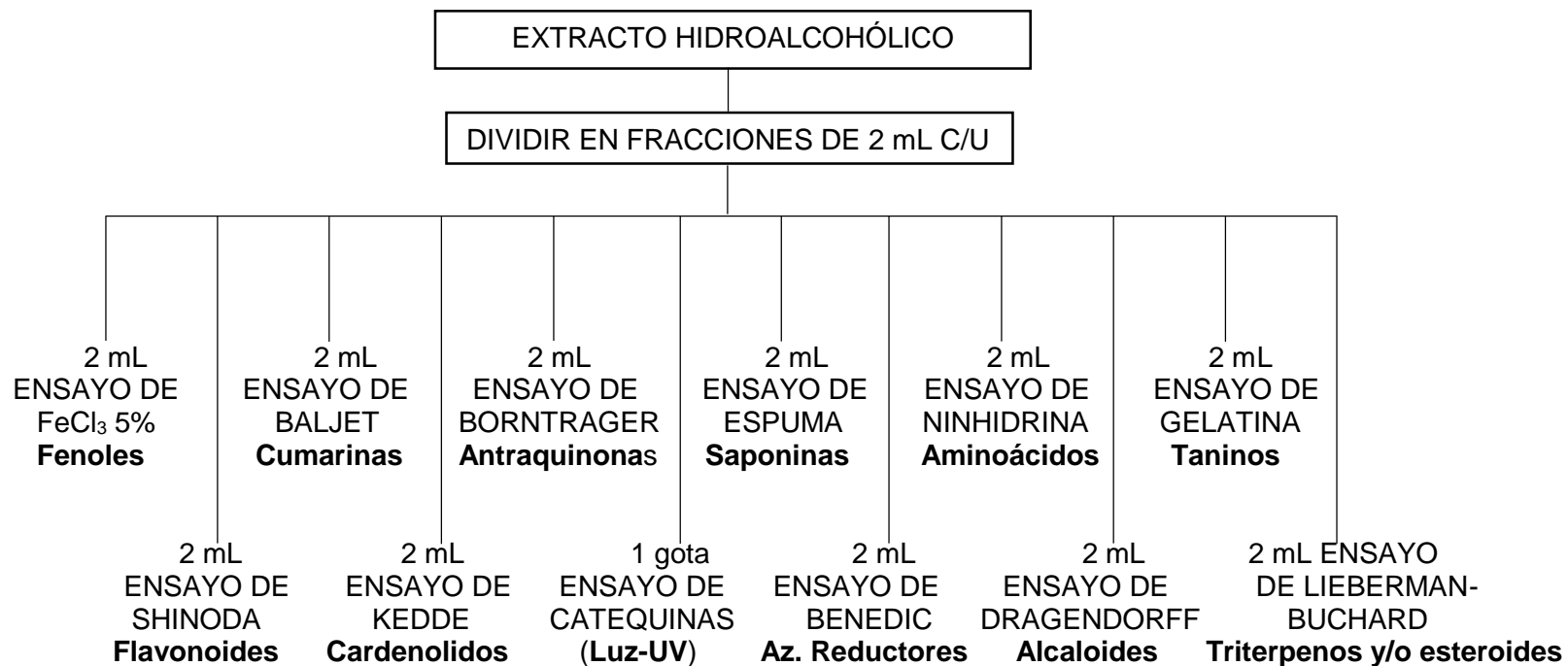
El método mide la concentración de rojo fenol en la secreción traqueobronquial del ratón, de cada grupo experimental.



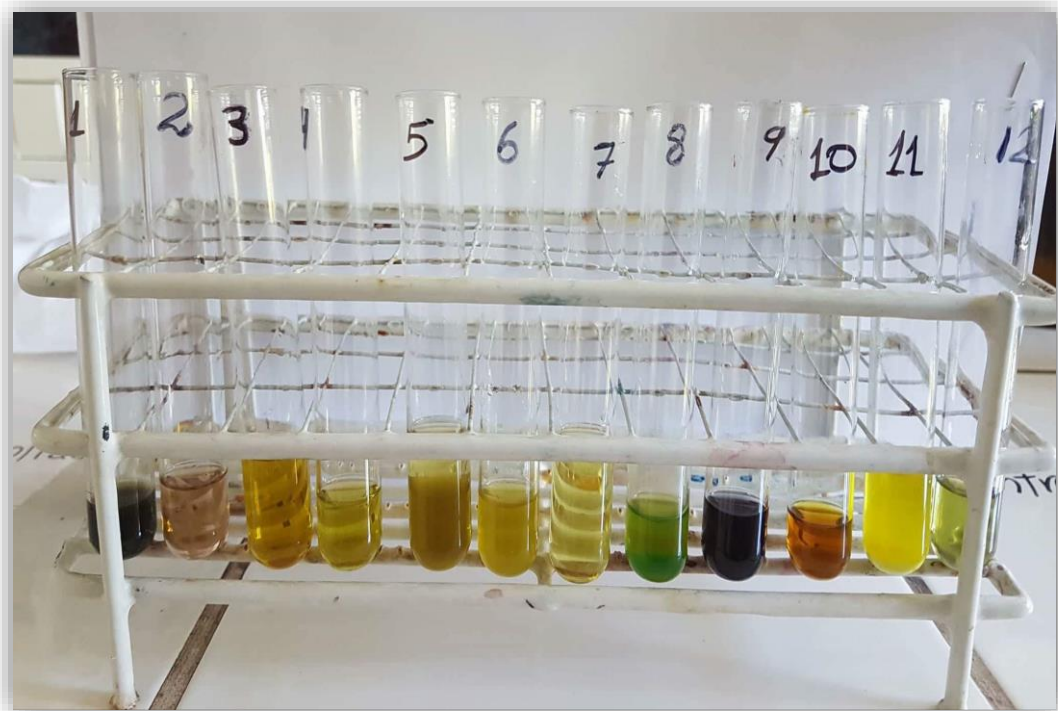
El efecto expectorante fue evaluado por el aumento de las absorbancias en el el espectrofotómetro UV – Vis.



Anexo 13. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo". Ayacucho 2018.



Anexo 14. Fotografía del tamizaje fitoquímico para identificar metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill "hinojo". Ayacucho 2018.



ENSAYO DE CATEQUINAS
(Rayos - UV)

Anexo 15. Absorbancias obtenidas del espectrofotómetro UV – Vis de las concentraciones de rojo fenol en secreción traqueobronquial de *Mus musculus* “ratón” del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, en el laboratorio de Toxicología. Ayacucho 2018.

Absorbancias obtenidas del espectrofotómetro UV – Vis											
BLANCO (Agua destilada)	Abs	ESTANDAR (Bromhexina)	Abs	EXTRACTO (I)	Abs	EXTRACTO (II)	Abs	EXTRACTO (III)	Abs	EXTRACTO (IV)	Abs
1-.1 mL	0,109	1-.25 mg/kg	0,176	1-.50 mg/kg	0,125	1-.100 mg/kg	0,145	1-.200 mg/kg	0,177	1-.400 mg/kg	0,189
2-.1 mL	0,107	2-.25 mg/kg	0,178	2-.50 mg/kg	0,127	2-.100 mg/kg	0,148	2-.200 mg/kg	0,179	2-.400 mg/kg	0,182
3-.1 mL	0,106	3-.25 mg/kg	0,182	3-.50 mg/kg	0,124	3-.100 mg/kg	0,147	3-.200 mg/kg	0,175	3-.400 mg/kg	0,183
4-.1 mL	0,111	4-.25 mg/kg	0,175	4-.50 mg/kg	0,123	4-.100 mg/kg	0,139	4-.200 mg/kg	0,172	4-.400 mg/kg	0,183
5-.1 mL	0,108	5-.25 mg/kg	0,177	5-.50 mg/kg	0,126	5-.100 mg/kg	0,147	5-.200 mg/kg	0,170	5-.400 mg/kg	0,188
6-.1 mL	0,114	6-.25 mg/kg	0,186	6-.50 mg/kg	0,122	6-.100 mg/kg	0,152	6-.200 mg/kg	0,179	6-.400 mg/kg	0,189
7-.1 mL	0,110	7-.25 mg/kg	0,181	7-.50 mg/kg	0,128	7-.100 mg/kg	0,143	7-.200 mg/kg	0,171	7-.400 mg/kg	0,181
8-.1 mL	0,104	8-.25 mg/kg	0,176	8-.50 mg/kg	0,122	8-.100 mg/kg	0,143	8-.200 mg/kg	0,174	8-.400 mg/kg	0,187

Anexo 16. Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de efecto expectorante a diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en *Mus musculus* “ratón”. Ayacucho 2018.

ANOVA					
PORCENTAJE DE EFECTO EXPECTORANTE					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	17995,094	4	4498,774	455,539	,000
Dentro de grupos	345,650	35	9,876		
Total	18340,744	39			

Anexo 17. Prueba de comparaciones múltiples de Tukey para el porcentaje de efecto expectorante a diferentes dosis del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en *Mus musculus* “ratón”. Ayacucho 2018.

PORCENTAJE DE EFECTO EXPECTORANTE					
HSD Tukey ^a					
Subconjunto para alfa = 0,05					
Tratamiento	N	1	2	3	4
Extracto 50 mg/kg	8	14,7250			
Extracto 100 mg/kg	8		33,9250		
Extracto 200 mg/kg	8			60,7500	
Bromhexina 25 mg/kg	8			64,6500	
Extracto 400 mg/kg	8				70,5500
Sig.		1,000	1,000	,118	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 8,000.

Anexo 18. Matriz de consistencia. Ayacucho 2018.

Título	Problema	Objetivos	Marco teórico	Hipótesis	Variables	Metodología
<p>Efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill “hinojo” en <i>Mus musculus</i> “ratón”. Ayacucho 2017.</p>	<p>¿Tendrá efecto expectorante e el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill “hinojo” en <i>Mus musculus</i> “ratón”?</p>	<p>Objetivo general Determinar el efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill “hinojo” en <i>Mus musculus</i> “ratón”. Objetivos específicos. Identificar la presencia de metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill “hinojo”. Evaluar la dosis con mayor efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill “hinojo”. Comparar el efecto expectorante de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill “hinojo” con bromhexina.</p>	<p><i>Foeniculum vulgare</i> Mill “hinojo”: Se ha utilizado en la medicina tradicional para una amplia gama de dolencias relacionadas con el sistema digestivo, endocrino, reproductivo y respiratorio; de ellas destacamos carminativa, antimicrobiana, antiviral, antiinflamatoria, antialérgica, estrogénica, galactógena, expectorante, diurética, hipolipemiente, broncodilatadora y antioxidante, etc. Efecto expectorante: Los estudios realizados del hinojo como expectorante, son debido a que estimulan la motilidad ciliar del aparato respiratorio y mejoran el transporte externo de corpúsculos extraños, una acción que podría facilitar la expectoración de moco, bacterias y otros agentes de las vías respiratorias. El Aparato respiratorio: Son conjunto de estructuras especializadas en ejecutar las funciones respiratorias. Fisiología de la secreción bronquial La secreción traqueobronquial constituye, junto al componente ciliar, el sistema más importante de aclaramiento y limpieza de los diversos componentes depositados en la vía aérea Método <i>in vitro</i> de rojo fenol. El estudio se centra en la determinación del efecto expectorante mediante el método <i>in vitro</i> de rojo fenol, basada en las propiedades que presenta este colorante para eliminarse en los fluidos del tracto respiratorio lo que permite medir la concentración de rojo fenol en la secreción traqueobronquial del animal de experimentación, dicha concentración se determinó espectrofotométricamente utilizando una longitud de onda de 560 nm.</p>	<p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill “hinojo” posee efecto expectorante en <i>Mus musculus</i> “ratón”.</p>	<p>Variable independiente Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill “hinojo”. Indicador: Extracto en mg/kg de peso: 50, 100, 200 y 400 mg/kg. Variable dependiente Efecto expectorante. Indicador: % de efecto expectorante.</p>	<p>Tipo de investigación: Básico-experimental Población: Hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill “hinojo” que crecen a 3150 msnm., en el distrito de Vinchos, provincia de huamanga, región Ayacucho. Tipo de muestreo: Por conveniencia Muestra: Cuatro kilos de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”, recolectadas en el distrito de Vinchos. Unidad experimental: 48 ratones albinos machos cepa Balb/C de 25-30 g de peso corporal Preparación del extracto hidroalcohólico y tamizaje fitoquímico: Extracción hidroalcohólicas al 80% se preparó por la técnica de maceración e identificación de metabolitos según Miranda y Cuellar. Determinación del efecto expectorante: Se usará el método <i>in vitro</i> de rojo fenol Análisis de datos: Los datos que se obtendrán serán procesados en una base de datos con el paquete estadístico SPSS 22. Se determinarán en forma de medias y desviación estándar, y se representarán mediante gráficos en forma barras. Se realizará análisis de varianza (ANOVA) para determinar las diferencias significativas en los diferentes ensayos a un nivel de confianza de 95% (p<0.05) y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.</p>