

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS

**Efecto expectorante del aceite esencial de las hojas de *Foeniculum
vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas. Ayacucho 2023**

Para optar el título profesional de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

Bach. Willian Eloy ESPINOZA VALDEZ

ASESOR:

Dr. Edwin Carlos ENCISO ROCA

AYACUCHO - PERÚ

2024

A mis padres Eloy Espinoza y María Valdez que siempre me apoyaron y en especial para mi madre que es valiente para vencer su enfermedad. A mi esposa, a mis hijos, mi familia y a mis maestros.

AGRADECIMIENTOS

A tan prestigiosa casa de estudios, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, en cuyos salones se me brindó en el transcurso de cinco años, los conocimientos necesarios para lograr ser el profesional que hoy soy.

A la Facultad de Ciencias de la Salud, principalmente a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, a los maestros, quienes me brindaron sus conocimientos necesarios para mi instrucción ética y profesional.

Al Dr. Q.F. Edwin Carlos Enciso Roca por su paciencia, aptitud e idoneidad académica en el tema de investigación, que me permitió el cumplimiento de la tesis planteada.

Por último, a mi familia, amigos y esposa de quienes tuve su apoyo incondicional.

INDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes de estudio	3
2.2. <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”	7
2.3. Sistema respiratorio	9
2.4. Bronquios	9
2.5. Bronquio izquierdo	9
2.6. Tráquea	10
2.7. Pulmones	10
2.8. Fisiopatología de la secreción bronquial	10
2.9. Farmacoterapia de la secreción bronquial	11
2.10. Expectorantes	11
2.11. Mucolíticos	11
III. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. Lugar	15
3.2. Población y muestra	15
3.2.1. Población	15
3.2.2. Muestra	15
3.2.3. Unidad experimental	15
3.3. Métodos	15
3.4. Diseño experimental	19
3.5. Análisis estadístico	20
IV. RESULTADOS	23
V. DISCUSIÓN	29
VI. CONCLUSIONES	37
VII. RECOMENDACIONES	39
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
IX. ANEXOS	47

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Distribución de los grupos de ensayo de los diferentes tratamientos en los animales de experimentación	20
Tabla 2. Características fisicoquímicas del aceite esencial de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” Ayacucho 2023	25

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Conformación química de la Bromhexina	13
Figura 2. Conformación química del rojo fenol	13
Figura 3. Absorbancias de rojo fenol por tratamientos con el aceite esencial extraída de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas de la cepa <i>Holtzman</i> . Ayacucho 2023	26
Figura 4. Porcentaje del efecto expectorante por tratamientos del aceite esencial en hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” en ratas albinas de la cepa <i>Holtzman</i> Ayacucho 2023	27

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Certificado de descripción taxonómica del <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. Ayacucho 2023	49
Anexo 2. Diagrama de flujo para la extracción del aceite esencial en hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> . Mill “hinojo”. Ayacucho 2023	50
Anexo 3. Diagrama de flujo para la determinación del efecto expectorante del aceite esencial en hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> . Mill “hinojo”. Ayacucho 2023	51
Anexo 4. Diagrama de flujo para la evaluación y dosificación de los tratamientos del aceite esencial en hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. Ayacucho 2023	52
Anexo 5. Recolección y pesaje de las hojas frescas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. Ayacucho 2023	53
Anexo 6. Extracción de aceite esencial en hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. Ayacucho 2023	54
Anexo 7. Flujograma para evaluar el efecto expectorante del aceite esencial de las hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> “hinojo” Mill. Ayacucho 2023	55
Anexo 8. Diagrama de flujo para la evaluación de parámetros fisicoquímicos en el aceite esencial obtenido en hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. Ayacucho 2023	56
Anexo 9. Pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza del efecto expectorante del aceite esencial en las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo” Ayacucho 2023	57
Anexo 10. Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de efecto expectorante a distintas concentraciones del aceite esencial en hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. Ayacucho 2023	58
Anexo 11. Comparaciones múltiples de los valores del porcentaje del efecto expectorante en función de los tratamientos del aceite esencial en hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “hinojo”. Prueba de Tukey. Ayacucho 2023	59
Anexo 12. Absorbancias obtenidas en el espectrofotómetro UV-Vis	

	de las concentraciones de rojo fenol en la secreción traquebronquial en las ratas albinas de la cepa Holtzman del aceite esencial de las hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. "hinojo". Ayacucho 2023.	60
Anexo 13	Matriz de consistencia	61

RESUMEN

Las afecciones a nivel del sistema respiratorio son uno de los primeros problemas de cuidado clínico más solicitado a nivel mundial. Es así que los expectorantes facilitan la expulsión de la flema, por elevación de su volumen hídrico o por activación del reflejo de la tos. El objetivo fue determinar el efecto expectorante del aceite esencial en las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas de la cepa Holtzman, desarrollado en los laboratorios de Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Salud. Para la evaluación del efecto expectorante se utilizó el método in vitro del rojo fenol. Se emplearon ratas albinas de cepa Holtzman las mismas que fueron distribuidas en 5 grupos de 5 animales cada uno, grupo I: suero fisiológico 1 mL/kg, grupo II: bromhexina 25 mg/kg y grupos III al V tratados con el aceite esencial a 100, 250 y 500 mg/kg de peso. Las características organolépticas y fisicoquímicas del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” fueron coloración amarillo tenue, olor aromático, sabor dulce anisado, aspecto líquido- oleoso, densidad de 0,91 g/mL, índice de refracción de 97 %, índice de acidez de 1,12 g/mL KOH/g de aceite. El efecto expectorante a la dosis de 100, 250 y 500 mg/Kg fueron de 43,1 %, 64,7 % y 102,6 % respectivamente y para la bromhexina fue de 106,1 % ($p < 0,05$), siendo la dosis de 500 mg/Kg estadísticamente similar a la bromhexina. En conclusión, el aceite esencial de las hojas en *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” presenta efecto expectorante.

Palabras clave: *Foeniculum vulgare* Mill., aceite esencial, expectorante.

I. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la OMS, la cuarta parte de los medicamentos que se vienen comercializando en la actualidad provienen de plantas medicinales, mientras que la otra cuarta parte corresponde a fármacos con principios activos de origen vegetal que fueron transformados químicamente, así también la OMS mediante un informe nos dice que entre un 65 a un 80 % de toda la población provenientes de países emergentes a nivel mundial recurre al uso de plantas medicinales como alternativa para tratar sus malestares al no poder acceder a una atención médica inmediata.¹

Las diferentes partes de la especie *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” entre los que se incluyen hojas, tallos y semillas, presentan una amplia gama de propiedades medicinales con uso muy común, de las hojas en infusión para uso como digestivo, antiinflamatorio, antiemético, diurético, aperitivo, etc., diversas especies de esta familia presentan una gama de componentes bioactivos muy útiles para la industria alimentaria, doméstica y sobre todo farmacéutica.²

De hojas y semillas se extrae el aceite esencial, cuyo efecto medicinal descrito es la acción mucolítica, su mecanismo permite expulsar con mayor facilidad la flema, adicional a ello la presencia de estas secreciones permite resguardar a las mucosas inflamadas.⁴

La acción expectorante de un aceite esencial se debe a que eleva el movimiento de los cilios bronquiales modificando así sus propiedades físicas y químicas, a la vez que por un efecto irritante eleva el rendimiento de la segregación traqueobronquial, fluidificando la flema y permitiendo disminuir su viscosidad y favorecer a una mejor expectoración, además se han descrito propiedades antisépticas a nivel respiratorio y espasmolítico.⁵

La tan variada flora que se cultiva en la región de Ayacucho permite a nuestra población, acceder a los beneficios fitoterapéuticos de una gran variedad de

plantas medicinales en los que se incluye a la especie *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”. Investigaciones previas demuestran que esta especie tiene efectos ansiolíticos, antidepresivos, antioxidantes, antimicrobianos, digestivos, espasmolíticos, antiinflamatorios, cosméticos, alimentarios, etc. y por lo tanto se tiene la necesidad de investigar a dicha especie de la familia Apiaceae.⁵

Por este motivo se planteó ejecutar esta investigación tomando en cuenta los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Determinar el efecto expectorante del aceite esencial en las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas de la cepa Holtzman.

Objetivos específicos:

- Determinar los parámetros fisicoquímicos del aceite esencial en las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.
- Evaluar la concentración con mejor efecto expectorante del aceite esencial en las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas de la cepa Holtzman.
- Comparar el efecto expectorante del aceite esencial en las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas de la cepa Holtzman a diferentes concentraciones con el estándar de bromhexina a 25 mg/Kg.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de Estudio

Internacional

Vieiraa⁶, evaluó la composición química de los aceites esenciales de *Cuminum cyminum* (comino), *Anethum graveolens* (eneldo), *Pimpinella anisum* (anís) y *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo) pertenecientes a la familia apiaceae, su citotoxicidad y su actividad antifúngica in vitro contra la cándida, la composición química fue realizado mediante una cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas, mientras la citotoxicidad fue analizada mediante el reactivo de proliferación celular WST-1 en fibroblastos del animal de experimentación, la evaluación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó mediante el microdilución de caldo (CLSI). La composición química principal encontrada para el *Cuminum cyminum* fue el cuminaldehído en un 32,66 %, para el *Anethum graveolens* fue el carvona con un 34,89 %, el transanetol en un 94,01 % para el *Pimpinella anisum* y finalmente al anetol en un 79,62 % para el *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”. En cuanto a su citotoxicidad, el aceite del anís y el hinojo dieron como resultado no ser citotóxicos en todos los tratamientos administrados, mientras que el aceite de comino dio como resultado ser citotóxico a una dosis de 20 mg/mL, finalmente el aceite esencial del eneldo fue citotóxico a una dosis de 20 y 8 mg/mL.

Araujo⁷, en su investigación “Evaluación biológica del extracto etanólico de las semillas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo””, para determinar su perfil fitoquímico se usó la cromatografía analítica en capa fina, el efecto antimicrobiano fue determinado mediante la técnica de difusión en disco de papel y la concentración mínima inhibitoria. La evaluación fitoquímica indicó la presencia de metabolitos secundarios como triterpenos, glucósidos, terpenos menores (monoterpenos, sesquiterpenoides y diterpenoides) y azúcares reductores, la mayor actividad

antimicrobiana se presentó a una dosis de 250 µg/mL, contra la cepa del *Micrococcus* spp.

López y Martínez⁸, evaluaron los efectos expectorante y toxicológicos de un fitofármaco elaborado con el extracto de la mezcla de tres plantas; a partir de hojas totalmente secas de cada especie, se elaboraron dos extractos de 3 especies en estudio, *Eucalyptus globulus*, *Borago officinalis* y *Sambucus nigra* en proporciones de 1;1;2, utilizaron la percolación como método, y al etanol como disolvente a concentraciones porcentuales de 30 y 70, utilizaron el tratamiento de rojo fenol en secreciones de ratón para evaluar el efecto expectorante y ensayaron en extractos alcohólicos al 30 y 70 %, mientras que el examen toxicológico realizaron con un extracto a concentración de alcohol al 70 %, los resultados fueron los siguientes; se pudo comprobar que los extractos hidroalcohólicos al 30 y al 70 % si presentaron actividad expectorante, mientras que toxicológicamente este extracto es casi nulo a dosis límite.

Bárzaga y Tillán⁹, evaluaron el efecto expectorante en preparaciones obtenidas a partir de la *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng (orégano francés), se experimentaron, en jarabes y tabletas de 100 mg; el tratamiento utilizado fue el de rojo fenol, este ensayo se realizó administrando el extracto acuoso así como jarabes y tabletas que produjeron un aumento significativo en la concentración del rojo fenol en las secreciones traqueobronquiales del ratón, cuyos resultados fueron los siguientes; el extracto si presenta efecto expectorante, mientras el jarabe a concentración de 50 mL/Kg de peso si presenta efectividad con una concentración media de 41,91 mL/Kg, y a concentración de 37,5 mL/Kg con una dosis media de 34,64 mL/Kg, mientras que los comprimidos de 100 mg, si tuvieron efecto expectorante a concentraciones de 34 y 68 mg/kg a comparación con el estándar de bromhexina y salbutamol, demostrando que las muestras estudiadas si presentan efecto expectorante.

Nacional

Llactahuaman y Quispe¹⁰, evaluaron el efecto expectorante y hepatotóxico del extracto hidroalcohólico al 40 % del *Senecio violifolius* “huamanripa” en ratas albinas, para ello emplearon el tratamiento del rojo fenol en ratones albinos de la especie de *Mus musculus*, los ratones fueron agrupados al azar en grupo de 5 en 5 y se les administró el extracto hidroalcohólico a concentraciones de 250, 500 y 700 mg/Kg de peso, se utilizó dos estándares de bromhexina 30 mg/Kg y N-

acetilcisteína, se obtuvo los siguientes resultados; a una dosis de 500 mg/kg de peso se obtuvo un mejor efecto con un 73,71 % y 69,03 % con respecto a los estándares concluyéndose que el extracto hidroalcohólico al 40% de las hojas de *Senecio violifolius* “huamanripa”, presenta efecto expectorante.

Arotinco y Delgado¹¹, evaluaron la actividad ansiolítica y antidepresiva del aceite esencial de las semillas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratones albinos, se determinó el efecto ansiolítico mediante el tratamiento de enterramiento de esferas en 40 ratones, el aceite se administró por vía oral a concentraciones de 2,5; 5 y 10 mL/Kg de peso, comparándolo con el estándar de diazepam 10 mg/Kg de peso, mientras que la actividad antidepresiva se evaluó por el método de natación, igualmente en 40 ratones albinos, donde se les administró cantidades de aceite esencial a 2,5; 5 y 10 mL/Kg de peso frente al estándar de la fluoxetina 20 mg/Kg, y se determinó el tiempo de inercia, de nado y de intervalo en un tiempo de 15 minutos donde se obtuvieron los siguientes resultados; el aceite esencial presentó actividad antidepresiva en las dos concentraciones iniciales, y actividad ansiolítica en las 3 concentraciones, donde se concluyó que el aceite esencial de las semillas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” presentan actividad ansiolítica y antidepresiva.

López y Quijada¹², compararon el efecto antiulceroso en los extractos de *Foeniculum vulgare* “hinojo” y *Solanum tuberosum* “papa” en *Rattus rattus* variedad Albinus, se tuvo como objetivo comparar a través de técnicas experimentales el efecto antiulceroso de dichos extractos, el estudio realizado fue cuasi experimental, los animales de ensayo fueron 40 ratones de la variedad Albinus, que fueron agrupados de manera aleatoria en grupos de 4 y 10 ratones en cada grupo, el tratamiento consistió en administrar por vía oral a cada grupo los extractos de *Foeniculum vulgare* “hinojo” a 300 mg/Kg de peso y el extracto de *Solanum tuberosum* “papa” a dosis de 20 mL/Kg correlativamente, el estándar fue la ranitidina a una concentración de 50 mg/kg de peso y un blanco de suero fisiológico a una concentración de 10 mL/kg de peso, también se utilizó a la indometacina como intermediario ulcerogénico que fue administrado por vía oral a una dosis de 50 mg/kg de peso, se demostró que el extracto de la especie *Solanum tuberosum* “papa” a concentración de 20 mg/kg presentó mejor efecto antiulceroso a comparación del extracto a concentración de 300 mg/kg de la especie *Foeniculum vulgare* “hinojo”, se estimó por medio de la extensión del área de las úlceras que se formaron, el nivel de protección, de acuerdo a los resultados

que se obtuvieron en ambas especies se pudo visualizar que el extracto de *Foeniculum vulgare* “hinojo”, presentó mayor extensión de daño. Se concluyó, que el extracto de *Solanum tuberosum* “papa” tiene una mayor actividad antiulcerosa que el extracto de *Foeniculum vulgare* “hinojo”.

Mendoza¹³, evaluó el efecto antibacteriano *in vitro* de los aceites esenciales de: *Foeniculum vulgare* (hinojo), *Cymbopogon citrus* (hierba luisa), *Origanum vulgare* (orégano), *Citrus aurantifolia* Swingle (limón) y *Citrus sinensis* (naranja), frente a cepas estandarizadas de *Streptococcus mutans*, cuyo objetivo fue determinar el efecto antibacteriano de los aceites esenciales de: *Foeniculum Vulgare* (Hinojo), *Cymbopogon citrus* (Hierba luisa), *Origanum vulgare* (Orégano), *Citrus aurantifolia* Swingle (Limón) y *Citrus sinensis* (Naranja), con el del gluconato de clorhexidina al 0,12 % sobre cepas estandarizadas de *Streptococcus Mutans* ATCC 25175. Los aceites esenciales de cada una de estas plantas se obtuvieron por el método de destilación por arrastre a vapor de agua, para realizar su estudio microbiológico se utilizó los cinco aceites esenciales mencionados a una concentración del 100 %; como medios de cultivo se emplearon Agar Müller Hinton enriquecido con 5 % de sangre humana. Estos aceites fueron comparados con un patrón control que fue el gluconato de clorhexidina al 0,12 %. Para cada tipo de aceite esencial se realizó tres repeticiones en placas de Agar Müller Hinton con el método Kirby Bauer o método de difusión de discos donde se incorporó 10 µL de cada aceite esencial y del patrón control sobre las cepas de *Streptococcus mutans*. Para determinar la efectividad antibacteriana se midió el diámetro de los halos de inhibición después de 24 horas. Los diámetros de halos de inhibición para el aceite esencial de *Cymbopogon citrus* (hierba Luisa) fue de 32,967 mm al 100 %, en el caso de aceite esencial de *Origanum vulgare* (orégano) fue un halo de inhibición de 15,89 mm al 100 %, para el aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo) fue un halo de inhibición de 15 mm al 100 %, en el aceite esencial de *Citrus sinensis* (naranja) fue un halo de inhibición de 14,67 mm al 100 %, mientras que para el aceite de *Citrus aurantifolia* Swingle (Limón) tuvo un halo de inhibición de 9,33 mm al 100 %. Se concluyó que los aceites esenciales de *Cymbopogon citrus* (hierba Luisa), *Origanum vulgare* (orégano), *Foeniculum vulgare* (hinojo) y *Citrus sinensis* (naranja) presentan mayor efecto antibacteriano sobre las cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, mientras que el aceite esencial de *Citrus aurantifolia* Swingle (limón) no presenta efecto antibacteriano.

Local

Ochoa¹⁴, determinó la actividad expectorante en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratones de la raza *Mus musculus*. La determinación de la actividad expectorante fue realizado *in vitro* con el rojo fenol en secreciones traqueobronquiales en los animales de ensayo, a concentraciones del extracto a 50, 100, 200 y 400 mg/kg, de peso, y se utilizó un control (agua destilada) y un estándar que fue el fármaco de bromhexina a una concentración de 25 mg/kg. Se pudo determinar metabolitos secundarios como catequinas, saponinas, aminoácidos libres, triterpenos, taninos, en mayor proporción fenoles y flavonoides. La actividad expectorante se basó en la medición de la absorbancia calculado en porcentajes y fue de 14,7 %; 33,9 %; 60,8 % y 70,5 % con los tratamientos administrados a cada grupo y un 64,7 % del estándar de bromhexina siendo estadísticamente significativo ($p < 0,05$). Se concluyó, que el concentrado de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” presenta actividad expectorante en ratones de la raza *Mus musculus*.

Chacón¹⁵, determinó la actividad expectorante en el concentrado hidroalcohólico de *Borago officinalis* L. “borraja”, utilizando como tratamiento Coppi y Gatti, agrupando a los ratones en 5 grupos de 5, y administrando a distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico a 100, 200 y 400 mg/Kg de peso, se empleó como control el agua destilada, y un último grupo con el estándar de bromhexina a 30 mg/Kg de peso, la actividad expectorante se determinó en porcentaje de acuerdo con el aumento de la concentración del rojo fenol en comparación con el medicamento estándar. Se notó la presencia de lactonas, cumarinas, triterpenos, saponinas, mucílagos y en mayor proporción fenoles y flavonoides, finalmente se obtuvieron los siguientes resultados; 67,85 %, 63,67 % y 63,03 % en comparación con el estándar, se procesó la prueba de Tukey y se concluyó que el concentrado hidroalcohólico de las hojas de *Borago officinalis* L. “borraja”, presentan efecto expectorante.

2.2. *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”

2.2.1. Clasificación taxonómica de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA
CLASE : MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE : ROSIDAE
ORDEN : APIALES

FAMILIA : APIACEAE
GÉNERO : FOENICULUM
ESPECIE : *Foeniculum vulgare* Mill.
N.V. : “hinojo”

Fuente: Constancia emitida por la Blga. Laura Aucasime Medina especialista en taxonomía y sistemática de plantas (Anexo 1).

2.2.2. Descripción botánica

Es una planta vivaz, sempiterno, aromática que posee un aroma y sensación anisado, de tallos rígidos, que puede llegar a tener una altura de hasta 2 metros y medio, acanalados, sólidos, bifurcado en la parte media superior, verdoso, glabro y liso por la base.¹⁶

Las hojas que se ubican en la base y parte media, son de tipo pinnadas, de bordes triangulares, pecioladas, glabras, extensamente distribuidas, las hojas que se ubican en la parte superior son glabras con un pequeño apéndice, sus flores poseen una corola que son amarillas y reducidas, agrupadas en inflorescencias de tipo umbela, que consiste en una aglomeración de flores ramificados por lo menos en dos niveles, éstas se ubican a nivel terminal y lateral, sus frutos son ovalados, glabros y ceñidos a los lados y sus esquizocarpios tienen alrededor de cinco costillas elevadas.¹⁶

2.2.2. Distribución y entorno

Estas plantas crecen como herbazales nitrófilos, es decir al borde de los caminos como plantas herbáceas, también crecen en campos donde se cultivan, áreas baldías, estepas de tierras bajas, en todo tipo de suelos, a excepción de los muy secos, y con tierras alcalinas, en altitudes que van desde los 0 a 1200 m.s.n.m. Es oriundo de la zona meridional, en la actualidad se puede encontrar por el occidente y zona sur de Europa, el Norte de África, occidente y parte central de Asia.¹⁷

2.2.3. Propiedades y usos medicinales

Se ha evidenciado que en numerosos estudios que el *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” presenta propiedades medicamentosas, en las hojas podemos destacar sus propiedades antiflatulento, antibiótica, antiviral, analgésica, antialérgica, protector hepático, antidepresivo, estimulante de la memoria, estrogénico, mucolítico, expectorante, broncodilatador, hipotensor, favorece la circulación sanguínea, antineoplásico, disminuye los niveles elevados de lípidos, y azúcares,

espasmolítico, diurético y antioxidante. Los frutos contienen aceite esencial, los cuales presentan un efecto expectorante, antiespasmódico y digestivo.¹⁸

2.2.4. Composición química

En cuanto a su composición química, podemos precisar la importancia del aceite esencial que posee la especie *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, esta cuenta con hasta 87 componentes etéreos distintos. El componente de mayor cantidad es el trans-anetol, esta refiere hasta las tres cuartas partes del aceite esencial entre un 75 a 80 %, seguido de la fenchona, cuya concentración representa entre un 8 a 15 %, también se encuentra el estragol o metilchavicol con un 5 a 9 %, cabe aclarar que la concentración de aceites disminuye debido a la maduración del fruto.¹⁹

2.3. Sistema respiratorio

El sistema respiratorio es el encargado de proporcionar el oxígeno vital para la respiración celular, eliminando así el CO₂ generado por el metabolismo celular, también tiene otras funciones como proporcionar el aire necesario para la emisión de sonidos, circular el oxígeno sobre el epitelio olfativo de la cavidad nasal, etc.²⁰

2.3.1. Partes del sistema respiratorio

a) Las vías respiratorias: conforman el aparato respiratorio y se define como un conjunto de vías por las cuales circula el oxígeno desde el interior donde se da el intercambio de gases para después salir al exterior del organismo como dióxido de carbono y finalmente adaptarse durante la inspiración.²⁰

b) Órganos de la respiración: tenemos principalmente a los pulmones, al cámara nasal separado en dos cámaras por el tabique nasal, la cavidad oral, los bronquios, dos últimas partes que serán estudiados de manera exhaustiva.²¹

2.4. Bronquios

Estas se dividen en:

- Bronquio derecho.
- Bronquio izquierdo

2.4.1. Bronquio derecho: mide alrededor de 3 cm, se ramifica en tres bronquios, que se ubican en la parte superior media e inferior tiende a ser equidistante a la tráquea.²²

2.5. Bronquio izquierdo: mide alrededor de 4 a 5 cm más que el izquierdo y más

estrecho, se ramifica en dos bronquios, que se ubican en la parte superior e inferior, tiende a ubicarse verticalmente a la tráquea, lo que supone una mayor probabilidad de lesión por su ubicación anatómica, las vías respiratorias se ramifican hasta en 23 segmentos los cuales no tienen cartílago hasta la posición número 11, y no existe intercambio gaseoso hasta la posición número 16.²²

2.6. Tráquea

Parte del sistema respiratorio que participa en la tos refleja, mide alrededor de 20 cm de largo y un calibre de 12 mm, conformado aproximadamente de 16 a 20 anillos compuestos por cartílago, la tráquea en la niñez suele ser redonda mientras que en la edad adulta suele ser ovoidea, la arteria tiroidea inferior es la encargada de irrigar la tráquea cervical, mientras que las arterias bronquiales superiores y algunas ramificaciones de la arteria interna mamaria son las encargadas de irrigar la porción distal de la tráquea.²³

2.7. Pulmones

Son conformaciones que anatómicamente se hallan revestidas por una membrana llamada la pleura, a la vez también poseen dos membranas muy importantes; la pleura visceral que recubre a los pulmones y la pleura parietal que recubre la pared torácica, los pulmones tienen como función principal el intercambio gaseoso, para llevarlo a cabo se realizan dos movimientos que permiten ejecutarlo, la inspiración, este movimiento es favorecido por el diafragma en sus tres cuartas partes, y los intercostales la cuarta parte restante en estado de reposo, y encontramos a la espiración favorecido por la pared torácica por un desplazamiento pasivo.²²

2.8. Fisiopatología de la secreción bronquial

Constituye un sistema de defensa de la mucosa frente a procesos infecciosos, además tiene la función de aclarar diferentes elementos acumulados en las vías aéreas superiores. La secreción se origina en las glándulas membranosas a nivel de la submucosa y en las células calciformes; las secreciones bronquiales se conforman principalmente casi en su totalidad por agua (95 %), y en reducida proporción por glucoproteínas ácidas (2 %), grasas (0,5-1 %) además de diferentes proteínas.²²

Dentro de sus características físicas, se encuentra la densidad y la elasticidad que les da la propiedad de retener partículas ajenas al organismo y trasladarlo en contra de la gravedad, es así que en el caso de las secreciones patológicas éstas

se ven alteradas, pues se modifica su estructura y cantidad, ya que, si la densidad se eleva, la secreción se resiste a la locomoción y si la elasticidad se disminuye, el moco tiende a retenerse y no ascender. En procesos infecciosos las secreciones aumentan notablemente esto debido a la manifestación del ADN, como resultado del mismo proceso infeccioso, la tos permite de alguna manera aumentar la depuración de las secreciones, de modo que el flujo de aire propio de la tos, logre separar el moco de los bronquios. En cuanto a las farmacoterapias actualmente se están administrando tratamientos con fármacos que permiten modificar las características de las secreciones patológicas en procesos infecciosos, entre los cuales encontramos a los mucolíticos los cuales facilitan la eliminación del moco por la expectoración.²³

2.9. Farmacoterapia de la secreción bronquial

La administración de fármacos que permiten modificar la secreción bronquial tiene como función primordial facilitar la expulsión del moco o esputo en caso que este se vea físicamente alterado en densidad y elasticidad debido a proceso infeccioso. Estos fármacos están orientados a administrarse en procesos patológicos como bronquitis crónica, asma bronquial y bronquiectasia.²⁴

2.10. Expectorantes

Se considera a aquellos fármacos los cuales poseen la capacidad de favorecer mediante la acción refleja de la tos o elevando su volumen hídrico, la eliminación del esputo o secreción patológica.²⁴

La mejoría y eficacia de estos expectorantes se encuentra mediada por una adecuada rehidratación entre dos a tres litros de agua, pues esta ayuda a hidratar el moco bronquial y evita la formación de tapones de moco.²⁴

2.9.1. Clasificación de los expectorantes

De acción directa:

- Aceites esenciales (trementina, eucaliptol, mentol; timol; cineol, alcanfor).
- Bálsamo de Tolú, Benjuí.
- Vapor de agua o de etanol.

De acción refleja:

- Saponinas
- Compuestos de amonio Citratos de Na⁺ y K⁺

- Acetato potásico

De acción mixta:

- Yoduros (yoduro potásico y yoduro sódico).²²

2.11. Mucolíticos

Se les considera a aquellos fármacos que poseen la capacidad de alterar las propiedades fisicoquímicas de las segregaciones bronquiales anormales, modificando la densidad y elasticidad de la mucosa y facilitar su expulsión.²⁴

2.11.1. Clasificación de los mucolíticos

- Agentes surfactantes
- Derivados de los aminoácidos: N-acetilcisteína
- Enzimas: tripsina y quimiotripsina
- Derivados sintéticos: bromhexina y ambroxol

A continuación, se describirá al fármaco bromhexina, sustancia en estudio utilizado en el trabajo de investigación como estándar.²⁴

2.12. Bromhexina

Es un fármaco cuya obtención se centra de manera sintética, tiene muy buena tolerancia y se absorbe muy bien por vía oral, pulmonar y parenteral²⁵. Al igual que el ambroxol, metabolito de la bromhexina, ejerce una actividad expectorante como mucolítica, disminuyendo las secreciones bronquiales y elevando la cantidad de flema al estimular la despolimerización hidrolítica de las mucoproteínas fibrilares, activando también el movimiento ciliar del epitelio y estudios previos sugieren que su administración en combinación con antibacterianos, tiene mejor efecto que su administración en solitario, así mismo se sugiere realizar más investigaciones para confirmar este efecto.²⁶

a.1) Mecanismo de acción

Presenta propiedades mucocinéticas, ayudando a mejorar la función pulmonar, induce el movimiento ciliar y la desnaturalización de las mucoproteínas, para facilitar la expulsión de la flema, elevando la segregación de las glándulas exocrinas y la productividad de un tensioactivo pulmonar.²⁵

a.2.) Farmacocinética

Absorción: su administración principal es por vía oral, se absorbe por el tracto

digestivo, su concentración plasmática pico se da a la primera hora de administración, se metaboliza en el hígado entre un 75 a un 80 % y se une a las proteínas en un 90 %.²⁵

Distribución: atraviesa la barrera hematoencefálica, a las 2 horas de su administración oral se observó mayores concentraciones de este fármaco en los tejidos bronquiales y en el parénquima pulmonar.²⁵

Metabolismo: se metaboliza casi en su totalidad a diferentes metabolitos hidroxilados, encontrándose hasta 10 compuestos diferentes.²⁵

Eliminación: se elimina por vía renal en un 90 % y por vía fecal en 4 %.²⁵

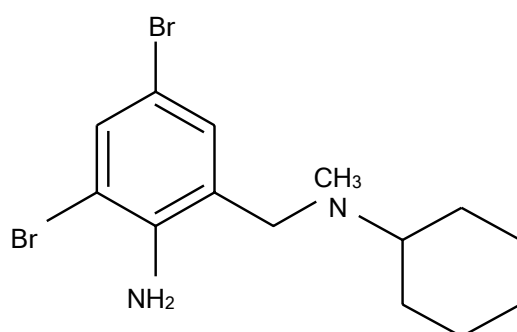


Figura 1. Conformación química de la bromhexina

2,4-dibromo-6-[[ciclohexil(metil)amino]metil] anilina.

2.13. Rojo fenol

Es un polvo cristalino de color rojo, compuesto orgánico usado como indicador de pH, sin olor, se solubiliza en el agua muy poco, se solubiliza bien en presencia de hidróxidos alcalinos y es ligeramente soluble con alcohol etílico y acetona. Es indicador de pH, en medio ácido y alcalino; en medio ácido inferior a 6,8 tiende a cambiar a un color amarillo y a pH alcalino mayor a 8 tiende a dar tonalidades color naranja.²⁷

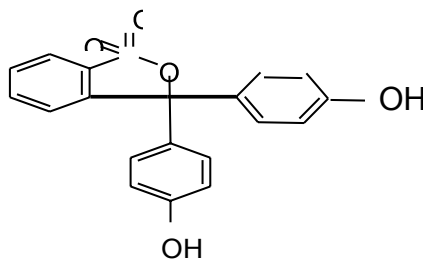


Figura 2. Conformación química del Rojo fenol.²⁷

(3S)-3-(3-hidroxifenil)-3-(4-hidroxifenil)-2,1λ⁶-benzoxatriol-1,1(3H)-diona

2.13.1. Mecanismo del rojo fenol para determinar el efecto expectorante

Es un reactivo utilizado como indicador de pH en la determinación del efecto expectorante, su función principal consiste en elevar su capacidad segregante en el lumen traqueal y son los fármacos expectorantes los que elevan la capacidad de segregar el rojo fenol en la tráquea.²⁷

2.14. Aceite esencial

Es una mezcla compleja, que se acumula en las glándulas secretoras, estas se ubican en la parte superior de la planta con secreción exógena y las ubicadas en la parte interna de la planta con secreción endógena, se extraen por medio del proceso mecánico apropiado como impulsión por vapor de agua por destilación en seco.⁸

2.14.1. Composición química

Solo representan una pequeña parte del contenido vegetal y son los siguientes:

- Terpenos de hidrocarburos (isoprenos) y terpenoides.
- Monoterpenos (representan más del 80 % del total del aceite esencial).
- Sesquiterpenos.²⁸

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar

La ejecución de la tesis se llevó a cabo en los laboratorios de Farmacia de la Facultad Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Población y Muestra

3.2.1. Población

Especie de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, que crece en el distrito de Vinchos, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

3.2.2. Muestra

Treinta kilogramos de hojas frescas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, recolectadas del distrito de Vinchos. El muestreo se realizó por conveniencia.

3.2.3. Unidad experimental

Veinticinco ratas albinas de la cepa Holtzman, con un peso de 200 a 250 g, en un buen estado de salud adquiridas en la Universidad Cayetano Heredia.

3.3. Métodos

3.3.1. Procedimiento para la recolección de la muestra

La muestra en estudio, constituida por la planta (hojas) de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, se recolectaron manualmente, del distrito de Vinchos, provincia de Huamanga del departamento de Ayacucho, mes de enero en horas de la mañana.

3.3.2. Extracción del aceite esencial

El material vegetal (hojas) se lavó y se llevó a pesar 5 Kg de dicho vegetal, se cortaron en pequeños trozos de 2 cm aproximadamente y la muestra se colocó en la maquina extractora, donde se agregó agua suficiente como para evitar

quemaduras y daños en el material a ensayar. El proceso inicia con el calentamiento del generador de vapor manteniendo cerrada la llave de paso a la cámara extractora donde el generador alcanza una presión de operación seleccionada de 6 a 7 unidad de presión (pound per square inch) siglas en ingles que significa libras por pulgada cuadrada, una temperatura aproximada de 98 °C. Cuando se alcanza la presión de operación en el generador, se permite el paso del vapor a la cámara de extracción, manteniendo cerrada la llave de paso al condensador, esto hasta alcanzar una presión de 7 PSI en la cámara.²⁹

Luego de alcanzada la presión de operación en el generador y después de unos minutos de mantenerse el generador y la cámara a la misma presión se abre la llave de paso al condensador, permitiendo entonces la salida de los componentes volátiles de la planta arrastrada por el vapor.²⁹

La ejecución se llevó a cabo aproximadamente durante 35 minutos contados después de la obtención de la primera gota de destilado, se recogió dos fracciones representativas de producto de cabeza y cola (60 y 135 minutos), para cada una de las cuales se tomó los siguientes datos: temperatura y presión en el calderín, presión en la cámara de extracción, volumen del destilado, temperatura del destilado, temperatura de entrada y salida del agua de servicio, caudal del destilado, caudal del agua a la salida del condensador.²⁹

El destilado se recolectó en frascos, que se mantuvieron refrigerados y en reposo durante 24 horas, después se separó la fase orgánica (ahora visible) utilizando una jeringa de 2 mL, el aceite se almacenó en frascos color ámbar y se agregó sulfato de sodio anhidro como secante, para almacenarse para análisis respectivo.²⁹

3.3.3. Evaluación de los parámetros fisicoquímicos

a) Características organolépticas

Olor: Se procedió a tomar una cantidad de muestra para percibir el aroma y evaluar la variedad del aroma. La terminología para especificar los olores del aceite esencial es: aromático, aliáceo, alcanforado, nauseabundo, desagradable, etc.³¹

Color: Se procedió a tomar una cantidad de muestra suficiente para visualizar la coloración y evaluar la categoría de color siguiendo lo siguiente: amarillo, amarillo-ámbar, pardo oscuro, pardo rojizo, pardo rojizo oscuro y pardo negruzco.³¹

Sabor: Se llevó una cantidad suficiente de muestra y se colocó en una luna de reloj, para luego hacer contacto con la lengua y evaluar el tipo de sabor dulce, amargo, ácido, salado, astringente, punzante, nauseabundo, aromático, etc.³⁰

Aspecto: Se llevó una cantidad suficiente de muestra en una luna de reloj para evaluar su apariencia y se le ubicó en un fondo de color blanco. Siguiendo la clasificación:

- Líquida-oleosa (aceite).
- Siruposa (aceite).
- Sólida (manteca).
- Oleosa sólida (aceite-manteca).³¹

b) Densidad

Se evaluó la densidad por medio de un picnómetro limpio y seco, dicho picnómetro será previamente calibrado con agua hervida a 20 °C.²²

$$D = \frac{W - W_1}{V}$$

W – W1 = Diferencia del peso del picnómetro vacío y el picnómetro con muestra.
V = Volumen del picnómetro en mL a 20 °C.

c) Índice de refracción

Se evaluó el índice de refracción usando un refractómetro de Abbe a 20°C. El dispositivo fue cargado abriendo el doble prisma y colocando unas cuantas gotas del aceite esencial sobre el prisma, seguidamente se tapó y se fijó dentro del dispositivo, con el objetivo de obtener una película delgada del aceite esencial. Seguidamente la muestra se dejó unos minutos hasta que la temperatura de la muestra iguale la temperatura del doble prisma y se realizó la respectiva lectura. Finalmente se limpió el doble prisma después de cada medición utilizando un paño suave humedecido con solventes como (tolueno o éter de petróleo).**32,33**

d) Índice de acidez (IA)

Fundamento: El índice de acidez se expresa en miligramos (mg), la cantidad necesaria de hidróxido de potasio para la neutralización de los ácidos grasos libres en 1 g de muestra.**32,33**

Procedimiento:

Se midió 10 mL de la muestra a ensayar, se le agregó 50 mL de una solución de etanol al 96 % y éter etílico en proporción de (1:1) v/v, para proceder a calentar la

muestra hasta una temperatura de 90 °C, y se pasó a titular con una solución de KOH 0,1 M, donde se observó una coloración rosa ligeramente pálido permanente, por un tiempo de 15 segundos como mínimo.^{32,33}

$$(IA) \frac{5,610n}{m}$$

Donde:

n: cantidad en (mL) de KOH 0,1 M consumido durante la titulación.

m: masa de muestra en gramos.

3.3.4. Determinación del efecto expectorante con el método in vitro del rojo fenol

Desde su ingreso en el mercado farmacéutico en 1963 la bromhexina, ha sido incluido en modelos de estudio hacia animales de experimentación y pacientes con afecciones respiratorias, cuyo efecto se basó en mejorar las características fisicoquímicas del moco y fluidificarlo ayudando con la expectoración; estos estudios previos de investigación clínica, se realizaron en una época en la que no se habían desarrollado metodologías estrictas ni buenas prácticas clínicas y en pacientes con afecciones respiratorias crónicas, demostrando una mejora en los síntomas respiratorios, los resultados fueron moderados ciertamente efectivos, pero se necesitan ensayos más amplios para mejorar sus respuestas clínicas.³⁴

Este método tiene como objetivo determinar el efecto expectorante por medio del método in vitro del rojo fenol y establecer el efecto expectorante de la planta medicinal administrada en los animales de experimentación; el rojo fenol posee características físicas y químicas como colorante que le permite segregarse rápidamente en los fluidos del tracto respiratorio del animal, y por consiguiente realizar la medición del efecto expectorante de sustancias que en este caso lograron variar las propiedades fisicoquímicas del moco o mucus, esta medición se realizó por medio de la espectrofotometría empleándose una longitud de onda de 560 nm.^{35,36}

Procedimiento:

Las ratas albinas cepa Holtzman fueron adaptadas una semana antes de comenzar con la experimentación, se las mantuvo a condiciones adecuadas como temperatura ambiente, luz necesaria, jaulas con camas acondicionados

con viruta adecuada mudados cada dos días. Seguidamente fueron expuestos a un ayuno por un lapso de 16 horas, con agua a voluntad hasta 60 minutos antes de administrar las concentraciones.^{35,36}

Las ratas albinas de la cepa Holtzman fueron pesados, rotulados y se agruparon en 5 grupos de 8 animales de experimentación cada uno. Se determinó la dosis de acuerdo a los diferentes tratamientos y se les administró por vía oral por: Grupo I: Suero fisiológico 1 mL/Kg, Grupo II: Bromhexina 25 mg/kg/peso, Grupo III, IV y V aceite esencial a 100, 250 y 500 mg/kg de peso corporal. Transcurrido media hora se les administró por vía intraperitoneal el colorante de rojo fenol a una dosis de 500 mg/kg/peso que equivale a 0,5 mL.^{35,36}

Después de otra media hora de administrado el colorante de rojo fenol, las ratas fueron sacrificados, se les separó las tráqueas, fueron expuestas y canutadas con catéteres, cada una de éstas se lavaron con 1 mL de solución salina, durante media hora, y el líquido de lavado obtenido se reunió y se llevó a centrifugar durante media hora con 1600 rpm.^{35,36}

Para concluir con el ensayo, se separó 1 mL del sobrenadante y se le añadió 0,1 mL de hidróxido de sodio 0,1 N y junto con un blanco de 1 mL de agua destilada, se calculó su absorbancia llevada con una longitud de onda de 560 nm.^{35,36}

3.3.5. Cálculo del efecto expectorante (%)

El cálculo se realizó de manera porcentual de cada muestra en experimentación, comparado con el blanco (suero fisiológico 1 mL). La actividad expectorante fue evaluada por el incremento de las absorbancias, usando la siguiente fórmula.^{35,36}

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

Donde:

%EE: Efecto expectorante.

Abs (c): Absorbancia del grupo control negativo.

Abs (t): Absorbancia del grupo de tratamiento.

3.4. Diseño experimental

Se empleó el diseño de posprueba y grupo control. Que corresponde de forma

abreviada a lo siguiente:

RG _n	X _n	Observaciones _n
RG _c	--	Observaciones _c

Dónde:

RG: pertenece a los grupos experimentales agrupados de manera aleatoria.

X: pertenece al estímulo.

O: pertenece a la observación.

(---): pertenece al blanco.³⁷

El diseño experimental para determinar el efecto expectorante, fue aplicado para cinco tratamientos con ocho repeticiones a cada grupo, de la siguiente manera:

Tabla 1. Distribución de los grupos de ensayo de los diferentes tratamientos en los animales de experimentación.³⁷

Grupo	Tratamiento	Dosis
Grupo I	Suero fisiológico + Rojo fenol	1 mL + 500 mg/kg
Grupo II	Bromhexina + Rojo fenol	25 mg/Kg + 500 mg/kg
Grupo III	Aceite + Rojo fenol	100 mg/Kg + 500 mg/kg
Grupo IV	Aceite + Rojo fenol	250 mg/Kg + 500 mg/kg
Grupo V	Aceite + Rojo fenol	500 mg/Kg + 500 mg/kg

Ho: El aceite esencial de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” no posee efecto expectorante en ratas albinas de la cepa Holtzman.

Hi: El aceite esencial de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” expectorante en ratas albinas de la cepa Holtzman.

3.5. Análisis estadístico

Los resultados estadísticos obtenidos se expresaron en forma de medias $\pm$ desviación estándar en tablas y figuras. Las diferencias significativas de aquellos grupos a los que se administró el tratamiento se evaluaron con el Análisis de

Varianza (ANOVA) con un nivel de significancia estadística de 0,05. La prueba de Tukey se utilizó para determinar la diferencia significativa que existe entre los tratamientos, empleando para ello el programa SPSS versión 26.

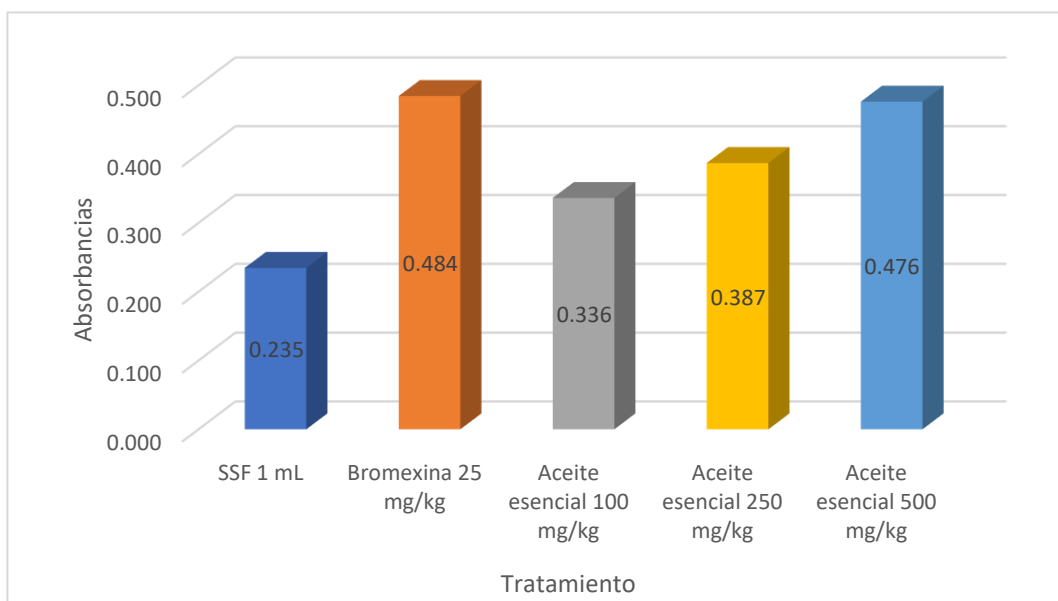
IV. RESULTADOS

Tabla 2. Características organolépticas y fisicoquímicas del aceite esencial extraído de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” Ayacucho 2023

Aceite esencial extraído de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. “Hinojo”			
Características organolépticas		Características fisicoquímicas X ± DE	
Olor	Aromático	Densidad	0,91 ± 0,01
Color	Amarillo tenue	Índice de refracción	1,54 ± 0,01
Sabor	Dulce anisado	Índice de acidez	1,12 ± 0,01
Aspecto	Líquida-oleosa		

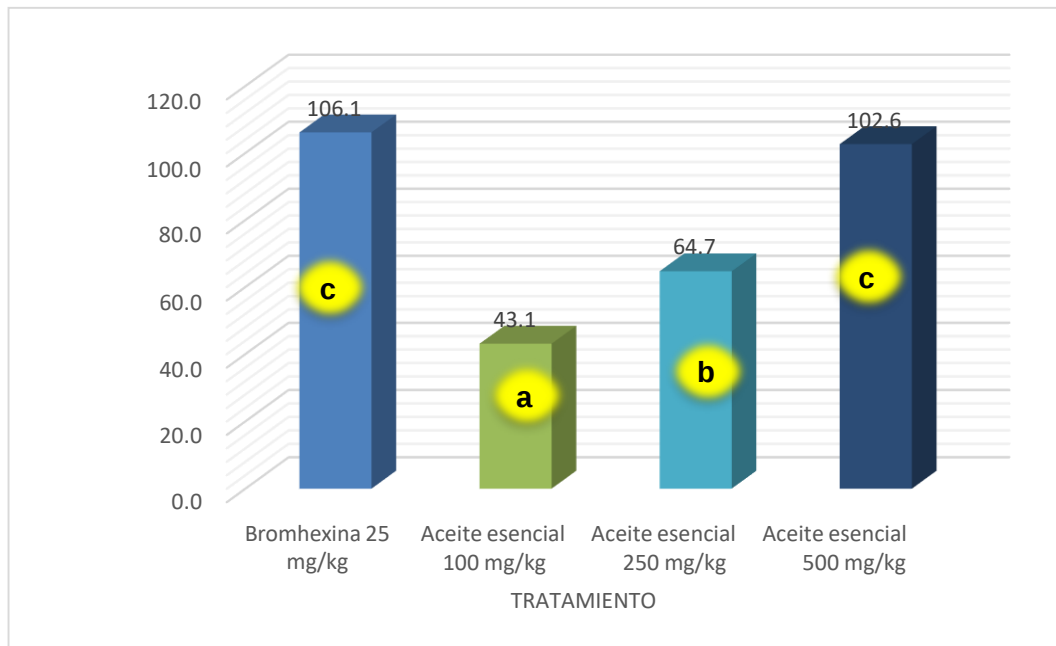
X: promedio

DE: desviación estándar



$p = 6,57 \times 10^{-10}$

Figura 3. Absorbancias de rojo fenol por tratamientos con el aceite esencial extraída de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas de la cepa Holtzman. Ayacucho 2023



$p = 2,17 \times 10^{-16}$

Figura 4. Porcentaje del efecto expectorante por tratamientos con el aceite esencial extraída de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas de la cepa Holtzman. Ayacucho 2023

V. DISCUSIÓN

Las múltiples afecciones respiratorias son muy comunes durante todo el año y actualmente el difícil acceso y la falta de atención inmediata en nuestro país, hace al uso de las plantas medicinales un método curativo de uso muy común por parte de la población como alternativa natural, no solo en nuestra región sino también a nivel nacional y en muchos países a nivel mundial, la prescripción de productos farmacéuticos como mucolíticos, expectorantes y antibióticos es frecuente en nuestro sistema de salud pero también su administración, eficacia y efectividad es un tema en constante debate.²

En la actualidad el estudio de la fitomedicina, tiene como uno de sus principales objetivos curar, aliviar y prevenir las diversas enfermedades respiratorias que nos aqueja, es así que en nuestra región existe una gran variedad de flora que permite el fácil acceso hacia la investigación de plantas medicinales, en diferentes órganos de la planta como hojas, tallos, frutos y raíces, no solo extrayendo extractos, zumos, infusiones, sino también aceites esenciales, formulación de cremas, emplastos, tabletas, jarabes, etc.¹

La extracción y uso aceites esenciales en plantas como alternativa medicinal, dan un aporte muy sustancioso al campo de la fitoterapia, es así que el presente trabajo de investigación tiene como objetivo principal determinar el efecto expectorante del aceite esencial presente en las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” administrados por vía oral en ratas de la cepa Holtzman frente a un estándar que en este estudio es el jarabe de bromhexina a 25 mg/kg/peso. La ejecución de esta investigación se planteó en base a ensayos experimentales previos, descritos por diferentes autores a través de los años por el método in vitro del rojo fenol medidos como, porcentaje del efecto expectorante en las secreciones de los animales de experimentación. Según Bárzaga *et al.*⁹, el método del rojo fenol, es una metodología muy apropiada para calcular la acción de ciertas

sustancias que modifican las características físicas y químicas del llamado mucus o su aclaramiento mucociliar, las cuales se ubican en las vías respiratorias y se ven alterados por compuestos beta adrenérgicos agonistas, al activar la secreción de la mucina elevando así la concentración del colorante rojo fenol y permitir eliminarse en los fluidos del tracto respiratorio. En la tabla 2, se observan las características organolépticas y fisicoquímicas del aceite esencial extraída de las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, donde el olor percibido fue aromático, propio de las especies que pertenecen a la familia Apiaceae que tiene uso común como carminativo, medicinal y alimenticio, se caracteriza por un color visible amarillo, sabor aromático y un aspecto líquida-oleoso *suigénis*, según Shamkant¹⁷, el aceite esencial está químicamente compuesto en un 72,2 % por el trans-anetol, seguido de un 7,6 % de estragol, un 6,8 % de D-limoneno y un 3,9 % de fenchonas, que le da el olor aromático propio de esta planta; dentro de sus características fisicoquímicas podemos observar que presenta una densidad de 0,91 g/mL, que según la Norma Técnica Peruana⁴⁰, nos argumenta que la densidad de un aceite esencial es la relación que existe entre la masa de un volumen dado del aceite esencial y el volumen dado a una temperatura de 20 °C de agua destilada a iguales condiciones; un índice de refracción de 1,54 que según Norma Técnica Peruana³⁹, la medición del índice de refracción corresponde a la relación que existe entre la capacidad de la velocidad de un rayo de luz que se encuentra en el aire y la que se encuentra en la sustancia a determinar, los valores varían entre 1,42 a 1,62 alrededor de los 20 °C y tiene como objetivo principal, detectar la presencia de ciertas sustancias ajenas al aceite esencial; y finalmente el índice de acidez de 1,12 g/mL KOH/g de aceite que según Herrera⁴¹, el índice de acidez nos permite determinar la disgregación que sufre el aceite esencial o cualquier tipo de grasa por acción de una enzima llamada lipasa y la formación de ácidos grasos libres, esta disgregación puede verse acelerada por factores ambientales como el calor, luz y temperatura, este ensayo tiene como principal objetivo determinar el grado de comestibilidad y observar en qué condiciones se encuentran las grasas y aceites.

En un trabajo realizado por Aguilar⁸, sobre la extracción y caracterización física y química del aceite esencial del hinojo (*Foeniculum vulgare* Miller) por los métodos de arrastre de vapor y Soxhlet, reporta los valores obtenidos del aceite esencial en cuanto a sus características fisicoquímicas por el método de arrastre de vapor; una densidad de 0,93 g/mL, un índice de refracción de 1,39 y índice de acidez de

1,51 g/mL KOH/g de aceite, mientras que los valores obtenidos por el método de Soxhelt fueron de una densidad de 0,95 g/mL, un índice de refracción de 2,17 y un índice de acidez de 1,50 g/mL KOH/g de aceite, observando una similitud de valores de los resultados obtenidos de nuestro ensayo con la primera forma de extracción de este estudio. Por su parte Palomino³⁹ en su investigación acerca de la actividad antitumorigénica del aceite esencial del rizoma de *Zingiber officinale* Roscae “kion”, la extracción del aceite esencial se llevó a cabo por el método de arrastre de vapor y obtuvo los siguientes valores de su caracterización fisicoquímica, con una densidad de 0,88 g/mL, un índice de refracción de 1,48 y un índice de acidez de 0,71 g/mL KOH/g de aceite, observando diferencias significativas en cuanto al órgano de la planta donde se llevó a cabo la extracción, la composición química, etc. Y por último Quintas⁴² en su estudio acerca de la determinación la actividad antioxidante del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf de las hojas de. “hierba luisa”, el aceite esencial se obtuvo por el método de arrastre de vapor a partir de las hojas frescas, obteniendo los siguientes valores de su caracterización fisicoquímica, una densidad de 0,879 g/mL $\pm$ 0,001 g/mL, un índice de refracción de $1,476 \pm 0,001$ y un índice de acidez de $1,575 \text{ g/mL} \pm 0,19 \text{ mg KOH/g}$ de aceite esencial.

Para esta investigación se determinó el efecto expectorante por el método in vitro del rojo fenol, la división y administración de las concentraciones del aceite esencial del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, fue de la siguiente manera; Grupo I, suero fisiológico 1 mL, Grupo II, estándar de jarabe de Bromhexina 25 mg/kg/peso, Grupo III, IV y V, tratamientos del aceite esencial a dosis de 100, 250 y 500 mg/kg respectivamente, y lograr visualizar de manera porcentual el efecto expectorante.

En la figura 3, se observan las absorbancias obtenidas del rojo fenol por tratamientos con el aceite esencial de las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas de la cepa Holtzman, observándose que el aceite esencial dosificado a 500 mg/kg obtuvo una mayor absorbancia de 0,476 nm, en comparación a los tratamientos administrados a 100 mg/kg y 250 mg/kg, y levemente menor frente al estándar de bromhexina a 25 mg/kg con una absorbancia de 0,484 nm.

En la figura 4. Se observa el porcentaje de efecto expectorante por tratamiento administrado por vía oral de aceite esencial de las hojas del *Foeniculum vulgare*

Mill. "hinojo" en ratas albinas de la cepa Holtzman y el estándar de jarabe de Bromhexina 25 mg/Kg, los resultados de las concentraciones administradas del aceite esencial, identificaron que, a dosis de 100, 250 y 500 mg/Kg elevaron la secreción traqueobronquial observados con el colorante de rojo fenol en 43,1 %, 64,7 % y 102,6 % siguiendo el mismo orden, mientras que el estándar de Bromhexina tuvo un 106,1 %. Mostrándonos que a una concentración de 500 mg/kg presenta mayor porcentaje de efecto expectorante; seguido del tratamiento administrado a 250 mg/Kg/peso, en comparación con el estándar de Bromhexina; finalmente podemos observar que el tratamiento administrado a 100 mg/Kg/peso es el de menor porcentaje de efecto expectorante Según Chacón¹⁵, el estándar de bromhexina, es un producto farmacéutico que actúa como un medicamento secretor, la cual ocasiona un incremento de la producción del moco o mucus en las vías respiratorias y hace que la flema sea más ligera y menos densa, actuando así como un secretomotor, brindando apoyo a los pequeños cilios a trasladar la flema que se encuentra en los pulmones hacia el exterior, esta acción se ve concatenada con el aumento de la concentración del rojo fenol y su eliminación por medio de la expectoración.

En el (Anexo 12) podemos observar el cuadro obtenido en la prueba de HSD (Honestly-significant-difference) prueba de Tukey, que nos permite conocer que pares de medias son significativamente diferentes entre sí, es así que podemos observar el porcentaje de efecto expectorante por tratamiento administrado de aceite esencial de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" en ratas albinas de la cepa Holtzman, el tratamiento administrado a 500 mg/kg/peso de aceite esencial estimula de mejor manera la secreción traqueobronquial con el colorante de rojo fenol y es similar estadísticamente, con respecto al porcentaje de efecto expectorante influido por el estándar de bromhexina 25 mg/kg y según la prueba de HSD de Tukey éstos presentaron idéntico efecto expectorante ($p < 0,05$) y en cambio a 100 y 250 mg/Kg/peso se difieren estadísticamente con menor porcentaje de efecto expectorante.

Ochoa¹⁴, evaluó el efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo", por el método in vitro de rojo fenol en ratas de la cepa Mus musculus, a concentraciones de 50, 100, 200 y 400 mg/Kg/peso de extracto hidroalcohólico, blanco de agua destilada y un estándar de jarabe de bromhexina a 25 mg/Kg/peso, el efecto expectorante fue medido en datos porcentuales y se obtuvieron los resultados de 14,7 %, 33,9%, 60,8 % y 70,5% y

un 64,7 % de estándar de bromhexina, dándonos a entender que el aceite esencial de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, presenta efecto expectorante.

A su vez López⁸, en su estudio de la actividad expectorante y toxicológica en una formulación elaborada de los extractos fluidos de las hojas de *Eucalyptus globulus* Labill, *Borago officinalis* L. y *Sambucus nigra* L. se empleó para su determinación el método del rojo fenol en secreciones de ratón y para ello se calcularon concentraciones alcohólicas al 30 y 70 % a dosis de 5 mg/Kg/peso, frente al estándar de Bromhexina 25 mg/Kg/peso, la efectividad del tratamiento alcohólico al 30 % fue de 155,3 % mientras que tratamiento alcohólico al 70 % fue 175,3 % y de 224 % por parte del estándar, siendo la formulación alcohólica al 70 % más efectiva en comparación al estándar de bromhexina 25 mg/Kg/peso, siendo estos extractos alcohólicos fluidos con mejor efecto expectorante con respecto a nuestra investigación.

Según Bárzaga⁷, en su estudio determinaron la actividad expectorante en diferentes formulaciones a partir de las hojas del *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng (orégano francés), las muestras a ensayar incluyeron extractos acuosos e hidroalcohólicos, tabletas y jarabes preparados a partir de las hojas frescas de la planta con un estándar de salbutamol 37,5 mg/Kg y bromhexina 25 mg/Kg, la determinación del efecto expectorante fue realizado por el método del rojo fenol, la administración del tratamiento del extracto acuoso a 50 mL/Kg, extracto hidroalcohólico 50 mL/Kg, jarabe formulado a partir del extracto acuoso administrados a tratamientos de 25, 37,5 y 50 mL/Kg y el jarabe formulado a partir del extracto hidroalcohólico administrado a tratamientos de 25, 37,5, y 50 mL/Kg, tabletas formuladas y administradas a 17,34 y 68 mg/kg/peso, los resultados obtenidos fueron los siguientes, la efectividad de los extractos tanto hidroalcohólicos como acuosos fueron de un 30 %, en comparación a los estándares de salbutamol 37,5 mg/Kg y bromhexina 25 mg/Kg con un 40 %, el jarabe formulado a partir del extracto acuoso a dosis de 50 mL/Kg y el jarabe formulado a partir del extracto hidroalcohólico administrado a dosis de 37,5, y 50 mL/Kg, mostraron diferencias significativas en comparación al estándar con un DE50 de 41,91 y 34,64 mL/Kg, las tabletas administradas a 68 mg/kg alcanzaron un incremento de secreción traqueobronquial de hasta 119 %, siendo estadísticamente similar al estándar de salbutamol y bromhexina.

Según Chacón¹⁵, en su estudio evaluó el efecto expectorante del extracto

hidroalcohólico en las hojas de *Borago officinalis* L. “borraja”, la determinación del efecto expectorante se realizó mediante el método del rojo fenol, los tratamientos administrados fueron de 100, 200 y 400 mg/kg de extracto hidroalcohólico frente a un blanco de agua destilada y un estándar de bromhexina 25 mg/kg y se mide con el incremento porcentual del efecto expectorante del rojo fenol en comparación con el medicamento estándar, los resultados obtenidos, fueron de 67,85 % a dosis de 100 mg/kg, 63,67 % a 200 mg/kg y a 400 mg/kg con un 63,02 % en comparación del estándar de bromhexina a 25 mg/kg con un 100 %, observando que las muestras presentan una ligera acción expectorante.

Los antecedentes previos descritos para la determinación del efecto expectorante por el método del rojo fenol, podemos observar que los resultados del estudio realizado por Ochoa⁸, se diferencian con este estudio ya que los tratamientos administrados del extracto hidroalcohólicos de las hojas a una concentración de 400 mg/kg/peso, fue el que obtuvo mejor efecto expectorante de 70,5 %, en comparación a este estudio donde a una concentración de 500 mg/kg de aceite esencial se obtuvo un porcentaje de efecto expectorante de 102,6 %, observándose una diferencia significativa, y es que según Cañiguera⁵ el aceite esencial tendría una buena acción expectorante no solo debido a su composición química sino también debido a que eleva la movimiento de los cilios bronquiales modificando así sus propiedades físicas y químicas, a la vez que por un efecto irritante eleva el rendimiento de la segregación traqueobronquial, fluidificando la flema y permitiendo disminuir su viscosidad y favorecer a una mejor expectoración.

Es así que el estudio realizado por López⁸, difieren de nuestra investigación ya que al evaluar la actividad expectorante y toxicológica en una formulación elaborada de los extractos fluidos de las hojas de *Eucalyptus globulus* Labill, *Borago officinalis* L. y *Sambucus nigra* L. se empleó el método del rojo fenol para determinar el efecto expectorante y para ello concentraciones alcohólicas al 30 y 70 % a dosis de 5 mg/kg/peso, frente al estándar de Bromhexina 25 mg/kg/peso, donde la efectividad de su tratamiento alcohólico al 30 % fue de 155,3 % mientras que tratamiento alcohólico al 70 % fue 175,3 % y de 224 %, siendo estos extractos alcohólicos fluidos con mejor efecto expectorante con respecto a nuestra investigación, donde fue al tratamiento de 400 mg/kg con mejor efecto expectorante de 102,6 %, seguido del tratamiento administrado de 200 mg/kg con un 64,7 %, y es que según Miranda⁴¹, son los extractos hidroalcohólicos los que concentran la mayor cantidad de compuestos bioactivos presentes en la planta y las moléculas

de mayor importancia.

Los recursos y la metodología de trabajo se encuentran en iguales condiciones a trabajos de investigación previos, el aceite esencial de las hojas de *Foeniculum vulgare* “hinojo” es rica en compuestos bioactivos y compuestos fenólicos lo que le da un mejor efecto expectorante a tratamiento de 400 mg/kg, respecto al estándar de jarabe de bromhexina de 25 mg/kg. Según Cañiguala⁵, dentro de la composición estructural de un aceite esencial destacan los terpenos como los (monoterpenos y sesquiterpenos, los fenilpropanoides, y los compuestos alifáticos de cadena corta) que determinan su propiedad farmacológica tan variada, como puede ser su actividad antimicrobiana, antioxidante, expectorante, analgésico, antiinflamatorio, antitrombótico, hepatoprotector, antidepresivo, cosmético, alimenticio, dermatológicas, carminativas, etc.

Finalmente se concluye, que el aceite esencial de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mil. “hinojo” presenta efecto expectorante en ratas albinas de la cepa Holtzman y puede ser utilizado como una alternativa medicinal.

VI. CONCLUSIÓN

1. El aceite esencial extraída de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” presenta efecto expectorante en ratas albinas de la cepa Holtzman.
2. Los parámetros organolépticos y fisicoquímicos del aceite esencial extraída de las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” fueron: olor aromático, color amarillo tenue, sabor dulce anisado, aspecto líquido-oleoso, densidad de 0,91 g/mL, índice de refracción del 1,54 y índice de acidez de 1,12 g/mL KOH/g de aceite esencial.
3. La Dosis con mejor efecto expectorante del aceite esencial extraída de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas fue a 500 mg/kg con un 102,6 %.
4. El aceite esencial extraída de las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas de la cepa Holtzman a una dosis de 500 mg/kg presenta mejor efecto expectorante con un 102,6 % y estadísticamente similar a la bromhexina a una dosis de 25 mg/kg con un 106,1 %.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar más estudios de las hojas y otros órganos de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” para poder determinar las diversas propiedades farmacológicas que posee.
2. Realizar estudios comparativos en las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, con otras plantas medicinales que nos permita saber cuál tiene un mejor efecto expectorante.
3. Mejorar el proceso de extracción del aceite esencial de las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”, que nos permita conseguir una mayor concentración de compuestos farmacológicamente activos.
4. Realizar estudios de toxicidad del aceite esencial de las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”.
5. Continuar con la investigación constante de plantas medicinales que posean efecto expectorante, que ayude a tratar las afecciones respiratorias en la población que lo padece.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kayani S, Ahmad M, Zafar M, Sultana S, Khan MP. Ethnobotanical uses of medicinal plants for respiratory disorders among the inhabitants of Gallies - Abbottabad, Northern Pakistan. J Ethnopharmacol. 156: 47-60 Pakistán. 2014. [Acceso 15 de julio de 2023]. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.08.005>
2. Bouchra S, 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. France. 2017: 661–671. [Acceso 15 de julio de 2023]. Recuperado de <https://hal.science/hal-01607960>
3. Luengo T. Plantas medicinales para el tratamiento de las afecciones respiratorias más frecuentes, Elsevier OFFARM vol 21 Países bajos 2002: 1- [Acceso 15 de julio de 2023]. Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13039719>
4. Sánchez E, García D. Estudio farmacognóstico de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”. Rev. Cubana de Plant. Med. Cuba 2007; 2 (1): 19-24 [Acceso 15 de julio de 2023]. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v2n1/pla05197.pdf>
5. Cañigueral S. Los Aceites esenciales en fitoterapia. Bol. Lat. Car. Plant. Med. Aromat. Chile 2007. vol 6, núm 5:146 [Acceso 15 de julio de 2023]. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85617508002>
6. Vieiraa J, Goncalvesa C, Villarreala J, Goncasvesb V, Chemical composition of essential oils from the apiaceae family, cytotoxicity, and their antifungal activity *in vitro* against *candida* species from oral cavity. Braz. Journ of Biol. 2018; 79(3): 432-437, Brasil [Acceso 15 de enero de 2024]. Recuperado de: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.182206>
7. Araujo O, Souza I, Sena K, Brondani D. Avaliação biológica de *Foeniculum vulgare* (Mill) (Umbelliferae/Apiaceae). Rev. Braz. Plant. Med. 2013; 15(2): 257-263. Brasil [Acceso 15 de enero de 2024]. Recuperado de: <https://agris.fao.org/search/en/providers/122436/records/64747e86bf943c8c79875bfe>
8. López A, Martínez M, Alarcón A, Gastón S. Actividad expectorante y toxicológica de una formulación elaborada a partir de *Eucalyptus globulus* Labill, *Borago officinalis* L. y *Sambucus nigra* L. Rev. Cub. Plan. Med. Cuba 2016; 21 (4). [Acceso 15 de julio de 2023]. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/>
9. Bárzaga P Y Tillan J. Actividad expectorante de formulaciones a partir de *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng (oregano Frances) Rev. Cub. Plan. Med, 2009; 14 (2), Cuba [Acceso 15 de julio de 2023]. Recuperado de <http://scielo.sld.cu/>
10. Llactahuaman F, Quispe W. Evaluación del efecto expectorante en ratones albinos y efecto hepatotóxico en ratas albinas del extracto seco hidroalcohólico al 40 % de *Senecio violifolius* Cabrera “huamanripa”. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco. Cusco, Perú. 2018 [Acceso 15 de julio de 2023]. Recuperado de <http://hdl.handle.net/20.500.12918/3471>
11. Arotinco K, Delgado C. Actividad Ansiolítica y Antidepresiva del aceite esencial

- de las semillas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratones albinos [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Universidad Norbert Wiener. Lima, Perú. 2020 [Acceso 15 de julio de 2023]. Recuperado de <https://hdl.handle.net/20.500.13053/4244>
12. López E, Quijada J, Sánchez M, Chavarry P. Comparación de la actividad antiulcerosa de los extractos de *Foeniculum vulgare* “hinojo” y *Solanum tuberosum* “papa” en *Rattus rattus* Variedad *Albinus*. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Universidad privada Guillermo Urrelo. Rev. Salud & Vida Sipanense. Lambayeque Perú. 2016. [Acceso el 10 de julio de 2023]. Recuperado de: [https://revistas.uss.edu.pe/index.php/SVS/article/download/425/434/1615C:/](https://revistas.uss.edu.pe/index.php/SVS/article/download/425/434/1615C/)
 13. Mendoza M. Efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de: *Foeniculum vulgare* (hinojo), *Cimnopogon citratus* (hierba luisa), *Origanum vulgare* (orégano), *Citrus aurantifolia* Swingle (limón) y *Citrus sinensis* (naranja), frente a cepas estandarizadas de *Streptococcus mutans*, [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Universidad Andina del Cusco. Cusco. Perú 2016. [Acceso el 11 de agosto de 2023]. Recuperado de: <https://repositorio.uandina.edu.pe/handle/20.500.12557/559>
 14. Ochoa K. Efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Foeniculum vulgare* “hinojo” Mill. En *Mus musculus* “ratón”. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. 2018 [Acceso 15 de julio de 2023]. Recuperado de <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4183>
 15. Chacón K. Efecto expectorante del extracto hidroalcohólico de *Borago officinalis* L. “borraja”. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutica]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú. 2013 [Acceso 15 de julio de 2023]. Recuperado de <http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/4628>
 16. García P. Plantas silvestres de consumo tradicional en España: caracterización de su valor nutricional y estimación de su actividad antifúngica. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, 2014. [Acceso el 17 de julio de 2023]. Recuperado de <https://eprints.ucm.es/id/eprint/25647/> -
 17. Shamkant P. *Foeniculum vulgare* Mill “hinojo”: una revisión de su botánica, fitoquímica, farmacología, aplicación contemporánea y toxicología. BioMed Research Int. India; 2014. 10(1-3). [Acceso 15 de julio de 2023]. Recuperado de <https://wolveslegacy.es/descargar/Hinojo-Foeniculum-vulgare.pdf>
 18. Tardío J. Ethnobotanical review of wild edible plants in Spain. Journal Lin. Soc. España 2009 152; 27-71 [Acceso 15 de julio de 2023]. Recuperado de https://www.plantasyhongos.es/herbarium/htm/Foeniculum_vulgare.htm
 19. Ozbek H, Ugras S. Efecto hepatoprotector del aceite esencial del *Foeniculum vulgare* “hinojo”. Elsevier. Turquía. 2003. Vol 74, num 3, (317-319) [Acceso 15 de julio de 2023]. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(03\)00028-5](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(03)00028-5)
 20. Alonso J. El hinojo (*Foeniculum vulgare* Mill.) en las ciencias farmacéuticas. Trabajo fin de grado. Universidad Complutense. Junio, 2015. [Acceso el 17 de julio de 2023]. Recuperado de <https://n9.cl/6wik32> -
 21. Maestro C, Ladero M, Santos T, Alonso T, ladero I. Plantas medicinales españolas. Familia Umbelliferae (Apiaceae). Universidad de Salamanca.

- Boletín. Instituto de estudios Giennenses. Julio-diciembre. 2009. [Acceso el 12 de julio de 2023]. Recuperado de: <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/8381/1/ MUTC-001118.pdf>
22. Quintanilla J, Suazo I, Rodríguez A. Anatomía Humana para estudiantes de Ciencias de la Salud. 2ra edición. Barcelona, S.A. Elsevier. España; 2021, Pág. 345-347.
 23. García H. Gutiérrez S. Aspectos básicos del manejo de la vía aérea, anatomía y fisiología Rev. Med. Anest. Colombia 2015; 38 (2): 98-107 [Acceso el 12 de julio de 2023]. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/rma/cma-2015/cma152e.pdf>
 24. Engler H, Szelenyi I. Tracheal phenol red secretion, a new method for screening mucosecretolytic compounds. J Pharmacol Methods. Alemania. June 1984 11(3):151-157. [Acceso el 12 de julio de 2023]. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/0160-5402\(84\)90033-0](https://doi.org/10.1016/0160-5402(84)90033-0)
 25. Tiberio G, Hueto J. Mucolíticos y expectorantes. Boletín de información farmacoterapéutica de Navarra. Edit Bit. España abril, 2009. [Acceso el 12 de julio de 2023]. Recuperado de: <https://n9.cl/xjhw3>
 26. Rodríguez R, Campos A, Carrasco O, Contreras E. Vademécum Académico de medicamentos. 6ª ed. México Editorial McGraw Hill Interamericana; 2013. [Acceso el 12 de enero de 2024]. Recuperado de <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1552§ionid=90365886>
 27. Asbahani A, Miladi K, Badri W, Sala M, Essential oils: from extraction to encapsulation. Int. J ourl of Pharm, abril, 2015.Vol 483: 220-243. [Acceso el 12 de julio de 2023]. Recuperado de: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>
 28. Pino Benítez, E. Meléndez, E. Stashenko, Essential oil composition from two species of Piperaceae family grown in Colombia. Journ. Chr. Sc. Octubre, 2009, Vol 47 (9), 804-807. [Acceso el 12 de julio de 2023]. Recuperado de: <https://academic.oup.com/chromsci/article/47/9/804/414804>
 29. Farmacopea brasileña. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Vol. I. Quinta edición. Brasil 2010. [Acceso el 12 de julio de 2023]. Recuperado de: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/arquivos/8031json-file-1>
 30. Pino J. Aceites esenciales de plantas cubanas; un ensayo sistemático. Cuba Rev. CENIC. Cienc. Quim. Julio. 2022 vol. 53 [Acceso el 12 de julio de 2023]. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24422022000200113
 31. Miranda M. Cuellar A. Manual de buenas prácticas de laboratorio, Farmacognosia y Productos Naturales. Cuba Instituto de Farmacia y Alimentos. 2000.
 32. Zhou Q. Liang D. Antitussive, expectorant and bronchodilating effects of ethanol extract of Sorghum bicolor (L). Moench roots. ScienceDirect China. 2013. Vol 149 p (297-302). [Acceso el 12 de julio de 2023]. Recuperado de: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378874113004583?via%3Dihub>.
 33. Bárzaga P, et al. Actividad expectorante de formulaciones a partir de *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng (orégano francés). Rev cubana Plant

- Med. Cuba. 2009; 14 (2): 1-10. [Acceso el 12 de julio de 2023]. Recuperado de: <http://scielo.sld.cu/>
34. Song K. Shin Y. Lee K. Expectorant and Antitussive Effect of *Hedera helix* and *hizoma coptidis* Extracts Mixture. Corea del Sur. Yonsei Med J. abril 2015; 56 (3): 819-824. [Acceso el 12 de julio de 2023]. Recuperado de: <https://doi.org/10.3349/ymj.2015.56.3.819>
 35. Coppi G. Gatti M. A method for studying expectorant action in the mouse by measurement of the tracheobronchial phenol secretion Nat. Lib.Med. Italia 2009, 44(5): 541-5 [Acceso el 12 de julio de 2023]. Recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2789630/>
 36. Zanasi A, Mazzolini M, Kantar A. A reappraisal of the mucoactive activity and clinica efficacy of bromhexine. Italia. Nat. Lib. Of Med. Marzo, 2017; 20:12:7. [Acceso el 12 de enero de 2024]. Recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28331610/>
 37. Hernández R. Fernández C. Metodología de la Investigación. 5ta edición 1991. Ed. McGraw-Hill. México.
 38. Norma Técnica Peruana Aceites Esenciales. Determinación de la densidad a 20 °C Método de referencia. Lima 16 de noviembre del 2011. Diario el Peruano. NTP-ISO 279: 2011[Acceso el 12 de agosto de 2023]. Recuperado de <https://repositorio.indecopi.gob.pe/bitstream/handle/11724/2417/r146-2011-indecopi-cod.pdf>
 39. Norma Técnica Peruana Aceites Esenciales. Determinación del Índice de refracción. Lima 16 de noviembre del 2011. Diario el Peruano. NTP-ISO 280: 2011[Acceso el 12 de agosto de 2023]. Recuperado de <https://repositorio.indecopi.gob.pe/bitstream/handle/11724/2417/r146-2011-indecopi-cod.pdf>
 40. Aguilar J. Extracción y caracterización física y química del aceite esencial del hinojo (*Foeniculum vulgare* Miller) por los métodos de arrastre de vapor y Soxhlet. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Universidad Nacional José María Arguedas. Apurímac, Perú. 2019 [Acceso 15 de agosto de 2023]. Recuperado de https://repositorio.unajma.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14168/568/Junior_Tesis_Bachiller_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y
 41. Palomino N. Actividad antitusígena del aceite esencial del Rizoma de *Zingiber officinale* Roscae “kion”. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho 2011. [Acceso 15 de agosto de 2023]. Recuperado de http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/UNSCH/5036/1/TESIS%20FAR265_Pal.pdf
 42. Quintas R. Actividad antioxidante del aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (DC). Stapf. “hierba luisa”. [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho 2021. [Acceso 15 de agosto de 2023]. Recuperado de http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/UNSCH/5166/1/TESIS%20FAR618_Qui.pdf
 43. Miranda M, Cuellar A. Manual de Prácticas de Laboratorio-Farmacognosia y Productos Naturales. Cuba: Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana; 2000. [Acceso 15 de agosto de 2023].

44. Badgujar S, Patel V, Bandivdekar A. *Foeniculum vulgare* Mill “hinojo”: A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology. *BioMed Res Int. India*. 2014; 2014 (1): 1-32. [Acceso 15 de agosto de 2023]. Recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25162032>

IX ANEXOS

Anexo 1.

Certificado de descripción taxonómica del *Foeniculum vulgare*. Mill "hinojo".
Ayacucho 2023

CONSTANCIA

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

Que, el Bach. en Farmacia y Bioquímica, **Sr. Willian Eloy, ESPINOZA VALDEZ**,
ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

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

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

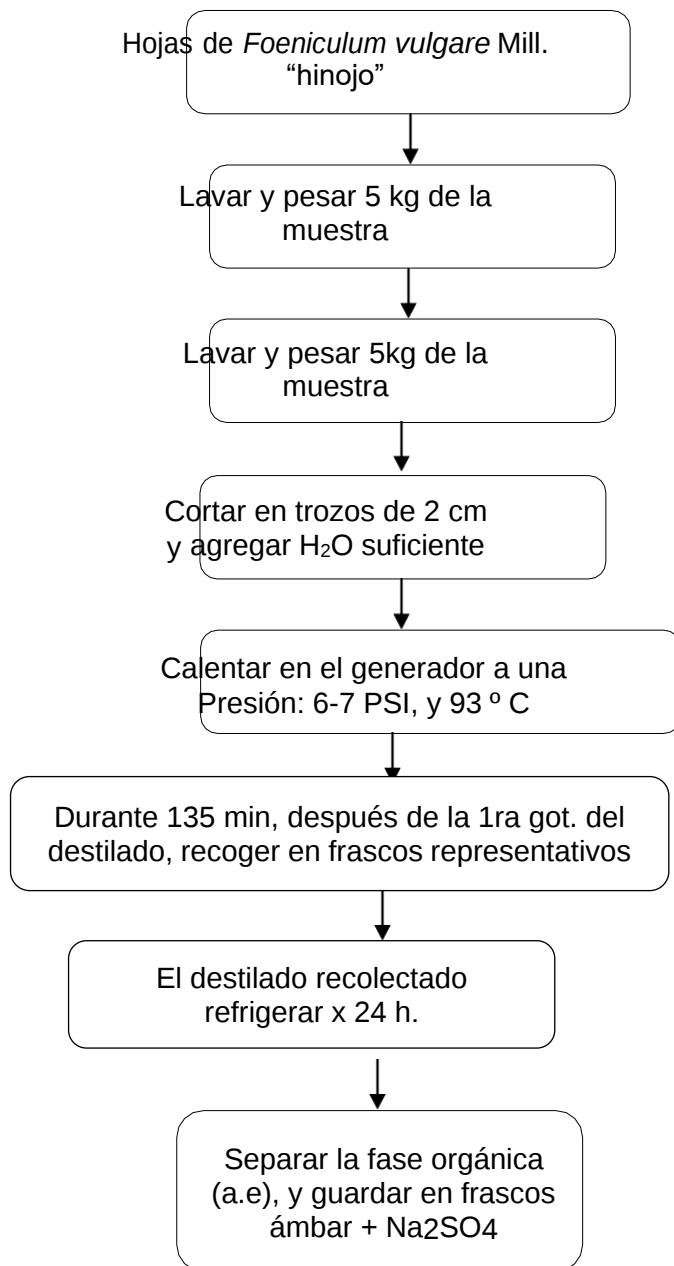
Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para
los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 28 de Enero del 2 023


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

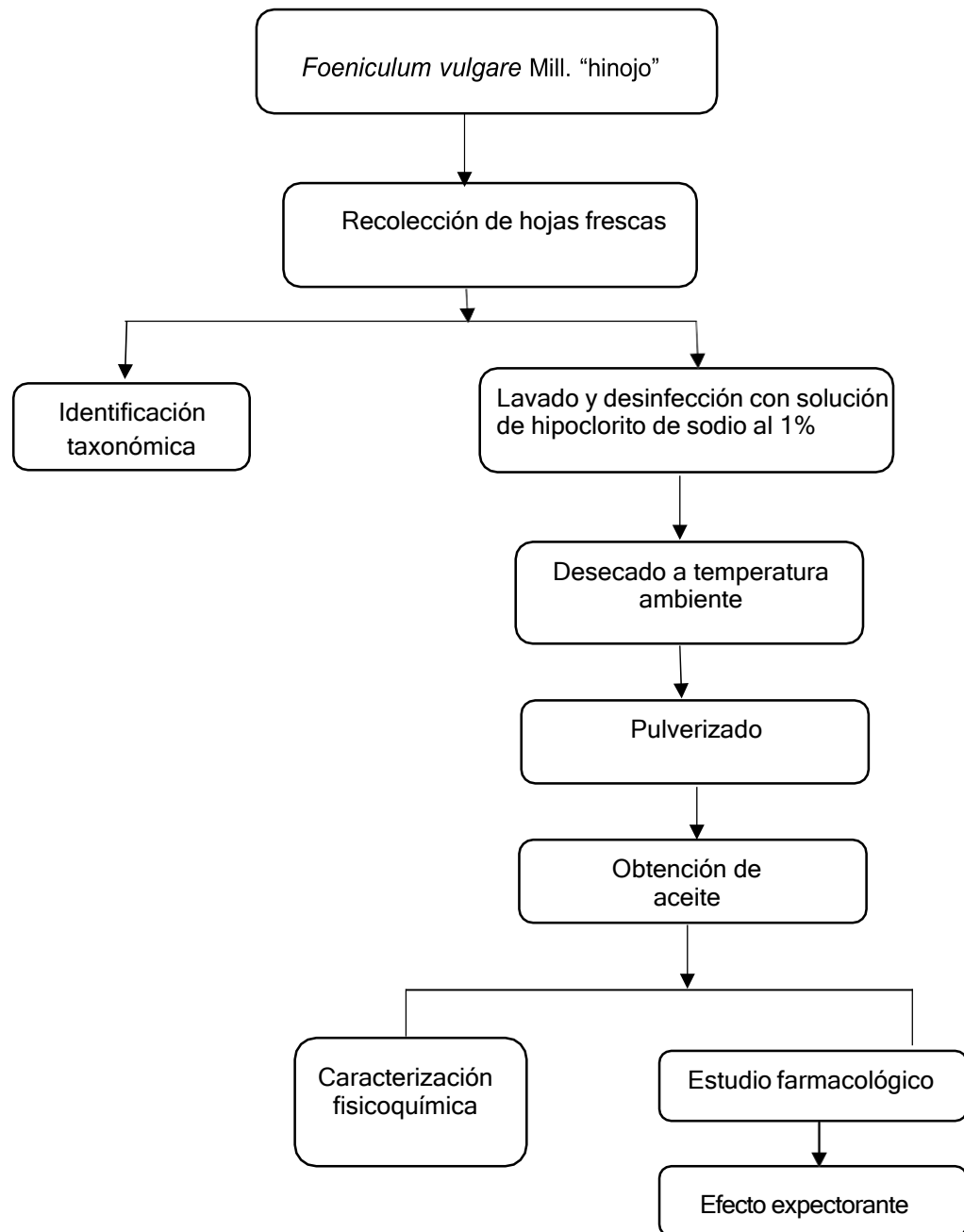
Anexo 2.

Diagrama de flujo para la extracción de aceite esencial en las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” Ayacucho 2023



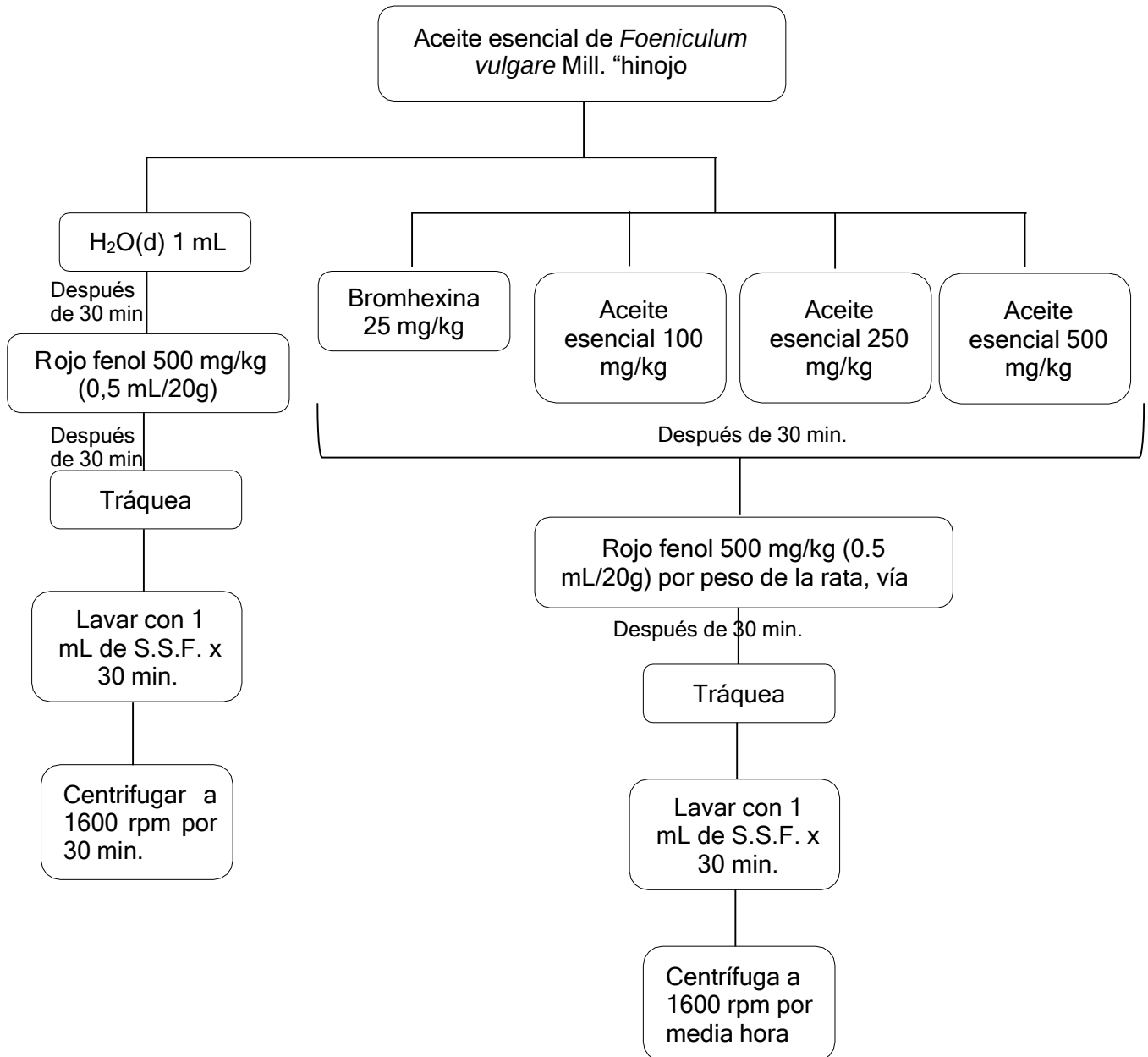
Anexo 3.

Diagrama de flujo para la determinación del efecto expectorante del aceite esencial en las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” Ayacucho 2023



Anexo 4.

Diagrama de flujo para la evaluación y dosificación de los tratamientos del aceite esencial en hojas del *Foeniculum vulgare*. Mill “hinojo”. Ayacucho 2023



Anexo 5.

Recolección y pesaje de las hojas frescas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”
Ayacucho 2023



Anexo 6.

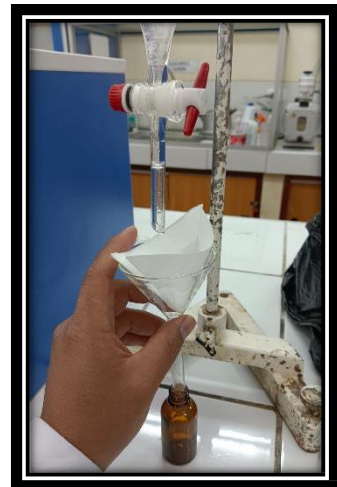
Extracción de aceite esencial en las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo"

Ayacucho 2023



Se pesaron 5 kg de muestra y se cortó en trozos de 2 cm para ser llevados a la cámara extractora, con necesari

Se mantuvo a una presión de 6-7 psi y T° 98 °C, durante 135 minutos



Obtenido el destilado se llevó a refrigerar durante 1 día, para separar la fase orgánica

Obtenido el destilado se llevó a refrigerar durante 1 día, para separar la fase orgánica

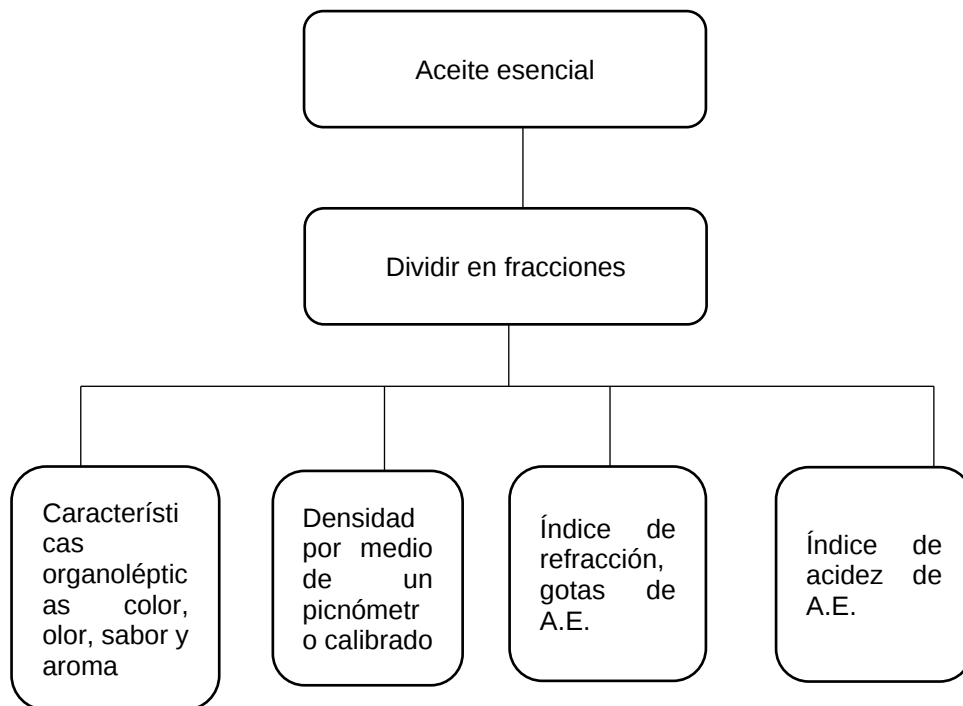
Anexo 7.

Flujograma para evaluar el efecto expectorante del aceite esencial de las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”. Ayacucho 2023



Anexo 8.

Diagrama de flujo para la evaluación de parámetros fisicoquímicos en el aceite esencial obtenido en hojas del *Foeniculum vulgare*. Mill “hinojo”. Ayacucho 2023



Anexo 9.

Pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza del efecto expectorante del aceite esencial en las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" Ayacucho 2023

VARIABLE	PRUEBAS DE NORMALIDAD			
	Grupo control	Estadístico	gl	Sig.
PORCENTAJE DE EFECTO EXPECTORANTE	Bromhexina 25 mg/kg	0,921	5	0,534
	Aceite esencial 100 mg/kg	0,969	5	0,866
	Aceite esencial 250 mg/kg	0,901	5	0,416
	Aceite esencial 500 mg/kg	0,966	5	0851

PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS						
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.	
PORCENTAJE DE EFECTO EXPECTORANTE	Se basa en la media	0,850	3	16	0,487	

Anexo 10.

Análisis de varianza (ANOVA) del porcentaje de efecto expectorante a distintas concentraciones del aceite esencial en hojas del *Foeniculum vulgare*. Mill “hinojo”. Ayacucho 2023

	Suma de cuadrados	gl.	Media cuadrática	F	Sig .
Entre grupos	13950,44	3	4650,15	557,27	2,17x10 ⁻¹⁶
Dentro de grupos	133,512	16	8,35		
Total	14083,95	19			

Si: Sig. < 0,05: Por lo menos uno de los tratamientos es diferente al resto

Anexo 11.

Comparaciones múltiples de los valores del porcentaje del efecto expectorante en función de los tratamientos del aceite esencial en hojas del *Foeniculum vulgare*. Mill “hinojo”. Prueba de Tukey. Ayacucho 2023

	Tratamientos	N	Sub conjuntos homogéneos (0,05)		
			a	b	c
HSD Tukey	Aceite esencial 100 mg/kg	5	43,09		
	Aceite esencial 250 mg/kg	5		64,70	
	Aceite esencial 500 mg/kg	5			102,64
	Bromhexina 25 mg/kg	5			106,14
	Sig.		1.00	1.00	0,26

Anexo 12.

Absorbancias de rojo fenol en la secreción traquebronquial de ratas albinas por tratamiento con el aceite esencial de las hojas del *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo”. Ayacucho 2023

Abs Blanco	Abs. Bromexina	Abs Aceite esencial a 100 mg/kg	Abs Aceite esencial a 200 mg/kg	Abs. Aceite esencial a 500 mg/kg
0,231	0,477	0,336	0,394	0,476
0,24	0.482	0,329	0,396	0,475
0,235	0.496	0,342	0,378	0,467
0,238	0.479	0,339	0,383	0,478
0,229	0.488	0,335	0,384	0,485

Anexo 13.

Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	MARCO TEÓRICO	METODOLOGÍA
Efecto expectorante del aceite esencial de las hojas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. "hinojo" en ratas albinas. Ayacucho 2023	¿Tendrá efecto expectorante el aceite esencial en las hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. "hinojo" en ratas albinas?	Objetivo general: Determinar el efecto expectorante del aceite esencial en las hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. "hinojo" en ratas albinas de la cepa Holtzman. Objetivo específico: - Determinar los parámetros fisicoquímicos del aceite esencial en las hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. "hinojo". - Evaluar la concentración con mejor efecto expectorante del aceite esencial en las hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. "hinojo" en ratas albinas de la cepa Holtzman. - Comparar el efecto expectorante del aceite esencial en las hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. "hinojo" en ratas albinas de la cepa Holtzman a diferentes concentraciones con el estándar de bromhexina a 25 mg/kg.	El aceite esencial en las hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. "hinojo" posee efecto expectorante.	Variable independiente Aceite esencial de las hojas del <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. "hinojo". Indicador: Concentraciones de 100; 250 y 500 mg/kg Variable dependiente Efecto expectorante Indicador: Porcentaje de absorbancia.	López <i>et al.</i> en el 2016, realizaron el estudio: Comparación de la actividad antiulcerosa de los extractos de <i>Foeniculum vulgare</i> "hinojo" y <i>Solanum tuberosum</i> "papa" en <i>Rattus rattus</i> Variedad Albinus. Mendoza en el 2016, realizó el estudio: Efecto antibacteriano <i>in vitro</i> de los aceites esenciales de: <i>Foeniculum vulgare</i> (hinojo), <i>Cimnopogon citrus</i> (hierba luisa), <i>Origanum vulgare</i> (orégano), <i>Citrus aurantifolia</i> Swingle (limón) y <i>Citrus sinensis</i> (naranja), frente a cepas estandarizadas de <i>Streptococcus mutans</i>, cusco 2016.	Tipo de investigación Básica-experimental. Población: Especie de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. "hinojo", del distrito de Vinchos, provincia Huamanga, Departamento de Ayacucho. Muestra: La muestra está constituida por 5 kg de planta fresca de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. "hinojo". Una porción de la planta recolectada se entregó a la Bióloga Laura Aucasimi Medina especialista en taxonomía y sistemática de plantas Unidad experimental: Cuarenta ratas albinas de cepa Holtzman, con un peso de 200 a 250 g de peso. Diseño experimental: El diseño experimental fue dividir de manera aleatoria en cinco grupos cada uno con repeticiones de ocho ratas albinas. Análisis de datos: Los resultados fueron expresados en forma de medias $\pm$ desviación estándar presentados en cuadros y gráficos. Las diferencias significativas de los grupos que recibieron el tratamiento se determinaron con el método del Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0,05. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos fue evaluado a través de la prueba de Tukey (programa SPSS versión 22).

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

RESOLUCIÓN DECANAL N° 960-2024-UNSC-FCSA-D

BACHILLER: WILLIAN ELOY ESPINOZA VALDEZ

En la ciudad de Ayacucho, siendo las nueve de la mañana del día seis del mes de setiembre del año dos mil veinticuatro, se reunieron en el auditorium de la Facultad de Ciencias de la Salud los docentes miembros del jurado evaluador, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado: **Efecto expectorante del aceite esencial de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" en ratas albinas. Ayacucho 2023**, presentado por el bachiller WILLIAN ELOY ESPINOZA VALDEZ para optar el título profesional de Químico Farmacéutico.

En tal sentido, el jurado evaluador queda conformado por:

Presidente : Prof. Enrique Javier Aguilar Felices (delegado por el Decano)

Miembros : Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo
: Prof. Pablo Williams Comin Ventura
Prof. Edgar Cárdenas Landeo

Asesor : Prof. Edwin Carlos Enciso Roca

Secretario Docente : Prof. Danny Roosevelt Cordova De la Cruz

Con el quórum reglamentario, se dio inicio la sustentación de tesis. Como acto inicial, la presidente de la comisión solicita a la secretaria docente verificar la conformidad del expediente presentado por la sustentante y dar lectura a la resolución. La secretaria indica que los documentos presentados por la recurrente no tienen observaciones, por lo que procede a leer la resolución decanal y proporciona algunas indicaciones a la sustentante.

A continuación, se da inicio a la exposición del Bachiller: WILLIAN ELOY ESPINOZA VALDEZ. Una vez concluida, el presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas. Seguidamente se da pase al asesor de tesis, para que pueda aclarar algunas preguntas, interrogantes, aclaraciones.

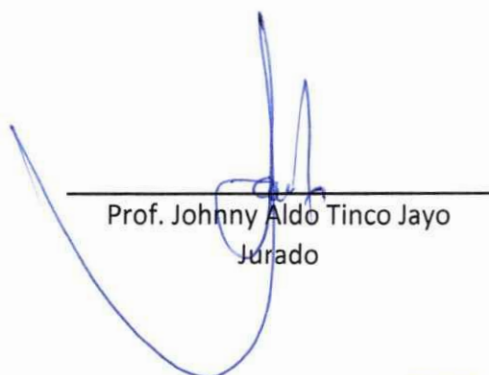
El presidente invita al sustentante abandonar el auditorium para que pueda proceder con la calificación.

RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN FINAL

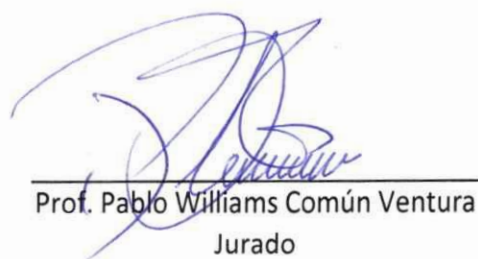
Bachiller: WILLIAN ELOY ESPINOZA VALDEZ

JURADOS	Texto	Exposición	Preguntas	P. Final
Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo	16	16	16	16
Prof. Pablo Williams Común Ventura	17	17	16	17
Prof. Edgar Cárdenas Landeo	15	15	15	15
PROMEDIO FINAL				16

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar a la Bachiller WILLIAN ELOY ESPINOZA VALDEZ; quien obtuvo la nota final de dieciséis (16) para la cual los miembros del jurado evaluador firman al pie del presente, siendo la 10:50 de la mañana, se da por concluido el presente acto académico.



Prof. Johnny Aldo Tinco Jayo
Jurado



Prof. Pablo Williams Común Ventura
Jurado



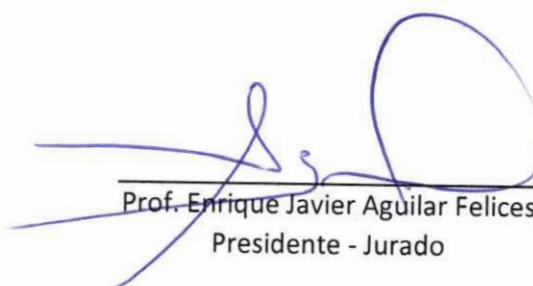
Prof. Edgar Cárdenas Landeo
Jurado



Prof. Edwin Carlos Enciso Roca
Asesor



Prof. Danny Roosvell Cordova De la Cruz
Secretario docente



Prof. Enrique Javier Aguilar Felices
Presidente - Jurado



UNSCH

FACULTAD DE
CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE
FARMACIA Y BIOQUÍMICA



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD SEGUNDA INSTANCIA:
TESIS DE PREGRADO

(C°28-2024-EPFB-UNSCH)

La que suscribe, directora de escuela y docente instructor en segunda instancia de Tesis de Pregrado, luego de verificar la originalidad de la tesis de la Escuela profesional de Farmacia y bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en representación de la decana y delegada por Resolución Decanal N° 077-2021-UNSCH-FCSA/D, deja constancia que el trabajo de tesis titulado:

Efecto expectorante del aceite esencial de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. “hinojo” en ratas albinas. Ayacucho 2023
Presentado por: Bach. Willian Eloy Espinoza Valdez

Ha sido sometido al análisis mediante el sistema TURNITIN concluyendo que presenta un porcentaje de **24% de índice de similitud.**

Por lo que, de acuerdo con el porcentaje establecido en el Artículo 13° del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de pregrado de la UNSCH. Por tanto, **ES PROCEDENTE** conceder la Constancia de originalidad en segunda instancia.

Ayacucho, 16 de agosto del 2024



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Mg. Maricela López Sierralta
DIRECTORA
Docente. Instructor
Segunda instancia

cc.
Archivo.

Efecto expectorante del aceite
esencial de las hojas de
Foeniculum vulgare Mill.
“hinojo” en ratas albinas.
Ayacucho 2023
por Willian Eloy Espinoza Valdez

Fecha de entrega: 16-ago-2024 06:44a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2432947059

Nombre del archivo: TESIS_WILLIAN_ELOY_ESPINOZA_VALDEZ.pdf (1.31M)

Total de palabras: 13717

Total de caracteres: 72025

Efecto expectorante del aceite esencial de las hojas de *Foeniculum vulgare* Mill. "hinojo" en ratas albinas. Ayacucho 2023

INFORME DE ORIGINALIDAD

24%

INDICE DE SIMILITUD

24%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

10%

TRABAJS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

repositorio.unsch.edu.pe

Fuente de Internet

8%

2

Submitted to Universidad Nacional de San
Cristóbal de Huamanga

Trabajo del estudiante

4%

3

repositorio.uwiener.edu.pe

Fuente de Internet

3%

4

hdl.handle.net

Fuente de Internet

2%

5

repositorio.unal.edu.co

Fuente de Internet

2%

6

Submitted to Universidad Andina del Cusco

Trabajo del estudiante

1%

7

repositorio.usanpedro.edu.pe

Fuente de Internet

1%

8

www.sabiia.cnptia.embrapa.br

Fuente de Internet

1%

9	biblioteca.usac.edu.gt Fuente de Internet	1 %
10	scielo.sld.cu Fuente de Internet	< 1 %
11	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	< 1 %
12	www.elsevier.es Fuente de Internet	< 1 %
13	antigo.anvisa.gov.br Fuente de Internet	< 1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

< 30 words

Excluir bibliografía

Activo