

**Universidad Católica de Santa María**

**Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas**

**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**



**EFFECTO HIPOLIPIDÉMICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO  
DE HINOJO (*Foeniculum vulgare M.*) EN RATAS  
HIPERCOLESTEROLÉMICAS**

Tesis presentada por el Bachiller:

**Lucana Saloma, Fernando**

para optar el Título Profesional de

**Químico Farmacéutico**

Asesor: Ph.D. Jaime Cárdenas García

**Arequipa – Perú  
2018**

**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA**  
**Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas**  
**y Biotecnológicas**  
**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

Expediente N°. 2017000049253

N° Trámite en Fac. 1729-2017

Fecha 31-10-2017

**FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL**

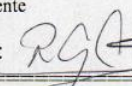
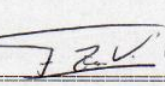
**DE:** LUCANA SALOMA, Fernando

**TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:**

**"EFECTO HIPOLIPIDEMICO DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE HINOJO (*Foeniculum vulgare M.*) EN RATAS HIPERCOLESTEROLEMICAS"**

**DICTAMINADORES:** 1) *Dra. Roxana Gutiérrez Aranibar* 2) *Q. F. Fernando Torres Vela*

**DICTAMEN DE PLAN:** Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, como Dictaminadores del Plan de Tesis presentado por la recurrente, se ha procedido a la revisión del trabajo de investigación y hechas las observaciones y sugerencias correspondientes, consideramos que se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad  
Atentamente

Firmas :   (Devolver antes de 8 días hábiles) Fecha 08-03-20

**ASESOR:** *Dr. Jaime Cárdenas García*

**DICTAMEN DE ASESOR:** Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación como Asesor, en el presente Trabajo de Investigación, cumpro con informar que este se ha desarrollado de acuerdo a los objetivos trazados y se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad.  
Atentamente

Firma   Fecha 27/8/17

**DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:**

1) *Dra. Roxana Gutiérrez Aranibar* 3) *Mgter. Julitza Paredes Fuentes*  
2) *Q. F. Fernando Torres Vela*

**DICTAMEN DE BORRADOR:** Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, hemos procedido a revisar el Borrador de Tesis presentado por los recurrente, y luego de haber verificado el cumplimiento de los objetivos, la redacción del informe, de los resultados, discusión y conclusiones correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.  
Atentamente

Firma   (Devolver antes de 15 días hábiles) Fecha

**JURADOS:** Presidente *Dra. Roxana Gutiérrez Aranibar*  
Vocal *Q. F. Fernando Torres Vela*  
Secretario *Mgter. Julitza Paredes Fuentes*

**SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:**

Fecha: 18/09/18 Hora: 19.00 Local: C- 402 (SUM)

  
DECANO

## DEDICATORIA

*A Dios por haberme dado sabiduría y fuerza guiándome en el trayecto de mi vida.*

*Agradezco y dedico este trabajo a mis padres Tomas y Jorge por brindarme su cariño, amor y apoyo incondicional ya que son el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional.*

*A mi madre que está en el cielo cuidándome apoyándome en todo el momento de mi vida, por su ayuda incondicional y estar presente siempre en el desarrollo de mi vida, Dios colme de bendiciones en el reino de dios te amo mamita.*

*A mis hermanos en general Sandro y Janina este trabajo es en gran parte por su apoyo incondicional*

*De igual manera dedico este trabajo a mis familiares por su apoyo forjando mi camino, por creer y confiar en mí.*

*¡Gracias por Confiar en mí!*

*Retroceder nunca, rendirse jamás!!*

*Fernando.*

## AGRADECIMIENTOS

*Primero a la Universidad Católica de Santa María, por haberme permitido desarrollarme como profesional en sus aulas y laboratorios durante el desarrollo académico.*

*Segundo y como más importante, me gustaría agradecer sinceramente a mi asesor PhD. Jaime cárdenas García por su apoyo incondicional durante el desarrollo del proyecto por su esfuerzo y dedicación. Sus conocimientos, orientación y paciencia han sido fundamentales para la realización de este estudio.*

*Tercero a mi amigo Alexander Pablo Idme Dianderas por su apoyo incondicional y sus consejos en todo el proceso de clases académicos y ejecución del proyecto gracias por todo amigo.*

*Cuarto agradecer también a mis dictaminadores por brindarme sus conocimientos y consejos.*

## INTRODUCCIÓN

Las dislipidemias o hiperlipidemias son trastornos en los lípidos en sangre caracterizados por un aumento de los niveles de colesterol o hipercolesterolemia (el sufijo *emia* significa sangre) e incrementos de las concentraciones de triglicéridos (TG) o hipertrigliceridemia. Son entidades frecuentes en la práctica médica, que acompañan a diversas alteraciones como la diabetes mellitus tipo 2 (DM-2), el alcoholismo, el hipotiroidismo, el síndrome metabólico (SM) y el empleo de algunos fármacos.

Las dislipidemias aumentan el riesgo de aterosclerosis porque favorecen el depósito de lípidos en las paredes arteriales, con la aparición de placas de ateromas, y en los párpados (xantelasma) y en la piel con la formación de xantomas. El aumento excesivo de los triglicéridos (TG) incrementa las probabilidades de pancreatitis aguda, caracterizada por un intenso dolor abdominal con vómitos que constituye una urgencia médica.<sup>[1,2]</sup>

Las dislipidemias, por su elevada prevalencia, aumenta el riesgo de morbilidad y muerte por diversas enfermedades y el carácter tratable de sus afecciones, y se convierten en un problema de salud en el mundo y en nuestro país por los graves daños que provoca en los pacientes afectados. En esta contribución se describirán los aspectos básicos de las hiperlipidemias con énfasis en el metabolismo de las lipoproteínas, la clasificación de las dislipidemias y su tratamiento.

Los flavonoides, compuestos fenólicos cuya estructura base o esqueleto, han demostrado, a través de varias investigaciones, ser poseedores de una alta actividad biológica. Por ejemplo, son capaces de modular el metabolismo del ácido araquidónico, inhibiendo la síntesis de prostaglandinas a nivel de la enzima ciclooxigenasa, o la síntesis de leucotrienos a nivel de la enzima lipooxigenasa. Sin embargo, estos reportes refieren únicamente experimentación *in vitro*, por lo que resultan necesarios los estudios *in vivo* que comprueben la hipótesis proponiendo a los flavonoides como agentes antiinflamatorios. Asimismo, los flavonoides refieren actividad hipocolesterolemia en animales de experimentación inducidos a dislipidemia en base a dieta rica en colesterol.<sup>[1,2]</sup>

## RESUMEN

Las dislipidemias constituyen una de las patologías que más aquejan a la población mundial en el siglo XXI, siendo un tema de interés en salud pública. El presente estudio tiene como objetivo proponer a una especie vegetal como posible añadido a la farmacoterapia de las dislipidemias, siendo *Foeniculum vulgare M.* “hinojo” la planta de elección. Así, se obtuvieron extractos hidroalcohólicos del espécimen mediante el método Soxhlet y se concentraron mediante rotavapor para ser reconstituidos en suero fisiológico y administrarlos oralmente con cánula en ratas *Rattus norvegicus* variedad Wistar previamente habiéndoles inducido hiperlipidemia mediante una dieta rica en grasa, conteniendo yemas de huevo de gallina y cerebro de cordero. Se comparó la potencia de los extractos vegetales mediante un arreglo experimental de 5 grupos de 4 ratas cada uno: Tres grupos de tratamiento recibieron diferentes dosis de extracto de *Foeniculum vulgare M.*: 0.8, 4 y 20 mg/kg/día, el grupo control positivo recibió atorvastatina a 0.06 mg/kg/día, y el grupo control negativo recibió 2 mL de suero fisiológico diariamente. Durante la experimentación animal, incluyendo la inducción de hiperlipidemia y la administración del tratamiento, se tomaron en total 4 muestras de sangre a las 20 ratas mediante punción retro orbital en el ojo derecho para evaluárseles el perfil lipídico y realizar los análisis estadísticos respectivos. Se concluyó que no hubo diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) entre el efecto producido por el extracto a dosis 20 mg/kg y el control de atorvastatina a 0.06 mg/kg considerando los niveles de colesterol y triglicéridos en modelos de experimentación *in vivo*.

**Palabras clave:** Dislipidemia, Colesterol, Triglicéridos, HDL, LDL, Hinojo, *Foeniculum vulgare M.*, Soxhlet, Extracto

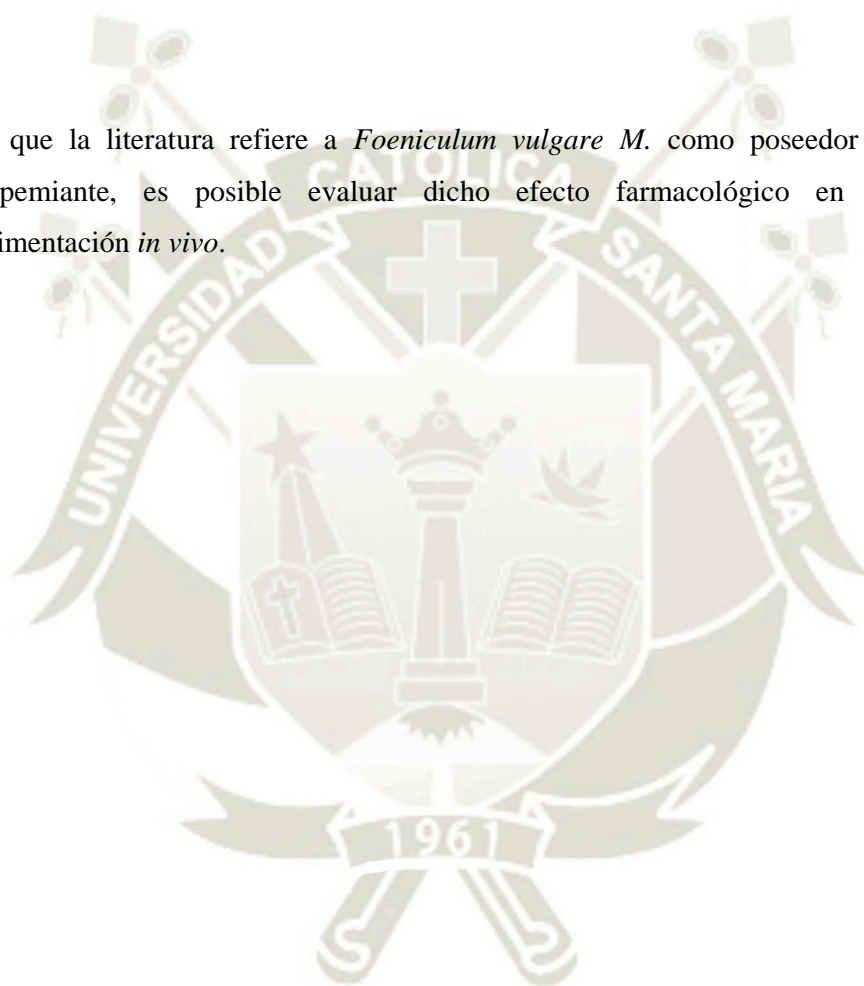
## ABSTRACT

Dyslipidemia constitute one of the most damaging illnesses for the world population in the 21<sup>st</sup> century, being a topic of interest in public health. The present study has as its objective to propose a vegetal species as a possible additive to the pharmacotherapy of dyslipidemias, being *Foeniculum vulgare M.* “hinojo” the elected plant. Therefore, hydroalcoholic extracts from the specimen were obtained by the Soxhlet method and they were concentrated using rotavapor to be later reconstituted in physiological serum and administer them orally with cannula it to *Rattus norvegicus* variety *Wistar* rats, having previously induced them hyperlipidemia with a fat rich diet, containing chicken egg bud and sheep brain. The power of the vegetal extracts were compared with an experimental array of 5 groups of 4 rats each one: Three treatment groups received different doses of *Foeniculum vulgare M.* extract; 0.8, 4 and 20 mg/kg/day, the positive control group received 0.06 mg/kg/day atorvastatin, and the negative control group received daily 2 mL physiological serum. During animal experimentation, including the hyperlipidemia induction and the treatment administration, a total of 4 blood samples were taken from the 20 rats using a retro orbital puncture in the right eye, to evaluate their lipidic profile and perform the respective statistical analyses. It was concluded that there was no significant difference ( $p > 0.05$ ) between the effect produced by 20 mg/kg *Foeniculum vulgare M.* extract and the 0.06 mg/kg atorvastatin control, considering cholesterol and triglyceride levels on *in vivo* experimental models.

**Key words:** Dyslipidemia, Cholesterol, Triglycerides, HDL, LDL, Hinojo, *Foeniculum vulgare M.*, Soxhlet, Extract.

## HIPÓTESIS

Dado que la literatura refiere a *Foeniculum vulgare M.* como poseedor de actividad hipolipemiante, es posible evaluar dicho efecto farmacológico en modelos de experimentación *in vivo*.



## OBJETIVOS

### Objetivo general:

Evaluar el efecto hipolipidémico del extracto hidroalcohólico de Hinojo (*Foeniculum vulgare M.*) en ratas hipercolesterolémicas.

### Objetivos específicos:

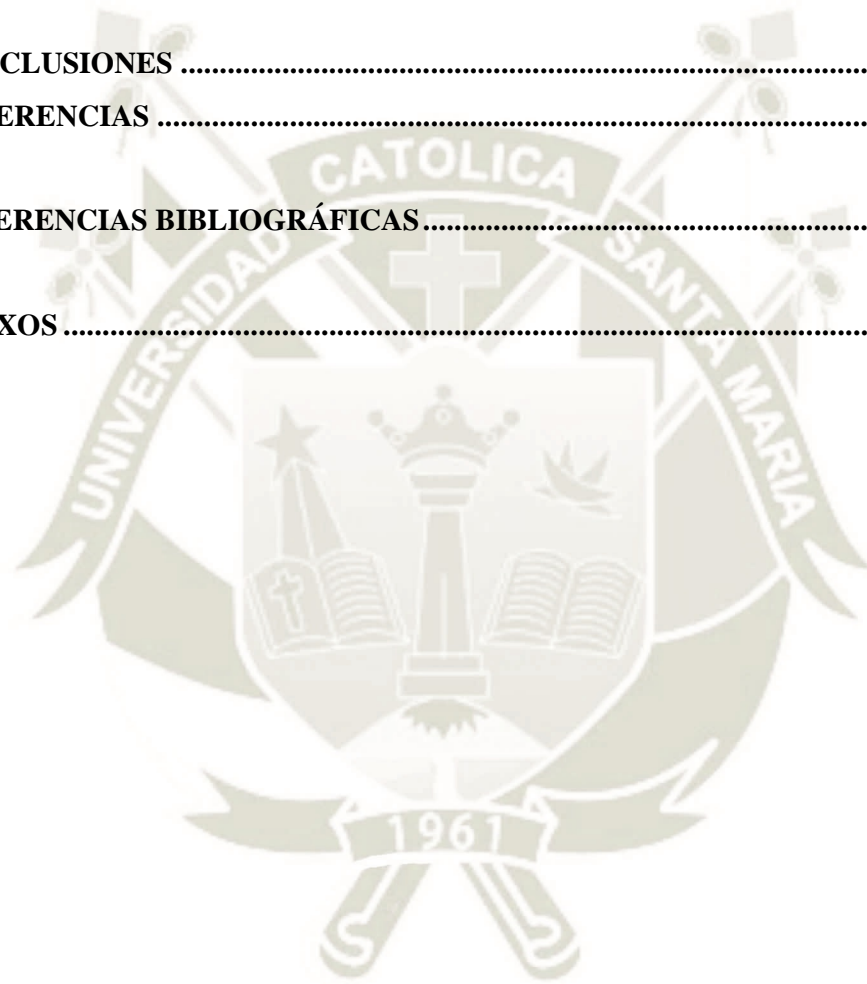
1. Obtener el extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare M.* a partir de hojas secas del espécimen vegetal.
2. Determinar cualitativamente flavonoides en el extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare M.*
3. Inducir hiperlipidemia en animales de experimentación mediante una dieta rica en lípidos.
4. Tratar a las ratas hiperlipémicas con el extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare M.*

## ÍNDICE

<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>II</b>
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>II</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>III</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>III</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>V</b>
<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>VI</b>
<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>VII</b>
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>1</b>
<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>1</b>
1. HINOJO ( <i>Foeniculum vulgare M.</i> ).....	2
1.1. CARACTERÍSTICAS.....	2
1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA .....	2
1.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA .....	3
1.4. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS .....	3
1.5. FLAVONOIDES.....	3
1.6. FLAVONOIDES DEL HINOJO .....	5
2. EXTRACTOS VEGETALES.....	5
2.1. EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES.....	6
2.2. EXTRACCIÓN CONTINUA POR SOXHLET .....	6
2.3. CONCENTRACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES .....	7
3. PERFIL LIPÍDICO .....	7
3.1. COLESTEROL .....	8
3.2. TRIGLICÉRIDOS.....	9
3.3. LIPOPROTEÍNAS .....	11
3.1. DISLIPIDEMIAS.....	11
3.2. FARMACOTERAPIA DE LAS DISLIPIDEMIAS .....	12
3.3. INDUCCIÓN DEL MODELO DE HIPERLIPIDEMIA EN RATAS.....	13
3.4. DETERMINACIÓN DEL EFECTO HIPOLIPEMIANTE.....	13
3.5. DETERMINACIÓN DEL COLESTEROL TOTAL .....	14

3.6.	DETERMINACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS .....	14
3.7.	DETERMINACIÓN DE HDL-C Y LDL-C.....	15
<b>CAPÍTULO II.....</b>		<b>16</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>		<b>16</b>
1.	MATERIALES.....	17
1.1.	MATERIAL BIOLÓGICO.....	17
1.2.	MATERIAL DE VIDRIO .....	17
1.3.	MATERIAL DE LABORATORIO .....	17
1.5.	REACTIVOS .....	18
2.	MÉTODOS.....	18
2.1.	OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS .....	18
2.1.1.	RECOLECCIÓN DEL ESPÉCIMEN VEGETAL .....	18
2.1.2.	EXTRACCIÓN POR SOXHLET .....	19
2.1.3.	CONCENTRACIÓN.....	19
2.1.4.	DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO ..	19
2.2.	CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.....	19
2.3.	DETERMINACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO .....	20
2.4.	INDUCCIÓN DE HIPERLIPIDEMIA .....	21
2.5.	TRATAMIENTO CON EXTRACTOS VEGETALES .....	21
3.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	21
<b>CAPÍTULO III .....</b>		<b>22</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>		<b>22</b>
1.	OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS .....	23
2.	CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA.....	25
3.	EVALUACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO.....	27
3.1.	Evaluación de la inducción a la hipercolesterolemia .....	27
3.1.1.	Colesterol Total.....	27
3.1.2.	Triglicéridos.....	29
3.1.3.	HDL.....	31
3.1.4.	LDL .....	33

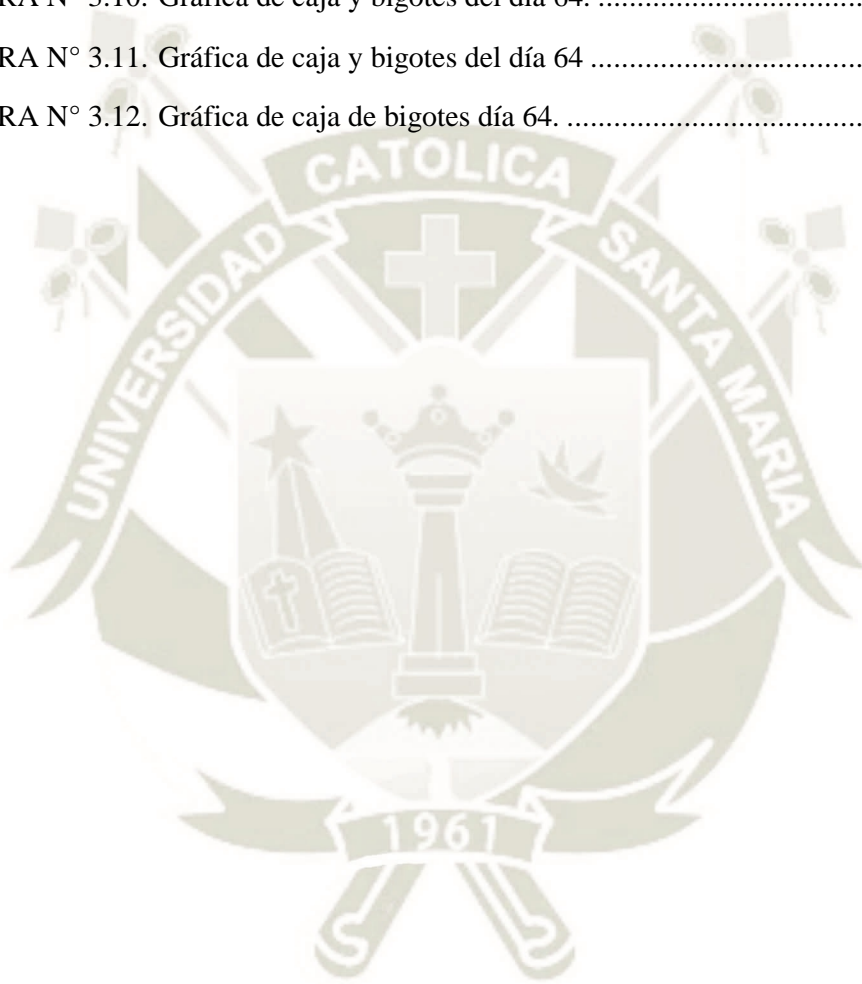
3.2. Evaluación del efecto hipolipemiante del extracto .....	35
3.2.1. Colesterol Total.....	35
3.2.2. Triglicéridos.....	37
3.2.3. HDL.....	39
3.2.4. LDL .....	42
3.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....	44
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>48</b>
<b>SUGERENCIAS .....</b>	<b>49</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>50</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>56</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1.1.	Morfología de los tallos de <i>Foeniculum vulgare</i> M. ....	2
FIGURA N° 1.2.	Estructura química de cuatro componentes del aceite esencial de <i>Foeniculum vulgare</i> M (A). E-anetol; (B). Metilchavicol; (C). Anisaldehído y (D). Fenchona .....	3
FIGURA N° 1.3.	Estructura química de flavonoides (A). Quercetina; (B). Kaempferol; (C). Isoramnetina.....	4
FIGURA N° 1.4.	Metabolismo del ácido araquidónico e interacción con flavonoides.....	4
FIGURA N° 1.5.	Algunos métodos de extracción de compuestos activos vegetales. .5	
FIGURA N° 1.6.	Arreglo experimental de la extracción por Soxhlet.....	7
FIGURA N° 1.7.	Estructuras químicas (A). Ciclopentanoperhidrofenantreno; (B). Colesterol.....	8
FIGURA N° 1.8.	Biosíntesis del colesterol .....	9
FIGURA N° 1.9.	Estructura química de la trioleína (un triglicérido). En anaranjado se denota al glicerol, en celeste al ácido graso (ácido oleico) y en verde a una insaturación (doble enlace).....	10
FIGURA N° 1.10.	Estructura química de la atorvastatina.....	12
FIGURA N° 1.11	Estructuras químicas. (A). Gemfibrozil; (B). Ácido nicotínico.....	13
FIGURA N° 1.12.	Estructura química del colestipol .....	13
FIGURA N° 1.13.	Mecanismo de reacción para la determinación de colesterol total...14	
FIGURA N° 1.14.	Mecanismo de reacción para la determinación de triglicéridos.....	14
FIGURA N° 2.1.	Muestra de <i>Foeniculum vulgare</i> M. recolectada en Urubamba, Cuzco. ....	18
FIGURA N° 3.1.	Tamizaje de la muestra de <i>Foeniculum vulgare</i> M. ....	23
FIGURA N° 3.2.	Obtención del extracto hidroalcohólico de <i>Foeniculum vulgare</i> M. mediante Soxhlet.....	23
FIGURA N° 3.3.	Concentración de los extractos vegetales por rotavapor .....	24
FIGURA N° 3.4.	Cromatografía en capa fina de <i>Foeniculum vulgare</i> M. (A). Análisis general; (B). Análisis para flavonoides .....	25

FIGURA N° 3.5. Gráfica y bigotes del día 33 .....	28
FIGURA N° 3.6. Caja y bigotes día 33 .....	30
FIGURA N° 3.7. Caja y bigotes día 33. ....	32
FIGURA N° 3.8. Caja y bigotes día 33. ....	34
FIGURA N° 3.9. Gráfica de caja y bigotes día 64.....	37
FIGURA N° 3.10. Gráfica de caja y bigotes del día 64. ....	39
FIGURA N° 3.11. Gráfica de caja y bigotes del día 64 .....	41
FIGURA N° 3.12. Gráfica de caja de bigotes día 64. ....	44



## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1.1.	Clasificación taxonómica de Foeniculum vulgare M.....	2
TABLA N° 1.2.	Valores estandarizados del perfil lipídico en humanos .....	12
TABLA N° 2.1.	Dosis de los grupos de tratamiento .....	21
TABLA N° 3.1.	Análisis organoléptico de los extractos de Foeniculum vulgare M.	24
TABLA N° 3.2.	Rf de cromatografías en capa fina en extractos de Foeniculum vulgare M. ....	26
TABLA N° 3.3:	Medias de Colesterol Total (mg/dL) .....	27
TABLA N° 3.4.	Colesterol Total (mg/dL) día 33.....	28
TABLA N° 3.5.	Medias de Triglicéridos (mg/dL) .....	29
TABLA N° 3.6.	Triglicéridos (mg/dL) día 33.....	30
TABLA N° 3.7.	Medias de HDL (mg/dL) .....	31
TABLA N° 3.8.	HDL (mg/dL) día 33.....	32
TABLA N° 3.9.	Medias de LDL (mg/dL).....	33
TABLA N° 3.10.	LDL (mg/dL) día 33 .....	34
TABLA N° 3.11	Medias de Colesterol Total (mg/dL) .....	35
TABLA N° 3.12.	Colesterol Total (mg/dL) día 64.....	36
TABLA N° 3.13.	Medias de Triglicéridos (mg/dL) .....	37
TABLA N° 3.14.	Triglicéridos (mg/dL) día 64.....	39
TABLA N° 3.15.	Medias de HDL (mg/dL) .....	40
TABLA N° 3.16.	HDL (mg/dL) día 64.....	41
TABLA N° 3.17.	Medias de LDL (mg/dL).....	42
TABLA N° 3.18.	LDL (mg/dL) día 64 .....	43

## LISTA DE ABREVIATURAS

CT: Colesterol total

TG: Triglicéridos

HDL-c: Lipoproteínas de alta densidad asociadas a colesterol

LDL-c: Lipoproteínas de baja densidad asociadas a colesterol

No-HDL-c: Lipoproteínas asociadas a colesterol que no corresponden a HDL-c

S.F.: Suero Fisiológico o cloruro de sodio 0.9%







## 1. HINOJO (*Foeniculum vulgare M.*)

### 1.1. CARACTERÍSTICAS

Se trata de una hierba perenne y glabra, de hasta 3 metros de altura. Sus tallos son ramificados, cilíndricos y erectos como se muestra en la Figura 1.1. Su raíz es blancuzca. Sus flores son pequeñas y amarillas, agrupadas en umbelas. Su fruto es un aquenio oval, amarillo verdoso y arqueado. [1,2]



**FIGURA 1.1.** Morfología de los tallos de *Foeniculum vulgare M.* [3]

El hinojo se desarrolla preferentemente entre 10-2000 m.s.n.m. en clima templado a templado-cálido. [1]

### 1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

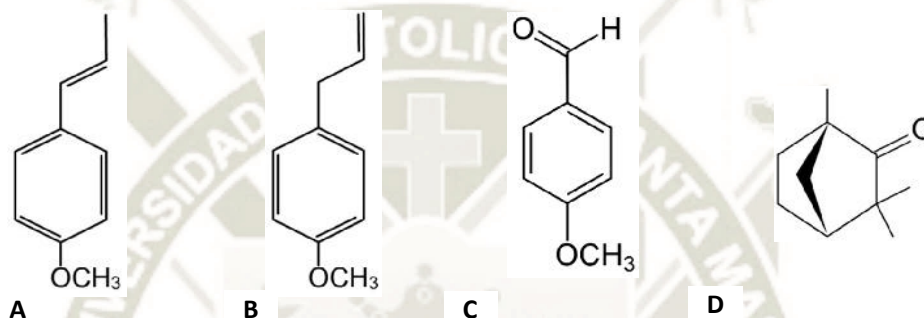
La clasificación taxonómica de *Foeniculum vulgare M.* se presenta en la Tabla 1.1.

**TABLA 1.1.** Clasificación taxonómica de *Foeniculum vulgare M.*

<b>Reino</b>	<i>Plantae</i>
<b>División</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Orden</b>	<i>Apiales</i>
<b>Familia</b>	<i>Apiaceae</i>
<b>Género</b>	<i>Foeniculum</i>
<b>Especie</b>	<i>Foeniculum vulgare M.</i>

### 1.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Las hojas de hinojo contienen glucoronidos de flavonoides y aceite esencial. Este último contiene generalmente 50-80% del monoterpeno *E-anetol*, razón de su aroma similar al del anís. Además, el aceite esencial de hinojo contiene otros componentes en menor proporción como metilchavicol, anisaldehído y fenchona. Dichos compuestos se presentan en la Figura 1.2. [2,4,5]



**FIGURA N° 1.2.** Estructura química de cuatro componentes del aceite esencial de *Foeniculum vulgare M* (A). *E*-anetol; (B). Metilchavicol; (C). Anisaldehído y (D). Fenchona

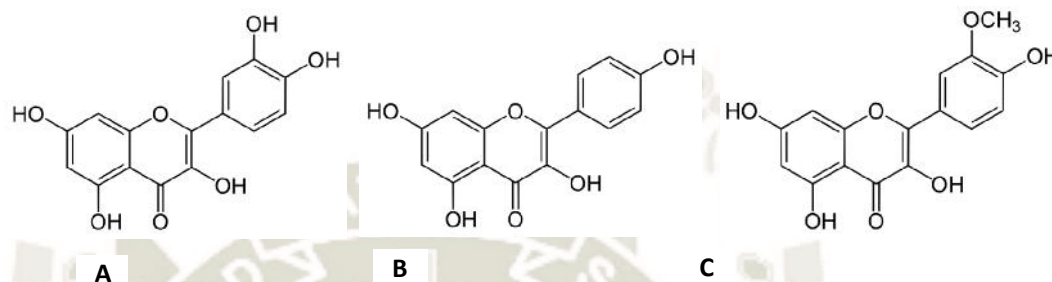
### 1.4. PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

Se refiere que *Foeniculum vulgare M*. posee actividad contra afecciones hepáticas, [1] carminativa, [1,2,4,5] estomacal o eupéptica, [1,2,4,5] expectorante, [1,2,4] diurética [1,2,5] y antiséptica débil. [1]

### 1.5. FLAVONOIDES

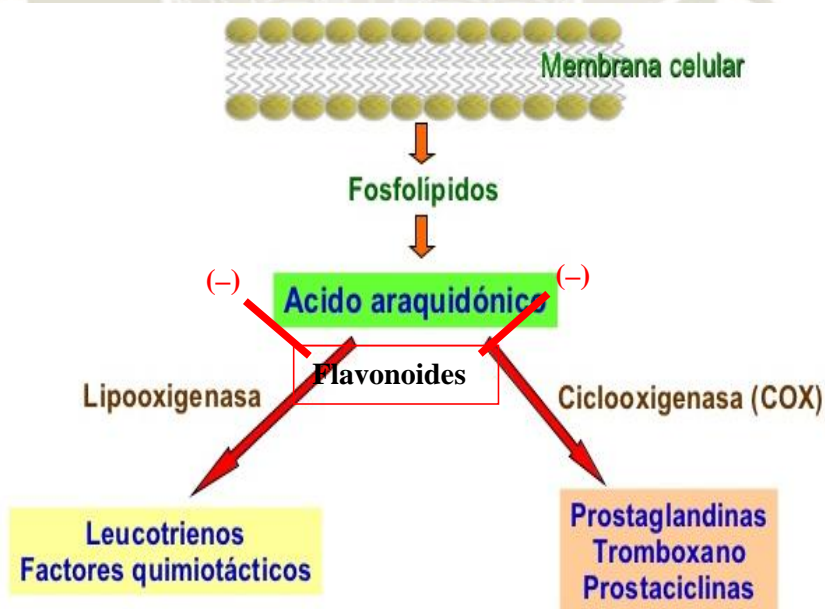
Los flavonoides, compuestos fenólicos cuya estructura base o esqueleto se muestra en la Figura 1.3, han demostrado, a través de varias investigaciones, ser poseedores de una alta actividad biológica. Por ejemplo, son capaces de modular el metabolismo del ácido araquidónico, inhibiendo la síntesis de prostaglandinas a nivel de la enzima ciclooxigenasa, o la síntesis de leucotrienos a nivel de la enzima lipooxigenasa. Sin embargo, estos reportes refieren únicamente

experimentación *in vitro*, por lo que resultan necesarios los estudios *in vivo* que comprueben la hipótesis proponiendo a los flavonoides como agentes antiinflamatorios. Asimismo, los flavonoides refieren actividad hipocolesterolemiantes en animales de experimentación inducidos a dislipidemia en base a dieta rica en colesterol. [34-43]



**FIGURA N° 1.3. Estructura química de flavonoides (A). Quercetina; (B). Kaempferol; (C). Isoramnetina**

La Figura 1.4 muestra el metabolismo del ácido araquidónico y los sitios de acción de los flavonoides como sustancias inhibitorias de tal ruta metabólica para ejercer su efecto farmacológico. [34-41]



**FIGURA N° 1.4. Metabolismo del ácido araquidónico e interacción con flavonoides**

### 1.6. FLAVONOIDES DEL HINOJO

Dua y colaboradores determinaron la concentración de flavonoides del hinojo mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), refiriendo la presencia de quercetina y kaempferol en el extracto metanólico del espécimen vegetal. [45]

Por su parte, Parejo y colaboradores realizaron el análisis fitoquímico de *Foeniculum vulgare* mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS), determinando isoramnetina, quercetina y kaempferol, tanto en forma de heterósidos como geninas. [46]

## 2. EXTRACTOS VEGETALES

Los principales métodos extractivos para el aislamiento de principios activos se presentan en la Figura 1.5.

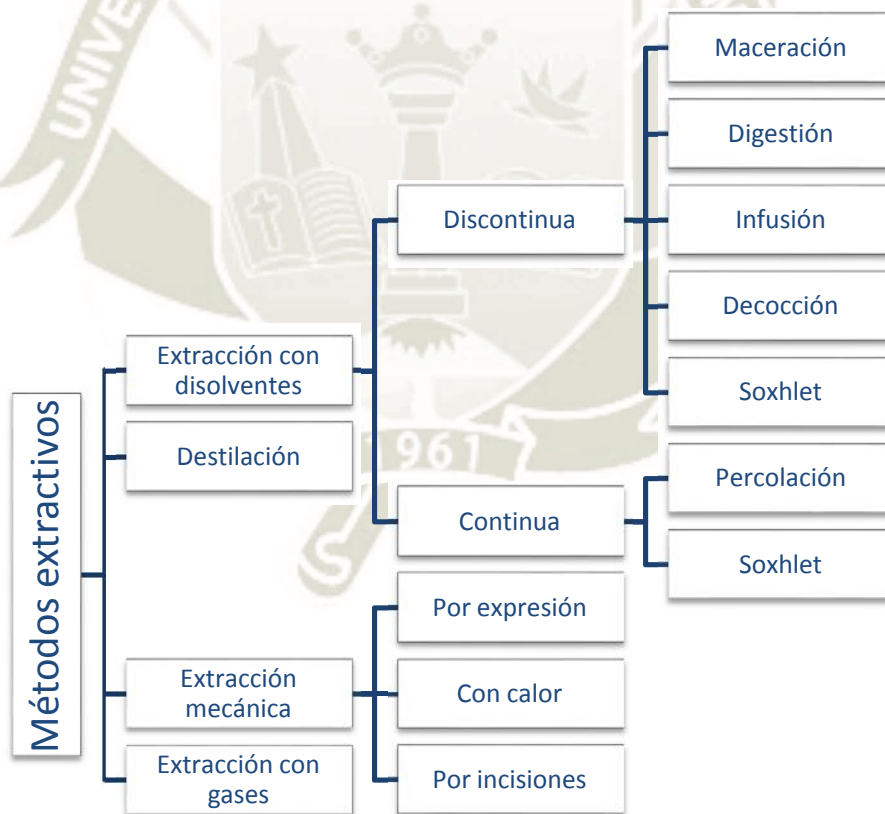


FIGURA N° 1.5. Algunos métodos de extracción de compuestos activos vegetales. [4]

## 2.1. EXTRACCIÓN CON DISOLVENTES

Requieren de la solubilización de los principios activos en un disolvente con el fin de aislarlos de la matriz vegetal. Una óptima extracción con disolventes implica proceder con material vegetal desecado y fragmentado, de modo que la superficie de contacto con el disolvente aumente. La elección del disolvente se basa en la polaridad del mismo, por lo que un disolvente polar extraería principios activos polares, y viceversa. [4]

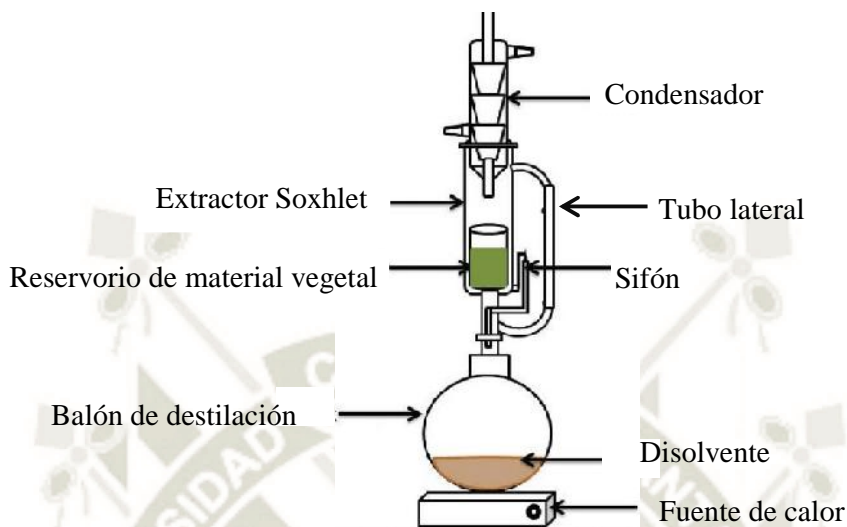
Como se muestra en la Figura 1.5. Kuklinski clasifica a la extracción con disolventes en discontinua (o simultánea) y continua (o progresiva). La extracción discontinua se caracteriza en que la difusión droga-disolvente es bidireccional hasta alcanzar el equilibrio de concentración de sustancias químicas. Por otro lado, en la extracción continua la difusión es unidireccional puesto que el disolvente se va renovando tras captar a las sustancias químicas afines. De este modo, los métodos continuos resultan en un mayor rendimiento de extracción. [4]

- El disolvente y la muestra están en contacto íntimo y repetido. De manera que se mejora muchísimo la extracción porque siempre se emplea un disolvente limpio.
- El disolvente proviene de una condensación luego es líquido y está caliente. Favorece la solubilidad del analito.
- No se requiere filtración posterior. El disolvente orgánico se evapora quedando sólo analito.
- Gran capacidad de recuperación.
- Instrumentación simple.

## 2.2. EXTRACCIÓN CONTINUA POR SOXHLET

El arreglo experimental del método Soxhlet se muestra en la Figura 1.6. Tras ebullición en el balón de destilación, el disolvente asciende a través del tubo lateral y entra en contacto con la matriz vegetal cubierta por una membrana porosa. El disolvente se concentra en el extractor Soxhlet al no poder ascender más gracias al sistema condensador. Al alcanzar la altura del sifón, el extracto pasa a través del mismo hacia el balón de destilación. Un nuevo ciclo de extracción da inicio,

evaporándose únicamente el disolvente reciclado a través del tubo lateral, por lo que los principios activos se concentran en el balón.



**FIGURA N° 1.6. Arreglo experimental de la extracción por Soxhlet.** [6]

### 2.3. CONCENTRACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES

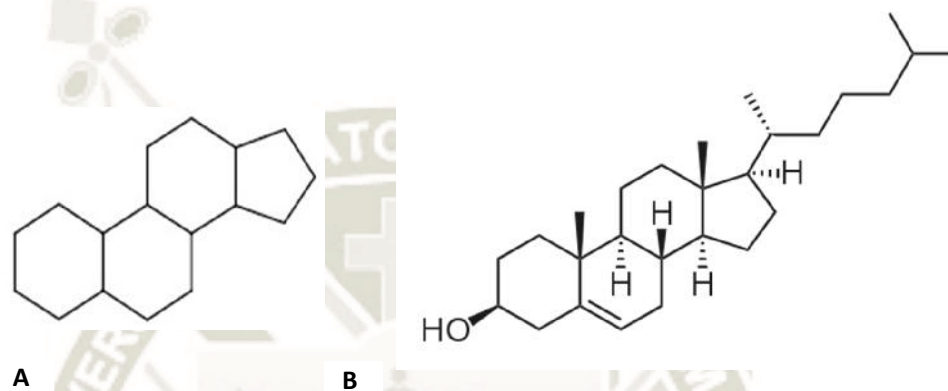
Se utiliza un rotavapor asistido por vacío. La presión ejercida reduce el punto de ebullición del disolvente y permite su recuperación en otro recipiente. Entre los sistemas de vacío la bomba Venturi utiliza el flujo de agua como fuente de presión, la cual es compensada por un vacío dirigido por una tubería hacia el rotavapor.

### 3. PERFIL LIPÍDICO

Los lípidos comprenden un grupo heterogéneo de sustancias químicas; no obstante, todos tienen en común su capacidad de ser solubles en disolventes orgánicos (no polares) e insolubles en disolventes acuosos (polares). Los procedimientos operativos estandarizados de los laboratorios están de acuerdo en que un análisis clínico de perfil lipídico incluya la determinación de: colesterol, triglicéridos y lipoproteínas HDL-c y LDL-c. [7]

### 3.1. COLESTEROL

Es un componente esteroideo de la membrana celular. Es útil en la biosíntesis de vitamina D y otras hormonas. Su síntesis está mediada por la enzima hidroximetilglutaril coenzima A reductasa. Su estructura química, conteniendo un núcleo de ciclopentanoperhidrofenantreno, se presenta en la Figura 1.7. [8,9,10]



**FIGURA N° 1.7. Estructuras químicas (A).  
Ciclopentanoperhidrofenantreno; (B). Colesterol.**

La biosíntesis del colesterol se esquematiza en la Figura 1.8. Toma como punto de partida al acetil-CoA (un subproducto del ciclo de Krebs o del ácido cítrico). Catalizado por la enzima hidroximetilglutaril CoA reductasa, este se convierte en ácido mevalónico, cuyo subproducto es el pirofosfato de farnesilo. A través del producto intermedio escualeno, la molécula adquiere estructura cíclica, denominándose lanosterol, para finalmente convertirse en colesterol. Resumidamente, estas reacciones pueden agruparse de la siguiente manera:

Tres moléculas de acetil-CoA se combinan entre sí formando mevalonato, el cual es fosforilado a 3-fosfomevalonato 5-pirofosfato.

El 3-fosfomevalonato 5-pirofosfato es descarboxilado y desfosforilado a pirofosfato de isopentenilo.

El ensamblaje sucesivo de seis moléculas de pirofosfato de isopentenilo origina el escualeno, vía pirofosfato de geranilo y pirofosfato de farnesilo.

La ciclación del escualeno da lanosterol.

El lanosterol se convierte en colesterol después de numerosas reacciones sucesivas, enzimáticamente catalizadas, que implican la eliminación de tres grupos metilo ( $-CH_3$ ), el desplazamiento de un doble enlace y la reducción del doble enlace de la cadena lateral. [8,9,10]

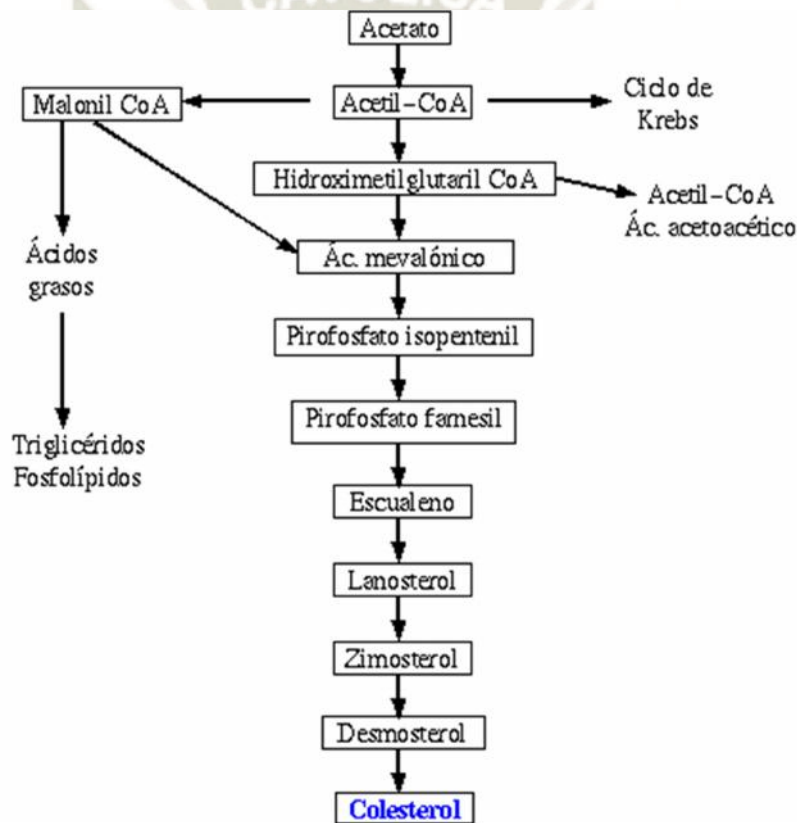


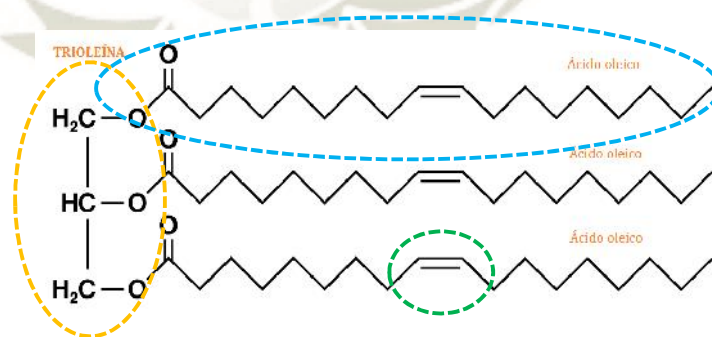
FIGURA N° 1.8. Biosíntesis del colesterol [44]

### 3.2. TRIGLICÉRIDOS

Son los componentes principales de los aceites vegetales. Se trata de ésteres formados por tres ácidos grasos y una molécula de glicerol y pertenecen a la

familia de los lípidos. Los ácidos grasos generalmente presentan 16 o 18 átomos de carbono; asimismo, estos pueden contener insaturaciones (dobles enlaces).

La síntesis de triglicéridos tiene lugar en el retículo endoplásmico de casi todas las células del organismo, pero es en el hígado, en particular en sus células parenquimatosas, los hepatocitos, y en el tejido adiposo (adipocitos) donde este proceso es más activo y de mayor relevancia metabólica. En el hígado, la síntesis de triglicéridos está normalmente conectada a la secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, su acrónimo en inglés) y no se considera un sitio de almacenamiento fisiológico de lípidos. Por tanto, toda acumulación de triglicéridos en este órgano es patológica, y se denomina indistintamente esteatosis hepática o hígado graso. Por el contrario, el tejido adiposo tiene por principal función la acumulación de energía en forma de triglicéridos. Sin embargo, la acumulación patológica de triglicéridos en el tejido adiposo (obesidad) se asocia, aparentemente de forma causal, con una serie de anomalías endocrino-metabólicas, cuyas causas son actualmente motivo de intensa investigación, dado el impacto de ellas en la mortalidad global de la población contemporánea. Una mínima cantidad de triglicéridos son normalmente almacenados en el músculo esquelético y cardíaco. Las estructuras descritas se presentan en la Figura 1.9. [11,12]



**FIGURA N° 1.9. Estructura química de la trioleína (un triglicérido). En anaranjado se denota al glicerol, en celeste al ácido graso (ácido oleico) y en verde a una insaturación (doble enlace). [11,12]**

### 3.3. LIPOPROTEÍNAS

Al tratarse de moléculas hidrófobas, los lípidos deben conjugarse con un transportador apropiado para distribuirse a través de la sangre. Dichos transportadores comprenden a las lipoproteínas, clasificadas según su contenido lipídico, el cual a su vez se encuentra íntimamente relacionado con su densidad.

Puesto que los lípidos son menos densos que las proteínas, una lipoproteína conteniendo una mayor proporción de lípidos se denomina lipoproteína de baja densidad (LDL). En cambio, una lipoproteína conteniendo mayor proporción de proteínas se denomina lipoproteína de alta densidad (HDL). <sup>[13]</sup>

La función de las lipoproteínas plasmáticas es transportar moléculas lipídicas de unos órganos a otros en el medio acuoso del plasma. Las lipoproteínas se clasifican en función de su densidad:

**LOS QUILOMICRONES.** Son lipoproteínas grandes con densidad extremadamente baja que transportan los lípidos de la dieta desde el intestino a los tejidos.

VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad, se sintetizan en el hígado y transportan lípidos a los tejidos.

LDL, lipoproteínas de baja densidad, transportan colesterol a los tejidos donde hay receptores de LDL.

HDL, lipoproteínas de alta densidad, también se producen en el hígado y eliminan de las células el exceso de colesterol llevándolo al hígado, único órgano que puede desprenderse de éste convirtiéndolo en ácidos biliares. <sup>[14,15]</sup>

### 3.4. DISLIPIDEMIAS

Corresponden a una elevación anormal de los niveles de lípidos en la sangre. La Organización Mundial de la Salud indicó en un reporte del año 2017 que las dislipidemias son un factor de riesgo importante en la aparición de enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis. Al acumularse placas de lípidos en las arterias, podría desencadenarse una obstrucción en el flujo sanguíneo y con ello un infarto agudo al miocardio. <sup>[16]</sup>

El perfil lipídico comprende principalmente los niveles de colesterol total (CT), triglicéridos (TG), lipoproteínas de alta densidad (HDL-c) y de baja densidad (LDL-c). Los valores estandarizados de los mismos se presentan en la Tabla 1.2, según el *National Cholesterol Education Program*.<sup>[17,18]</sup>

**TABLA N° 1.2. Valores estandarizados del perfil lipídico en humanos**

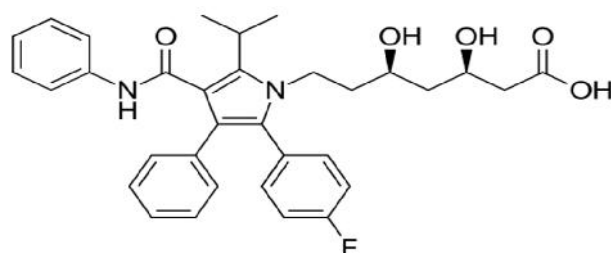
Indicador	Valores deseables	Valores de riesgo	Valores de riesgo potencial
CT	170 mg/dL	200 mg/dL	Entre 170 y 200 mg/dL
TG	100 mg/dL	150 mg/dL	Entre 100 y 150 mg/dL
LDL-c	100 mg/dL	130 mg/dL	Entre 100 y 130 mg/dL
No-HDL-c	130 mg/dL	160 mg/dL	Entre 130 y 160 mg/dL

Los cuadros dislipidémicos suelen asociarse a una alimentación desbalanceada. Sin embargo, existen reportes en que asocian la dislipidemia primaria ligada a obesidad con diabetes resistente a insulina.<sup>[19]</sup>

El infradiagnóstico de las dislipidemias fue objeto de un estudio presentado como documento de consenso, explicando que se asocia frecuentemente a la dislipidemia con el hipercolesterolemia, sin tomar en cuenta los niveles de triglicéridos ni HDL-c para prescribir un tratamiento farmacológico.<sup>[20]</sup>

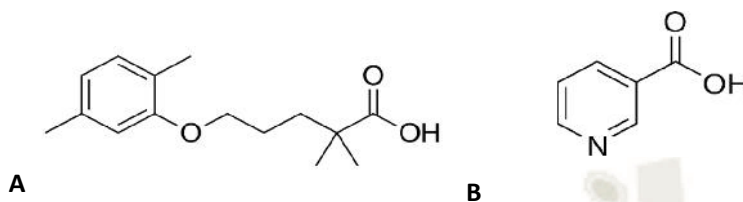
### 3.5. FARMACOTERAPIA DE LAS DISLIPIDEMIAS

Las estatinas son los fármacos de primera línea usados en el tratamiento de las dislipidemias. La estructura química de la atorvastatina (fármaco de la familia de las estatinas) se presenta en la Figura 1.10. En un estudio se determinó su eficacia como profiláctico de aterosclerosis secundaria.<sup>[21]</sup>

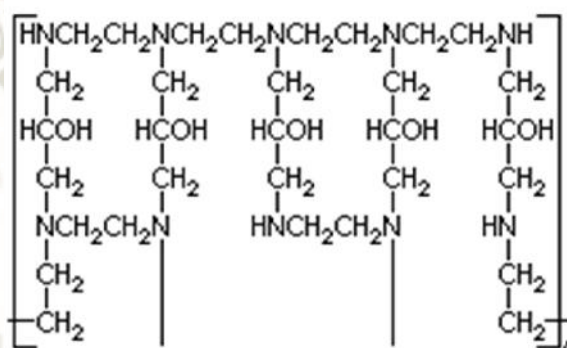


**FIGURA N° 1.10. Estructura química de la atorvastatina.**

Otros fármacos utilizados en el tratamiento de las dislipidemias comprenden: Fibratos (clofibrato, gemfibrozil), colestiramina, colestipol y ácido nicotínico, presentados en la Figura 1.11 y Figura 1.12. [22]



**FIGURA N° 1.11 Estructuras químicas. (A). Gemfibrozil; (B). Ácido nicotínico**



**FIGURA N° 1.12. Estructura química del colestipol**

### 3.6. INDUCCIÓN DEL MODELO DE HIPERLIPIDEMIA EN RATAS

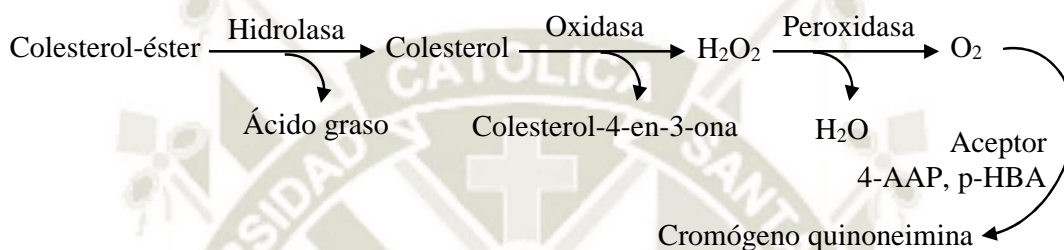
La hiperlipidemia inducida por la dieta implica que la misma contenga un valor agregado de lípidos, el cual puede incluir manteca de cerdo, aceite de maíz, colesterol, ácido cólico, aceite de coco y otras fuentes de aporte significativo de lípidos. [23,24,25,26,27]

### 3.7. DETERMINACIÓN DEL EFECTO HIPOLIPEMIANTE

Se realiza mediante análisis del perfil lipídico de los animales de experimentación y se evalúan los cambios en la concentración de los indicadores de perfil lipídico respecto al tiempo.

### 3.8. DETERMINACIÓN DEL COLESTEROL TOTAL

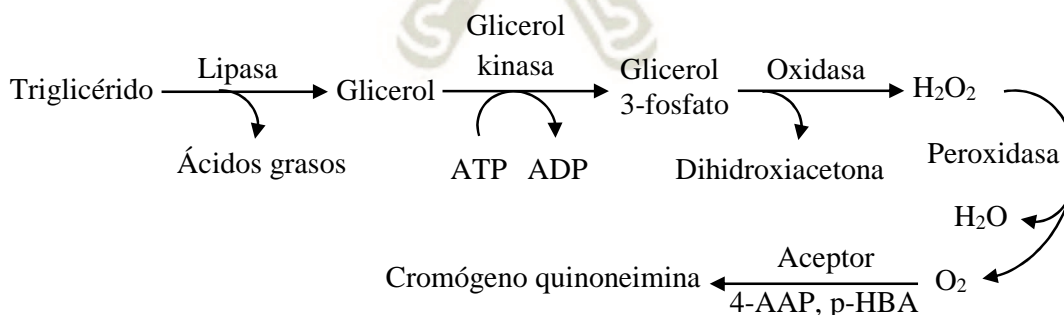
Se fundamenta en la hidrólisis del éster de colesterol, seguida de la oxidación oxidación del colesterol generado, liberando peróxido de hidrógeno, captación del mismo por una enzima peroxidasa, con el objetivo de generar oxígeno, capaz de reaccionar con un aceptor, produciendo un cromógeno a ser determinado mediante espectrofotometría visible. Las reacciones descritas se presentan en la Figura 1.13. [28,29]



**FIGURA N° 1.13. Mecanismo de reacción para la determinación de colesterol total.**

### 3.9. DETERMINACIÓN DE TRIGLICÉRIDOS

Se basa en la hidrólisis del triglicérido en glicerol y sus correspondientes ácidos grasos. La adición de glicerol kinasa y oxidasa desencadenan la producción de peróxido de hidrógeno. El mismo es captado por una enzima peroxidasa, con el objetivo de generar oxígeno, capaz de reaccionar con un aceptor, produciendo un cromógeno a ser determinado mediante espectrofotometría visible. Las reacciones descritas se presentan en la Figura 1.14. [30,31]



**FIGURA N° 1.14. Mecanismo de reacción para la determinación de triglicéridos.**

### 3.10. DETERMINACIÓN DE HDL-C Y LDL-C

El HDL-c se determina de modo similar al colesterol total, previa precipitación de lipoproteínas de baja densidad mediante adición de ácido fosfotúngstico, reacción catalizada con NaOH y  $MgCl_2$ .<sup>[32,33]</sup>

Por su parte, el LDL-c se determina por diferencia entre el colesterol total y el HDL-c.





## **CAPÍTULO II**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

## 1. MATERIALES

### 1.1. MATERIAL BIOLÓGICO

- Ratas *Rattus norvegicus* Wistar machos.

### 1.2. MATERIAL DE VIDRIO

- Frascos ámbar.
- Balón de extracción Soxhlet.
- Cámara de extracción Soxhlet.
- Condensador.
- Probetas.
- Vasos de precipitados.
- Balones de concentración para rotavapor.
- Pipetas de 1, 5 y 10 mL.
- Fiolas de 10 y 250 mL.

### 1.3. MATERIAL DE LABORATORIO

- Tamiz de 850 $\mu$ m de diámetro de poro.
- Papel filtro.
- Placas de sílica gel (Merck).
- Cuba cromatográfica.
- Tubos de microcentrífuga.
- Jeringas de 10mL.
- Cánulas para administración oral.

### 1.4. EQUIPOS DE LABORATORIO

- Balanza analítica.
- Hornilla eléctrica.
- Rotavapor acoplado a bomba Venturi.
- Baño de sonicación.
- Equipo automatizado para determinar perfil lipídico en suero Selectra Pro XS.

## 1.5. REACTIVOS

- Atorvastatina 20mg (Laboratorios naturales y genéricos S.A.C. Lote 1091037. FV 09/2020).
- Etanol 96%.
- Acetato de etilo.
- Metanol.
- Cloruro de aluminio.
- Ácido sulfúrico concentrado.
- Vainillina.
- Agua destilada.
- Cloruro de sodio 0.9%.

## 2. MÉTODOS

### 2.1. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

#### 2.1.1. RECOLECCIÓN DEL ESPÉCIMEN VEGETAL



**FIGURA N° 2.1. Muestra de *Foeniculum vulgare M.* recolectada en Urubamba, Cuzco.**

La muestra de *Foeniculum vulgare M.* fue recolectada en el valle de Urubamba, en el departamento del Cuzco, en el mes de marzo del 2018, estación de verano. (Latitud -13.310, longitud -72.118, elevación 2860 m.s.n.m.). En la región hubo lluvia frecuente en los días previos a la recolección de la planta, y la muestra en estudio (presentada en la Figura 2.1) fue tomada cerca de la ribera del río Urubamba. El espécimen vegetal fue transportado a las instalaciones de la UNSA para su respectivo análisis

botánico y confirmación del género y especie de la planta recolectada (Anexo 1).

Tras el reporte del Departamento de Biología de la UNSA se procedió a dejar secar la muestra vegetal a temperatura ambiente, evitando radiación solar directa. La muestra fue molida en una licuadora doméstica y posteriormente tamizada a través de un tamiz de 850 $\mu$ m de diámetro de poro, conservando las partículas tamizadas en un frasco de vidrio ámbar.

### 2.1.2. EXTRACCIÓN POR SOXHLET

Se pesó 15g de material tamizado en un papel filtro, doblándose y sellándose con grapas de escritorio para ser luego insertado en una cámara de extracción Soxhlet. Se armó el equipo Soxhlet como lo muestra el arreglo experimental de la figura 1.6. utilizando como solvente a etanol 70% (preparado a partir de etanol 96%), se encendió la hornilla y se procedió a obtener los compuestos activos de *Foeniculum vulgare* a través de 35 ciclos de extracción.

### 2.1.3. CONCENTRACIÓN

El contenido del balón de extracción Soxhlet fue transferido a un balón para rotavapor previamente pesado. Se armó el equipo de rotavapor conectándose a una bomba de vacío tipo Venturi, finalmente se evaporó el solvente etanol 70% y se transfirió el líquido viscoso remanente a tubos de microcentrífuga, para su almacenamiento

### 2.1.4. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

Se determinó el porcentaje de rendimiento con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Rendimiento} = \frac{\text{Peso del balón lleno} - \text{Peso del balón vacío}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100$$

(ECUACIÓN N° 2.1)

## 2.2. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Se cortó placas de sílica gel de dimensiones 3x10 cm. Se diluyó extracto vegetal de *Foeniculum vulgare M.* con etanol 96%. Con ayuda de tubos capilares se sembró extracto diluido en las placas a modo de banda, para luego ser colocadas

en una cuba cromatográfica conteniendo fase móvil: Acetato de etilo: metanol: agua (97:2:1). Tras la elución, las placas fueron retiradas de la cuba y pulverizadas con los siguientes reveladores:

Revelado general: Vainillina 5% en etanol, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5% en etanol y la placa se llevó a calor a 100°C.

Revelado para flavonoides: AlCl<sub>3</sub> 1% en etanol y la placa se llevó a luz UV a 365nm.

### 2.3. DETERMINACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO

Antes de la administración de la dieta que induciría hiperlipidemia a los animales de experimentación, se realizó un análisis de perfil lipídico basal a las 20 ratas distribuidas en 5 grupos de 4 ratas cada uno. La toma de muestra de sangre para dicho análisis consistió en una punción retro orbital en el ojo derecho del animal utilizando un tubo capilar, transfiriendo la sangre a tubos de microcentrífuga rotulados para su posterior estudio en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Universidad Católica de Santa María.

En tal establecimiento se procedió a centrifugar la sangre de las ratas para luego tomar el sobrenadante (suero) y llevarlo al equipo automatizado para determinación del perfil lipídico en suero Selectra Pro XS, el cual determinó la concentración de los analitos en unidades mg/dL: Colesterol total, triglicéridos y HDL-c. La concentración de LDL-c se obtuvo restando la concentración de colesterol total menos la de HDL-c.

Después del muestreo basal se procedió a inducir hiperlipidemia a las ratas y se realizaron nuevos análisis del perfil lipídico de las mismas a los 33 días contados a partir del muestreo basal. Posterior a la inducción de hiperlipidemia a las ratas, que duró 33 días, se les administró tratamiento con los extractos de *Foeniculum vulgare* diariamente, tomándose nuevamente muestras a los 49 y 64 días contados a partir del muestreo basal (4 muestreos en total).

## 2.4. INDUCCIÓN DE HIPERLIPIDEMIA

La dieta rica en grasa consistió en yemas de huevo de gallina y licuado de cerebro de cordero *ad libitum*. Dicho alimento fue administrado a todas las ratas durante 33 días. Tras ello, los animales recibieron alimentación normal durante el tratamiento con extractos vegetales.

## 2.5. TRATAMIENTO CON EXTRACTOS VEGETALES

A partir del día 34 se procedió a la administración del tratamiento a todos los grupos de ratas en las dosis que se pueden observar en la Tabla 2.1

**TABLA N° 2.1. Dosis de los grupos de tratamiento**

Grupos	Tratamiento
Grupo 1 (Control negativo)	Cloruro de sodio 0.9 %
Grupo 2 (Control positivo)	Atorvastatina 0.06 mg/kg
Grupo 3	Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8 mg/kg
Grupo 4	Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4 mg/kg
Grupo 5	Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20 mg/kg

## 3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la determinación de la inducción al estado hiperlipemiente, así como la del tratamiento se realizó la prueba de *t-student* a un nivel de confianza del 95% ( $p < 0.05$ ) para evaluar si existe variabilidad de los niveles del Perfil Lipídico (Colesterol Total, Triglicéridos, HDL y LDL) del día 0 al día 33, así como del día 33 al día 64.

Seguidamente se realizó un análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza del 95%, para evaluar si existe diferencia significativa entre todos los grupos en el día 33 y así determinar si los grupos se encuentran en las mismas condiciones antes del tratamiento.

Finalmente se realizó un análisis de varianza (ANOVA) en un nivel de confianza del 95%, para evaluar si existe diferencia significativa entre los grupos en el día 64, y la prueba de Tuckey para ver que grupos difieren entre sí.



## **CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 1. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Tras la identificación botánica de la muestra de *Foeniculum vulgare M.*, esta fue conservada en oscuridad durante dos semanas en un ambiente seco, para luego ser molida en una licuadora doméstica y tamizada a través de un tamiz de 850  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro como se muestra en la Figura 3.1.



**FIGURA N° 3.1. Tamizaje de la muestra de *Foeniculum vulgare M.***

Las partículas homogéneas de *Foeniculum vulgare M.* fueron llevadas a un equipo Soxhlet para la obtención de extracto hidroalcohólico de la planta por triplicado, como se muestra en la Figura 3.2. Las condiciones experimentales se describen a continuación: 15 g de planta molida y tamizada en un papel filtro introducido en la cámara de extracción Soxhlet, 150 mL de solvente etanol 70% y 35 ciclos de extracción.



**FIGURA N° 3.2. Obtención del extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare M.* mediante Soxhlet**

Posterior a la extracción, el líquido extractivo fue separado de los compuestos mediante rotavapor asistido por una bomba de vacío tipo Venturi como se presenta en la Figura 3.3. La temperatura del Baño María fue de 40°C durante el proceso de concentración de los extractos. Seguidamente los extractos concentrados de textura viscosa fueron transferidos a tubos de microcentrífuga para su conservación.



**FIGURA N° 3.3. Concentración de los extractos vegetales por rotavapor**

El análisis organoléptico del extracto de *Foeniculum vulgare M.* se esquematiza en la Tabla 3.1.

**TABLA N° 3.1. Análisis organoléptico de los extractos de *Foeniculum vulgare M.***

Olor	Color	Aspecto
<i>Sui generis</i>	Verde oscuro	Fluido, Viscoso

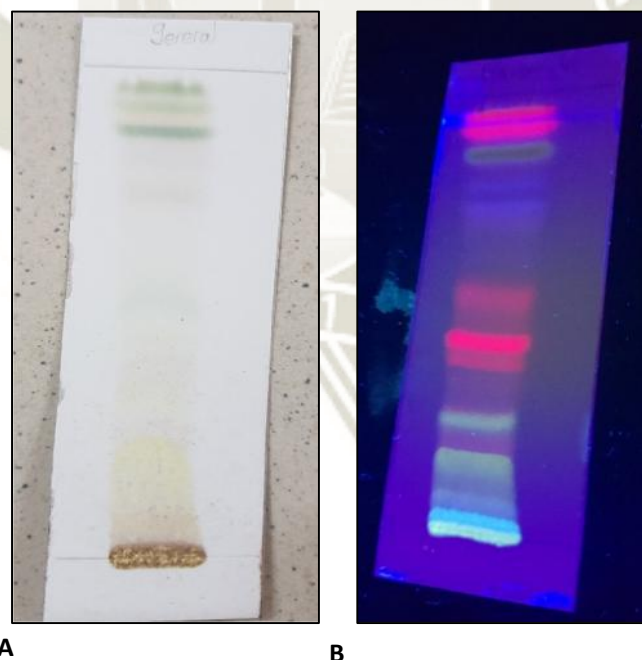
**Determinación del porcentaje de rendimiento:**

Aplicando la fórmula presentada en el capítulo anterior en el punto “2.1.4”, para la determinación del porcentaje de rendimiento (%), se obtuvo el siguiente resultado: 36.44 ± 0.82 %.

## 2. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Se cortaron dos placas de sílica gel hasta obtener áreas de 3x10 cm, demarcando los lados con un lápiz tanto la línea de base como la línea frontal en ambos con que se hizo 1 cm. Con la ayuda de un mechero se prepararon finos capilares. Se diluyó extracto concentrado de *Foeniculum vulgare M.* en etanol 96 %. Se agregó 5 mL de fase móvil a una cuba cromatográfica, compuesta de una mezcla de acetato de etilo: metanol: agua (97:2:1). Se dejó en reposo durante 15 minutos hasta saturar la cuba con la fase móvil. Se sembró extracto diluido de *Foeniculum vulgare M.* en un margen delimitado de cada placa de sílica gel a modo de banda, haciendo uso de los capilares preparados. Tras secar la placa, esta se colocó en el interior de la cuba cromatográfica donde el solvente procede la dilución del sustrato. Se retiró la placa con ayuda de una pinza, permitiendo que esta seque, usando una corriente de aire caliente.

Revelado general: Una de las placas fue pulverizada con vainillina al 5 % en etanol, y seguidamente con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 5 % en etanol. Posteriormente la placa fue llevada a una hornilla a 100 °C, tomándose la fotografía presentada en la Figura 3.4.



**FIGURA N° 3.4. Cromatografía en capa fina de *Foeniculum vulgare M.***

**(A). Análisis general; (B). Análisis para flavonoides**

Revelado para flavonoides: La otra placa de sílica gel fue pulverizada con una solución de  $AlCl_3$  1% en etanol. Posteriormente la placa fue llevada a una lámpara de luz UV a longitud de onda: 365nm. Allí se tomó la fotografía mostrada en la Figura 3.4.

Las bandas obtenidas en ambas placas cromatográficas fueron expresadas en función a su factor de retención (Rf), calculado como se muestra en la ecuación:

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida por determinada banda}}{\text{Distancia recorrida por la fase móvil}}$$

(ECUACIÓN 3.1)

La distancia recorrida por la fase móvil en ambos casos fue 8cm. De este modo se obtuvieron los Rf que se presentan en la Tabla 3.2.

**TABLA N° 3.2. Rf de cromatografías en capa fina en extractos de *Foeniculum vulgare M.***

<b>Factor de Retención (Rf)</b>	<b>General</b>	<b>Flavonoides</b>
1	0.24	0.05
2	0.37	0.08
3	0.42	0.12
4	0.54	0.21
5	0.77	0.30
6	0.82	0.42
7	0.88	0.47
8	0.95	0.56
9	0.98	0.74
10	-	0.79
11	-	0.85
12	-	0.90
13	-	0.93

**Fuente:** Elaboración propia.

Las soluciones obtenidas fueron conservadas bajo refrigeración a 4 °C para su administración a los animales de experimentación diariamente durante los días 34 al 63 contados a partir del análisis basal del perfil lipídico de las ratas.

### 3. EVALUACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO

#### 3.1. Evaluación de la inducción a la hipercolesterolemia

##### 3.1.1. Colesterol Total

Se realizó una evaluación estadística con la prueba *t-student* a un nivel de confianza del 95% como se puede observar en la Tabla 3.3. para comparar los niveles de Colesterol Total(mg/dL) encontrados el día 0 y el día 33; se trabajó con las medias de cada grupo y se encontraron los siguientes resultados:

**TABLA N° 3.3. Medias de Colesterol Total (mg/dL)**

<b>Medias de Colesterol Total (mg/dL)</b>		
<b>Grupos/ días</b>	<b>Día 0</b>	<b>Día 33</b>
Grupo 1 (Control negativo)	68.25	102.50
Grupo 2 (Control positivo)	68.00	106.75
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	62.00	103.25
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	63.50	107.00
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	67.00	104.75

**Fuente:** Elaboración propia.

**Diferencia de promedios:** -39.10

**Prueba t-student pareado:**

Hipótesis nula:  $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna  $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

**Valor T:** 25.15

**Grados de libertad:** 7

**Valor p:**  $4.01 \times 10^{-8}$

Se pudo observar que el valor p es  $4.01 \times 10^{-8}$ , mientras que el *valor t* es de 25.15, por lo que se acepta la Hipótesis alterna que nos indica que si existe diferencia altamente significativa a un nivel de confianza del 95% entre las medias de Colesterol Total encontradas el día 0 y las del día 33, y que los niveles de Colesterol Total se incrementaron en un 57.08% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia fue exitosa, después de 33 días.

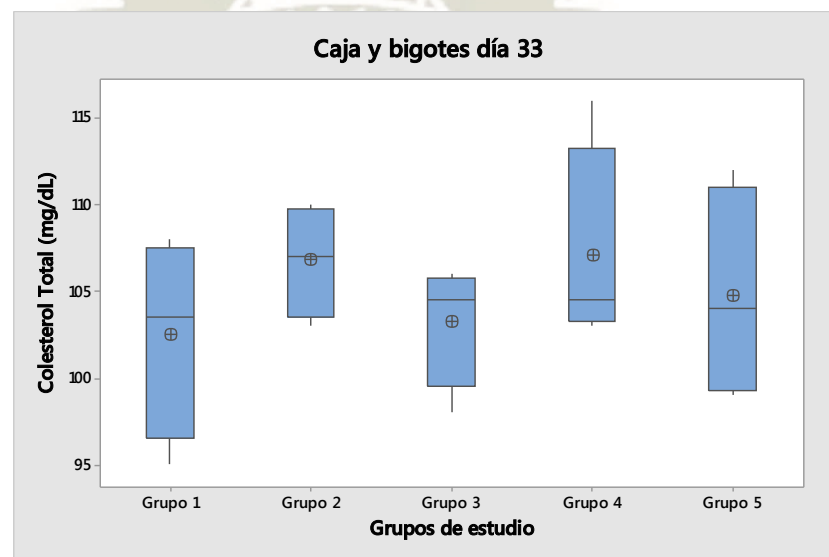
Luego se realizó un análisis de varianza a un nivel de confianza del 95%, como se puede observar en la Tabla 3.4. de los niveles de Colesterol Total encontrados el día 33 para ver si existía diferencia significativa entre los grupos luego de la inducción a la hiperlipidemia y de esta manera saber si comenzaban el tratamiento en las mismas condiciones.

**TABLA N° 3.4. Colesterol Total (mg/dL) día 33**

Colesterol Total (mg/dL) día 33	
Grupos	Promedio
Grupo 1 (Control negativo)	102.50
Grupo 2 (Control positivo)	106.75
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	103.25
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	107.00
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	104.75
<b>Valor F</b>	0.61
<b>Valor p</b>	0.66

**Fuente:** Elaboración propia.

Se encontró que el valor  $p > 0.05$  lo que nos indicó que no existe diferencia significativa en los niveles de Colesterol Total encontrados en los diferentes grupos el día 33, por lo tanto, se concluye que los 5 grupos experimentales son homogéneos al iniciar el tratamiento, como se puede observar en la Figura 3.5.



**FIGURA N° 3.5. Gráfica y bigotes del día 33**

### 3.1.2. Triglicéridos

Se realizó una evaluación estadística con la prueba *t-student* en un nivel de confianza del 95%, como se puede observar en la Tabla 3.5. para comparar los niveles de Triglicéridos(mg/dL) encontrados el día 0 y el día 33; se trabajó con las medias de cada grupo y se encontraron los siguientes resultados:

**TABLA N° 3.5. Medias de Triglicéridos (mg/dL)**

<b>Medias de Triglicéridos (mg/dL)</b>		
<b>Grupos/ días</b>	<b>Día 0</b>	<b>Día 33</b>
Grupo 1 (Control negativo)	56.25	192.25
Grupo 2 (Control positivo)	58.75	194.00
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	55.00	195.75
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	56.50	187.75
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	59.00	195.00

**Fuente:** Elaboración propia.

**Diferencia de promedios:** -135.85

**Prueba t-student pareado:**

Hipótesis nula:  $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna  $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

**Valor T:** 83.85

**Grados de libertad:** 6

**Valor p:**  $1.94 \times 10^{-10}$

Se pudo observar que el valor p es  $1.94 \times 10^{-10}$ , mientras que el valor t es de 83.85, por lo que se acepta la Hipótesis alterna que nos indica que si existe diferencia altamente significativa a un nivel de confianza del 95% entre las medias de Triglicéridos encontradas el día 0 y las del día 33, y que los niveles de Triglicéridos se incrementaron en un 237.92% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia fue exitosa, después de 33 días.

Luego se realizó un análisis de varianza a un nivel de confianza del 95%, como se puede observar en la Tabla 3.6. de los niveles de Triglicéridos

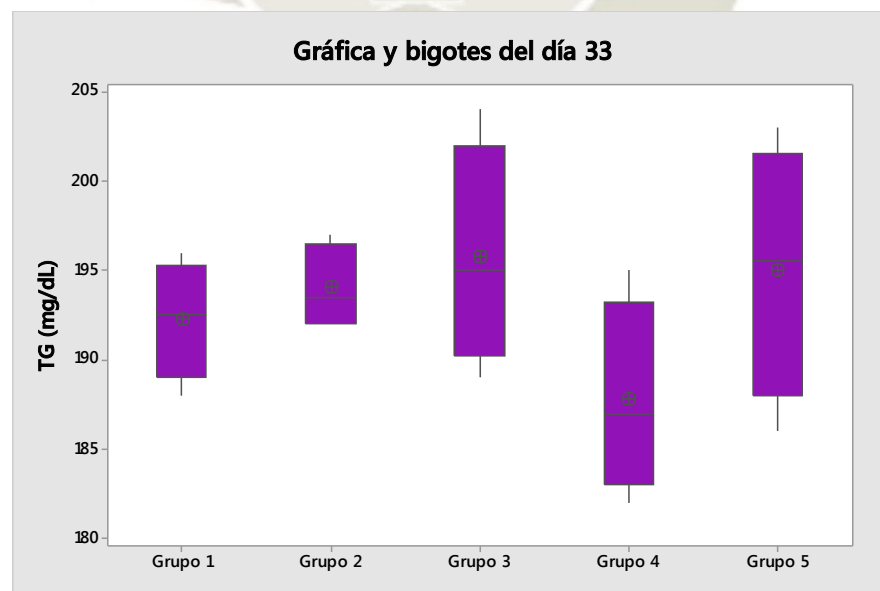
encontrados el día 33 para ver si existía diferencia significativa entre los grupos luego de la inducción a la hiperlipidemia y de esta manera saber si comenzaban el tratamiento en las mismas condiciones.

Se encontró que el valor  $p > 0.05$  lo que nos indicó que no existe diferencia significativa en los niveles de Triglicéridos encontrados en los diferentes grupos el día 33, por lo tanto, se concluye que los 5 grupos experimentales son homogéneos al iniciar el tratamiento, como se puede observar en la Figura 3.6.

**TABLA N° 3.6. Triglicéridos (mg/dL) día 33**

Triglicéridos (mg/dL) día 33	
Grupos	Promedio
Grupo 1 (Control negativo)	192.25
Grupo 2 (Control positivo)	194.00
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	195.75
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	187.75
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	195.00
<b>Valor F</b>	1.50
<b>Valor p</b>	0.25

Fuente: Elaboración propia.



**FIGURA N° 3.6. Caja y bigotes día 33**

### 3.1.3. HDL

Se realizó una evaluación estadística con la prueba *t-student* en un nivel de confianza del 95%, como se puede observar en la Tabla 3.7. para comparar los niveles de HDL(mg/dl) encontrados el día 0 y el día 33; se trabajó con las medias de cada grupo y se encontraron los siguientes resultados:

**TABLA N° 3.7. Medias de HDL (mg/dL)**

Medias de HDL (mg/dL)		
Grupos/ días	Día 0	Día 33
Grupo 1 (Control negativo)	13.75	35.75
Grupo 2 (Control positivo)	16.24	35.00
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	18.25	34.00
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	18.75	36.00
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	14.25	32.75

**Fuente:** Elaboración propia.

**Diferencia de promedios:** -18.45

**Prueba t-student pareado:**

Hipótesis nula:  $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna  $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

**Valor T:** 15.68

**Grados de libertad:** 6

**Valor p:**  $4.26 \times 10^{-6}$

Se pudo observar que el valor p es  $4.26 \times 10^{-6}$ , mientras que el valor t es de 15.68, por lo que se acepta la Hipótesis alterna que nos indica que si existe diferencia altamente significativa a un nivel de confianza del 95% entre las medias de HDL encontradas el día 0 y las del día 33, y que los niveles de HDL se incrementaron en un 113.54% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia fue exitosa, después de 33 días.

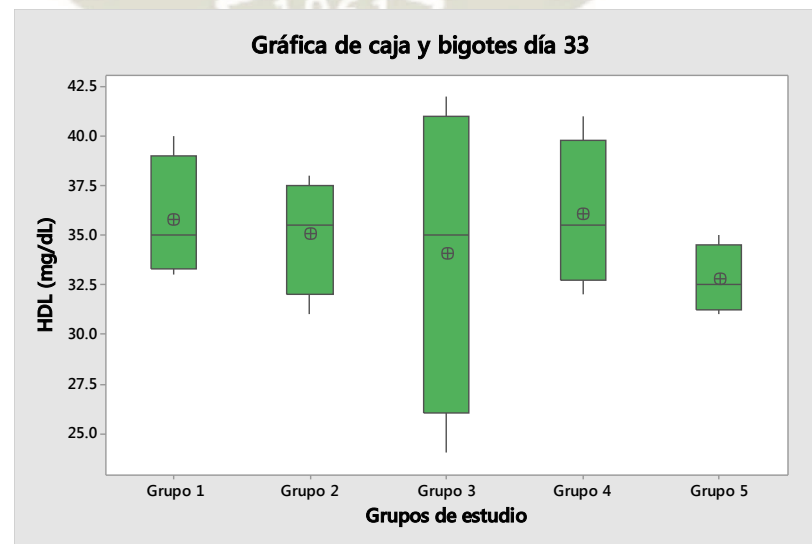
Luego se realizó un análisis de varianza a un nivel de confianza del 95%, como se puede observar en la Tabla 3.8. de los niveles de HDL encontrados el día 33 para ver si existía diferencia significativa entre los grupos luego de la inducción a la hiperlipidemia y de esta manera saber si comenzaban el tratamiento en las mismas condiciones.

**TABLA N° 3.8. HDL (mg/dL) día 33**

HDL (mg/dL) día 33	
Grupos	Promedio
Grupo 1 (Control negativo)	35.75
Grupo 2 (Control positivo)	35.00
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	34.00
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	36.00
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	32.75
<b>Valor F</b>	0.37
<b>Valor p</b>	0.83

**Fuente:** Elaboración propia.

Se encontró que el valor  $p > 0.05$  lo que nos indicó que no existe diferencia significativa en los niveles de HDL encontrados en los diferentes grupos el día 33, por lo tanto, se concluye que los 5 grupos experimentales son homogéneos al iniciar el tratamiento, como se puede observar en la Figura 3.7.



**FIGURA N° 3.7. Caja y bigotes día 33.**

### 3.1.4. LDL

Se realizó una evaluación estadística con la prueba *t-student* en un nivel de confianza del 95%, como se puede observar en la Tabla 3.9. para comparar los niveles de LDL(mg/dl) encontrados el día 0 y el día 33; se trabajó con las medias de cada grupo y se encontraron los siguientes resultados:

**TABLA N° 3.9. Medias de LDL (mg/dL)**

Medias de LDL (mg/dL)		
Grupos/ días	Día 0	Día 33
Grupo 1 (Control negativo)	54.50	66.75
Grupo 2 (Control positivo)	51.75	71.75
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	43.75	69.25
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	44.75	71.00
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	52.75	72.00

**Fuente:** Elaboración propia.

**Diferencia de promedios:** -20.65

**Prueba t-student pareado:**

Hipótesis nula:  $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna  $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

**Valor T:** 8.60

**Grados de libertad:** 5

**Valor p:**  $3.51 \times 10^{-4}$

Se pudo observar que el valor p es  $3.51 \times 10^{-4}$ , mientras que el valor t es de 8.60, por lo que se acepta la Hipótesis alterna que nos indica que si existe diferencia altamente significativa a un nivel de confianza del 95% entre las medias de LDL encontradas el día 0 y las del día 33, y que los niveles de LDL se incrementaron en un 41.72% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia fue exitosa, después de 33 días.

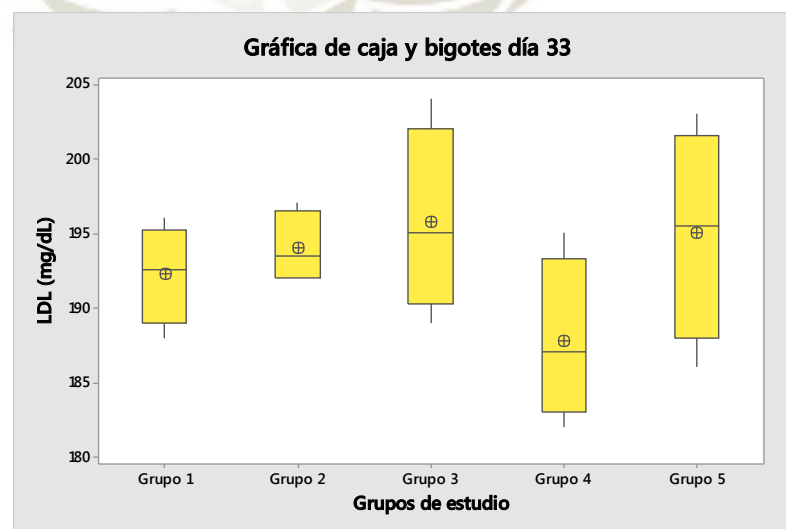
Luego se realizó un análisis de varianza a un nivel de confianza del 95%, como se puede observar en la Tabla 3.10. de los niveles de LDL encontrados el día 33 para ver si existía diferencia significativa entre los grupos luego de la inducción a la hiperlipidemia y de esta manera saber si comenzaban el tratamiento en las mismas condiciones.

**TABLA N° 3.10. LDL (mg/dL) día 33**

LDL (mg/dL) día 33	
Grupos	Promedio
Grupo 1 (Control negativo)	66.75
Grupo 2 (Control positivo)	71.75
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	69.25
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	71.00
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	72.00
<b>Valor F</b>	1.50
<b>Valor p</b>	0.25

**Fuente:** Elaboración propia.

Se encontró que el valor  $p > 0.05$  lo que nos indicó que no existe diferencia significativa en los niveles de LDL encontrados en los diferentes grupos el día 33, por lo tanto, se concluye que los 5 grupos experimentales son homogéneos al iniciar el tratamiento, como se puede observar en la Figura 3.8..



**FIGURA N° 3.8. Caja y bigotes día 33.**

### 3.2. Evaluación del efecto hipolipemiante del extracto

#### 3.2.1. Colesterol Total

Se realizó una evaluación estadística con la prueba *t-student* a un nivel de confianza del 95%, como se puede observar en la Tabla 3.11. para comparar los niveles de Colesterol Total(mg/dl) encontrados el día 33 y el día 64; se trabajó con las medias de cada grupo y se encontraron los siguientes resultados:

**TABLA N° 3.11. Medias de Colesterol Total (mg/dL)**

Medias de Colesterol Total (mg/dL)		
Grupos/ días	Día 33	Día 64
Grupo 1 (Control negativo)	102.50	92.25
Grupo 2 (Control positivo)	106.75	75.00
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	103.25	83.25
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	107.00	80.00
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	104.75	71.00

**Fuente:** Elaboración propia.

**Diferencia de promedios:** 24.55

**Prueba t-student pareado:**

Hipótesis nula:  $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna  $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

**Valor T:** 6.53

**Grados de libertad:** 4

**Valor p:**  $3 \times 10^{-4}$

Se pudo observar que el valor p es  $3 \times 10^{-4}$ , mientras que el valor t es de 6.53, por lo que se acepta la Hipótesis alterna que nos indica que si existe diferencia altamente significativa a un nivel de confianza del 95% entre las medias de Colesterol Total encontradas el día 33 y las del día 64, y que los niveles de Colesterol Total disminuyeron, lo que demostró que el

tratamiento con el extracto de *Foeniculum vulgare M.* fue exitoso después de 31 días.

Luego se realizó un análisis de varianza a un nivel de confianza del 95%, como se puede observar en la Tabla 3.12. de los niveles de Colesterol Total encontrados el día 64 para ver si existía diferencia significativa entre los grupos, y la prueba de tuckey para determinar que grupos diferían entre sí, para determinar la dosis más efectiva.

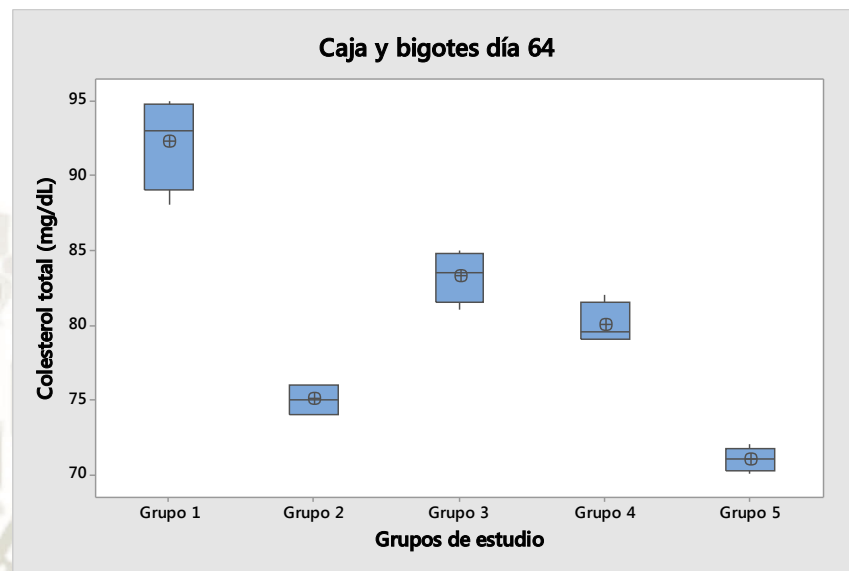
**TABLA N° 3.12. Colesterol Total (mg/dL) día 64**

Colesterol Total (mg/dL) día 64			
Grupos	Promedio	Tuckey	Disminución (%)
Grupo 1 (Control negativo)	92.25	A	-10.00
Grupo 2 (Control positivo)	75.00	C	-29.74
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	83.25	B	-19.37
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	80.00	B	-25.23
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	71.00	D	-32.22
<b>Valor F</b>		80.66	
<b>Valor p</b>		p<0.05	
<b>Tuckey</b>	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes		

**Fuente:** Elaboración propia.

Se encontró que el valor  $p < 0.05$  lo que nos indicó que existe diferencia altamente significativa en los niveles de Colesterol Total encontrados en los diferentes grupos el día 64, lo que indicó que el extracto de hinojo facilita la disminución del Colesterol Total, después de 31 días, y que cada dosis tuvo un efecto diferente en la disminución de los niveles de Colesterol Total, evidenciándose que el Grupo 1 disminuyó sus niveles de Colesterol Total en apenas 10.00%, lo que indicó que la disminución de Colesterol Total se debió gracias al tratamiento y no al cambio de dieta. Además, se puede observar que no existe diferencia significativa entre los grupos 3 y 4 lo que indica que no hay diferencia significativa entre las dosis de 0.8 y 4 mg/kg/día, además que el grupo 5 difiere significativamente de los demás y es el que tuvo el mayor porcentaje de disminución de los niveles de Colesterol Total, demostrando que la dosis

de 20mg/kg/día tiene un mejor efecto incluso que las del grupo 2, que fue nuestro control positivo, como se puede observar en la Figura 3.9.



**FIGURA N° 3.9. Gráfica de caja y bigotes día 64**

### 3.2.2. Triglicéridos

Se realizó una evaluación estadística con la prueba *t-student* a un nivel de confianza del 95%, como se puede observar en la Tabla 3.13. para comparar los niveles de Triglicéridos(mg/dl) encontrados el día 33 y el día 64; se trabajó con las medias de cada grupo y se encontraron los siguientes resultados:

**TABLA N° 3.13. Medias de Triglicéridos (mg/dL)**

Medias de Triglicéridos (mg/dL)		
Grupos/ días	Día 33	Día 64
Grupo 1 (Control negativo)	192.25	160.00
Grupo 2 (Control positivo)	194.00	82.25
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	195.75	134.00
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	187.75	110.50
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	195.00	84.25

**Fuente:** Elaboración propia.

**Diferencia de promedios:** 78.70

**Prueba t-student pareado:**

Hipótesis nula:  $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna  $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

**Valor T:** 5.27

**Grados de libertad:** 4

**Valor p:**  $6 \times 10^{-3}$

Se pudo observar que el valor p es  $6 \times 10^{-3}$ , mientras que el valor t es de 5.27, por lo que se acepta la Hipótesis alterna que nos indica que si existe diferencia altamente significativa a un nivel de confianza del 95% entre las medias de Triglicéridos encontradas el día 33 y las del día 64, y que los niveles de Triglicéridos disminuyeron, lo que demostró que el tratamiento con el extracto de *Foeniculum vulgare M.* fue exitoso, después de 31 días.

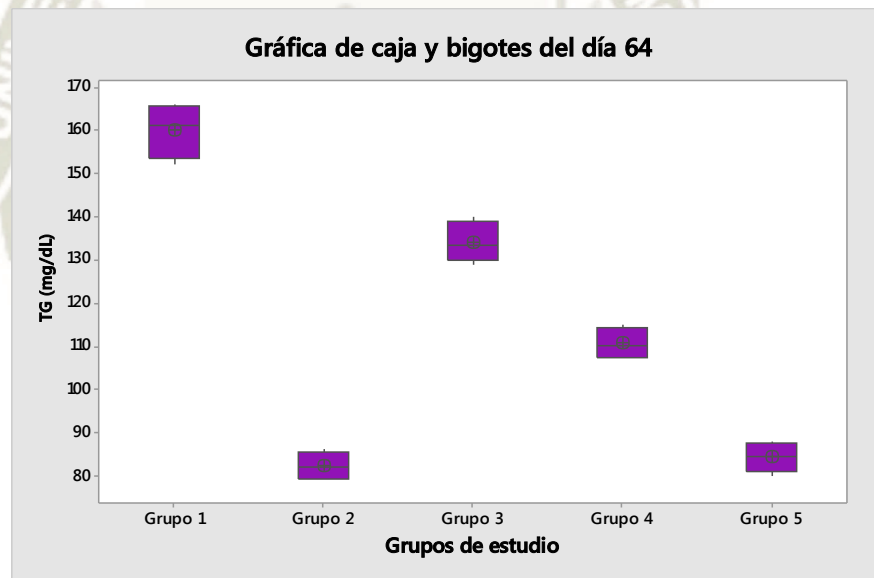
Luego se realizó un análisis de varianza a un nivel de confianza del 95%, como se puede observar en la Tabla 3.14. de los niveles de Triglicéridos encontrados el día 64 para ver si existía diferencia significativa entre los grupos, y la prueba de tuckey para determinar que grupos diferían entre sí, para determinar la dosis más efectiva.

Se encontró que el valor  $p < 0.05$  lo que nos indicó que existe diferencia altamente significativa en los niveles de Triglicéridos encontrados en los diferentes grupos el día 64, lo que indicó que el extracto de hinojo facilita la disminución de Triglicéridos, después de 31 días y que cada dosis tuvo un efecto diferente en la disminución de los niveles de Triglicéridos, evidenciándose que el Grupo 1 disminuyó sus niveles de Triglicéridos en apenas 16.78%, lo que indicó que la disminución de Triglicéridos se debió gracias al tratamiento y no al cambio de dieta. Además, se pudo observar que los mejores resultados fueron los del Grupo 2 y Grupo 5, no habiendo diferencia significativa entre ambos, además que se encontró diferencia significativa en los demás grupos lo que evidenció que las diferentes dosis del extracto de *Foeniculum vulgare M.* poseen un efecto directamente

proporcional a su dosis administrada, como se puede observar en la Figura 3.10.

**TABLA N° 3.14. Triglicéridos (mg/dL) día 64**

Triglicéridos (mg/dL) día 64			
Grupos	Promedio	Tuckey	Disminución (%)
Grupo 1 (Control negativo)	160.00	A	-16.78
Grupo 2 (Control positivo)	82.25	C	-57.60
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	134.00	B	-31.55
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	110.50	B	-41.15
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	84.25	D	-57.79
<b>Valor F</b>		223.67	
<b>Valor p</b>		p<0.05	
<b>Tuckey</b>	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes		



**FIGURA N° 3.10. Gráfica de caja y bigotes del día 64.**

### 3.2.3. HDL

Se realizó una evaluación estadística con la prueba *t-student* a un nivel de confianza del 95%, como se puede observar en la Tabla 3.15. para comparar los niveles de HDL(mg/dl) encontrados el día 33 y el día 64; se trabajó con las medias de cada grupo y se encontraron los siguientes resultados:

**TABLA N° 3.15. Medias de HDL (mg/dL)**

<b>Medias de HDL (mg/dL)</b>		
<b>Grupos/ días</b>	<b>Día 33</b>	<b>Día 64</b>
Grupo 1 (Control negativo)	35.75	28.25
Grupo 2 (Control positivo)	35.00	22.25
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	34.00	25.25
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	36.00	23.00
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	32.75	17.00

**Fuente:** Elaboración propia.

**Diferencia de promedios:** 11.55

**Prueba t-student pareado:**

Hipótesis nula:  $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna  $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

**Valor T:** 5.92

**Grados de libertad:** 4

**Valor p:**  $4 \times 10^{-3}$

Se pudo observar que el valor p es  $4 \times 10^{-3}$ , mientras que el valor t es de 5.92, por lo que se acepta la Hipótesis alterna que nos indica que si existe diferencia altamente significativa a un nivel de confianza del 95% entre las medias de HDL encontradas el día 33 y las del día 64, y que los niveles de HDL disminuyeron, lo que demostró que el tratamiento con el extracto de *Foeniculum vulgare M.* fue exitoso después de 31 días.

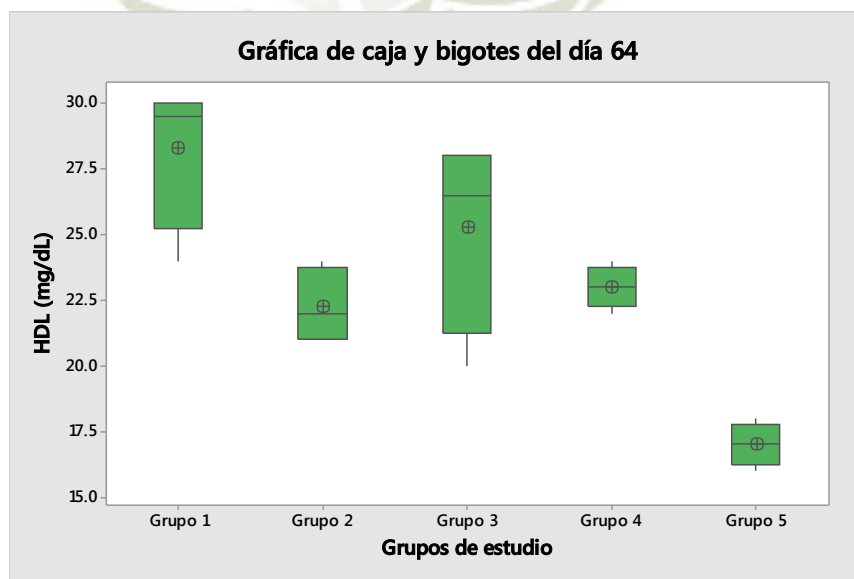
Luego se realizó un análisis de varianza a un nivel de confianza del 95%, como se puede observar en la Tabla 3.16. de los niveles de HDL encontrados el día 64 para ver si existía diferencia significativa entre los grupos, y la prueba de tuckey para determinar que grupos diferían entre sí, para determinar la dosis más efectiva.

**TABLA N° 3.16. HDL (mg/dL) día 64**

<b>HDL (mg/dL) día 64</b>			
<b>Grupos</b>	<b>Promedio</b>	<b>Tuckey</b>	<b>Disminución (%)</b>
Grupo 1 (Control negativo)	28.25	A	-20.98
Grupo 2 (Control positivo)	22.25	B	-36.43
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	25.25	B	-25.74
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	23.00	B	-34.29
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	17.00	C	-52.45
<b>Valor F</b>		13.24	
<b>Valor p</b>		p<0.05	
<b>Tuckey</b>	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes		

**Fuente:** Elaboración propia.

Se encontró que el valor  $p < 0.05$  lo que nos indicó que existe diferencia altamente significativa en los niveles de HDL encontrados en los diferentes grupos el día 64, lo que indicó que el extracto de hinojo facilita la disminución de los niveles de HDL después de 31 días y que cada dosis tuvo un efecto diferente en la disminución de los niveles de HDL, evidenciándose que el Grupo 1 disminuyó sus niveles de HDL en apenas 20.98%, y que sus resultados difieren de manera significativa con los demás, lo que indicó que el efecto producido es debido al tratamiento y no al cambio de dieta, además se puede observar que no hay diferencia en los resultados de los grupos 2, 3 y 4, pero si con el grupo 5 que fue el que obtuvo los niveles más bajos de HDL, como se puede observar en la Figura 3.11.



**FIGURA N° 3.11. Gráfica de caja y bigotes del día 64**

### 3.2.4. LDL

Se realizó una evaluación estadística con la prueba *t-student* a un nivel de confianza del 95% como se puede observar en la Tabla 3.17. para comparar los niveles de LDL(mg/dl) encontrados el día 33 y el día 64; se trabajó con las medias de cada grupo y se encontraron los siguientes resultados:

**Diferencia de promedios:** 13.00

**Prueba t-student pareado:**

Hipótesis nula:  $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna  $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

**Valor T:** 5.92

**Grados de libertad:** 5

**Valor p:**  $2 \times 10^{-3}$

**TABLA N° 3.17. Medias de LDL (mg/dL)**

Medias de LDL (mg/dL)		
Grupos/ días	Día 33	Día 64
Grupo 1 (Control negativo)	66.75	64.00
Grupo 2 (Control positivo)	71.75	52.75
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg/kg)	69.25	58.00
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/kg)	71.00	57.00
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/kg)	72.00	54.00

**Fuente:** Elaboración propia.

Se pudo observar que el valor p es  $4 \times 10^{-3}$ , mientras que el valor t es de 5.92, por lo que se acepta la Hipótesis alterna que nos indica que si existe diferencia altamente significativa en un nivel de confianza del 95% entre las medias de LDL encontradas el día 33 y las del día 64, y que los niveles de LDL disminuyeron, lo que demostró que el tratamiento con el extracto de *Foeniculum vulgare M.* fue exitoso, después de 31 días.

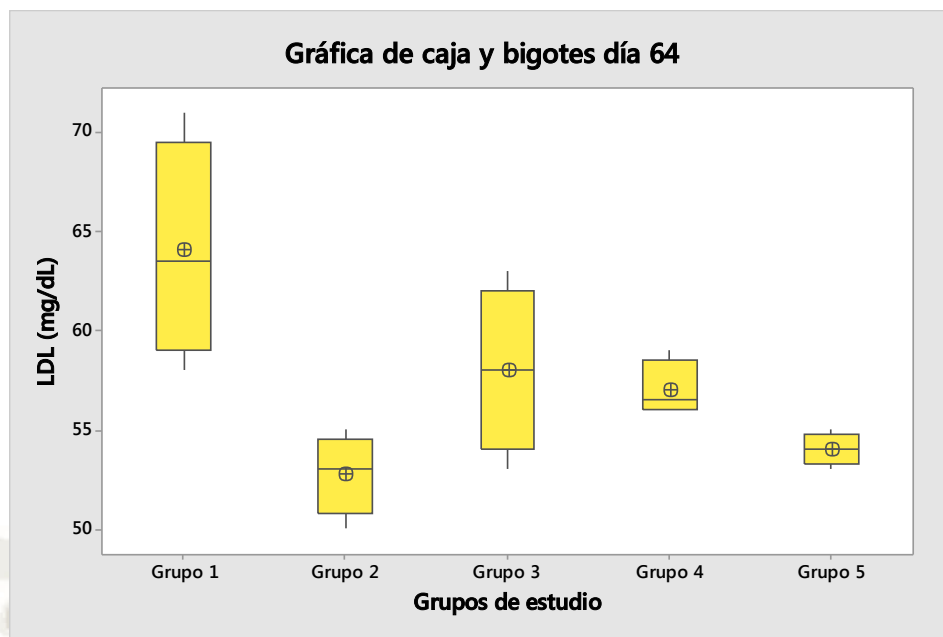
Luego se realizó un análisis de varianza a un nivel de confianza del 95% de los niveles de LDL encontrados el día 64 para ver si existía diferencia significativa entre los grupos, y la prueba de tuckey para determinar que grupos diferían entre sí, para determinar la dosis más efectiva.

**TABLA N° 3.18. LDL (mg/dL) día 64**

LDL (mg/dL) día 64			
Grupos	Promedio	Tuckey	Disminución (%)
Grupo 1 (Control negativo)	64.00	A	-4.12
Grupo 2 (Control positivo)	52.75	B	-26.48
Grupo 3 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 0.8mg)	58.00	B	-19.16
Grupo 4 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 4mg/k)	57.00	B	-19.72
Grupo 5 (Extracto de <i>Foeniculum vulgare</i> 20mg/)	54.00	B	-25.00
<b>Valor F</b>		7.09	
<b>Valor p</b>		p<0.05	
<b>Tuckey</b>	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes		

**Fuente:** Elaboración propia.

Se encontró que el valor  $p < 0.05$  lo que nos indicó que existe diferencia altamente significativa en los niveles de LDL encontrados en los diferentes grupos el día 64, lo que indicó que el extracto de hinojo facilita la disminución de los niveles de LDL después de 31 días y que cada dosis tuvo un efecto diferente en la disminución de los niveles de LDL, evidenciándose que el Grupo 1 disminuyó sus niveles de LDL en apenas 4.12%, y que sus resultados difieren de manera significativa con los demás, lo que indicó que el efecto producido es debido al tratamiento y no al cambio de dieta, además que el Grupo 1 difiere de manera significativa con los demás, mas no existe diferencia significativa entre los demás grupos, no obstante se evidenciaron los mejores resultados en el Grupo 5 que fue el que recibió la mayor dosis del extracto, como se puede observar en la Figura 3.12.



**FIGURA N° 3.12. Gráfica de caja de bigotes día 64.**

### 3.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Oulmouden [47-50] y colaboradores. Indujeron hiperlipidemia a los animales de experimentación con Triton WR-1339, un detergente capaz de inhibir la actividad de las lipasas, permitiendo la acumulación de los lípidos en suero, según lo describen Otway y colaboradores. Estudiaron el efecto hipolipemiante del extracto metanólico de *Foeniculum vulgare* en animales de experimentación, concluyendo en un decremento significativo en los niveles de colesterol total en plasma, triglicéridos, LDL-colesterol y apolipoproteína B.

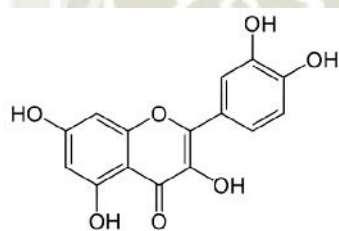
Sin embargo hay que tomar en cuenta que la inducción de hiperlipidemia con Triton WR-1339 tardó únicamente 24 horas en incrementar significativamente el perfil lipídico de los animales de experimentación evaluados por Harnafi, Amrani, Jingjing [51-53] y colaboradores, contrario a la inducción con dieta rica en grasa utilizada en la presente investigación que, como se observó, tardó 33 días hasta evidenciarse un incremento significativo del perfil lipídico.

Weiping [53-54] y colaboradores identificaron polifenoles y antioxidantes en *Foeniculum vulgare* mediante cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectroscopía de masas, determinando asimismo su efecto hipolipemiante.

Jingjing y colaboradores correlacionaron el contenido de flavonoides de *Foeniculum vulgare* y la reducción del índice LDL/HDL, lo que podría facilitar el transporte de colesterol de tejidos periféricos al hígado, reduciendo el riesgo de enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis.

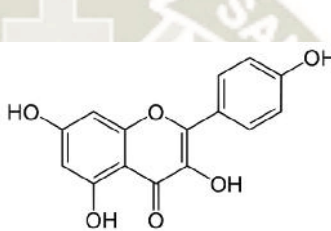
Badgujar <sup>[55-63]</sup> y colaboradores realizaron una revisión de varios autores sobre los fitoconstituyentes de *Foeniculum vulgare*, describiendo los siguientes flavonoides: quercetina, kaempferol, isoramnetina y eriodictiol como heterósidos acoplados a moléculas de glucosa, rutina, galactosa, arabinosa y glucorónido.

### Estructura Química de los flavonoides.



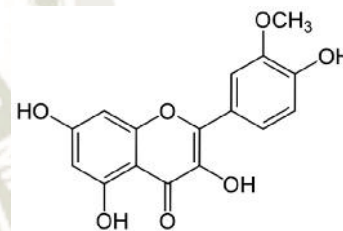
A

(A). Quercetina



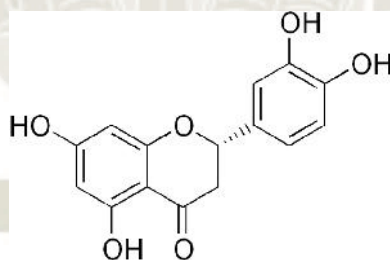
B

(B). Kaempferol



C

(C). Isoramnetina



D

(D). Eriodictiol.

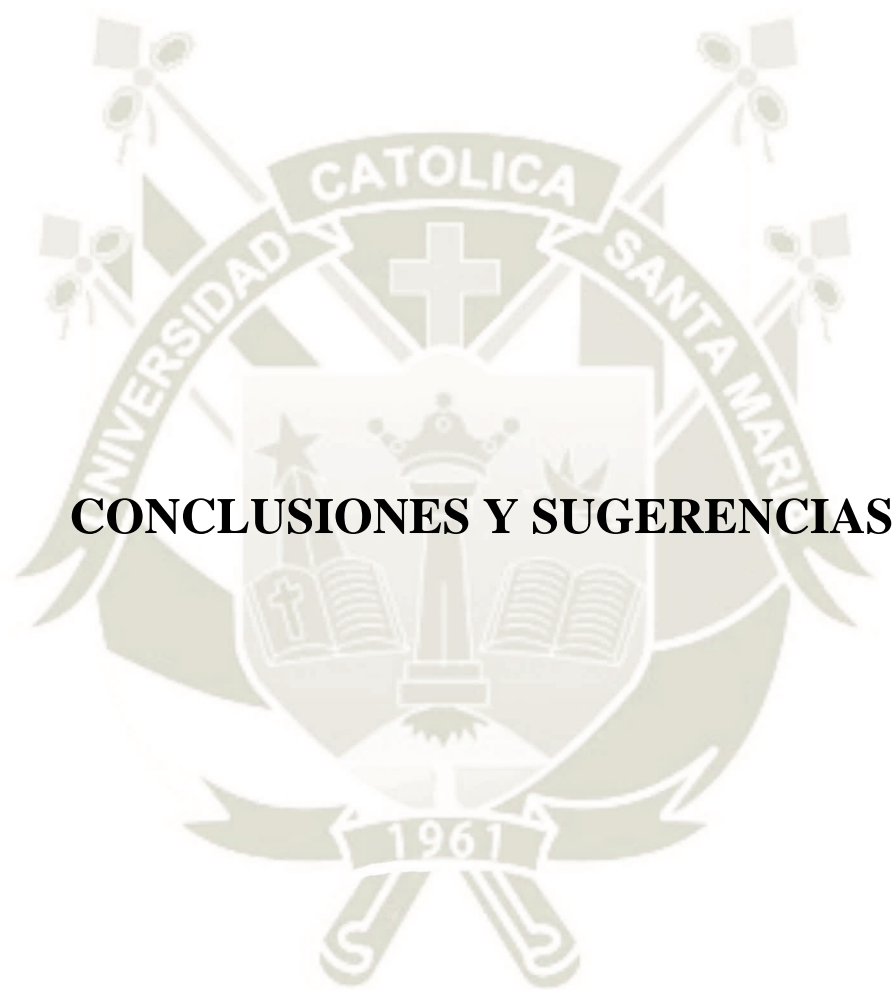
El posible mecanismo de acción por el cual los flavonoides de *Foeniculum vulgare* ejercen efecto hipolipemiante fue descrito por Robak, Katiyar <sup>[64-66]</sup> y colaboradores, quienes determinaron la capacidad de la catequina y quercetina de inhibir la oxidación o activación del LDL-colesterol, así como la relación entre su propiedad de inhibir a la enzima lipooxigenasa con la protección de las células linfoides contra los efectos citotóxicos de las LDL oxidadas.

Ozbek <sup>[67-68]</sup> y colaboradores describieron el efecto hepatoprotector de *Foeniculum vulgare* tras inducción de daño hepático a ratas con tetracloruro de carbono. Los autores observaron que el extracto de hinojo reduce los niveles de aspartato aminotransferasa (AST), alanino aminotransferasa (ALT), fosfatasa alcalina (ALP) y bilirrubina sérica, todos ellos indicadores de daño hepático. Qiang y colaboradores indicaron que el posible mecanismo de acción hepatoprotectora de *Foeniculum vulgare* consiste en inhibición de la peroxidación lipídica, previniendo fibrosis hepática.

El trabajo que se ha llevado a cabo como se puede apreciar, Oulmouden <sup>[47-50]</sup> y colaboradores Indujeron hiperlipidemia con Triton WR-1339 el mismo que permite alterar el perfil lipídico en 24 horas en animales de experimentación.

El presente trabajo tiene la ventaja de que la alteración del perfil lípido es hecho de manera natural; es decir con una dieta rica en grasas naturales, de allí que, después de 33 días se consiguió tener 5 grupos experimentales haciendo total de 20 animales de experimentación, con un perfil lipídico alterado y sobre todo se estableció homogeneidad en estos 5 grupos (ver N° Tabla 3.4, 3.5, 3.6, 3.10).

Paucara Hilario, Tania Verónica en el año 2015, realizó la evaluación del efecto hipolipemiente de los extractos de las semillas de Salvia hispánica L. (chía) administrado en animales de experimentación, luego de 30 días de tratamiento logró disminuir los niveles de Colesterol Total en un 30.99% y los de Triglicéridos en un 27.98%, siendo mi extracto más efectivo que este en el mismo periodo de tiempo. <sup>[69]</sup>



## **CONCLUSIONES Y SUGERENCIAS**

## CONCLUSIONES

**PRIMERA:** Se obtuvo el extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare M.* a partir de hojas secas del espécimen vegetal con un 36.44. % de rendimiento.

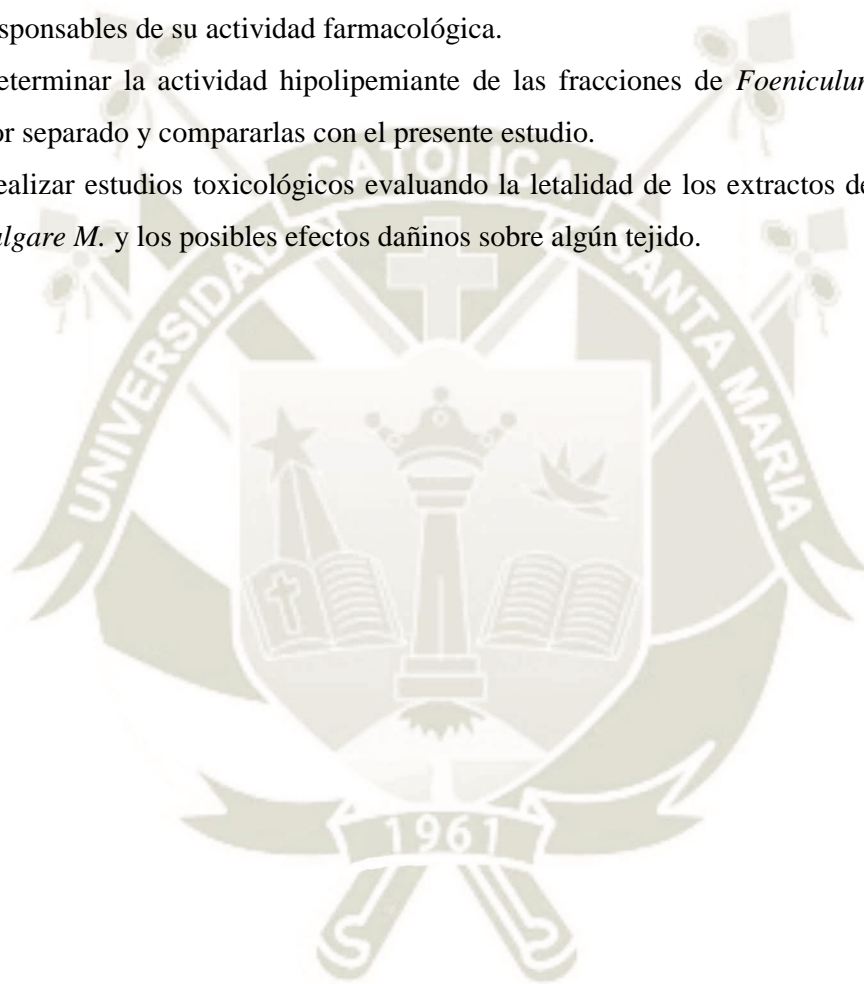
**SEGUNDA:** Se determinó cualitativamente la presencia de flavonoides en el extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare M.*, por el método de cromatografía de capa fina.

**TERCERA:** Se produjo hiperlipidemia en animales de experimentación mediante una dieta rica en lípidos en base a yema de huevo de gallina y cerebro de cordero, existiendo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el perfil lipídico basal y tras 33 días de inducción de hiperlipidemia.

**CUARTA:** Se demostró el efecto hipolipémico del extracto hidroalcohólico de *Foeniculum vulgare M.* "Hinojo" en modelos de experimentación *in vivo*, no habiendo diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre el efecto producido por el extracto a dosis 20 mg/kg y el control de atorvastatina a 0.06 mg/kg al evaluar los niveles de colesterol y triglicéridos.

## SUGERENCIAS

1. Aislar los compuestos responsables de la actividad hipolipemiante de *Foeniculum vulgare M.* a través de cromatografía preparativa.
2. Comprobar si los flavonoides identificados de *Foeniculum vulgare M.* son los responsables de su actividad farmacológica.
3. Determinar la actividad hipolipemiante de las fracciones de *Foeniculum vulgare M.* por separado y compararlas con el presente estudio.
4. Realizar estudios toxicológicos evaluando la letalidad de los extractos de *Foeniculum vulgare M.* y los posibles efectos dañinos sobre algún tejido.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1]. Mostacero, Castillo, Mejía, Gamarra, Charcape y Ramírez. “Plantas Medicinales del Perú: Taxonomía, ecogeografía, fenología y etnobotánica”. (2011). Pág. 277-278
- [2]. Berdonces. “Gran enciclopedia de las plantas medicinales”. (1996). Pág. 594-595
- [3]. El hinojo [en línea] Monze. [fecha de acceso 30 de marzo de 2018]. URL disponible en: <http://www.huertodelreymoro.org/el-hinojo/>
- [4]. Kuklinski. “Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural”. (2003). Pág 32,141-142
- [5]. Bruneton. “Farmacognosia, fitoquímica, plantas medicinales”. (2003). Pág. 510-511
- [6]. Kofi et al. (2017) “Potential production of biodiesel from green microalgae” *Biofuels*. DOI: 10.1080/17597269.2017.1348188
- [7]. Armesto et al. (2011) “Lípidos, colesterol y lipoproteínas” *Galicia Clin.* 72 (Supl.1), S7-S17
- [8]. Brown et al. (1997) “The SREBP Pathway: Regulation of Cholesterol Metabolism by Proteolysis of a Membrane-Bound Transcription Factor” *Cell* 89(3), 331-340
- [9]. Hägele et al. (1983) “Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency” *Clin. Chem.* 29(6), 1075-1080
- [10]. Richmond, W (1973) “Preparation and Properties of a Cholesterol Oxidase from *Nocardia* sp. and Its Application to the Enzymatic Assay of Total Cholesterol in Serum” *Clin. Chem.* 19(12), 1350-1356
- [11]. Srivastava et al. (2000) “Triglycerides-based diesel fuels” *Renewable & Sustainable Energy Reviews* 4, 111-133
- [12]. Bucolo et al. (1973) “Quantitative determination of serum triglycerides by the use of enzymes” *Clin. Chem.* 19(5), 476-482
- [13]. Miller et al. (1975) “PLASMA-HIGH-DENSITY-LIPOPROTEIN CONCENTRATION AND DEVELOPMENT OF ISCHÆMIC HEART-DISEASE” *The Lancet* 305(7897), 16-19

- [14]. Friedewald et al. (1972) “Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge” Clin. Chem. 18(6), 499-502
- [15]. Gordon et al. (1977) “High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease: The Framingham study” The American Journal of Medicine 62(5), 707-714
- [16]. Enfermedades cardiovasculares – El enfoque de alto riesgo [en línea] Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud. [fecha de acceso 30 de marzo de 2018]. URL disponible en:  
[http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=4375%3A2010-high-risk-approach&catid=1612%3Acardiovascular-diseases&Itemid=3465&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=4375%3A2010-high-risk-approach&catid=1612%3Acardiovascular-diseases&Itemid=3465&lang=es)
- [17]. Pitueli et al. (2008) “Prevalencia de factores de riesgo de enfermedad cardiovascular: obesidad y perfil lipídico” Anales de pediatría 68(3), 257-263
- [18]. American Academy of Pediatrics. (1992) “National Cholesterol Education Program: Report of Expert Panel on Blood Cholesterol levels in Children & Adolescents” Pediatrics. 89, 525-584.
- [19]. Homend et al. (2003) “Obesity and dyslipemia” Endocrinol Metab Clin North Am. 32, 855-867
- [20]. Foro Dislipidemia Aterogénica (2013) “Consenso multidisciplinar sobre dislipidemia aterogénica” Clin Invest Arterioscl. 25(2), 83-91
- [21]. Arguedas, José. (2002) “Farmacoterapia: Los Usos de las Estatinas: Segunda Parte” Revista Costarricense de Cardiología 4(2)
- [22]. Goodman & Gilman. “Las bases farmacológicas de la terapéutica”. (1996). Pág. 937-962
- [23]. Hossam et al. (2005) “Curcumin attenuates diet induced hypercholesterolemia in rats”. Med Sci Monit. 11(7), BR228-234.
- [24]. Jain et al. (2007) “Hypolipidemic and Antiatherosclerotic Effect of Leptadenia pyrotechnica Extract in Cholesterol Fed Rabbits” Asian J. Exp. Sci., 21(1), 115-122
- [25]. Metwally et al. (2009) “Effects of Silymarin on Lipid Metabolism in Rats” World Applied Sciences Journal 6(12), 1634-1637
- [26]. Dhulasavant et al. (2010) “Antihyperlipidemic Activity of Cinnamomum tamala Nees. on High Cholesterol Diet Induced Hyperlipidemia” Int. J. PharmTech Res. 2(4)

- [27]. Kim et al. (1995) "Effects of Platycodon Grandilorum Feeding on Serum and Liver Lipid Concentrations in Rats with Diet-Induced Hyperlipidemia" J. Nutr. Sci. Vitaminol. 41, 485-491
- [28]. Allain et al. (1974) "Enzymatic determination of total serum cholesterol" Clin. Chem. 20(4), 470-475
- [29]. Richmond, W. (1992) "Analytical reviews in clinical biochemistry: the quantitative analysis of cholesterol" Ann. Clin. Biochem. 29, 577-597
- [30]. Fossati et al. (1982) "Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide" Clin. Chem. 28(10), 2077-2080
- [31]. McGowan et al. (1983) "A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides" Clin. Chem. 29(3), 538-542
- [32]. Lopes et al. (1977) "Cholesterol determination in high-density lipoproteins separated by three different methods" Clin. Chem. 23(5), 882-884
- [33]. Burnstein et al. (1970) "Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions" J. Lipid Res. 11, 583
- [34]. Ferrándiz et al. (1991) "Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids" Agents and Actions 32, 3-4
- [35]. Gascó et al. (1984) "Anti-inflammatory and anti-ulcer properties of hypolaetin-8-glucoside, a novel plant flavonoid" J. Pharm. Pharmacol. 36, 820-823
- [36]. Havsteen, B. (1983) "Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency" Biochem. Pharmacol. 32, 1141-1148
- [37]. Alearaz et al. (1987) "Modification of arachidonic metabolism by flavonoids" J. Ethnopharmacol. 21, 209-229
- [38]. Jiménez et al. (1988) "Flavonoids as anti-inflammatory agents" Fitoterapia 59, 25-38
- [39]. Hoult et al. (1985) "Actions of flavonoids and the novel anti-inflammatory flavone, hypolaetin-8-glucoside, on prostaglandin biosynthesis and inactivation" Biochem. Pharmacol. 34, 2477-2482
- [40]. Villar et al. (1986) "Anti-inflammatory activity of a flavone from *Sideritis leucantha*" Planta Med. 52, 541
- [41]. Yoshimoto et al. (1983) "Flavonoids: potent inhibitors of arachidonate-5-lipoxygenase" Biochem. Biophys. Res. Commun. 116, 612-618
- [42]. Koshi et al. (2001) "Flavonoids from *Garcinia campogin* lower lipids levels in hypercholesterolemic rats" Food Chem. 72: 289-294

- [43]. Zou et al. (2005) “Hypocholesterolemic Effects of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum perforatum L.* in Rats Fed a Cholesterol-Rich Diet” J. Agric. Food Chem. 53: 2462-2466
- [44]. Colesterol en bovinos [en línea] Albéitar Portal Veterinaria (2001) [fecha de acceso 25 de junio de 2018]. URL disponible en:  
<http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/3323/articulos-rumiantes-archivo/colesterol-en-bovinos.html>
- [45]. Dua et al. (2013) “Polyphenols, flavonoids and antimicrobial properties of methanolic extract of fennel (*Foeniculum vulgare Miller*)” Euro. J. Exp. Bio. 3(4): 203-208
- [46]. Parejo et al. (2004) “Separation and Characterization of Phenolic Compounds in Fennel (*Foeniculum vulgare*) Using Liquid Chromatography – Negative Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry” J. Agric. Food Chem. 52: 3679-3687
- [47]. Oulmouden et al. (2014) “Hypolipidemic and Anti-Atherogenic effect of methanol extract of Fennel (*Foeniculum vulgare*) in hypercholesterolemic mice” International Journal of Science and Knowledge 3(1): 42-52
- [48]. Otway et al. (1967) “The effect of the nonionic detergent (Triton) on the removal of triglyceride fatty acids from the blood of the rats” J Physiol. 190: 309–319
- [49]. Fiser et al. (1974) “Triglyceride secretion rates: use of Triton in the rhesus monkey” J Nutr. 104: 223–226
- [50]. Kalopissis et al. (1980) “Effect of a high-fat diet on rat very low density lipoprotein secretion” Biochem. Biophys. Acta: 111–119.
- [51]. Amrani et al. (2006) “Hypolipidaemic activity of aqueous *Ocimum basilicum* extract in acute Hyperlipidaemia induced by Triton WR-1339 in rats and its antioxidant property” Phytoté. Resear. 20: 1040–1045.
- [52]. Harnafi et al. (2007) “The hypolipidaemic activity of aqueous *Erica multiflora* flowers extract in Triton WR-1339 induced hyperlipidaemic rats: A comparison with fenofibrate” Journal of Ethnopharmacology 109: 156–160.
- [53]. Jingjing et al. (2007) “Hypolipidemic effect of flavonoids from mulberry leaves in triton WR-1339 induced hyperlipidemic mice” Asia Pac J Clin Nutr.16: 290–294
- [54]. Weiping et al. (2011) “A review of chemistry and bioactivities of a medicinal spice: *Foeniculum vulgare*” J. Med. Plan. Res. 5(16): 3595–3600.

- [55]. Badgajar et al. (2014) “*Foeniculum vulgare* Mill: a review of its botany, phytochemistry, pharmacology, contemporary application, and toxicology” BioMed Research International, 32 pages. DOI: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/842674>
- [56]. Damjanovic et al. (2005) “Extraction of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds with supercritical CO<sub>2</sub>: comparison with hydrodistillation,” Food Chemistry 92(1): 143-149
- [57]. Tognolini et al. (2007) “Protective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil and anethole in an experimental model of thrombosis,” Pharmacological Research 56(3): 254-260
- [58]. Fang et al. (2006) “Headspace solvent microextraction-gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of volatile compounds from *Foeniculum vulgare* Mill,” Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 41(3): 791-797
- [59]. Gross et al. (2009) “The inheritance of volatile phenylpropenes in bitter fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. var. *vulgare*, Apiaceae) chemotypes and their distribution within the plant,” Biochemical Systematics and Ecology 37(4): 308-316
- [60]. Singh et al. (2006) “Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract,” Food Control 17(9): 745-752
- [61]. Telci et al. (2009) “Variation in plant properties and essential oil composition of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruits during stages of maturity,” Industrial Crops and Products 30(1): 126-130
- [62]. Akgül et al. (1988) “Comparative volatile oil composition of various parts from Turkish bitter fennel (*Foeniculum vulgare* var. *vulgare*),” Food Chemistry 30(4): 319-323
- [63]. Díaz et al. (2006) “Comparison of the volatile composition of wild fennel samples (*Foeniculum vulgare* Mill.) from Central Spain,” Journal of Agricultural and Food Chemistry 54(18): 6814-6818
- [64]. Robak et al. (1988) “Screening of the influence of flavonoids on lipoxygenase and cyclooxygenase activity as well as on non-enzymatic lipid oxidation” Pharmocol. Pharm. 40: 451–458.

- [65]. Katiyar et al. (1992) “Inhibition of 12-0-tetradecanoylphorbol-13-acetate-caused tumor promotion in 7, 12 dimethylbenz [a] anthraceneinitiated SENCAR mouse skin by a polyphenolic fraction from green tea” *Cancer Lett.*52: 6890–6897
- [66]. Gurinder et al. (2010) “Bioactive potential of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi* belonging to the family Umbelliferae - Current status” *Journal of Medicinal Plants Research.* 4: 87–94.
- [67]. Ozbek et al. (2004) “Hepatoprotective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil: A carbon-tetrachloride induced liver fibrosis model in rats” *Scand J Lab Anim Sci.* 31(1): 9-17.
- [68]. Qiang et al. (2011) “Effects of foeniculum vulgare Mill on lipid peroxidation in rats with liver hepatic fibrosis” *Prog Mod Biomed* 21: 13
- [69]. De Enfermería F, Paz TI, Nevhenka G, Valdivia M, Para Optar El A, Profesional De T. Universidad Católica De Santa María. 2014; Available from: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/3137/60.1332.EN.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

## ANEXO I

Constancia de identificación del espécimen vegetal "*Foeniculum vulgare M.*"



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN**  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA



### CONSTANCIA 01- 2018-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Se hace constar que las muestras frescas de hojas y tallos de la planta traída al laboratorio para el análisis botánico corresponde a la especie *Foeniculum vulgare* Mill. de la familia Apiaceae de nombre común "hinojo". Dichas muestras fueron obtenidas de la provincia de Urubamba, departamento del Cuzco a 2860msnm ejecutado por FERNANDO LUCANA SALOMA para la Tesis: **Efecto Hipolipidémico del extracto hircualcohólico de "Hinojo" *Foeniculum vulgare* Mill. en ratas hipercolesterolemicas**, de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica Santa María.

Los resultados de dicha identificación y tipificación corresponde a:

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA  
CLASE: MAGNOLIOPSIDA  
SUBCLASE: ROSIDAE  
ORDEN: Apiales  
FAMILIA: Apiaceae  
GENERO: *Foeniculum*  
ESPECIE: *Foeniculum vulgare Mill*

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que se estime conveniente.

Arequipa 13 de Marzo del 2018



Blgo. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA)

## ANEXO II

Informe de análisis del perfil lipídico: Muestra basal



*Universidad Católica de Santa María*

☎ (5154) 251210 Fax: (5154) 251213 [ucsm@ucsm.edu.pe](mailto:ucsm@ucsm.edu.pe) <http://www.ucsm.edu.pe> Apartado 1350

AREQUIPA - PERÚ

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS BIOQUÍMICAS  
Y BIOTECNOLÓGICAS  
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

San José s/n Urmacollo Tel. : 251210 Anexo 1206

**NOMBRE DEL PACIENTE** LUCANA SALOMA FERNANDO

**MUESTRA:** SANGRE (Suero)

**EXAMEN SOLICITADO**

NRO MUESTRA	RESULTADOS (mg/dl)		
	COLESTEROL	HDL	TRIGLICERIDOS
R1	72	16	54
R2	68	15	56
R3	71	13	57
R4	62	11	58
R5	64	13	59
R6	73	17	55
R7	70	19	59
R8	65	16	62
R9	59	20	54
R10	63	16	53
R11	62	17	58
R12	64	20	55
R13	62	21	56
R14	64	19	57
R15	66	17	58
R16	62	18	55
R17	63	13	59
R18	70	12	58
R19	69	18	62
R20	66	14	57

Arequipa, 13 de enero 2018



Firma del Profesional Responsable  
Dra. Jesús Mercedes Jave Márquez

**ANEXO III**

Informe de análisis del perfil lipídico: Día 33



*Universidad Católica de Santa María*

☎ (5154) 251210 Fax: (5154) 251213 [ucsm@ucsm.edu.pe](mailto:ucsm@ucsm.edu.pe) <http://www.ucsm.edu.pe> Apartado 1350

AREQUIPA - PERÚ

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS BIOQUÍMICAS  
Y BIOTECNOLÓGICAS  
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

San José s/n Umacollo Telf : 251210 Anexo 1206

**NOMBRE DEL PACIENTE** LUCANA SALOMA FERNANDO

**MUESTRA:** SANGRE (Suero)

**EXAMEN SOLICITADO**

NRO MUESTRA	RESULTADOS (mg/dl)		
	COLESTEROL	HDL	TRIGLICERIDOS
R1	106	33	193
R2	101	40	188
R3	108	36	192
R4	95	34	196
R5	103	31	192
R6	105	35	197
R7	109	36	195
R8	110	38	192
R9	105	32	194
R10	98	24	189
R11	106	42	204
R12	104	38	196
R13	116	32	186
R14	105	35	182
R15	104	41	195
R16	103	36	188
R17	108	32	203
R18	100	33	186
R19	112	35	194
R20	99	31	197

Arequipa, 3 de abril de 2018

Finna del Profesional Responsable  
Dra. Jesús Mercedes Jave Márquez

ANEXO IV

Informe de análisis del perfil lipídico: Día 49



*Universidad Católica de Santa María*

☎ (5154) 251210 Fax: (5154) 251213 [ucsm@ucsm.edu.pe](mailto:ucsm@ucsm.edu.pe) <http://www.ucsm.edu.pe> Apartado 1350

AREQUIPA - PERÚ

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS BIOQUÍMICAS  
Y BIOTECNOLÓGICAS  
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

San José s/n Umacollo Telf. : 251210 Anexo 1206

**NOMBRE DEL PACIENTE LUCANA SALOMA FERNANDO**

**MUESTRA: SANGRE (Suero)**

**EXAMEN SOLICITADO**

NRO MUESTRA	RESULTADOS (mg/dl)		
	COLESTEROL	HDL	TRIGLICERIDOS
R1	98	30	172
R2	94	36	169
R3	96	33	173
R4	90	31	178
R5	81	24	105
R6	80	25	99
R7	83	27	112
R8	80	28	109
R9	91	29	152
R10	89	21	164
R11	87	35	155
R12	92	35	149
R13	84	28	124
R14	86	29	126
R15	83	34	131
R16	84	31	128
R17	74	24	113
R18	76	23	108
R19	77	24	105
R20	75	22	114

Arequipa, 2 de mayo de 2018



Firma del Profesional Responsable  
Dra. Jesus Mercedes Jave Marquez

ANEXO V

Informe de análisis del perfil lipídico: Día 64



*Universidad Católica de Santa María*

☎ (5154) 251210 Fax: (5154) 251213 [ucsm@ucsm.edu.pe](mailto:ucsm@ucsm.edu.pe) <http://www.ucsm.edu.pe> Apartado 1350

AREQUIPA - PERÚ

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS BIOQUÍMICAS  
Y BIOTECNOLÓGICAS  
LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS

San José s/n Umacollo Telf. : 251210 Anexo 1206

**NOMBRE DEL PACIENTE** LUCANA SALOMA FERNANDO

**MUESTRA:** SANGRE (Suero)

**EXAMEN SOLICITADO**

NRO MUESTRA	RESULTADOS (mg/dl)		
	COLESTEROL	HDL	TRIGLICERIDOS
R1	95	24	158
R2	92	30	152
R3	94	29	164
R4	88	30	166
R5	76	21	84
R6	74	21	79
R7	76	23	86
R8	74	24	80
R9	84	25	132
R10	83	20	140
R11	81	28	129
R12	85	28	135
R13	79	22	115
R14	82	23	108
R15	80	24	107
R16	79	23	112
R17	71	17	88
R18	72	18	86
R19	71	16	80
R20	70	17	83

Arequipa, 15 de mayo de 2018



Firma del Profesional Responsable  
Dra. Jesús Mercedes Jave Márquez

ANEXO VI

**Tabla anexa 1.** Peso de los animales de experimentación (g)

Grupo	N° de rata	Día 0	Día 33	Día 49	Día 64
1	1	230	249	248	248
	2	245	231	226	235
	3	232	239	220	219
	4	222	208	214	207
2	1	260	274	267	277
	2	271	275	263	264
	3	275	281	287	278
	4	256	245	238	238
3	1	232	245	243	236
	2	245	244	247	250
	3	236	226	229	235
	4	226	265	268	271
4	1	239	231	223	235
	2	242	230	231	241
	3	240	238	233	238
	4	281	282	302	308
5	1	218	226	231	227
	2	214	229	225	224
	3	210	204	200	205
	4	200	184	175	184

**Tabla anexa 2.** Perfil lipídico de los animales de experimentación (mg/dL Colesterol)

Grupos	Nº de rata	Día 0	Día 33	Día 49	Día 64
1	1	72.00	106.00	98.00	95.00
	2	68.00	101.00	94.00	92.00
	3	71.00	108.00	96.00	94.00
	4	62.00	95.00	90.00	88.00
	$\bar{x}$	68.25	102.50	94.50	92.25
	S.D.	4.50	5.80	3.42	3.10
	C.V. %	6.59	5.66	3.61	3.36
2	1	64.00	103.00	81.00	76.00
	2	73.00	105.00	80.00	74.00
	3	70.00	109.00	83.00	76.00
	4	65.00	110.00	80.00	74.00
	$\bar{x}$	68.00	106.75	81.00	75.00
	S.D.	4.24	3.30	1.41	1.15
	C.V. %	6.24	3.10	1.75	1.54
3	1	59.00	105.00	91.00	84.00
	2	63.00	98.00	89.00	83.00
	3	62.00	106.00	87.00	81.00
	4	64.00	104.00	92.00	85.00
	$\bar{x}$	62.00	103.25	89.75	83.25
	S.D.	2.16	3.59	2.22	1.71
	C.V. %	3.48	3.48	2.47	2.05
4	1	62.00	116.00	84.00	79.00
	2	64.00	105.00	86.00	82.00
	3	66.00	104.00	83.00	80.00
	4	62.00	103.00	84.00	79.00
	$\bar{x}$	63.50	107.00	84.25	80.00
	S.D.	1.91	6.06	1.26	1.41
	C.V. %	3.02	5.66	1.49	1.77
5	1	63.00	108.00	74.00	71.00
	2	70.00	100.00	76.00	72.00
	3	69.00	112.00	77.00	71.00
	4	66.00	99.00	75.00	70.00
	$\bar{x}$	67.00	104.75	75.50	71.00
	S.D.	3.16	6.29	1.29	0.82
	C.V. %	4.72	6.01	1.71	1.15

$\bar{x}$ : Promedio. S.D: Desviación estándar. C.V. %: Coeficiente de variación porcentual

**Tabla anexa 3.** Perfil lipídico de los animales de experimentación (mg/dL Triglicéridos)

Grupos	N° de rata	Día 0	Día 33	Día 49	Día 64
<b>1</b>	<b>1</b>	54.00	193.00	172.00	158.00
	<b>2</b>	56.00	188.00	169.00	152.00
	<b>3</b>	57.00	192.00	173.00	164.00
	<b>4</b>	58.00	196.00	178.00	166.00
	$\bar{x}$	56.25	192.25	173.00	160.00
	S.D.	1.71	3.30	3.74	6.32
	C.V. %	3.04	1.72	2.16	3.95
<b>2</b>	<b>1</b>	59.00	192.00	105.00	84.00
	<b>2</b>	55.00	197.00	99.00	79.00
	<b>3</b>	59.00	195.00	112.00	86.00
	<b>4</b>	62.00	192.00	109.00	80.00
	$\bar{x}$	58.75	194.00	106.25	82.25
	S.D.	2.87	2.45	5.62	3.30
	C.V. %	4.89	1.26	5.29	4.02
<b>3</b>	<b>1</b>	54.00	194.00	152.00	132.00
	<b>2</b>	53.00	189.00	164.00	140.00
	<b>3</b>	58.00	204.00	155.00	129.00
	<b>4</b>	55.00	196.00	149.00	135.00
	$\bar{x}$	55.00	195.75	155.00	134.00
	S.D.	2.16	6.24	6.48	4.69
	C.V. %	3.93	3.19	4.18	3.50
<b>4</b>	<b>1</b>	56.00	186.00	124.00	115.00
	<b>2</b>	57.00	182.00	126.00	108.00
	<b>3</b>	58.00	195.00	131.00	107.00
	<b>4</b>	55.00	188.00	128.00	112.00
	$\bar{x}$	56.50	187.75	127.25	110.50
	S.D.	1.29	5.44	2.99	3.70
	C.V. %	2.28	2.90	2.35	3.35
<b>5</b>	<b>1</b>	59.00	203.00	113.00	88.00
	<b>2</b>	58.00	186.00	108.00	86.00
	<b>3</b>	62.00	194.00	105.00	80.00
	<b>4</b>	57.00	197.00	114.00	83.00
	$\bar{x}$	59.00	195.00	110.00	84.25
	S.D.	2.16	7.07	4.24	3.50
	C.V. %	3.66	3.63	3.86	4.15

$\bar{x}$ : Promedio. S.D: Desviación estándar. C.V. %: Coeficiente de variación porcentual

**Tabla anexa 4.** Perfil lipídico de los animales de experimentación (mg/dL HDL-c)

Grupos	N° de rata	Día 0	Día 33	Día 49	Día 64
1	1	16.00	33.00	30.00	24.00
	2	15.00	40.00	36.00	30.00
	3	13.00	36.00	33.00	29.00
	4	11.00	34.00	31.00	30.00
	$\bar{x}$	13.75	35.75	32.50	28.25
	S.D.	2.22	3.10	2.65	2.87
	C.V. %	16.13	8.66	8.14	10.17
2	1	13.00	31.00	24.00	21.00
	2	17.00	35.00	25.00	21.00
	3	19.00	36.00	27.00	23.00
	4	16.00	38.00	28.00	24.00
	$\bar{x}$	16.25	35.00	26.00	22.25
	S.D.	2.50	2.94	1.83	1.50
	C.V. %	15.38	8.41	7.02	6.74
3	1	20.00	32.00	29.00	25.00
	2	16.00	24.00	21.00	20.00
	3	17.00	42.00	35.00	28.00
	4	20.00	38.00	35.00	28.00
	$\bar{x}$	18.25	34.00	30.00	25.25
	S.D.	2.06	7.83	6.63	3.77
	C.V. %	11.30	23.03	22.11	14.95
4	1	21.00	32.00	28.00	22.00
	2	19.00	35.00	29.00	23.00
	3	17.00	41.00	34.00	24.00
	4	18.00	36.00	31.00	23.00
	$\bar{x}$	18.75	36.00	30.50	23.00
	S.D.	1.71	3.74	2.65	0.82
	C.V. %	9.11	10.39	8.67	3.55
5	1	13.00	32.00	24.00	17.00
	2	12.00	33.00	23.00	18.00
	3	18.00	35.00	24.00	16.00
	4	14.00	31.00	22.00	17.00
	$\bar{x}$	14.25	32.75	23.25	17.00
	S.D.	2.63	1.71	0.96	0.82
	C.V. %	18.46	5.21	4.12	4.80

$\bar{x}$ : Promedio. S.D: Desviación estándar. C.V. %: Coeficiente de variación porcentual

**Tabla anexa 5.** Perfil lipídico de los animales de experimentación (mg/dL LDL-c)

Grupos	N° de rata	Día 0	Día 33	Día 49	Día 64
1	1	56.00	73.00	68.00	71.00
	2	53.00	61.00	58.00	62.00
	3	58.00	72.00	63.00	65.00
	4	51.00	61.00	59.00	58.00
	$\bar{x}$	54.50	66.75	62.00	64.00
	S.D.	3.11	6.65	4.55	5.48
	C.V. %	5.70	9.97	7.33	8.56
2	1	51.00	72.00	57.00	55.00
	2	56.00	70.00	55.00	53.00
	3	51.00	73.00	56.00	53.00
	4	49.00	72.00	52.00	50.00
	$\bar{x}$	51.75	71.75	55.00	52.75
	S.D.	2.99	1.26	2.16	2.06
	C.V. %	5.77	1.75	3.93	3.91
3	1	39.00	73.00	62.00	59.00
	2	47.00	74.00	68.00	63.00
	3	45.00	64.00	52.00	53.00
	4	44.00	66.00	57.00	57.00
	$\bar{x}$	43.75	69.25	59.75	58.00
	S.D.	3.40	4.99	6.85	4.16
	C.V. %	7.78	7.21	11.46	7.18
4	1	41.00	84.00	56.00	57.00
	2	45.00	70.00	57.00	59.00
	3	49.00	63.00	49.00	56.00
	4	44.00	67.00	53.00	56.00
	$\bar{x}$	44.75	71.00	53.75	57.00
	S.D.	3.30	9.13	3.59	1.41
	C.V. %	7.38	12.86	6.69	2.48
5	1	50.00	76.00	50.00	54.00
	2	58.00	67.00	53.00	54.00
	3	51.00	77.00	53.00	55.00
	4	52.00	68.00	53.00	53.00
	$\bar{x}$	52.75	72.00	52.25	54.00
	S.D.	3.59	5.23	1.50	0.82
	C.V. %	6.81	7.26	2.87	1.51

x: Promedio. S.D: Desviación estándar. C.V. %: Coeficiente de variación porcentual

**Tabla anexa 6.** Peso de tabletas de atorvastatina (g)

0.1481	0.1494	0.1466	0.1483	0.1513	0.1473	0.1494	0.1490
0.1467	0.1528	0.1474	0.1480	0.1512	0.1507	0.1466	0.1522
0.1501	0.1470	0.1521	0.1507	0.1484	0.1526	0.1524	0.1524
0.1495	0.1497	0.1465	0.1464	0.1468	0.1495	0.1510	0.1464
0.1458	0.1452	0.1483	0.1456	0.1491	0.1504	0.1506	0.1510



## ANEXO VI

Preparación de la dosis a partir del día 34:

✓ **Grupo 1:** 2mL de suero fisiológico.

✓ **Grupo 2:** Atorvastatina 0.06mg/kg/día

0.06 mg- 1000g

x - 264 g

x= 0.01 mg disuelto en 2 mL de suero fisiológico.

✓ **Grupo 3** Extracto de *Foeniculum vulgare* 0.8 mg/kg

0.8 mg - 1000g

x - 245 g

x= 0.20mg de extracto diluidos en 2mL de suero fisiológico.

✓ **Grupo 4** Extracto de *Foeniculum vulgare* 4 mg/kg

4 mg - 1000g

x - 245 g

x= 0.98mg de extracto diluidos en 2mL de suero fisiológico.

✓ **Grupo** Extracto de *Foeniculum vulgare* 20 mg/kg

20 mg - 1000g

x - 211 g

x= 4.22 mg de extracto diluidos en 2mL de suero fisiológico.