



Universidad Católica de Santa María

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

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

**Evaluación del efecto de una solución oral con aceite esencial de
Foeniculum vulgare Mill. (hinojo) sobre la diuresis en ratas Wistar,
Arequipa 2026**

Tesis presentada por:

Chuquimamani Jove, Yonid

ORCID: 0009-0007-7598-4760

Manzano Holguin, Rosalynn Veronica

ORCID:0009-0002-6273-7449

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutica

Asesor:

Mg. Torres Vela, Fernando Antero

ORCID:000-0001-2924-5095

Arequipa - Perú

2026

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FARMACIA Y BIOQUIMICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 31 de Marzo del 2026

Dictamen: 014251-C-EPFyB-2026

Visto el borrador del expediente 014251, presentado por:

2020897902 - CHUQUIMAMANI JOVE YONID

2020892282 - MANZANO HOLGUIN ROSALYNN VERONICA

Titulado:

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE UNA SOLUCIÓN ORAL CON ACEITE ESENCIAL DE FOENICULUM
VULGARE MILL. (HINOJO) SOBRE LA DIURESIS EN RATAS WISTAR, AREQUIPA 2026**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

Titulo Profesional/Titulo de Segunda Especialidad/Grado Académico a optar:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

**29440909 - MOLINA RODRIGUEZ FREDY NICOLAS
DICTAMINADOR**



**43668681 - PAREDES FUENTES JULITZA LINDSEY
DICTAMINADOR**



**44327250 - MEDINA PEREZ JEANETH MARISOL
DICTAMINADOR**



EVALUACIÓN DEL EFECTO DE UNA SOLUCIÓN ORAL CON ACEITE ESENCIAL DE FOENICULUM VULGARE MILL. (HINOJO) SOBRE LA DIURESIS EN RATAS WISTAR, AREQUIPA 2026

INFORME DE ORIGINALIDAD

15%

INDICE DE SIMILITUD

16%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	www.berri.es Fuente de Internet	2%
2	doku.pub Fuente de Internet	2%
3	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	2%
4	www.scribd.com Fuente de Internet	1%
5	archive.org Fuente de Internet	1%
6	tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	qdoc.tips Fuente de Internet	1%
8	pdfcoffee.com Fuente de Internet	1%
9	vbook.pub Fuente de Internet	1%
10	ebin.pub Fuente de Internet	1%

Dedicatoria

A Dios, por darme la fortaleza, la salud y la oportunidad de cumplir una meta más en mi vida. Su guía ha iluminado cada paso de este camino y me ha permitido llegar hasta donde hoy me encuentro.

A mi esposo, por su apoyo incondicional y por ser un pilar fundamental en mi formación profesional. Su confianza en mí y su acompañamiento constante fueron esenciales para continuar incluso en los momentos más difíciles.

A mis hijos, Yajhayda, Jesús y Aylin, quienes fueron mi mayor motivación y el motor que impulsó cada uno de mis esfuerzos. Por ellos perseveraré a lo largo de mi carrera; aquello que alguna vez vi muy lejano, hoy se ha convertido en una realidad.

YONID

A Dios, por ser mi guía constante, por darme fortaleza en los momentos más difíciles y por iluminar cada paso de este camino académico.

A mi mamá Nieves, por su apoyo incondicional, por acompañarme siempre con amor, paciencia y palabras de aliento. Su presencia ha sido esencial para lograr este objetivo.

A mi papito Segundino, quien siempre me inculco perseverancia y desde el cielo siento su aliento y guía en mi camino.

A mis hijos Jhair y Emilio, quienes representan mi mayor motivación y la razón más profunda de mi esfuerzo diario. Gracias por llenar mi vida de inspiración, esperanza y fuerza. Este logro también les pertenece.

ROSALYNN

Agradecimientos

Mi más sincero agradecimiento a mis docentes, quienes me brindaron los conocimientos indispensables para mi formación. Gracias a su dedicación constante y a la perseverancia demostrada día a día, pude culminar satisfactoriamente mis estudios. Valoro profundamente sus sabios consejos y la experiencia que generosamente compartieron a lo largo de mi desarrollo profesional.

A mi asesor, designado por la Universidad Católica Santa María, por guiarme con paciencia, compromiso y claridad en cada etapa del desarrollo de mi trabajo de investigación. Su orientación fue fundamental para alcanzar los objetivos propuestos.

A los señores del laboratorio y del bioterio, por su apoyo constante, por facilitar los materiales necesarios y por la colaboración brindada durante la ejecución de nuestro trabajo. Su disposición y profesionalismo hicieron posible que este proyecto se realice con éxito.

YONID y ROSALYNN

RESUMEN

El presente trabajo de investigación es un estudio preclínico *in vivo* en animales de experimentación que tiene como objetivo: evaluar el efecto diurético del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo) incorporado en una solución oral administrada por vía orogástrica en ratas Wistar.

Para la consecución de dicho objetivo, se obtuvo el aceite esencial de los frutos secos de *Foeniculum vulgare* mediante el método destilación por arrastre de vapor, con un rendimiento de 1.14% y características organolépticas propias (color ligeramente amarillo, olor intenso a hinojo y densidad 0.9106 g/mL). La caracterización fitoquímica preliminar por cromatografía en capa fina confirmó la presencia de compuestos terpenoides mediante los reveladores vainillina-ácido sulfúrico y Liebermann-Burchard. Se formuló una solución oral al 5% del aceite esencial, equivalente a una dosis de 0.25 mL/5 mL de la formulación. Se trabajó con 12 ratas Wistar distribuidas en 4 grupos experimentales: control negativo con la solución oral sin el aceite esencial, control positivo con hidroclorotiazida 25 mg/Kg de peso y 2 grupos tratados con la solución oral de aceite esencial de hinojo 3 mL (equivalente a una dosis total de 136.59 mg) y 1.5 mL (equivalente a una dosis total de 68.30 mg) La evaluación del efecto diurético se realizó mediante el método de Lipschitz modificado, cuantificando el volumen urinario pre prueba previo ayuno de 12 horas con disposición de agua y post prueba durante 6 horas y la excreción de iones Na^+ , Cl^- y K^+ . Los datos fueron analizados mediante ANOVA y prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$). Los resultados fueron: el grupo tratado con 3 mL de la solución oral mostró un aumento significativo en el volumen de orina 509 % y en la excreción de Na^+ 457 %, Cl^- 552 % y K^+ 427 %, con diferencias estadísticas frente al grupo control negativo ($p < 0.05$) y resultados comparables al grupo tratado con hidroclorotiazida. La dosis de 1.5 mL produjo un efecto diurético intermedio Na^+ 225%, Cl^- 236 % y K^+ 234 %, sin alcanzar significancia estadística. Se estableció como conclusiones que la especie vegetal si presenta un efecto diurético significativo dependiente de la dosis, probablemente mediado por el aumento en la excreción de electrolitos.

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

ABSTRACT

This research is a preclinical in vivo study in experimental animals that aims to evaluate the diuretic effect of *Foeniculum vulgare* Mill. (fennel) essential oil incorporated into an oral solution administered orogastrically to Wistar rats.

To achieve this objective, the essential oil was obtained from the dried fruits of *Foeniculum vulgare* using steam distillation, with a yield of 1.14% and characteristic organoleptic properties (slightly yellow color, intense fennel odor, and density of 0.9106 g/mL). Preliminary phytochemical characterization by thin-layer chromatography confirmed the presence of terpenoid compounds using vanillin-sulfuric acid and Liebermann-Burchard reagents. A 5% oral solution of the essential oil was formulated, equivalent to a dose of 0.25 mL/5 mL of the formulation. Twelve Wistar rats were used, divided into four experimental groups: a negative control with the oral solution without the essential oil, a positive control with hydrochlorothiazide 25 mg/kg of body weight, and two groups treated with the oral solution of fennel essential oil: 3 mL (equivalent to a total dose of 136.59 mg) and 1.5 mL (equivalent to a total dose of 68.30 mg). The diuretic effect was evaluated using the modified Lipschitz method, quantifying urine volume pre-test after a 12-hour fast with water available and post-test for 6 hours, as well as the excretion of Na⁺, Cl⁻, and K⁺ ions. Data were analyzed using ANOVA and Tukey's test ($\alpha = 0.05$). The results were as follows: the group treated with 3 mL of the oral solution showed a significant increase in urine volume (509%) and in the excretion of Na⁺ (457%), Cl⁻ (552%), and K⁺ (427%), with statistically significant differences compared to the negative control group ($p < 0.05$) and results comparable to the group treated with hydrochlorothiazide. The 1.5 mL dose produced an intermediate diuretic effect (Na⁺ 225%, Cl⁻ 236%, and K⁺ 234%), without reaching statistical significance. It was concluded that the plant species does exhibit a significant dose-dependent diuretic effect, probably mediated by increased electrolyte excretion.

Keywords: *Foeniculum vulgare* Mill., essential oil, diuresis.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

ABSTRACT

INTRODUCCIÓN 1

OBJETIVOS 2

HIPÓTESIS..... 3

CAPÍTULO I..... 4

MARCO TEÓRICO 4

1.1. HINOJO 5

1.1.1. Denominación científica 5

1.1.2. Nombres comunes..... 5

1.1.3. Distribución..... 5

1.1.4. Taxonomía 5

1.1.5. Descripción botánica..... 6

1.1.6. Composición química 6

1.1.7. Acciones Farmacológicas..... 7

1.1.8. Precauciones y Advertencias 8

1.2. SISTEMA RENAL Y FISIOLÓGÍA DE LA DIURESIS..... 8

1.2.1. Anatomía del riñón..... 8

1.2.1.1 Anatomía macroscópica 8

1.2.1.2 Vascularización 9

1.2.2. Formación de la orina 10

1.2.2.1 Filtración glomerular 10

1.2.2.2 Reabsorción tubular 12

1.2.2.3 Secreción tubular..... 12

1.2.3. Transporte de agua, sodio, cloro y potasio..... 13

1.2.3.1 Transporte de agua 13

1.2.3.2 Transporte de sodio y cloro 14

1.2.3.3 Transporte de potasio 15

1.3. FARMACOLOGÍA DE LOS DIURÉTICOS..... 16

1.3.1. Inhibidores de la anhidrasa carbónica.....	17
1.3.2. Diuréticos de ASA.....	17
1.3.3. Tiazidas y fármacos relacionados.....	18
1.3.4. Diuréticos ahorradores de potasio.....	19
1.4. Destilación por arrastre de vapor.....	19
1.5. Cromatografía en capa fina.....	20
CAPÍTULO II.....	21
MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
2.1. MATERIALES.....	22
2.1.1. Material biológico: unidad animal.....	22
2.1.2. Material biológico: unidad vegetal.....	22
2.1.3. Materiales de laboratorio.....	22
2.1.3.1 Equipos y aparato.....	22
2.1.3.2 Material de vidrio.....	22
2.1.3.3 Reactivos - excipientes.....	23
2.1.3.4 Otros materiales utilizados.....	23
2.2. METODOLOGÍAS.....	24
2.2.1. Obtención del aceite esencial de hinojo.....	24
2.2.1.1 Descripción de la unidad biológica vegetal.....	25
2.2.1.2 Método de extracción mediante destilación con arrastre de vapor de agua.....	25
2.2.2. Caracterización del aceite esencial de hinojo.....	26
2.2.2.1 Solubilidad.....	26
2.2.2.2 Organolepsia.....	26
2.2.2.3 Determinación de la densidad.....	27
2.2.3. Método para la elaboración de una solución oral.....	27
2.2.4. Metodología de análisis fitoquímico preliminar.....	29
2.2.4.1 Procedimiento General.....	30
2.2.4.2 Identificación de reacción General.....	30
2.2.4.3 Identificación de Terpenos.....	31
2.2.4.4 Procedimiento específico.....	32
2.2.5. Metodología para la evaluación del efecto diurético.....	33
2.2.5.1 Estandarización de los animales.....	34

2.2.5.2	Grupos experimentales.....	34
2.2.5.3	Pre-prueba.....	34
2.2.5.4	Etapas de intervención experimental	35
2.2.5.5	Post -prueba.....	35
2.2.5.6	Estado general de los animales luego de la post prueba.....	35
2.2.6	Métodos de análisis estadístico	37
2.2.6.1	Media	37
2.2.6.2	Desviación estándar.....	37
2.2.6.3	Análisis de varianza	38
2.2.6.4	Test de Tukey.....	38
CAPÍTULO III.....		39
RESULTADOS.....		39
3.1.	OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HINOJO	40
3.2.	SOLUCIÓN ORAL CON ACEITE ESENCIAL DE HINOJO	42
3.3.	MARCHA FITOQUÍMICA PRELIMINAR.....	43
3.3.1.	Medición de los volúmenes de orina.....	47
3.3.2.	Medición de los mEq de sodio	50
3.3.3.	Medición de los mEq de cloro	52
3.3.4.	Medición de los mEq de potasio	55
DISCUSIÓN		58
CONCLUSIONES.....		60
SUGERENCIAS.....		62
REFERENCIAS.....		63

ÍNDICE DE TABLAS

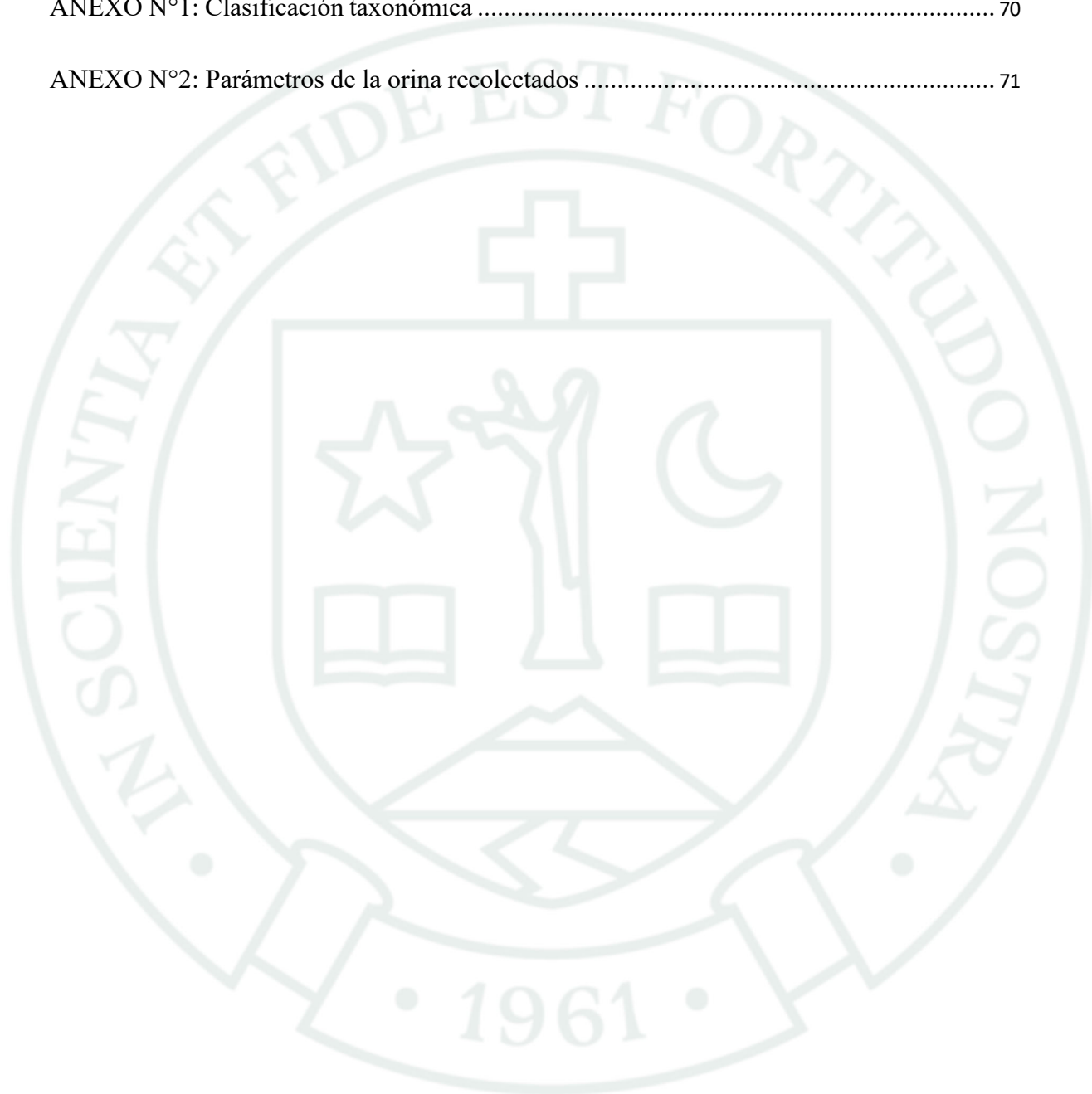
Tabla 1: Fórmula general para la elaboración de soluciones	28
Tabla 2: Fórmulas específicas para la elaboración de la solución oral con aceite esencial de hinojo	29
Tabla 3: Rendimiento de las extracciones de aceite esencial mediante destilación por arrastre con vapor de agua	40
Tabla 4: Solubilidad del aceite esencial de hinojo	41
Tabla 5: Organolepsia del aceite esencial de hinojo	42
Tabla 6: Fórmula final de la solución oral con aceite esencial de hinojo	43
Tabla 7: Organolepsia de la solución oral con aceite esencial de hinojo	43
Tabla 8: Peso en gramos de los animales de experimentación según grupo	45
Tabla 9: ANOVA del peso en gramos de los animales de experimentación	46
Tabla 10: Volúmenes de orina antes y después del tratamiento y su diferencia	48
Tabla 11: ANOVA de la diferencia relativa porcentual de los volúmenes de orina	49
Tabla 12: Test de Tukey de la diferencia relativa porcentual de los volúmenes de orina	49
Tabla 13: Cantidad de Na^+ (mEq) antes y después del tratamiento	50
Tabla 14: ANOVA de la diferencia relativa porcentual de Na^+ total	51
Tabla 15: Test de Tukey de la diferencia relativa porcentual de Na^+ total	49
Tabla 16: Cantidad de Cl^- (mEq) antes y después del tratamiento	52
Tabla 17: ANOVA de la diferencia relativa porcentual de Cl^- total	54
Tabla 18: Test de Tukey de la diferencia relativa porcentual de Cl^- total	54
Tabla 19: Cantidad de K^+ (mEq) antes y después del tratamiento	55
Tabla 20: ANOVA de la diferencia relativa porcentual de K^+ total	56
Tabla 21: Test de Tukey de la diferencia relativa porcentual de K^+ total	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Planta medicinal.....	6
Figura 2: Trans-anetol, fenilpropanoide aromático responsable de estimular la perfusión renal y la excreción de sodio.....	7
Figura 3: Fenchona, monoterpeno cetónico presente en el aceite esencial de hinojo.....	7
Figura 4: Frutos secos de <i>Foeniculum vulgare</i> (hinojo)	25
Figura 5: Esquema para la cromatografía en capa fina del aceite esencial.....	32
Figura 6: Esquema para el acondicionamiento de los animales en jaulas metabólicas.....	33
Figura 7: Extracción mediante destilación por arrastre con vapor de agua	40
Figura 8: Separación del aceite esencial de hinojo	41
Figura 9: Proceso de elaboración de la solución oral con aceite esencial.....	42
Figura 10: Cromatofolio para la reacción general de identificación del aceite esencial.....	44
Figura 11: Cromatofolio para la reacción de terpenos de identificación	44
Figura 12: Jaula metabólica con el animal de experimentación.....	46
Figura 13: Medición de los volúmenes de orina	47
Figura 14: Gráfico de la diferencia relativa porcentual de volúmenes de orina	48
Figura 15: Gráfico de la diferencia relativa porcentual de Na^+ total	51
Figura 16: Gráfico de la diferencia relativa porcentual de Cl^- total	53
Figura 17: Gráfico de la diferencia relativa porcentual de K^+ total	54

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXOS.....	69
ANEXO N°1: Clasificación taxonómica	70
ANEXO N°2: Parámetros de la orina recolectados	71



INTRODUCCIÓN

Dentro de los roles del Químico Farmacéutico no solo se encuentra realizar actividades profesionales en beneficio de la salud pública, sino además participar en el entendimiento o mejor conocimiento de los recursos terapéuticos que utiliza la población. El recurso terapéutico más utilizado comprende a las plantas medicinales, en este orden de ideas es misión del farmacéutico validar los conocimientos que tiene la población acerca de estos recursos terapéuticos naturales, con la finalidad de que los pobladores utilicen adecuadamente en forma racional y eficaz a las plantas y no en base a mitos o creencias.

Además de validar o indagar el uso tradicional de las plantas, la propia validación positiva de cualquier recurso vegetal o natural, abre las puertas a futuras investigaciones de la farmacología o la biotecnología, ya que las plantas medicinales son fuente inagotable de compuestos bioactivos.

Uno de estos recursos vegetales es el *Foeniculum vulgare* (hinojo) cuyos frutos contienen aceite esencial entre 2 al 6% (1), en tanto droga medicinal entre múltiples usos que le atribuye la medicina tradicional se encuentra como tratamiento para los pies hinchados (2). En cuanto aceite esencial proveniente de la raíz de hinojo como así también el extracto etanólico del fruto muestran en investigaciones efecto diurético (1).

En esta línea de ideas, es que mediante el presente trabajo de investigación científica se evaluó el aceite esencial de los frutos del *Foeniculum vulgare* (hinojo) incorporado en una forma farmacéutica líquida para la administración oral en ratas de laboratorio y determinar los efectos sobre la diuresis.

El presente trabajo describe todos los materiales, metodologías usados con la finalidad de verificar la hipótesis de investigación referida al efecto diurético, y tal como mencionamos la verificación de dicha actividad abre las puertas no solo para el tratamiento de edemas, sino además en el tratamiento de la hipertensión arterial.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto de una solución oral con aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo) sobre la diuresis en ratas Wistar.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aplicar y describir un método que permita la obtención de aceite esencial de los frutos de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo).
- Describir la formulación de una forma farmacéutica en solución oral que permita incorporar aceite esencial *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo) para ser administrado mediante sonda orogástrica en ratas Wistar.
- Evaluar el efecto de una solución oral con aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo) sobre la diuresis (volumen de orina y electrolitos) en ratas Wistar.
- Comparar el efecto de una solución oral con aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo) sobre la diuresis en ratas Wistar con una especialidad farmacéutica que contenga un diurético tiazídico.

HIPÓTESIS

Dado que existen investigaciones del *Foeniculum vulgare* Mill (hinojo) sobre su propiedad diurética, antihipertensiva y en el tratamiento de la hinchazón de los pies, es probable, que una forma farmacéutica en solución elaborada con aceite esencial de esta planta medicinal, muestre un efecto positivo sobre la diuresis luego de ser administrado en ratas Wistar.



CAPÍTULO I

MARCO TEORICO



MARCO TEÓRICO

1.1. HINOJO

1.1.1. Denominación científica

Foeniculum vulgare Mill (3).

1.1.2. Nombres comunes

Hinojo.

1.1.3. Distribución

Planta cultivada en los jardines, ampliamente a disposición del público en los mercados (2).

1.1.4. Taxonomía

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Apiales
Familia	Apiaceae
Genero	Foeniculum
Especie	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.

1.1.5. Descripción botánica

Hierba perenne, raíz carnosa, hasta 2 m de alto. Tallo cilíndrico en la base, estriado, muy ramificado en la parte superior. Hojas laciniadas muy delgadas y prolongadas, de peciolo plano y ancho. Inflorescencias en umbela. Flores amarillas carecen de involucro. Fruto un diaquenio, casi cilíndrico, gris oscuro, fusiforme, estriado, glabro (4).

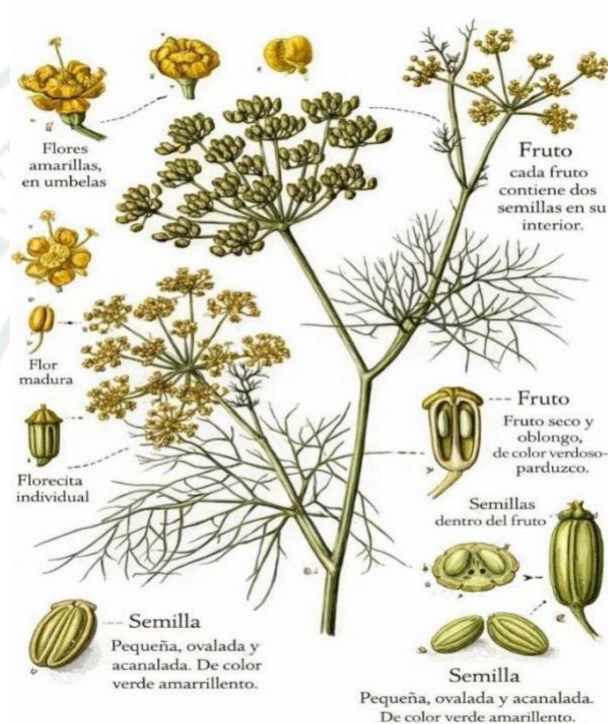


Figura 1: Planta medicinal. Fuente: Imagen adaptada de ilustración botánica clásica de *Foeniculum vulgare*. Elaboración propia.

1.1.6. Composición química

Frutos: El aceite esencial (2-6%) está compuesto por trans-anetol (hasta 85 %), d-fenchona (9-22%), estragol o metilchavicol (2-5%), α -pineno, limoneno, anisaldehído, 1,8 cineol y furanocumarinas. También se ha reportado la presencia de flavonoides (kempferol, quercetol, rutósido, quercitrósido), principios estrogénicos

(dianetol, dianisoína), β -sitosterol, estigmasterol (1).

Raíz: Presenta un aceite esencial compuesto principalmente por anetol, α - pineno, eugenol, fenchol, miristicina. Otros compuestos hallados: ácidos clorogénico y cafeico; cumarinas (bergapteno y umbeliferona) (1).

Hojas: glucurónidos de flavonoides, trazas de aceite esencial (1).

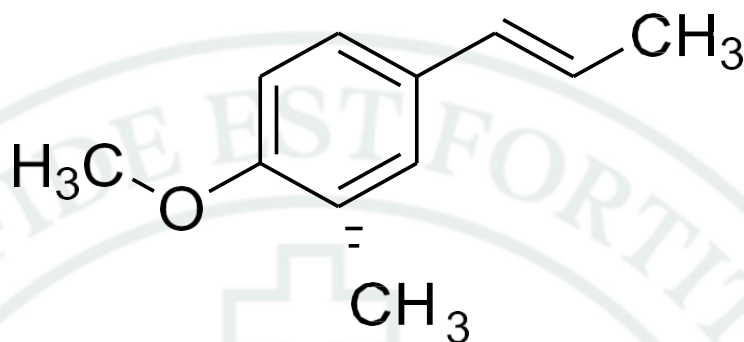


Figura 2: Trans-anetol, fenilpropanoide aromático responsable de estimular la perfusión renal y la excreción de sodio
Fuente: Elaboración propia en ChemDraw

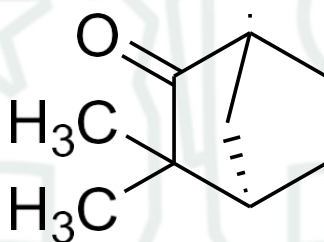


Figura 3: Fenchona, monoterpene cetónico presente en el aceite esencial de hinojo.
Fuente: Elaboración propia en ChemDraw

1.1.7. Acciones Farmacológicas

El aceite esencial de la raíz de hinojo como así también el extracto etanólico del fruto presentan un efecto diurético de tipo volumétrico, azotúrico y salurético, en tanto el extracto acuoso de hinojo exhibió un moderado efecto hipotensor

en animales de laboratorio (inhibido por antagonistas de histamina), relacionado con una actividad diurética de tipo natriurético (1). La administración orogástrica a ratas de 500,0 mg/kg de peso vivo de un extracto etanólico al 95% de los frutos indujo diuresis. El efecto fue comparable al observado en animales tratados con 960,0 mg/kg de urea y casi el doble que en los controles (5).

Los ensayos farmacológicos demuestran su actividad eupéptica, carminativa y antiespasmódica. Se le atribuyen también actividades sobre el árbol respiratorio, propiedades secretolíticas y expectorantes. También se ha descrito actividad estrogénica, galactogoga y, a dosis muy elevadas, emenagoga por su contenido en trans-anetol. A dosis bajas actúa como estimulante de la motilidad gastrointestinal, y a dosis más elevadas, como espasmolítico. Por vía oral, el hinojo disminuye los movimientos espontáneos del estómago en el conejo anestesiado. Se ha comprobado que la infusión ejerce una actividad espasmolítica, pues reduce las contracciones provocadas por acetilcolina y cloruro bórico en el íleo de cobaya y en gatos in vivo (6).

El aceite esencial completo posee propiedades antimicrobianas y antifúngicas (*Candida albicans*). Asimismo, se comporta como antioxidante (6).

1.1.8. Precauciones y Advertencias

Generalidades:

No se han registrado riesgos para la salud ni efectos secundarios tras la administración adecuada de las dosis terapéuticas designadas. Sólo muy raramente se han observado reacciones alérgicas tras la ingesta de hinojo. La sensibilidad cruzada entre pacientes con alergia al apio parece ser posible (7).

Embarazo Los preparados, excluido el propio medicamento y las infusiones, no deben administrarse durante el embarazo (7).

Uso pediátrico: Los preparados, excluido el propio medicamento y las infusiones, no deben administrarse a niños pequeños (7).

1.2. SISTEMA RENAL Y FISIOLÓGÍA DE LA DIURESIS

1.2.1. Anatomía del riñón

1.2.1.1 Anatomía macroscópica

Los riñones con dos vísceras de color pardo rojizo y contornos lisos, que se localizan en la parte posterior del peritoneo, junto a la columna vertebral, y

están envueltos en abundante tejido fibroadiposo. Tienen forma de alubia, y en el centro de su borde medial cóncavo presentan una profunda depresión denominada hilio (8).

Cuando se observa hemiseccionado, se aprecian zonas a simple vista: una externa o corteza, de coloración rojo-pardusca, y una interna o médula, más pálida. La corteza renal forma un arco de tejido situado inmediatamente bajo la cápsula. De la corteza surgen proyecciones, que se sitúan entre las unidades individuales de la médula, denominadas columnas de Bertin (8). Asimismo, es posible observar finas estriaciones en la corteza, que discurren perpendicularmente a la superficie renal y que se conocen como rayos medulares. La médula renal está formada por unidades de aspecto cónico, con la base hacia la corteza, denominadas pirámides medulares. El vértice de cada pirámide se dirige hacia el sistema calicial y constituye una papila. En el riñón humano existen entre 12 y 18 pirámides medulares (8).

Se puede establecer en este momento el concepto de lóbulo renal como la unidad morfofuncional constituida por una pirámide medular con su corteza renal asociada (8).

1.2.1.2 Vascularización

Los riñones poseen gran vascularización, el flujo renal es de aproximadamente 1200mL/min. La arteria renal alcanza el riñón por el hilio e inmediatamente se ramifica en dos grandes ramas, una anterior y otra posterior, que antes de penetrar en el tejido renal, se dividen en varias arterias segmentarias (8). Una vez que se introducen en el parénquima renal, originan las arterias interlobulares, las cuales discurren por las columnas de Bertin hasta la base de las pirámides, zona donde dan lugar a las arterias arciformes, a partir de estas se emiten ramas denominadas arterias interlobulillares, de estas se originan con diferentes intervalos las arteriolas aferentes, cada una de las cuales va irrigar un solo glomérulo. El retorno venoso en el riñón sigue en general, un trayecto opuesto a la circulación arterial (8).

1.2.2. Formación de la orina

La intensidad o tasa de excreción de diferentes sustancias en la orina representa la suma de tres procesos renales: la filtración glomerular de sustancias en la sangre, la reabsorción de sustancias de los túbulos renales hacia la sangre, y la secreción de sustancias desde la sangre hacia los túbulos renales (9).

La mayoría de las sustancias en el plasma, excepto las proteínas, se filtran libremente, de manera que su concentración en el filtrado glomerular de la cápsula de Bowman es la misma que en el plasma. A medida que el líquido abandona la cápsula de Bowman y pasa a través de los túbulos, se modifica por la reabsorción de agua y solutos específicos de nuevo hacia la sangre o por la secreción de otras sustancias desde los capilares peritubulares hacia los túbulos (9).

1.2.2.1 Filtración glomerular

Se denomina tasa de filtración glomerular (TFG) al volumen filtrado que se produce por unidad de tiempo. En una persona joven y sana, la TFG es de alrededor de 180 L/día (125 mL/min). Si se tiene en cuenta que el volumen de plasma en una persona adulta es de unos 3L, resulta que el volumen total de plasma del organismo se filtra en el glomérulo unas 60 veces cada día. De allí la enorme capacidad de riñón de regular la composición del medio interno y de eliminar rápidamente cualquier producto de desecho (10). Debido a la buena autorregulación de los vasos renales, la TFG se mantiene constante independientemente de la presión arterial general. Las mujeres tienen una TFG media un 10% inferior a la de los hombres, ya que liberan menos sustancias urinarias de la musculatura (11).

Las moléculas ven restringido su paso a través de la barrera de filtración en función de su peso molecular y de su carga eléctrica. Así pues, la barrera de filtración no supone obstáculo para moléculas de peso molecular inferior a los 7 000 daltons, solo una pequeña fracción de la albúmina plasmática (70 000 daltons) consigue atravesarla que posteriormente será reabsorbida en los túbulos renales (10). Para las moléculas de peso molecular entre 7 000 y 70 000 daltons, la permeabilidad de la membrana disminuye a medida que aumenta el peso molecular. Pequeños péptidos y proteínas plasmáticas atraviesan fácilmente la barrera de filtración. Así ocurre con la hemoglobina y la mioglobina, que normalmente no se encuentran libres

en el plasma, y su presencia en la orina constituye un signo, respectivamente de hemólisis o de daño muscular (10).

Tanto la arteriola aferente como la eferente reciben inervación simpática a través del nervio renal. Las varicosidades simpáticas secretan noradrenalina, que actúa sobre los receptores α -adrenérgicos. La estimulación simpática produce una vasoconstricción que comporta la disminución del flujo sanguíneo renal. La TFG también disminuye, pero no de forma importante como el flujo sanguíneo, dado el efecto contrapuesto que produce la contracción de ambas arteriolas glomerulares (10).

Por otra parte, el simpático estimula la secreción de renina, a través del sistema renina-angiotensina-aldosterona, un incremento de la angiotensina II, que también produce constricción de las arteriolas. El simpático también promueve la retención de Na^+ (10).

Las prostaglandinas no desempeñan un papel importante en la regulación del flujo sanguíneo renal (FSR) en individuos sanos y en reposo. Sin embargo, durante condiciones fisiopatológicas como hemorragias y reducción del VCE, las prostaglandinas (PGI_2 , PGE_1 y PGE_2) se producen localmente en los riñones y sirven para aumentar el FSR sin alterar la TFG (12). Las prostaglandinas aumentan el FSR al atenuar los efectos vasoconstrictores tanto de los nervios simpáticos como de la angiotensina II. Estos efectos son importantes porque previenen la vasoconstricción grave y potencialmente dañina y la isquemia renal. La síntesis de prostaglandinas se ve estimulada por la disminución del VCE y el estrés (por ejemplo, cirugía y anestesia), la angiotensina II y los nervios simpáticos (12). Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), como el ibuprofeno y el naproxeno, pueden inhibir la síntesis de prostaglandinas. Por lo tanto, la administración de estos fármacos durante la isquemia renal y el shock hemorrágico está contraindicada porque, al bloquear la producción de prostaglandinas, disminuyen el FSR y aumentan la isquemia renal. Las prostaglandinas también desempeñan un papel cada vez más importante en el mantenimiento del FSR y la TFG a medida que la persona envejece. En consecuencia, los AINE pueden reducir significativamente la FCR y la TFG en las personas mayores (12).

Uno de los reflejos más importantes que involucra al simpático renal es el iniciado por los barorreceptores arteriales en respuesta a una disminución de la presión arterial, como ocurre en una hemorragia (10).

1.2.2.2 Reabsorción tubular

La reabsorción de agua y solutos desde la luz del túbulo hasta el líquido extracelular depende del transporte activo. El filtrado que fluye fuera de la cápsula de Bowman en el túbulo proximal tiene las mismas concentraciones de solutos que el líquido extracelular. Para mover el soluto hacia fuera de la luz, las células tubulares deben utilizar entonces el transporte activo para crear gradientes de concentración o electroquímicos (13). El agua sigue osmóticamente a los solutos que son reabsorbidos. El transporte activo de Na^+ desde la luz tubular hacia el líquido extracelular crea un gradiente eléctrico transepitelial en el cual la luz es más negativa que el LEC. Los aniones siguen entonces al Na^+ con carga positiva hacia fuera de la luz. La eliminación de Na^+ y aniones de la luz hacia el LEC diluye el líquido luminal y aumenta la concentración del LEC, de modo que el agua abandona el túbulo por ósmosis (13).

La pérdida de volumen desde la luz aumenta la concentración de solutos (incluidos K^+ , Ca^{2+} y urea) que quedan en el filtrado: la misma cantidad de soluto en un volumen menor es igual a una mayor concentración de soluto. Una vez que las concentraciones de soluto son mayores que las concentraciones de soluto en el líquido extracelular, los solutos difunden fuera de la luz si el epitelio del túbulo es permeable a ellos (13).

1.2.2.3 Secreción tubular

La secreción es la transferencia desde el líquido extracelular en la luz de la nefrona. La secreción al igual que la reabsorción, depende principalmente de los sistemas de transporte de membrana. La secreción de K^+ y de H^+ por la nefrona distal es importante para la regulación homeostática de estos iones. Además, se secretan muchos compuestos orgánicos. Estos compuestos incluyen tanto metabolitos producidos en el organismo como sustancias llevadas al cuerpo o xenobióticos (13).

Cuando una sustancia es filtrada y no es reabsorbida, se excreta de forma muy eficaz. Sin embargo, si la sustancia es filtrada en el túbulo, no se reabsorbe se secreta más en el túbulo y desde los capilares peritubulares, la excreción es aún más eficaz. La secreción es un proceso activo porque requiere el movimiento de sustratos en contra de sus gradientes de concentración. La mayor parte de los compuestos orgánicos son secretados a través del epitelio del túbulo proximal en la luz por transporte activo indirecto (13).

Los transportadores responsables de la excreción de solutos orgánicos tienen una amplia especificidad. Por ejemplo, la familia de transportadores de aniones orgánicos (OAT), es capaz de transportar una amplia variedad de aniones endógenos y exógenos, que varían desde sales biliares hasta el benzoato utilizado como conservador en las gaseosas, el salicilato de la aspirina y el edulcorante artificial sacarina. La secreción de aniones orgánicos en los transportadores de aniones orgánicos es un ejemplo de transporte activo terciario, donde el uso de la energía proveniente del ATP es dos pasos extraídos de los transportadores (13).

1.2.3. Transporte de agua, sodio, cloro y potasio

1.2.3.1 Transporte de agua

La reabsorción de agua puede ser obligatoria o facultativa. La reabsorción de solutos impulsa la reabsorción de agua, ya que toda la reabsorción de agua se produce por ósmosis. Aproximadamente el 80 % de la reabsorción de agua filtrada por los riñones se produce junto con la reabsorción de solutos como Na^+ , Cl^- y glucosa (14).

El agua reabsorbida con solutos en el líquido tubular se denomina reabsorción de agua obligatoria porque el agua está «obligada» a seguir a los solutos cuando estos se reabsorben. Este tipo de reabsorción de agua se produce en el túbulo proximal y en la rama descendente del asa de Henle, ya que estos segmentos del nefrón son siempre permeables al agua. La reabsorción del 20 % final del agua se denomina reabsorción facultativa de agua (14).

La palabra facultativa significa capaz de adaptarse a una necesidad. La reabsorción facultativa de agua está regulada por la hormona antidiurética (TDH) y se produce en el túbulo distal tardío y en todo el conducto colector (14).

1.2.3.2 Transporte de sodio y cloro

La ingesta de sodio (Na^+) en adultos de Estados Unidos es aproximadamente 4.2 g en hombre y 3.5 g en mujeres. Como el Na^+ es el osmol principal en el líquido extracelular, el contenido corporal de Na^+ y de cloro (Cl^-), su anión principal, determina el volumen del líquido extracelular (15).

Una de las funciones principales del túbulo proximal (TP) renal es la reabsorción casi isosmótica de dos tercios a tres cuartos del ultrafiltrado glomerular. Esto incluye la reabsorción de al menos el 60% del Na^+ filtrado con iones acompañantes, de modo que este segmento nefronal tiene un papel esencial en el mantenimiento del volumen de líquido extracelular (15).

Varios factores mejoran las condiciones para el transporte paracelular de $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ por el TP intermedio y final. El primero es que el TP tiene un epitelio de resistencia baja, denominado epitelio permeable, con uniones intercelulares estrechas (tight junctions) muy permeables al Na^+ y al Cl^- . El segundo es que estas uniones intercelulares estrechas tienen permeabilidad preferente para el Cl^- frente al HCO_3^- , una característica que ayuda a generar la (diferencia de potencial) DP luz-positiva en el TP intermedio y final (15). El tercero es que el aumento de las concentraciones de $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ lumbinales en el TP intermedio y final genera una fuerza química impulsora para la reabsorción paracelular de Cl^- . Este incremento de $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ luminal es la consecuencia directa de la reabsorción potente de HCO_3^- y de otros solutos por el segmento S1 inicial, combinada con la reabsorción isosmótica del agua filtrada (15).

El intercambio $\text{Na}^+\text{-H}^+$ apical tiene un papel fundamental en la reabsorción transcelular y paracelular de $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ por el TP. Un transportador (electroneutro) de intercambio (antiportador) de Na^+/H^+ , de modo que por cada Na^+ reabsorbido se secreta (secundariamente) un ion H^+ , que en la parte proximal temprana se utiliza casi exclusivamente para reabsorber bicarbonato filtrado (16); como el movimiento de Na^+ y de HCO_3^- impulsa el movimiento osmótico del agua, también aumenta la concentración luminal de Cl^- , que a su vez aumenta las fuerzas impulsoras del transporte paracelular pasivo de Cl^- (15).

Igual que en otros epitelios absorbentes, la actividad $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPasa}$ determina el gradiente de Na^+ para el transporte transcelular de $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ por el TP

y proporciona la vía de salida principal para el Na^+ . Para mantener la electroneutralidad del transporte transcelular $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$, esta salida de Na^+ a través de la membrana basolateral debe equilibrarse mediante una salida igual de Cl^- (18). Se han identificado varias vías de salida de Cl^- en las células tubulares proximales, como cotransporte de $\text{K}^+\text{-Cl}^-$, canales de Cl^- y distintos tipos de intercambio $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ (15).

Las ramas delgadas descendente y ascendente realizan absorción pasiva de agua y $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$, respectivamente, mientras que la RAG reabsorbe alrededor del 30% de $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ filtrado mediante transporte activo. Por su parte el túbulo contorneado distal promueve la absorción del 10% del $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ (15).

1.2.3.3 Transporte de potasio

Tras la ingestión de una comida normal, la concentración de potasio en el líquido extracelular aumentaría hasta un valor mortal si el potasio ingerido no se moviera rápidamente hacia el interior celular. Ej., la absorción de 40 mEq de potasio (la cantidad contenida en una comida rica en verduras y frutas) aumentaría la concentración plasmática de potasio unos 2,0 mEq/L si todo el potasio permaneciera en el compartimento extracelular (17).

La insulina, la aldosterona el estímulo β -adrenérgico de parte de las catecolaminas estimula el movimiento del potasio del espacio extracelular al intracelular, el Síndrome de Conn que es una producción excesiva de aldosterona genera hipopotasemia (17).

Aproximadamente el 90 % del potasio filtrado se reabsorbe en el túbulo proximal y en ello interviene un proceso específico de transporte activo. La reabsorción de iones de sodio y la secreción de iones de potasio son procesos simultáneos (18).

El 10 % restante de K^+ se reabsorbe en el TCD y el TC mediante transporte activo. El K^+ se secreta bajo la influencia de la aldosterona en el TCD mediante transporte activo (bomba $\text{Na}^+, \text{K}^+\text{-ATPasa}$) y también se transporta de forma pasiva a través de las células (18).

1.3. FARMACOLOGÍA DE LOS DIURÉTICOS

Una generalización importante sobre la mayoría de los fármacos utilizados como diuréticos es que actúan sobre el mecanismo de captación de sodio del líquido de la luz a través de la membrana celular apical en un segmento tubular concreto. Esto da lugar a la especificidad de su lugar de acción, dado que el paso de captación apical está mediado por mecanismos diferentes en cada segmento, como se ha descrito anteriormente. Por el contrario, el paso de salida del sodio de la base de las células es el mismo en cada segmento tubular, a saber, la bomba Na,K-ATPasa (19).

Un grupo particular de fármacos son los diuréticos osmóticos. Estas sustancias se filtran libremente y no son reabsorbidas por ninguna parte del sistema tubular. Así pues, su acción no es específica de un lugar, ya que arrastran el líquido osmóticamente dentro de la luz tubular y, por lo tanto, limitan el grado de reabsorción de sodio en múltiples segmentos (19). El principal ejemplo clínico de un agente de este tipo es el manitol, que debe administrarse mediante infusión intravenosa y puede utilizarse para conseguir una diuresis a corto plazo en afecciones asociadas a la inflamación celular, como el edema cerebral (19), pero otras sustancias con acciones similares son la urea y la isosorbida. Los niveles elevados de otros solutos en la orina, como la glucosa, también producen una diuresis osmótica (20).

Todos los demás fármacos diuréticos (excepto la espironolactona) deben administrarse en el líquido de la luz en concentraciones apreciables para afectar a los mecanismos apicales de transporte de sodio. La llegada al lugar de acción se consigue en parte por filtración, pero hay un componente importante de secreción activa de las moléculas diuréticas a través del epitelio tubular proximal, mediada por los mecanismos de transporte disponibles para secretar ácidos y bases orgánicos débiles en este segmento de la nefrona (19). Esto es especialmente importante para determinar la farmacocinética de estos fármacos, ya que la mayoría están fuertemente ligados a proteínas en el plasma, una propiedad que en sí misma conduce a una concentración muy baja en el túbulo solo por filtración glomerular (19).

En los dos capítulos siguientes de este volumen se ofrece más información sobre la acción de los inhibidores de la AC y los efectos de los diuréticos en la capacidad de concentración y dilución (19).

1.3.1. Inhibidores de la anhidrasa carbónica

Actúan en el túbulo proximal, el fármaco prototipo es la acetazolamina. Su mecanismo consiste en impedir la reabsorción de NaHCO_3 limitando la formación de H^+ . Promueve la excreción de un 5% de Na, y elevada excreción de K^+ (19).

La anhidrasa carbónica produce iones de hidrógeno e iones bicarbonato a partir del CO_2 y el agua. Esta reacción se produce en los túbulos contorneados proximales y distales. La acetazolamida inhibe la acción de la anhidrasa carbónica, por lo que se produce muy poco hidrógeno y bicarbonato. Por lo tanto, no hay iones hidrógeno disponibles para el intercambio con iones de sodio (disminución de la reabsorción de sodio). Como resultado, los iones de sodio se excretan en la orina junto con mayores cantidades de agua (21).

1.3.2. Diuréticos de ASA

La furosemida es un fármaco típico de este grupo, actúa en la rama ascendente gruesa del asa de Henle. Su mecanismo consiste en el bloqueo del cotransportador apical de Na, K, 2Cl^- . Permite la excreción del 20% de sodio y una elevada excreción de K (19). Los diuréticos de asa inhiben el NKCC2, el transportador luminal de $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ en el asa de Henle. Al inhibir este transportador, los diuréticos de asa reducen la reabsorción de NaCl y también disminuyen el potencial positivo luminal que proviene del reciclaje de K^+ . Este potencial positivo normalmente impulsa la reabsorción de cationes divalentes en la rama ascendente gruesa y, al reducir este potencial, los diuréticos de asa provocan un aumento de la excreción de Mg^{2+} y Ca^{2+} . El uso prolongado puede causar hipomagnesemia significativa en algunos pacientes (22).

Sin embargo, es probable que la hipomagnesemia no sea tan profunda como la causada por los diuréticos tiazídicos. Dado que la absorción intestinal

inducida por la vitamina D y la reabsorción renal de Ca^{2+} inducida por la hormona paratiroidea pueden aumentar, los diuréticos de asa no suelen causar hipocalcemia. Sin embargo, en los trastornos que causan hipercalcemia, la excreción de Ca^{2+} puede aumentarse mediante el tratamiento con diuréticos de asa combinados con infusión de solución salina (22).

1.3.3. Tiazidas y fármacos relacionados

Esta clase de diuréticos se sintetizó originalmente para producir un potente inhibidor de la anhidrasa carbónica que no causara acidosis. Estos diuréticos son solo inhibidores débiles de la anhidrasa carbónica (21).

El fármaco prototipo es la Clorotiazida, actúan en el túbulo distal temprano bloqueando al cotransportador apical de Na , Cl . Facilita la excreción de un 6% de Na^+

(19). El transporte es impulsado por una bomba de Na^+ en la membrana basolateral. La energía libre en el gradiente electroquímico para el Na^+ es aprovechada por un transportador Na^+-Cl^- en la membrana luminal que mueve el Cl^- hacia la célula epitelial en contra de su gradiente electroquímico (23). El Cl^- sale entonces de la membrana basolateral de forma pasiva por un canal de Cl^- . Los diuréticos tiazídicos inhiben el transportador denominado NCC1 o TSC que se expresa predominantemente en el riñón y se localiza en la membrana apical de las células epiteliales del TCD. La expresión del transportador está regulada por la aldosterona. Las mutaciones en el transportador Na^+-Cl^- causan una forma de alcalosis hipopotasémica hereditaria denominada síndrome de Gitelman (23).

Como resultado, estos fármacos suelen producir alcalosis hipoclorémica e hipopotasemia. Los diuréticos tiazídicos y similares a las tiazidas no son refractarios. Mientras se administren estos fármacos de forma continua, se producirá diuresis incluso en presencia de alcalosis. Como extensión de su acción renal, se ha descrito la aparición de hiponatremia (nivel bajo de sodio) inducida por tiazidas en pacientes de edad avanzada. Este grupo de diuréticos reduce la excreción renal de iones calcio. No produce hipercalcemia, aunque se observa una leve elevación de los niveles séricos de calcio con el tratamiento crónico (21).

1.3.4. Diuréticos ahorradores de potasio

Principalmente la espironolactona, que en el túbulo colector cortical bloquea el receptor de aldosterona en el citoplasma. En cuanto a la excreción de Na^+ facilita una excreción del 2%, y una reducida excreción de K (19). Las células epiteliales del túbulo distal tardío y del conducto colector (en particular, el túbulo colector cortical) contienen receptores mineralocorticoides (MR) citosólicos con alta afinidad por la aldosterona. Cuando la aldosterona se une a los MR, el complejo MR-

aldosterona se traslada al núcleo, donde regula la expresión de múltiples productos génicos denominados proteínas inducidas por la aldosterona (AIP) (23).

Las AIP afectan a la producción, destrucción, localización y activación de múltiples componentes del sistema que media la reabsorción de Na^+ en los túbulos distales tardíos y los conductos colectores. En consecuencia, se potencia el transporte transepitelial de NaCl yaumenta el voltaje transepitelial negativo de la luz. Este último efecto aumenta la fuerza impulsora para la secreción de K^+ y H^+ en la luz tubular (23).

Fármacos como la espironolactona, la eplerenona y la finerenona inhiben de forma competitiva la unión de la aldosterona al MR. A diferencia del complejo MR- aldosterona, el complejo antagonista MR-MRA no es capaz de inducir la síntesis de AIP. Dado que la espironolactona, la eplerenona y la finerenona bloquean los efectos biológicos de la aldosterona, estos agentes también se denominan antagonistas de la aldosterona. Los antagonistas del MR son los únicos diuréticos que no requieren acceso a la luz tubular para inducir la diuresis (23).

1.4. Destilación por arrastre de vapor

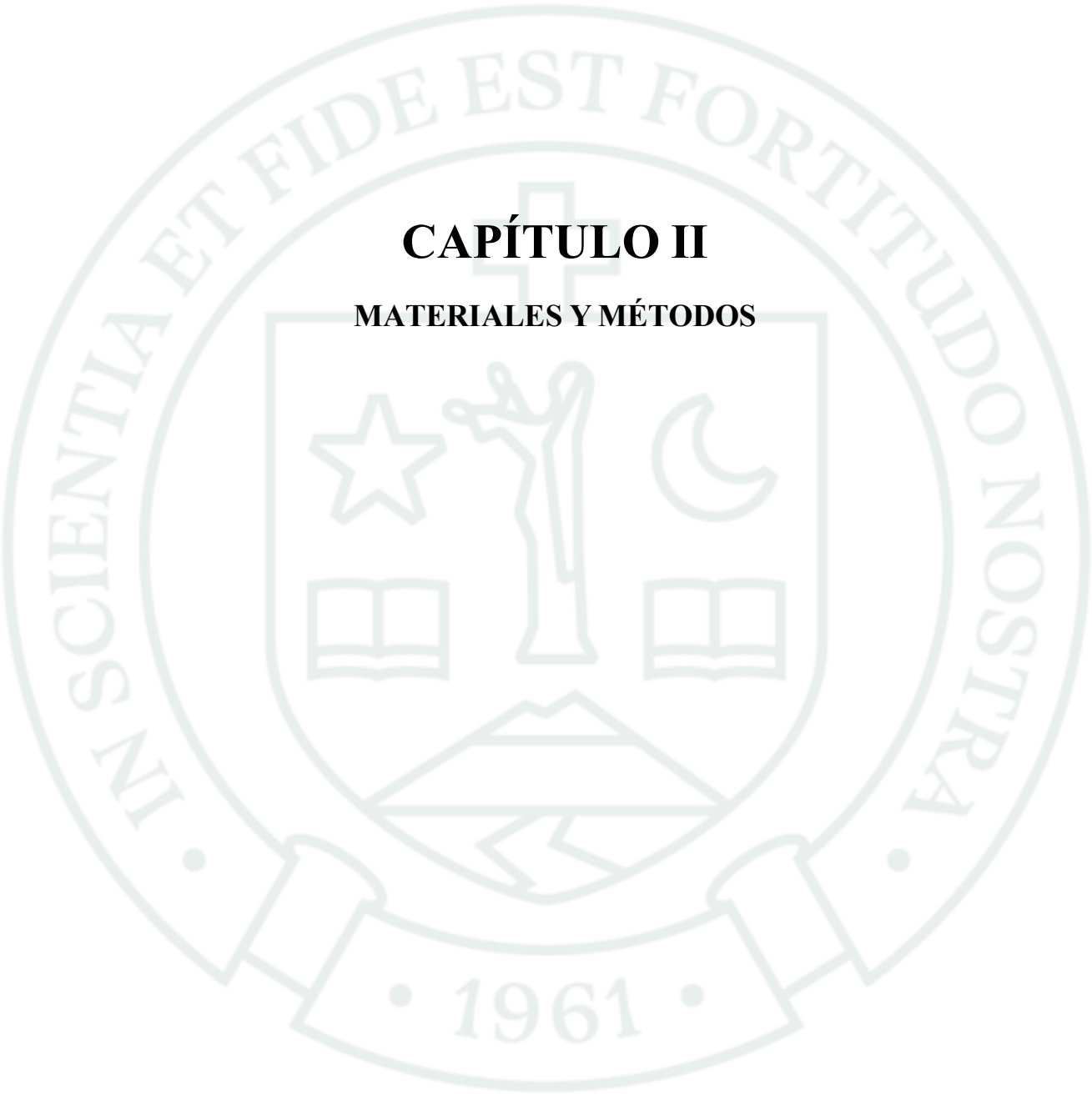
Este método en la bibliografía se describe como un método de destilación, en el que el vapor se genera por separado en una caldera de vapor y se hace pasar a través del tanque de destilación mediante una bobina de vapor. El material vegetal se compacta firmemente sobre la rejilla perforada (24). El vapor que contiene el aceite, se condensa en un condensador de tubo y se separa en el

receptor de aceite. Los costos de combustible son generalmente más bajos en las unidades modernas de destilación al vapor debido a la mayor eficiencia térmica con la que funcionan la mayoría de las calderas. El costo de capital es más alto, por lo que solo los grandes productores pueden permitirse adquirir estas unidades. La capacidad de los alambiques oscila entre 1 y 3 toneladas de material vegetal por lote (24).

1.5. Cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina (TLC) puede considerarse una forma de cromatografía líquido-sólido en la que la fase estacionaria es una capa fina sobre la superficie de una placa adecuada. La fase móvil se extiende sobre la superficie por acción capilar. Las teorías de la TLC y la cromatografía líquido-sólido son muy similares, al igual que las fases estacionaria y móvil utilizadas. De hecho, las placas de capa fina pueden utilizarse de forma provechosa para desarrollar las condiciones óptimas para las separaciones mediante cromatografía líquida en columna. Las ventajas de seguir este procedimiento son la rapidez y el bajo coste de los experimentos exploratorios de capa fina. El aparato de TLC es mucho más sencillo que un sistema de HPLC y mucho menos costoso de manejar (26).

En su momento, los métodos de TLC se utilizaron ampliamente en la industria farmacéutica para determinar la pureza de los productos. Hoy en día, las técnicas de HPLC han sustituido a muchos de estos métodos. La TLC se utiliza ampliamente en los laboratorios clínicos y es la columna vertebral de muchos estudios bioquímicos y biológicos (26).



CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MATERIALES

2.1.1. Material biológico: unidad animal

- 20 ratas albinas Wistar.

2.1.2. Material biológico: unidad vegetal

- Frutos secos de la especie *Foeniculum vulgare*

2.1.3. Materiales de laboratorio

2.1.3.1 Equipos y aparato

- Balanza analítica
- Cocina eléctrica
- Lámpara UV genérico
- Frigorífico de conservación
- Equipo de destilación

2.1.3.2 Material de vidrio

- Capilares de vidrio
- Cuba cromatográfica
- Matraces
- Pera de decantación
- Pipetas graduadas
- Probetas graduadas
- Varillas de agitación

- Vasos de precipitados

2.1.3.3 Reactivos - excipientes

- Acetato de etilo (Merck Q.P UCSM F-302)
- Ácido acético (UCSM F-302)
- Ácido sulfúrico (Merck UCSM F-302)
- Agua destilada (UCSM F-302)
- Alcohol etílico (UCSM F-302)
- Etanol (UCSM F-302)
- Hexano (UCSM F-302)
- Sacarina sódica (UCSM F-302)
- Aromatizante sabor menta (UCSM F-302)
- Metilparabeno (UCSM F-302)
- Polisorbato 80 (UCSM F-302)
- Propilenglicol (UCSM F-302)
- Propilparabeno (UCSM F-302)
- Reactivo Liebermann Burchard (UCSM F-302)
- Tolueno (UCSM F-302)
- Vainillina (UCSM F-302)

2.1.3.4 Otros materiales utilizados

- Cooler de PVC

- Espátulas
- Mortero
- Frascos de vidrio ámbar
- Frascos viales
- Gorro de laboratorio
- Guantes de examen
- Guantes quirúrgicos
- Jaulas para roedores
- Mascarilla
- Papel filtro
- Pinzas de acero
- Pissetas
- Placas de sílica gel
- Plumón marcador
- Sonda orogástrica
- Soporte universal

2.2. METODOLOGÍAS

2.2.1. Obtención del aceite esencial de hinojo

2.2.1.1 Descripción de la unidad biológica vegetal



Figura 4: Frutos secos de *Foeniculum Vulgare* (hinojo)

Se puede observar que son alargadas, curvadas y color verde amarillento estos tienen un aspecto homogéneo y libre de impurezas que estas fueron empleadas para la destilación y obtención del aceite esencial

Para la destilación se trabajó con 2000 g de frutos secos de *Foeniculum vulgare* (hinojo) estas fueron obtenidas del mercado san camilo de la ciudad de Arequipa provenientes de alto Cayma siendo el código de ubicación (16.402733 - 71.535209), estos frutos fueron seleccionados y empaquetados en papel kraft las que luego una muestra de 50 gramos fue enviada a un laboratorio para su identificación botánica y clasificación taxonómica, conforme se aprecia el certificado que se encuentra en la sección anexos.

2.2.1.2 Método de extracción mediante destilación con arrastre de vapor de agua

A nivel de laboratorio se trabajó con dos destiladores en la facultad de Farmacia y Bioquímica en el pabellón F-302 mediante el método que se adaptó con equipo de destilación, de la siguiente manera.

- En un balón de destilación se colocó agua destilada en cantidad suficiente, este balón se sometió a una fuente de calor, para provocar la evaporación del agua destilada.

- En otro balón de destilación se colocó los frutos de *Foeniculum vulgare*, 130 g este balón con la droga se encontraba conectado al balón generador de vapor de agua mediante un tubo de desprendimiento, y a un condensador mediante otro tubo de destilación, de modo que el vapor que sale conformado por vapor de agua y aceite esencial se condense.
- El líquido condensado se colectó en una pera de decantación para separar las dos fases: agua aromática y aceite esencial.
- El agua aromática se separó y desecho y el aceite esencial se recibió en un frasco ámbar de vidrio y cierre hermético.

2.2.2. Caracterización del aceite esencial de hinojo

2.2.2.1 Solubilidad

Procedimiento

- Se colocó 1 mL de aceite esencial de hinojo en un frasco y se le adicionó 1 mL agua destilada luego se agitó para ver la solubilidad.
- Se colocó 1 mL de aceite esencial de hinojo en un frasco y se le adicionó 1 ml de alcohol 96° luego se agitó para ver la solubilidad.
- Se colocó 1mL de aceite esencial de hinojo en un frasco y se le adicionó 3 mL de alcohol 96° luego se agitó para ver la solubilidad.
- Se colocó 1 mL de aceite esencial de hinojo en un frasco y se le adicionó 4 mL de alcohol 96° luego se agitó para ver la solubilidad.

2.2.2.2 Organolepsia

Los caracteres organolépticos del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo) que se determinaron fueron:

- Aspecto
- Color
- Sabor

- Olor

2.2.2.3 Determinación de la densidad

El método utilizado para evaluar la densidad del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo) fue el picnométrico, que se utilizó precisamente un picnómetro que es un frasco pequeño de vidrio de cuello estrecho que tiene un tapón esmerilado el que se uso es de una capacidad de 10 mL,

Procedimiento

- Se procedió a verificar y a lavar el picnómetro y se secó en la estufa
- Con ayuda de la balanza analítica se procedió a pesar el picnómetro vacío y registrar los datos
- Seguidamente se procedió a llenar el picnómetro con la muestra de aceite esencial de hinojo y a tapar con sumo cuidado, y se procedió a llevar a la balanza analítica y registrar los datos.

para su cálculo se requiere la siguiente fórmula

$$\text{Densidad}(d) = \frac{W_{pi} - W_{pic}}{V_{pic}}$$

Donde:

W_{pi} = Peso del picnómetro con aceite esencial

W_{pic} = Peso del picnómetro vacío V_{pic} =

Volumen teórico del picnómetro

2.2.3. Método para la elaboración de una solución oral

Para la elaboración de la solución oral con aceite esencial de hinojo, fue necesaria la adición de un agente emulsificante que contribuya en la solubilidad del aceite esencial en medio acuoso, lo que permitió obtener una microemulsión que se caracteriza por ser un sistema ópticamente transparente.

El procedimiento ajustado para su elaboración fue el siguiente:

- a. Se reunió la mitad del disolvente que fue agua destilada, se disolvió los conservantes 20 gotas, aromatizante 20 gotas y edulcorante 0.2 g sacarina; mediante agitación enérgica.
- b. Un vaso precipitado se pesa en la balanza analítica ahí se adiciona 5 g de polisorbato 80 aparte se añadió el propilenglicol, junto con el alcohol y previa agitación para homogenizar.
- c. En la solución anterior se disolvió el aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo) 5 mL mediante agitación.
- d. Sobre la solución del aceite esencial se añadió la solución de agua destilada con los conservantes y correctores del sabor.
- e. Todo el sistema se agito para homogenización, luego se filtró y se procedió a envasar.

TABLA 1: FORMULA GENERAL PARA LA ELABORACIÓN DE SOLUCIONES

Nº	Descripción	Cantidad
1	Principio activo	X%
2	Cosolvente	c.s.
3	Conservantes	c.s.
4	Viscozantes (si procede)	c.s.
5	Solvente	c.s.

FUENTE: FORMULARIO NACIONAL ESPAÑOL

La fórmula general anterior, así como el procedimiento fue ajustado considerando la inclusión del principio activo, cuya naturaleza es ser liposoluble y lipófilo, por lo que fue necesario añadir un emulgente, además de codisolventes. Por otra parte, por la presencia de agua fue necesario también incluir conservantes. Al tratarse de una solución oral se añadió agentes edulcorantes y aromatizantes, no se consideró la inclusión de colorantes.

De todos estos excipientes se consideró crítico la concentración de polisorbato 80 es un tensioactivo no iónico solubilizante y emulsificante estos cambios mínimos alteran el efecto y solubilidad, el alcohol etílico también se consideró crítico ya que pueden influir en el volumen urinario y su uso debe ser cuidadosamente, por lo que se planteó tres posibles fórmulas que fuimos evaluando

y descartando progresivamente hasta que se obtuvo la fórmula adecuada, obteniendo la solución oral transparente y homogénea sin turbidez ni aspecto lechoso, con ordenes crecientes y decrecientes de ambos excipientes.

TABLA 2: FORMULAS ESPECÍFICAS PARA LA ELABORACIÓN DE LA SOLUCIÓN ORAL CON ACEITE ESENCIAL DE HINOJO

Nº	Descripción	Cantidad (%)		
1	Aceite esencial	5	5	5
2	Polisorbato 80	7	5	3
3	Alcohol 96 ^a	10	20	30
4	Propilenglicol	20	20	20
5	Metilparabeno	0.08	0.08	0.08
6	Propilparabeno	0.02	0.02	0.02
7	Sacarina sódica	0.2	0.2	0.2
8	Aromatizante menta soluble	1	1	1
9	Agua destilada csp	100	100	100

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

2.2.4. Metodología de análisis fitoquímico preliminar

El análisis fitoquímico preliminar del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* se realizó mediante cromatográfica en capa fina.

2.2.4.1 Procedimiento General

En este proceso se hizo uso de placa sílica gel como fase estacionaria. Estas fueron recortadas 3 cm de ancho por 10 m de altura procediendo a marcar con lápiz la placa con sílica gel en la parte inferior 1.5 cm esta línea sirvió para poder realizar la siembra, con un capilar se aplica una gota de la muestra en una línea de partida cerca del extremo inferior de una placa recubierta con gel de sílice ya aplicada la muestra se deja secar a temperatura ambiente durante 2 minutos.

A continuación, la placa se coloca en una cubeta cuyo fondo está cubierto con la fase móvil, el disolvente migra inmediatamente hacia arriba y,

dependiendo de lo pronunciado que sea el comportamiento apolar de los respectivos analitos, estos son «transportados» por la fase móvil en mayor o menor medida (27).

Cuando la fase móvil, que asciende debido a las fuerzas capilares, ha alcanzado casi el extremo superior de la placa TLC, la placa se retira del recipiente de disolvente y se marca hasta donde fue la corrida y se determina la distancia de las manchas de las sustancias respectivas desde la línea de partida (27).

La relación entre la distancia migrada por el analito respectivo y la distancia migrada por el frente del disolvente se denomina factor de retención, a menudo llamado simplemente valor R_f (27):

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por el analito}}{\text{Distancia recorrida por el disolvente}}$$

Dado que aquí hay dos distancias relacionadas entre sí, es decir, se trata de una medida relativa, el factor de retención R_f de cada analito es adimensional y específico de la sustancia para el mismo disolvente. (27).

2.2.4.2 Identificación de reacción General

Como fase móvil se utilizó en primer lugar tolueno con acetato de etilo (90:10), fase móvil descrita en bibliografía, sin embargo, no hubo buena resolución, se modificó el sistema de disolventes.

a. Fase móvil

- Tolueno 90 %
- Acetato de etilo 5 %

b. Detección sin revelador

Sin tratamiento químico UV-254 nm: Los compuestos que contienen al menos dos dobles enlaces conjugados extinguen la fluorescencia y aparecen como zonas oscuras sobre el fondo fluorescente verde claro de la placa TLC. (28)

c. Detección con revelador

Vainillina al 1 % en solución etanólica (solución I).

Ácido sulfúrico al 5 % en solución etanólico (solución II).

Se rocía la placa con 10 ml de solución I, seguido inmediatamente de 10 ml de solución II. Tras calentar a 110 °C durante 5-10 min bajo observación, se evalúa la placa a simple vista. Detección, por ejemplo, de componentes de aceites esenciales (terpenoides, fenilpropanoides) (28).

2.2.4.3 Identificación de Terpenos

a. Fase móvil

Hexano 95 %

Acetato de etilo 5 %

b. Detección con revelador

Se utilizó el Reactivo de ácido acético-ácido sulfúrico/reactivo de Liebermann-Burchard (LB):

Procedimiento

- Se añadió con cuidado 1 ml de ácido acético en un vaso precipitado, este estuvo en todo momento sumergido dentro de otro vaso precipitado más grande con hielo esto con la finalidad de controlar la temperatura.
- En seguida se adicionó 1 ml de ácido sulfúrico concentrado poco a poco con ayuda de una varilla se va moviendo ya que esta mezcla es una reacción altamente exotérmica
- Por último, esta mezcla se adicionó a 10 ml de etanol. El reactivo se preparó en el momento ya que se corre el riesgo de oxidarse o degradarse y perder el poder revelador (29).

2.2.4.4 Procedimiento específico

Para la identificación tanto en la reacción general como en la de terpenos se preparó la fase móvil en la cuba cromatográfica hasta una altura de 1 cm una vez realizada la mezcla se dejó reposar por unos 5 minutos con la cámara tapada con la finalidad de saturar la atmosfera interna de vapor.

Para la aplicación se utilizó un capilar de vidrio. el desarrollo fue de tipo ascendente (de abajo hacia arriba), por lo que el disolvente se colocó en el fondo de la cuba, ascendiendo por capilaridad, para mayor detalle ver la figura (30).

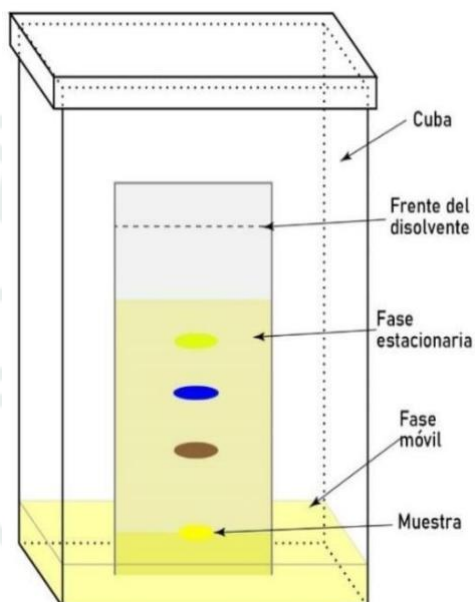


Figura 5: Esquema para la cromatografía en capa fina del aceite esencial de hinojo

2.2.5. Metodología para la evaluación del efecto diurético

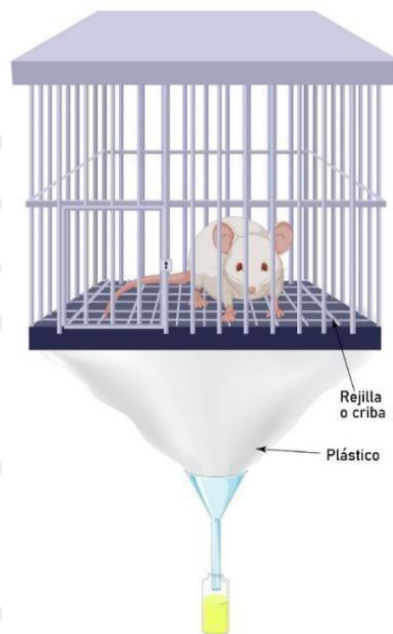


Figura 6: Esquema para el acondicionamiento de los animales en jaulas metabólicas

Para la evaluación del efecto diurético de la solución oral con aceite esencial de hinojo se usó el método de Lipschitz modificado.

En los ensayos se compara el volumen de orina excretado por una rata tratada durante un período de tiempo con una droga de elección. Generalmente se compara con Hidroclorotiazida y se administra a grupos de ratas en ayunas. Los mecanismos de acción de las drogas vegetales diuréticas se llevan a cabo mediante mecanismos acuaréticos, (permite la eliminación de agua libre sin pérdida significativa de sodio) siendo muy escasos los ejemplos de vegetales que actúen por mecanismos de interferencia de reabsorción tubular de sodio (1).

2.2.5.1 Estandarización de los animales

En primer lugar, se seleccionó animales de experimentación pertenecientes a la misma especie, ratas Wistar, el mismo sexo (machos), edad entre 3 a 4 meses y con un rango de peso corporal entre 180-220 gramos.

Los animales de experimentación fueron sometidos a un proceso de homogenización, para ello se les administrará dieta balanceada consistente en maíz, trigo, cebada y agua, durante 7 días, a una temperatura ambiental entre 22 y 25°C, ciclo luz oscuridad 12/12 horas.

2.2.5.2 Grupos experimentales

Transcurrido el periodo de estandarización se identificó a cada animal y se registró su peso corporal. Se aleatorizó la unidad animal mediante sorteo, ello con la finalidad de conformar los siguientes grupos experimentales, cada uno de ellos conformado por cinco animales de experimentación (31).

- a. Grupo control negativo: Conformado por 03 animales a los que se administró 3 mL del vehículo, es decir, la solución oral sin aceite esencial de hinojo.
- b. Grupo control positivo: Conformado por 03 animales a los que se administró una dosis diaria de 25 mg/kg peso corporal de hidroclorotiazida disuelta 3mL de agua destilada.
- c. Grupo solución oral dosis menor: Conformado por 03 animales de experimentación a los que se administró 1.5 mL de la solución oral de aceite esencial de hinojo equivalente a una dosis total de 68.30 mg-
- d. Grupo solución oral dosis mayor: Conformado por 03 animales de experimentación a los que se administró 3.0 mL de la solución oral de aceite esencial de hinojo (45.53 mg/mL) equivalente a una dosis total de 136.59 mg.

2.2.5.3 Pre-prueba

Los animales de experimentación fueron colocados a sus jaulas metabólicas individuales, y entraron a una etapa de ayuno de 12 horas a la vez se le administró cloruro de sodio al 0.9% 3 mL a cada uno de las ratas Wistar esto con la finalidad de estandarizar y garantizar condiciones basales homogéneas, durante la misma tuvieron disposición de agua libre, ad libitum.

Se recolectó la orina durante las 6 horas, dentro de la fase de ayuno. La orina se recibió en viales de vidrio y fueron llevados al laboratorio de análisis clínico se determinó los siguientes parámetros biológicos:

- Peso corporal
- Volumen de orina
- Concentración de electrolitos (Na^+ , K^+ , Cl^-).

2.2.5.4 Etapa de intervención experimental

En esta etapa los animales recibieron su dieta y agua normales, se les administró 3 ml de cloruro de sodio 0.9 % con la finalidad de estandarizar y garantizar condiciones basales homogéneas y luego de cuarenta minutos se les administró los tratamientos respectivos, este periodo duró 48 horas.

Para la administración de los tratamientos se utilizó sonda orogástrica, la frecuencia del tratamiento según grupo experimental.

2.2.5.5 Post -prueba

Los animales ingresaron de nuevo a un periodo de ayuno por 12 horas con agua libre a disposición y se les administró 3 ml de cloruro de sodio 0.9 % con la finalidad de estandarizar y garantizar condiciones basales homogéneas y luego de cuarenta minutos se les administró los tratamientos. También se recolectó la orina durante las siguientes 6 horas y fueron llevados al laboratorio de análisis clínico.

Se midió los siguientes parámetros.

- Volumen de orina
- Electrolitos urinarios (Na^+ , K^+ , Cl^-).

2.2.5.6 Estado general de los animales luego de la post prueba

Una vez terminado la experimentación con los animales, estos fueron evaluados observando un estado general de manera adecuada sin ninguna molestia. Finalmente se quedaron en el bioterio, los animales fueron sometidos según al procedimiento final correspondiente de acuerdo al código de ética.

a) Variables a medir:

Como datos primarios o de base se midió el volumen urinario (mL/animal), y la excreción de los electrolitos urinarios expresados en mEq/L.

Como datos secundarios los volúmenes de orina se expresaron normalizados según peso corporal (mL/Kg) según métodos estándar en ensayos de diuresis en ratas (32). Con respecto a electrolitos se calculó y normalizo según volumen de orina (33).

$$\text{Excreción total (mEq)} = [\text{Ion}]_{\text{orina}} \times V_{\text{orina (L)}}$$

Donde:

$[\text{Ion}]_{\text{orina}}$ = Concentración del ion en mEq/L

$V_{\text{orina(L)}}$ = Volumen total de orina en L

$$\text{Eficiencia diurética relativa} = \frac{V_{\text{post}} - V_{\text{pre}}}{V_{\text{pre}}}$$

Donde:

V_{post} = Volumen total de orina en L después de los tratamientos

V_{pre} = Volumen total de orina en L antes de los tratamientos

$$\Delta Ion_{ex} = \frac{Ion_{ex,post} - Ion_{ex,pre}}{Ion_{ex,pre}}$$

Donde:

ΔIon_{ex} = Diferencia relativa porcentual de la cantidad de ion excretada

$Ion_{ex, post}$ = Cantidad total del ion excretada en mEq después del tratamiento

$Ion_{ex, pre}$ = Cantidad total del ion excretada en mEq antes del tratamiento

2.2.6. Métodos de análisis estadístico

2.2.6.1 Media

La media (o promedio) es la medida de tendencia central más popular y conocida. Se utilizó tanto con datos discretos como continuos, aunque su uso es más frecuente con datos continuos. Como se sabe la media es igual a la suma de todos los valores del conjunto de datos dividida por el número de valores del conjunto de datos. Por lo tanto, si tenemos n valores en un conjunto de datos y estos tienen valores $x_1, x_2, \dots, x_n$, la media muestral, que suele indicarse con $\bar{x}$ y una barra superpuesta, es la sumatoria de los n valores dividido entre el número de valores (34).

2.2.6.2 Desviación estándar

Esta medida estadística nos ayudara a entender por ejemplo que tenemos un conjunto de datos en el que no hay variabilidad en los valores observados. Cada observación tendría el mismo valor, por ejemplo, 3, 3, 3, 3, y la media sería ese mismo valor, 3. Ninguna observación sería diferente ni se desviaría de la media. Ahora supongamos que tenemos un conjunto de observaciones en el que hay variabilidad. Los valores observados se desviarían de la media en

cantidades variables. La desviación estándar es una especie de promedio de estas desviaciones de la media (34).

2.2.6.3 Análisis de varianza

Este método estadístico nos ayudara a entender que tan variables son los datos que resultaron de nuestro análisis anterior. ANOVA (Análisis de varianza) es una familia de pruebas denominadas «ómnibus» para la comparación de múltiples grupos de datos. «Ómnibus» significa que los ANOVA suelen proporcionar un único valor p que indica si existe una diferencia entre los grupos, pero no necesariamente entre qué grupos de datos (35). El ANOVA unidireccional es esencialmente una generalización de una prueba t no pareada para la comparación de más de dos grupos. Es adecuado, por ejemplo, si se desea comparar el efecto de varios fármacos en células (un fármaco aplicado a una célula) y se pregunta si los fármacos provocan una respuesta diferente (35).

2.2.6.4 Test de Tukey

La prueba de diferencia significativa de Tukey HSD nos permite comparar cada par de grupos para ver si su diferencia es significativa. Lo que hace la prueba de Tukey es observar la variación aleatoria que existe entre cualquier par de medias. Este es el error estándar de la diferencia entre pares de medias (36).



CAPÍTULO III

RESULTADOS

3.1. OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE HINOJO

Se procedió con la extracción de aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo) mediante el método de arrastre con vapor de agua siguiendo la metodología descrita se armó el destilador tal como se muestra a continuación.



Figura 7 : Extracción mediante destilación por arrastre con vapor de agua del aceite esencial de hinojo

Se realizó varias destilaciones debido a la capacidad del equipo, en cada destilación se procedió a la separación del agua aromática y del aceite esencial, para ello se utilizó una pera de decantación.

TABLA 3: RENDIMIENTO DE LAS EXTRACCIONES DE ACEITE ESENCIAL MEDIANTE DESTILACIÓN POR ARRASTRE CON VAPOR DE AGUA

Nº	Cantidad de droga	mL de aceite esencial	Rendimiento
1	120 g	1.3 mL	1.08%
2	130 g	1.4 mL	1.08%
3	130 g	1.5 mL	1.15%
4	130 g	1.6 mL	1.23%
5	130 g	1.5 ml	1.15%

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Según el cuadro de resultados del rendimiento de nuestras extracciones de los frutos de *Foeniculum vulgare* (hinojo) fue de 1.14%, este rendimiento fue inferior al descrito en la bibliografía, probablemente se deba a que la extracción fue a nivel de laboratorio y no se utilizó un destilador o alambique dedicado a la extracción de aceites esenciales.

Figura 8 : Separación del aceite esencial de hinojo



Posteriormente se realizó la caracterización del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo) la organolepsia se muestra en la tabla 5, en cuanto a la densidad se obtuvo una densidad, que dio como resultado un valor de 0.9106 g/mL

TABLA 4: SOLUBILIDAD DEL ACEITE ESENCIAL DE HINOJO

Muestra	Solvente	Solubilidad
1 mL de aceite esencial de hinojo	1 mL de agua destilada	Insoluble
1 mL de aceite esencial de hinojo	1 ml de alcohol 96°	Soluble
1mL de aceite esencial de hinojo	3 mL de alcohol 96°	Soluble
1 mL de aceite esencial de hinojo	4 mL de alcohol 96°	Soluble

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

TABLA 5: ORGANOLEPSIA DEL ACEITE ESENCIAL DE HINOJO

Nº	Característica	Resultado
1	Color	Ligeramente amarillo
2	Olor	Intenso a hinojo
3	Aspecto	Oleoso
4	Sabor	Picante

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

3.2. SOLUCIÓN ORAL CON ACEITE ESENCIAL DE HINOJO

La solución oral contenía aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo) a una concentración del 5%, en la práctica se midió 5 ml de aceite esencial, siendo la forma farmacéutica una solución oral corresponde a la concentración descrita la unidad de dosis de 0.25 mL/5 mL.



Figura 9 : Proceso de elaboración de la solución oral con aceite esencial de hinojo

Se procedió del mismo modo con la solución “blanco”, con la salvedad que dicha solución no contenía aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo).

**TABLA 6: FORMULA FINAL DE LA SOLUCIÓN ORAL CON ACEITE ESENCIAL DE
HINOJO**

Nº	Descripción	Cantidad %
1	Aceite esencial de <i>Foeniculum vulgare</i> (hinojo)	5
2	Polisorbato 80	5
3	Alcohol 96°	20
4	Propilenglicol	20
5	Metilparabeno	0.08
6	Propilparabeno	0.02
7	Sacarina sódica	0.2
8	Aromatizante menta soluble	1
9	Agua destilada csp	100

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Posteriormente se procedió con el análisis organoléptico a la solución oral con aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo).

TABLA 7: ORGANOLEPSIA DE LA SOLUCIÓN ORAL CON ACEITE ESENCIAL DE HINOJO

Nº	Característica	Resultado
1	Color	Muy ligeramente amarillo
2	Olor	Característico a hinojo
3	Aspecto	Cristalino
4	Sabor	Dulce - mentolado

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

3.3. MARCHA FITOQUÍMICA PRELIMINAR

El análisis fitoquímico preliminar se realizó mediante cromatografía en capa fina, en el cromatofolio correspondiente a la reacción general, para esta reacción se utilizó como agente revelador el reactivo vainillina – ácido sulfúrico se observa las manchas de color morado ($R_f=0.9$), marrón ($R_f=0.69$), azul intenso ($R_f=0.6$), rosa ($R_f=0.4$) y azul ($R_f=0.2$). Bajo las condiciones descritas las manchas

de color rosa y marrón que se aprecian en el cromatofolio 10 de esta reacción indican la presencia de aceites esenciales.

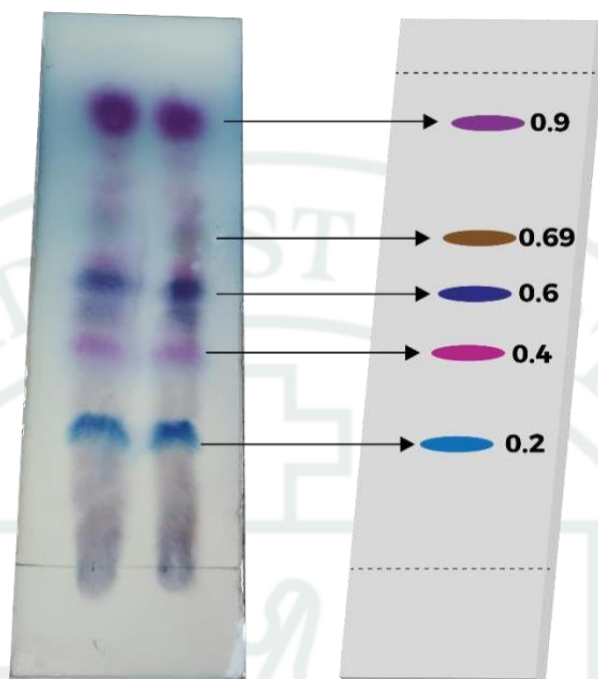


Figura 10: Cromatofolio para la reacción general de identificación del aceite esencial de hinojo

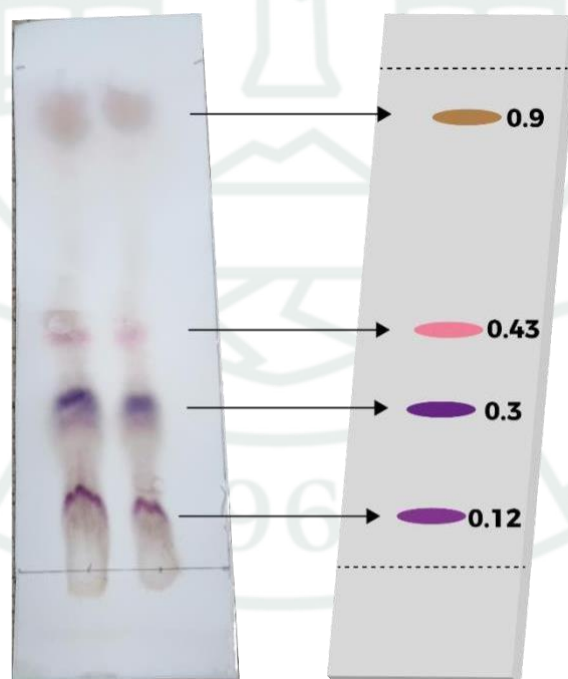


Figura 11: Cromatofolio para la reacción de terpenos de identificación del aceite esencial de hinojo

El cromatofolio de la figura 11 correspondiente a la identificación de terpenos, en donde se utilizó como agente revelador el reactivo de Liebermann-Burchard y se observó al visible, apreciándose una mancha rosada ($R_f = 0.43$) y manchas violetas ($R_f = 0.3$ y $R_f = 0.12$) que indican la presencia indiscutible de terpenoides.

Evaluación del efecto diurético

Para la evaluación del efecto diurético de la solución oral con aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo) se procedió a la distribución aleatoria de los animales de experimentación para conformar los cuatro grupos experimentales, conforme lo descrito en el capítulo referido a la metodología investigativa. Posteriormente se verificó los pesos de los animales.

TABLA 8: PESO EN GRAMOS DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN SEGÚN GRUPO EXPERIMENTAL

Grupos de Tratamiento	Media	N	Desv. Desviación
Grupo control Negativo	206.33	3	3.51
Grupo control Positivo	204.67	3	2.52
Grupo 3 mL solución oral (136.59 mg)	212.67	3	5.03
Grupo 1.5 mL solución oral (68.30 mg)	209.00	3	3.46
Total	208.17	12	3.49

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

La tabla 8 muestra los pesos en gramos de los animales de experimentación según grupo experimental con un promedio general de 208.17 gramos en los 12 animales, siendo su desviación promedio de 3.49 gramos, se practicó un análisis de varianza cuyo resultado se aprecia en la tabla 9. Este análisis realizado a un nivel de confianza del 95% arroja una significancia (Sig.) de 0.124, al ser este valor superior al nivel permitido, se concluye que no existen diferencias significativas en los pesos corporales.

TABLA 9: ANOVA DEL PESO EN GRAMOS DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN
SEGÚN GRUPO EXPERIMENTAL

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	109.67	3	36.56	2,61	0,124
Dentro de grupos	112.00	8	14,00		
Total	221.67	11			

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Figura 12 : Jaula metabólica utilizada en el laboratorio con el animal de experimentación



3.3.1. Medición de los volúmenes de orina



Figura 13 : Medición de los volúmenes de orina de los animales de experimentación

La tabla 10 expone los resultados para los volúmenes de orina de los animales de experimentación, recolectados dentro de las 6 horas establecidas. Dichos volúmenes corresponden a las mediciones antes y después de administrar los tratamientos correspondientes, además de ello se presenta la diferencia relativa porcentual entre ambas mediciones.

Cabe precisar también que los valores muestran los promedios y desviaciones estándar de los volúmenes de orina Pre y Post tratamiento que han sido ajustados a litros, esto con la finalidad de homogenizar los cálculos, ya que las concentraciones de electrolitos se expresan en mEq/L.

Se observa que la mayor diferencia absoluta es para el grupo positivo tratado con hidroclorotiazida (HTZ) con un 6.51 mEq/L, seguido del grupo 3 mL de la solución oral de aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo), estas diferencias junto a las de los otros grupos se ilustran en el gráfico correspondiente.

TABLA 10: VOLÚMENES DE ORINA ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO Y SU DIFERENCIA

Grupos de Tratamiento	Volumen orina Pre L/Kg	Volumen orina Post L/Kg	Diferencia relativa porcentual
Grupo control Negativo	0.97 ± 0.49	1.29 ± 0.26	0.33 = 33%
Grupo control Positivo	1.46 ± 0.47	7.97 ± 0.93	6.51 = 65%
Grupo 3 mL solución oral (136.59 mg)	1.25 ± 0.98	5.31 ± 1.32	4.06 = 41%
Grupo 1.5 mL solución oral (68.30 mg)	1.59 ± 0.25	4.61 ± 1.38	3.02 = 30%

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Se realizó un análisis de varianza a los volúmenes de orina cuyos resultados se muestran en la tabla 11, como siempre el cálculo fue ejecutado a un nivel de confianza del 95% en razón de que es un estudio preclínico, se observa una significancia (Sig.) de 0.0002, lo que sugiere el rechazo de la hipótesis nula que asume la igualdad de varianzas, por lo tanto se concluye que existen diferencias significativas sobre la diferencia relativa porcentual de los volúmenes de orina de los distintos grupos experimental, por tal motivo se ejecutó un test de Tukey, el mismo se muestra en la tabla 12.

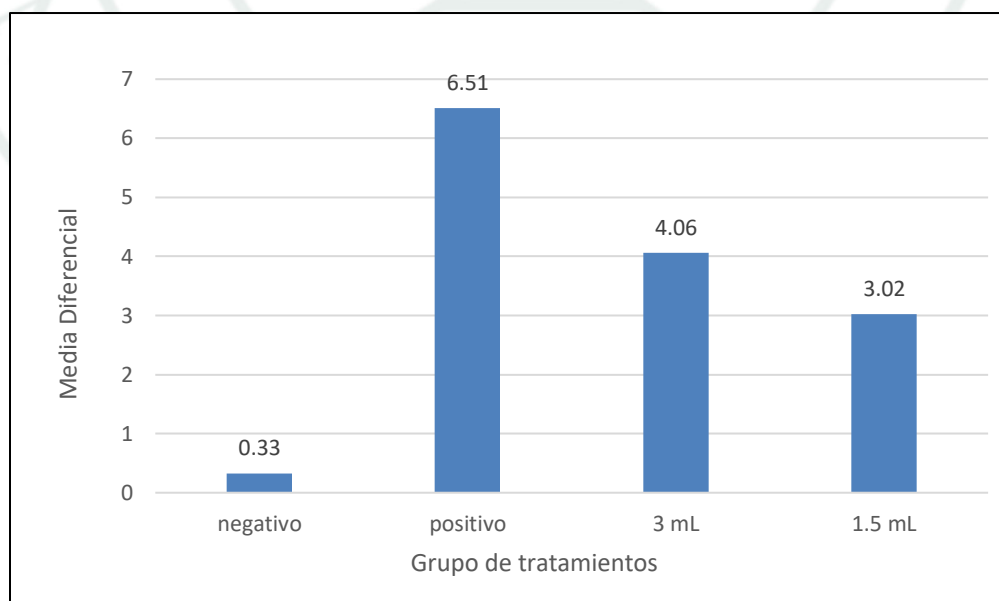


Figura 14: Grafico con la Diferencia absoluta de los Volúmenes de orina

**TABLA 11: ANOVA DE LA DIFERENCIA RELATIVA PORCENTUAL DE LOS
VOLÚMENES DE ORINA**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	59.0755	3	19.6918333	24.52	0.0002
Dentro de grupos	6.42487	8	0.80310833		
Total	65.5003	11			

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

El test de Tukey conforma dos subconjuntos homogéneos, en atención a estos se concluye que en cuanto diferencias relativas porcentuales de los volúmenes de orina el grupo tratado con HTZ es significativamente similar al grupo tratado con 3 mL de solución oral de aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo), por su parte en cuanto al grupo tratado solo con 1.5 mL de la misma solución su eficacia es errática (variable) ya que tiene similitud con el control positivo y también con el control negativo.

**TABLA 12: TEST DE TUKEY DE LA DIFERENCIA RELATIVA PORCENTUAL DE LOS
VOLÚMENES DE ORINA**

Grupos de Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Grupo control Negativo	3	0.33	
Grupo 1.5 mL solución oral (68.30 mg)	3	3.02	3.02
Grupo control Positivo	3		6.51
Grupo 3 mL solución oral (136.59 mg)	3		4.06

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

3.3.2. Medición de los mEq de sodio

La tabla 13 expone los resultados de la cantidad total excretada del ion Na^+ expresado en mEq, antes y después de los tratamientos correspondientes, así como la diferencia relativa porcentual. Se precisa que para hallar dicha cantidad se hizo la conversión de los mL de orina recolectados a litros según peso corporal.

Se observa que la mayor diferencia absoluta corresponde al grupo tratado con HTZ con un 1.08 mEq de diferencia, seguido por el grupo tratado con 3 mL de solución oral con aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo) con un 0.57 mEq.

TABLA 13: CANTIDAD DE Na^+ (MEQ) ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO Y SU DIFERENCIA

Grupos de Tratamiento	mEq Na^+ Pre	mEq Na^+ Post	Diferencia relativa porcentual
Grupo control Negativo	0.14 ± 0.07	0.19 ± 0.04	$0.05 = 5\%$
Grupo control Positivo	0.22 ± 0.08	1.30 ± 0.16	$1.08 = 108\%$
Grupo 3 mL solución oral (136.59 mg)	0.18 ± 0.14	0.76 ± 0.27	$0.57 = 57\%$
Grupo 1.5 mL solución oral (68.30 mg)	0.24 ± 0.04	0.69 ± 0.18	$0.45 = 45\%$

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Del mismo modo es importante realizar un análisis estadístico con la finalidad de comparar los grupos experimentales, este análisis comienza con el análisis de varianza, sus resultados se exponen en la tabla 14.

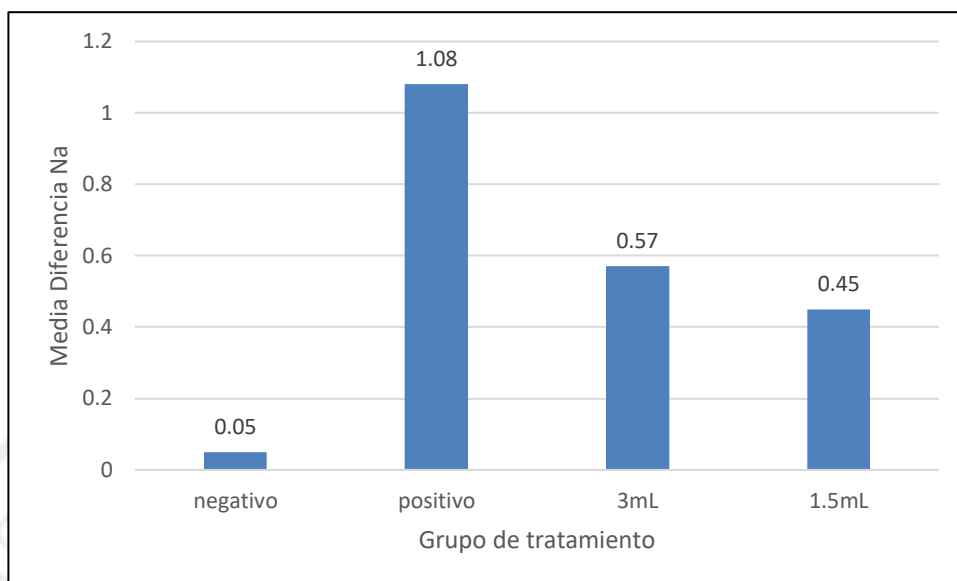


Figura 15: Gráfico de la Diferencia absoluta de los mEq Na⁺ totales

El análisis de varianza a la diferencia relativa porcentual de los mEq de Na⁺ totales se muestra en la tabla 14, el cálculo fue ejecutado a un nivel de confianza del 95%, se observa una significancia (Sig.) de 0.0001, lo que sugiere el rechazo de la hipótesis nula que asume la igualdad de varianzas, por lo tanto se concluye que existen diferencias significativas sobre la diferencia absoluta de los mEq de Na⁺ totales de los distintos grupos experimentales, del mismo modo se ejecutó un test de Tukey, el mismo se muestra en la tabla 15.

**TABLA 14: ANOVA DE LA DIFERENCIA ABSOLUTA DE LOS MEQ
Na⁺
TOTALES**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1.6238	3	0.54126667	25.2633	0,0001
Dentro de grupos	0.1714	8	0.021425		
Total	1.7952	11			

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

El test de Tukey aglutina a los grupos experimentales en tres subconjuntos homogéneos en atención a sus diferencias o semejanzas significativas, en base a ello se establece que el grupo con mayor natriuresis está conformado por el grupo que recibió HTZ, respecto a los grupos experimentales con solución oral de aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo), el grupo que recibió 3 mL tiene semejanzas significativas con el grupo control positivo, sin embargo, esta actividad será un tanto menor ya que este mismo grupo conforma el subconjunto 2, que se sitúa como un subconjunto intermedio. Por su parte, el grupo tratado con 1.5 mL de la solución, su eficacia natriurética es menor, también es semejante al grupo control.

TABLA 15: TEST DE TUKEY DE LA DIFERENCIA ABSOLUTA DE LOS mEQ Na⁺ TOTALES

Grupos de Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Grupo control Negativo	3	0.05		
Grupo 1.5 mL solución oral (68.30 mg)	3	0.45	0.45	
Grupo 3 mL solución oral (136.59 mg)	3		0.57	0.57
Grupo control Positivo	3			1.08

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

3.3.3. Medición de los mEq de cloro

TABLA 16: CANTIDAD DE Cl⁻ (mEq) ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO Y SU DIFERENCIA

Grupos de Tratamiento	mEq Cl ⁻ Pre	mEq Cl ⁻ Post	Diferencia relativa porcentual
Grupo control Negativo	0.10 ± 0.05	0.17 ± 0.04	0.07 = 7%
Grupo control Positivo	0.17 ± 0.04	1.03 ± 0.24	0.86 = 86%
Grupo 3 mL solución oral (136.59 mg)	0.16 ± 0.13	0.66 ± 0.09	0.50 = 50%
Grupo 1.5 mL solución oral (68.30 mg)	0.23 ± 0.04	0.65 ± 0.17	0.42 = 42%

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

Para el análisis de las cantidades totales de mEq del ion Cl^- también se procedió de manera similar al sodio, la tabla 16 muestra las cantidades en mEq de este ion en las orinas recolectadas en las seis horas de observación para cada grupo experimental, antes y después de sus respectivos tratamientos. Se observa que el grupo con mayor cantidad del ion Cl^- corresponde al grupo tratado con HTZ o grupo control positivo con 0.86 mEq .

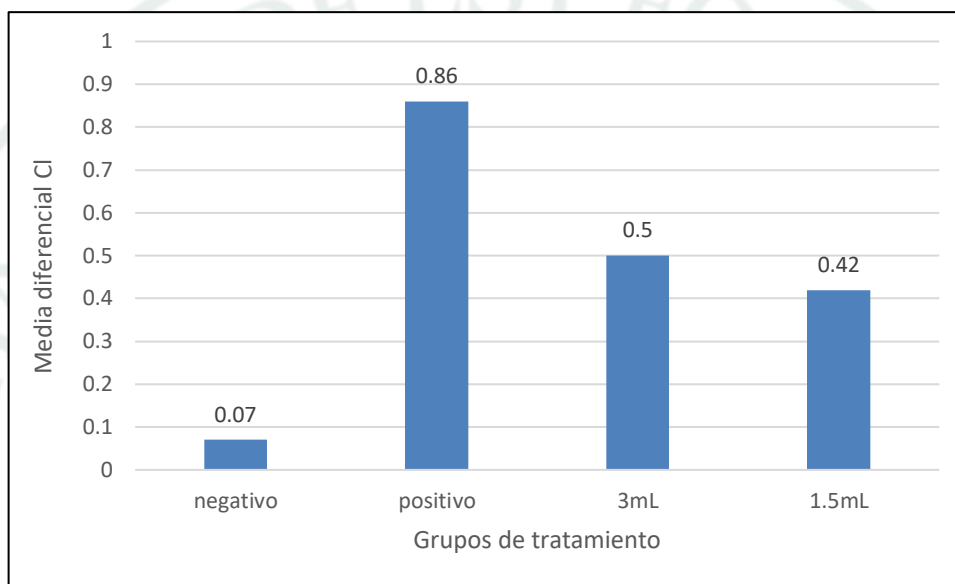


Figura 16: Gráfico de la Diferencia relativa porcentual de los mEq Cl^- totales

El análisis de varianza a la diferencia relativa porcentual de los mEq de Cl^- totales se muestra en la tabla 17, el cálculo fue ejecutado a un nivel de confianza del 95%, se observa una significancia (Sig.) de 0.005, lo que sugiere el rechazo de la hipótesis nula que asume la igualdad de varianzas, por lo tanto se concluye que existen diferencias significativas sobre la diferencia relativa porcentual de los mEq de Cl^- totales de los distintos grupos experimentales, se ejecuta el test de Tukey para la comparación de los grupos experimentales.

TABLA 17: ANOVA DE LA DIFERENCIA ABSOLUTA DE LOS MEQ CL⁻

TOTALES

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0.9537	3	0.3179	19.643666	0,0005
Dentro de grupos	0.12946667	8	0.0161833		
Total	1.08316667	11			

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

El test de Tukey ejecutado para la diferencia relativa porcentual de los mEq del ion Cl⁻ aglutina a los grupos experimentales en dos subconjuntos homogéneos en atención a sus diferencias o semejanzas significativas, en base a ello se establece que los grupos con mayores diferencias de cantidad en cuanto a este ion corresponde al grupo tratado con HTZ y el grupo tratado con 3 mL de la solución oral con aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo), ya que ambos grupos tienen semejanzas significativas entre ellos, y diferencias significativas excluyentes con el grupo control. Por su parte, el grupo tratado con 1.5 mL de la solución oral presenta una eficacia discreta ya que su diferencia relativa es comparable con el grupo control positivo, pero también con el grupo control negativo.

TABLA 18: TEST DE TUKEY DE LA DIFERENCIA ABSOLUTA DE LOS MEQ CL⁻

TOTALES

Grupos de Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Grupo control Negativo	3	0.07	
Grupo 1.5 mL solución oral (68.30 mg)	3	0.42	0.42
Grupo control Positivo	3		0.86
Grupo 3 mL solución oral (136.59 mg)	3		0.50

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

3.3.4. Medición de los mEq de potasio

El último electrolito medido fue el ion potasio, del mismo modo para su análisis de las cantidades totales de mEq de este ion también se procedió de manera similar a los anteriores, la tabla 19 muestra las cantidades en mEq de K^+ en las orinas recolectadas en las seis horas de observación para cada grupo experimental, antes y después de sus respectivos tratamientos. Se observa que el grupo con mayor diferencia porcentual corresponde al grupo tratado HTZ o grupo control positivo con 0.41 mEq.

TABLA 19: CANTIDAD DE K^+ (mEq) ANTES Y DESPUÉS DEL TRATAMIENTO Y SU DIFERENCIA

Grupos de Tratamiento	mEq K^+ Pre	mEq K^+ Post	Diferencia relativa porcentual
Grupo control Negativo	0.06 ± 0.04	0.09 ± 0.03	$0.03 = 3\%$
Grupo control Positivo	0.10 ± 0.03	0.50 ± 0.09	$0.41 = 41\%$
Grupo 3 mL solución oral (136.59 mg)	0.08 ± 0.04	0.36 ± 0.15	$0.28 = 28\%$
Grupo 1.5 mL solución oral (68.30 mg)	0.11 ± 0.01	0.34 ± 0.15	$0.23 = 23\%$

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

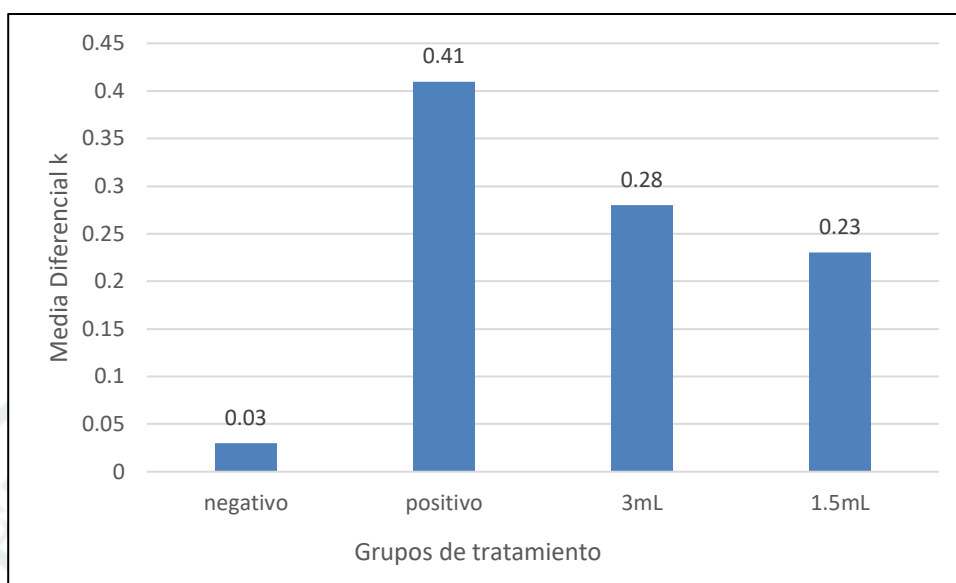


Figura 17: Gráfico de la Diferencia relativa porcentual de los mEq K⁺ total

El análisis de varianza a la diferencia relativa porcentual de los mEq de K⁺ totales se muestra en la tabla 20, el cálculo fue ejecutado a un nivel de confianza del 95%, se observa una significancia (Sig.) de 0.001, lo que sugiere el rechazo de la hipótesis nula, por lo tanto, se concluye que existen diferencias significativas sobre la diferencia relativa porcentual de los mEq de K⁺ totales de los distintos grupos experimentales, se ejecuta el test de Tukey para la comparación de los grupos experimentales.

TABLA 20: ANOVA DE LA DIFERENCIA ABSOLUTA DE LOS MEQ K⁺ TOTALES

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0.2163667	3	0.072122	6.022733	0,0189
Dentro de grupos	0.0958	8	0.011975		
Total	0.3121667	11			

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

El test de Tukey ejecutado para la diferencia relativa porcentual de los mEq del ion K^+ aglutina a los grupos experimentales en dos subconjuntos homogéneos en atención a sus diferencias o semejanzas significativas, en base a ello se establece que los grupos con mayores diferencias de cantidad en cuanto a este ion corresponde al grupo tratado con HTZ y el grupo tratado con 3 mL de la solución oral con aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo), este resultado es muy similar al ion cloro, y también para el grupo tratado con 1.5 mL de la solución oral.

TABLA 21: TEST DE TUKEY DE LA DIFERENCIA ABSOLUTA DE LOS MEQ K^+

TOTALES

Grupos de Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Grupo control Negativo	3	0.03	
Grupo 1.5 mL solución oral (68.30 mg)	3	0.23	0.23
Grupo control Positivo	3		0.41
Grupo 3 mL solución oral (136.59 mg)	3		0.28

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

DISCUSIÓN

En la concreción del objetivo de la presente investigación que fue evaluar el efecto de una solución oral con aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo) sobre la diuresis en ratas Wistar, se encontró varios hallazgos, el principal precisamente fue que se evidenció un efecto diurético relacionado con el volumen de orina y concentraciones de Na^+ , K^+ y Cl^- , a una dosis de 3 mL de una solución oral con aceite esencial de hinojo al 5%, no obstante, en cuanto al sodio la similitud con respecto al grupo control positivo no fue absoluta.

Este efecto se explica por la presencia de compuestos de tipo terpenos-terpenoides y esteroides, revelados mediante vainilla-ácido sulfúrico y Liebermann-Burchard respectivamente (28), y aceite esencial contiene como constituyente mayoritario trans-anetol y otros terpenoides; estudios recientes acusan al anetol de alterar la función renal y está implicado en otros efectos farmacológicos relevantes. En esta línea, un trabajo sobre efecto del anetol en la función renal documenta respuestas renales tras la administración oral en modelos animales (38).

Podemos inferir que dado que los terpenoides (incluido el anetol) pueden modular procesos vasoactivos, inflamatorios y características tubulares, es razonable atribuir al menos parte del efecto natriurético a estos compuestos. Esta inferencia se respalda por estudios que relacionan terpenoides con efectos diuréticos y natriuréticos en extractos vegetales. Sin embargo, hay que precisar, que no hay evidencia directa en su estudio que identifique cual compuestos específico produce el efecto, es decir, estructura química-actividad (39). Incertidumbre que probablemente quede irresuelta ya que, en la Fitoterapia la acción farmacológica que se manifiesta mediante el efecto farmacológico es complejo debido a la variedad de bioactivos relacionados.

Por otra parte, y siempre dentro del contexto de mecanismo de acción, algunos terpenoides son vasoactivos, es decir, modulan vasos sanguíneos hacia la vasodilatación y perfusión renal, por lo que, si se aumenta el flujo renal, ello podría elevar la diuresis sin alterar proporcionalmente la excreción iónica, el efecto resultante es acuareético. No obstante, en el presente estudio se observó que hubo un aumento iónico por lo que sugiere un efecto natriurético más que acuareético, o una combinación de ambos (40).

La forma farmacéutica no solo es un simple continente también coadyuva en la eficacia, se descartó la elaboración de un elixir por la naturaleza del aceite esencial, ya que un elixir es una solución hidroalcohólica edulcorada, en donde el alcohol actúa esencialmente como codisolvente, en cambio una emulsión y microemulsión es un sistema heterogéneo, compuesto por aceite + surfactante + cosolvente y agua, y en el presente estudio se utilizó polisorbato 80 un surfactante no iónico para estabilizar gotas de aceite en agua, ya que es un probado estabilizante de emulsiones con aceite esencial (41).

La bibliografía farmacotécnica evidencia que microemulsiones y sistemas micelares (mezclas de aceite-surfactante-cosolvente) aumentan la solubilidad, protección contra la oxidación y absorción oral de compuestos lipófilos (incluidos los aceites esenciales) y que polisorbato 80 (Tween 80), propilenglicol y etanol son coadyuvantes habituales en formulaciones orales y microemulsiones. Estudios sobre microemulsiones y liberación oral documentan mejor permeación y estabilidad cuando se usan surfactantes y glicoles (42).

En el presente estudio se infiere que se trató de una microemulsión, ya que se logró una solución ópticamente transparente, ello debido a que se utilizó 5% de aceite esencial, y las proporciones de los excipientes: etanol, propilenglicol y polisorbato 80, fue de 20%, 20% y 5%, estas concentraciones se relacionan más con una fase co-solvente/surfactante capaz de formar microemulsión estable que facilita la liberación y absorción del aceite esencial. Estudios experimentales y revisiones sobre formulaciones con polisorbato 80 (Tween 80) y glicoles confirman la ventaja de encapsulamiento, estabilidad y biodisponibilidad (43).

Todo lo inferido permite establecer claramente las conclusiones, sobre el potencial efecto diurético del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* (hinojo) en solución oral, respaldado no solo por lo hasta aquí comentado sino su propio uso tradicional, sin embargo, es prudente también no extrapolar directamente su uso en seres humanos, sin estudios toxicocinéticos que demuestre su seguridad.

CONCLUSIONES

Primera

Mediante un estudio preclínico *in vivo* en ratas Wistar, se evaluó el efecto diurético de una solución oral elaborada con aceite esencial de frutos de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo) siendo el resultado que el grupo tratado con 3 mL equivalente a una dosis total de 136.59 mg de la solución oral mostró un aumento significativo en el volumen de orina y en la excreción de Na^+ , Cl^- y K^+ .

Segunda

Se aplicó el método de destilación de arrastre con vapor de agua sobre los frutos secos de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo) para la obtención de su aceite esencial, el rendimiento de dicho proceso extractivo fue de 1.14%, su organolepsia fue de color ligeramente amarillo, de olor intenso a hinojo, aspecto oleoso, sabor picante y con una densidad promedio de 0.9106 g/mL.

Tercera

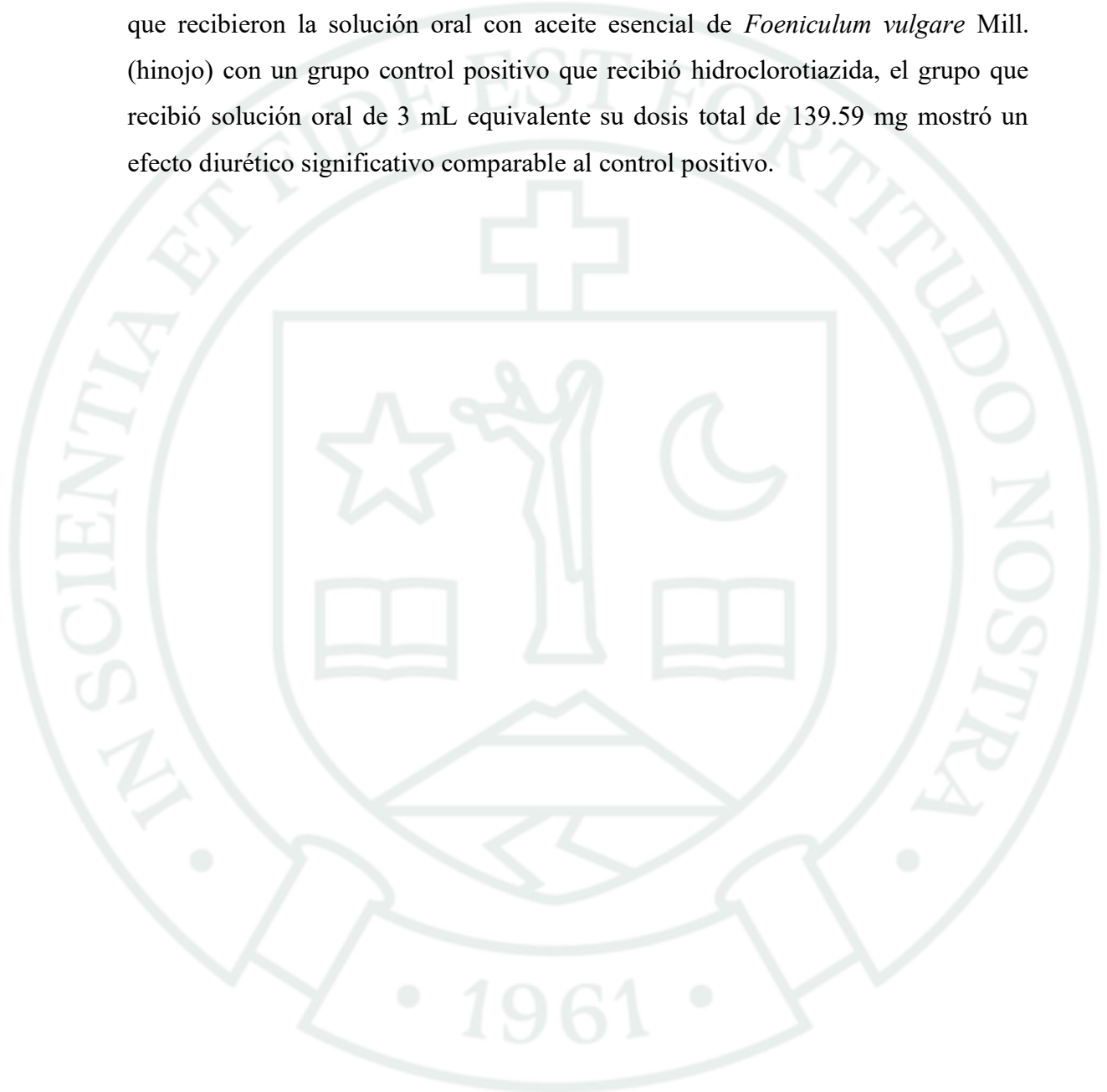
Se elaboró una solución oral con aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo), a una concentración del 5%, equivalente a una dosis de 0.25 mL/5 mL, para la administración orogástrica en los animales de experimentación.

Cuarta

Se evaluó la solución oral con aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo), siendo administrado en dos dosis una de 1.5 mL equivalente a una dosis total de 68.30 mg y otra de 3 mL equivalente a una dosis total de 136.59 mg siendo el grupo experimental que recibió la dosis de 3 mL de solución oral el grupo que mostró efecto diurético significativo debido a la excreción de Na^+ , Cl^- , y K^+ diferente del control, por su parte, el grupo que recibió una dosis de 1.5 mL mostró un efecto intermedio y no significativo ya que presentó similitudes respecto del grupo control.

Quinta

Al comparar las diferencias relativas porcentuales de los volúmenes de orina y de cantidad excretada de iones (Na^+ , Cl^- , y K^+) de los grupos experimentales que recibieron la solución oral con aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo) con un grupo control positivo que recibió hidroclorotiazida, el grupo que recibió solución oral de 3 mL equivalente su dosis total de 139.59 mg mostró un efecto diurético significativo comparable al control positivo.



SUGERENCIAS

Primera

Se sugiere realizar un estudio en animales de experimentación para establecer la seguridad y toxicidad de la solución oral con aceite esencial de frutos de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo).

Segunda

Se sugiere realizar un estudio para determinar la estabilidad a largo plazo de la solución oral con aceite esencial de frutos de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo).

Tercera

Se sugiere realizar un estudio clínico para determinar la eficacia diurética y seguridad de la solución oral con aceite esencial de frutos de *Foeniculum vulgare* Mill. (hinojo).

REFERENCIAS

1. Alonso J. Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos. Primera ed. Santa Fe: Corpus; 2004. 1359 p.
2. Roersch C. Plantas Medicinales del sur andino del Perú. Primera ed. Cusco: Editora BUHO; 1994. 1133 p.
3. Mostacero J, Mejía F, Gamarra O. Taxonomía de las Fanerógamas Útiles del Perú. Primera ed. Lima: Normas Legales SAC; 2002. 1323 p.
4. Sotta Apaza N. Plantas Medicinales y Aromáticas de la Región Arequipa. Primera ed. Arequipa: Cordaid; 2000. 214 p.
5. World Health Organization. WHO monographs on Selected Medicinal Plants Volume 3. First ed. Switzerland: World Health Organization; 2007. 384 p.
6. Castillo García E, Martínez Solís I. Manual de Fitoterapia. Tercera ed. Barcelona: Elsevier España; 2021. 586 p.
7. Gruenwald J, Brendler T, Jaenicke C, editors. PDR for Herbal Medicines. 4th ed.: Thomson; 2007. 1109 p.
8. Arias Rodríguez M, editor. Nefrología Clínica. Quinta ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, S.A.; 2023. 1369 p.
9. Hall JE, Hall ME. Guyton y Hall Tratado de Fisiología Médica. Catorceava ed. Barcelona: Elsevier España, S.L.U.; 2021. 1155 p.
10. Mezquita Pla C, Mezquita Pla J, Mezquita Mas B, Mezquita Mas P. Fisiología Médica Del razonamiento fisiológico al razonamiento clínico. Segunda ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, S.A.; 2019. 521 p.
11. Schwegler J, Lucius R. Der Mensch Anatomie und Physiologie. 6th ed. Berlin: Thieme; 2016. 429 p.
12. Koeppen BM, Stanton BA. Renal Physiology. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2019. 204p.

13. Silverthorn DU, et.al. Fisiología Humana Un enfoque integrado. Octava ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana, S.A.C.F.; 2019. 962 p.
14. Derrickson B. Human Physiology. 2nd ed. Florida: John Wiley & Sons, Inc.; 2019. 900 p.
15. Yu ASL, et.al. Brenner y Rector El riñón. Undécima ed. Barcelona: Elsevier España; 2021. 3521 p.
16. Pape HC, Kurtz A, Silbernagl S. Physiologie. 10th ed. Berlin: Thieme; 2023. 1089 p.
17. Hall JE, Hall ME. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. Third South Asia Edition ed. Haryana: Elsevier; 2020. 3804 p.
18. Nitin Ashok J, editor. CC Chatterjee's Human Physiology Volume 1. Fourteenth ed. New Delhi: CBS Publishers & Distributors Pvt. Ltd.; 2022. 594 p.
19. Lee V, Mather A. El sistema renal. Tercera ed. Barcelona: Elsevier España; 2024. 723 p.
20. Grant A. Ross & Wilson Pharmacology. 1st ed.: Elsevier Limited; 2025.694 p.
21. Hitner H, Nagle B, Kaufman MB, Ariel H, Lalehzarzadeh Y. Pharmacology An Introduction. 8th ed. New York: McGraw Hill LLC; 2022. 849 p.
22. Vanderah TW, editor. Katzung's Basic & Clinical Pharmacology. Sixteenth ed. Ebook: McGraw Hill LLC; 2024. 1361 p.
23. Brunton LL, Knollmann BC, editors. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. Fourteenth ed. eBook: McGraw Hill LLC; 2023.1663 p.
24. Swami Handa S, et.al., editors. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. Primera ed. Trieste: United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology; 2008. 265 p.

25. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Formulario Nacional. Tercera ed. Madrid: AEMPS; 2020. 545 p.
26. Skoog DA, West DM, Holler FJ, Crouch SR. Fundamentals of Analytical Chemistry. 10th ed. Boston: Cengage; 2022. 1163 p.
27. Ritgen U. Analytical Chemistry I. 1st ed. Berlin: Springer-Verlag GmbH Germany; 2023. 307 p.
28. Wagner H, Bladt S. Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas. 2nd ed. New York: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2009. 372 p.
29. Haque R. Textbook of Pharmacognosy and Phytochemistry II Theory and Practical. 1st ed. New Delhi: CBS Publishers & Distributors Pvt. Ltd.; 2023. 209 p.
30. Corzo A. Técnica de Análisis en Química Orgánica Cromatografía. Primera ed.: Universidad Nacional de Santiago del Estero; 2019. 54 p.
31. Ntchapda F, et.al. Evaluation of the diuretic effects of crude stem bark extraction of *Zanthoxylum heitzii* (Rutaceae) in Wistar rats. Journal of Integrative Medicine. 2015 September; 13(05).
32. Welu G, et.al. In Vivo Diuretic Activity of Hydromethanolic Extract and Solvent Fractions of the Root Bark of *Clerodendrum myricoides* Hochst. (Lamiaceae). Evid Based Complement Alternat Medicine. 2020 December; 10.
33. Babota M, et.al.. Phenolic profile, in vitro antimicrobial and in vivo diuretic effects of endemic wild thyme *Thymus comosus* Heuff ex. Griseb. (Lamiaceae) from Romania. Frontiers in pharmacology. 2023 February; 14(17).
34. Fernandez D. Core Concepts in Mathematics: Statistics. 2nd ed. Ebook: 3G E-learning LLC; 2024. 277 p.
35. Tomek J, Eisner D. Basic Statistics for Life Scientists A Concise Handbook of Essential Techniques. 1st ed. New Jersey: John Wiley & Sons Ltd.; 2025. 190 p.
36. Hinton PR. Statistics Explained. 4th ed. New York: Routledge; 2025. 355 p.

37. Egbuna C, Chinenye Ifemeje J, Chidi Udedi S, Kumar S, editors. *Phytochemistry Volume 1 Fundamentals, Modern Techniques, and Applications*. 1st ed. New Jersey: Apple Academic Pres Inc.; 2019. 684 p.
38. Pinheiro-Lustosa R, et.al. Effects of Anethole on Renal Function of Swiss Mice. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2025 April; 18(4).
39. El-Tantawy W, et.al. Herbal Extracts Acting as Diuretics: A Comprehensive Review. *Egyptian Journal of Chemistry*. 2024 January; 67(3).
40. Tognolini M, et.al. Protective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil and anethole in an experimental model of thrombosis. *Pharmacological Research*. 2007 September; 56(3).
41. Baranauskaite J, et.al. Effect of the Amount of Polysorbate 80 and Oregano Essential Oil on the Emulsion Stability and Characterization Properties of Sodium Alginate Microcapsules. *Molecules*. 2021 October; 26(20).
42. Mistry J, et.al. Mechanisms of the Drug Penetration Enhancer Propylene Glycol Interacting with Skin Lipid Membranes. *J Phys Chem B*. 2024 April; 128(16).
43. Shukla T, et.al. Biomedical applications of microemulsion through dermal and transdermal route. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018 December; 108.
44. Grande Tovar CD. *Manual de Prácticas de Química Orgánica Aplicada*. Primera ed. Cali: Editorial Bonaventuriana; 2013.
45. Lock de Ugaz O. *Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio de productos naturales*. Segunda ed. Lima: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994. 325 p.
46. Kuklinski C. *Farmacognosia Estudio de las drogas y sustancias de origen natural*. Primera ed. Barcelona: Omega; 2003. 409 p.
47. Vargas Sabadías A. *Estadística Descriptiva e Inferencial*. Primera ed. Murcia: Editorial Universidad de Castilla-La Mancha; 1995. 576 p.
48. de la Puente Viedma C. *Estadística descriptiva e inferencial y una introducción al método científico*. Primera ed. Madrid: Editorial Complutense S.A.; 2009. 338 p.

49. Gonzáles Betanzos F, Escoto Ponce de León MdC, Chávez López JK. Estadística aplicada en Psicología y Ciencias de la salud. Primera ed. México: Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V.; 2017. 295 p.
50. Harborne JB. Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. 2nd ed. New York: Chapman and Hall Ltd.; 1984. 300 p.
51. Mangathayaru K. Pharmacognosy An Indian Perspective. 1st ed. New Delhi: Pearson Education; 2013. 472 p. 472 p.
52. Mandal SC, Mandal V, Kumas D. Essential of Botanical Extraction Principles and Applications. 1st ed. Oxford: Elsevier Inc.; 2015. 205 p.
53. Mukherjee PK. Quality Control and Evaluation Of Herbal Drugs Evaluating Natural Products and Traditional Medicine. Firts ed. Cambridge: Elsevier Inc.; 2019. 759 p.
54. Triola MF. Estadística. Decimoprimera ed. México: Pearson Educación de México, S.A. de C.V.; 2013. 890 p.
55. Mendenhall W, Beaver RJ, Beaver BM. Introducción a la probabilidad y estadística. Catorceava ed. Arciniega Torres I, editor. México D.F.: Cengage Learning Editores, S.A. de C.V.; 2015. 754 p.
56. Levine DM, Krehbiel TC, Berenson ML. Estadística para Administración. Primera ed. Cruz Castillo LM, editor. México: Pearson Educación de México, S.A. de C.V.; 2012. 956 p.
57. Ahmad Ansari MKea, editor. Plants as medicine and aromatics Pharmacognosy, Ecology and Conservation. 1st ed. Florida: CRC Press Taylor & Francis Group; 2023. 352 p.
58. Martinez JL, Maroyi A, Wagner ML, editors. Etnobotany From the Traditional to Ethnopharmacology. 1st ed. Florida: CRC Press Taylor & Francis Group; 2023. 264 p.
59. International Centre for Science and High Technology. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. 1st ed. Trieste: ICS-Unido; 2008. 266 p.

60. Sambamurthy K, Ashutosh K. Pharmaceutical Biotechnology. 1st ed. New Delhi: New Age International Ltd., Publishers; 2006. 501 p.
61. Allen LV, Ansel HC. Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems. 10th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business; 2014. 808 p.
62. Ministerio de Sanidad y Consumo. Formulario Nacional. Primera ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo; 2003. 645 p.
63. Yockey RD. SPSS DEMYSTIFIED A simple Guide and Reference. 4th ed. New York: Taylor & Francis; 2023. 281 p.
64. Wall PE. Thin-Layer Chromatography. 1st ed. Cambridge: The Royal Society of Chemistry; 2005. 193 p.



ANEXO N°1: CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA



INSTITUTO CIENTÍFICO MICHAEL OWEN DILLON (IMOD)

Investigación, Conservación, Educación y Transformación de Recursos

Reconocido por Resolución de Dirección General Nro. 140-2016-SERFOR/DGGSPFFS



"Año de la recuperación y consolidación de la economía peruana"

CONSTANCIA DE DETERMINACIÓN N° 012-2025

El Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD).

HACE CONSTAR:

Que la muestra presentada por **Yonid Chuquimamani Jove** y **Rosalynn Verónica Manzano Holguin**, recolectada en la provincia de Arequipa, departamento de Arequipa, en las coordenadas S -16.402733, O -71.535209, a una elevación de 2335 m, para la realización de la tesis titulada: "**Evaluación del efecto de una solución oral con aceite esencial de semillas de *Foeniculum vulgare* Mill (Hinojo) sobre la diuresis en ratas Wistar-Arequipa, 2025**", presentada en la Universidad Católica de Santa María de Arequipa. Fue determinada taxonómicamente en las instalaciones del Herbario Sur Peruano (HSP), del Instituto Científico Michael Owen Dillon, corresponde a:

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Orden: Apiales Nakai

Familia: Apiaceae Lindl.

Género: *Foeniculum* Mill.

Especie: *Foeniculum vulgare* Mill.

La clasificación se ha realizado según la propuesta por: *Angiosperm Phylogeny Group (APG) IV* en "*An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV*" (2016).

Se expide la presente a solicitud de las interesadas para los fines que estimen conveniente.

Arequipa, 5 de junio de 2025.




Bto. Daniel Fernando Ramos Aranda
C. B. P. N° 9552

Director del Instituto Científico Michael Owen Dillon (IMOD)
Herbario Sur Peruano (HSP)
danferamos@gmail.com
dramos@imod.org.pe



ANEXO N°2: PARÁMETROS DE LA ORINA RECOLECTADOS

RATAS grupo	Peso (g)	Volumen Pre	Volumen Post	Na mEq/L Pre	Na mEq/L Post	Cl mEq/L Pre	Cl mEq/L Post	K mEq/L Pre	K mEq/L Post
G1	210	0.2	0.3	142	143	106	134	57	64
G1	206	0.3	0.3	153	145	108	133	82	71
G1	211	0.4	0.2	151	147	143	132	61	59
G1	209	0.4	0.5	144	151	138	107	79	78
G1	203	0.1	0.2	140	150	123	106	53	66
G2	206	0.2	1.3	140	152	110	118	70	65
G2	207	0.4	1.8	153	168	108	144	57	62
G2	202	0.2	1.4	146	166	129	112	64	58
G2	202	0.4	1.6	143	154	139	112	53	50
G2	205	0.3	1.7	149	155	114	128	79	68
G3	218	0.2	1.4	154	155	120	110	77	78
G3	221	0.5	1.2	143	144	131	127	51	63
G3	227	0.1	0.8	141	119	119	143	81	54
G3	220	0.5	1.8	151	151	137	135	52	62
G3	233	0.2	1.9	150	128	115	130	79	56
G4	219	0.3	1.4	144	152	120	148	69	52
G4	214	0.1	0.3	154	142	140	119	68	84
G4	213	0.4	1.3	152	144	147	133	55	85
G4	207	0.3	0.7	141	154	140	142	75	72

G4	223	0.3	0.9	152	151	139	150	82	62
----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	----	----

