

## **El hinojo (*Foeniculum vulgare* Mill.) en las Ciencias Farmacéuticas**

Autores: Maryam Tebyanian, Oscar Umaña, Dra. Lissette Rodríguez Yebra, PhD. Eduardo Arguedas Chaverri

### **Resumen**

La presente tesis tiene por objetivo conocer la taxonomía y composición del Hinojo (*Foeniculum vulgare* Mill.) cultivado y la utilidad de las distintas partes de la planta, de acuerdo con lo anterior, la literatura reporta la presencia de sustancias como fenchona, anetol, estragol, alfa y beta pineno, limoneno, mirceno, p-cimeno, entre otros. Se realizaron extractos a partir de la planta seca, las partes utilizadas fueron las hojas y los tallos. Se utilizó como solvente el cloroformo, el etanol y el hexano para el desarrollo de los extractos de hojas, mientras que para los tallos se empleó solamente el hexano. Los preparados se realizaron mediante el sistema de reflujo. Posteriormente se desarrollaron análisis de cromatografía de capa fina, espectroscopia infrarroja y ultravioleta, además de espectroscopia de gases acoplada a masas; esto con el fin de identificar los compuestos le confiere las propiedades medicinales al hinojo. Se buscó la obtención de aceite esencial por medio de la técnica de arrastre por vapor de agua, utilizado el equipo Clevenger con el fin de identificar anetol. Para el proceso se emplearon las hojas del hinojo. Finalmente se centró la atención en el análisis de los esteroides, flavonoides y ácidos grasos presentes en la planta.

*Palabras clave:* Hinojo, flavonoides, esteroides, anetol.

### **Abstract**

This thesis aims to understand the taxonomy and composition of fennel cultivated and the usefulness of the different parts of the plant, in accordance with the above, the literature reports the presence of substances such as fenchone, anethole, estragole, alpha and beta pinene, myrcene, limonene, p-cymene, among others. From the dried plant extracts were made, the parts used were the leaves and stems. It was used as solvent chloroform, ethanol and hexane extracts of leaves development, while the hexane was only used for stems. Preparations were carried out through the system of reflux. Later analysis of chromatography thin layer, infrared and ultraviolet spectroscopy were develop, in addition to gas spectroscopy coupled to mass; in order to identify the compounds gives the medicinal properties the fennel. We sought to obtain essential oil by means of the technique of water vapour drag, and used the Clevenger to identify anethole. Fennel leaves were used in the process. Finally the attention focused on the analysis of steroids, flavonoids and fatty acids present in the plant.

*Key words:* Fennel, flavonoids, steroids, anethole.

## **Introducción**

Desde tiempos antiguos, el hombre ha estado en busca de su estabilidad tanto física como mental, y como es bien sabido antes solo disponía de lo que le brindara la naturaleza. A través de distintas técnicas hizo uso de las plantas, animales y minerales que tenía a su alrededor. (1)

Las plantas de carácter medicinal han consagrado a través de los años un lugar de mucha importancia en la medicación. No siempre sus fines fueron del todo terapéuticos, pero poco a poco, pero durante los años, se fue adquiriendo la práctica medicinal a partir de ellas. (2)

Una de esas plantas a la que se le muestra interés es el Hinojo, la cual tiene aplicaciones varias en relación con la salud; entre los que se puede destacar sus propiedades terapéuticas para el tratamiento contra el asma, anemia, anuria, gases intestinales, entre otros. (2)

Las propiedades medicinales de esta planta se obtienen gracias a los principios activos que se encuentran en la misma. Entre ellas destacan las encargadas de disminuir procesos inflamatorios, mejorar afecciones respiratorias, aliviar cólicos y espasmos gastrointestinales, así como efectos antioxidantes y antisépticos. (3) (4)

Actualmente la mayor parte de la población mundial tiene problemas relacionados con procesos inflamatorios, complicaciones respiratorias por obstrucciones bronquiales esto puede traer consigo diversas consecuencias y riesgos para la salud de las personas, como es el caso de insuficiencia respiratoria, apnea, entre otros. (5)

Para el desarrollo de este proyecto de investigación se realizará un estudio minucioso de algunas partes de la planta, específicamente de las hojas y los tallos esto con el fin determinar cuál de ellas es la que posee mayor acción farmacológica “antiespasmódica” y que pueda ser utilizada en la elaboración del preparado farmacéutico.

## **Acción antiinflamatoria**

Los flavonoides son unos de los responsables de ofrecer esta actividad, además es sinergizada por los esteroides vegetales como es el caso de ( $\beta$ -sitosterol y estigmasterol). Estos se encargan de inhibir la enzima 5-lipoxigenasa, además de la enzima ciclooxigenasa solamente que en menor medida. Se ha demostrado que los flavonoides son capaces de reducir la infiltración de leucocitos que tiene lugar durante el proceso inflamatorio y mantener este efecto durante más de 18 horas después de su aplicación en la zona inflamada. Al mismo tiempo, también inhiben la liberación de los

mediadores de la inflamación que se encuentran almacenados en los mastocitos. (6)

### **Acción broncodilatadora**

El hinojo estimula la motilidad ciliar del aparato respiratorio y esto provoca un aumento en el transporte externo de corpúsculos extraños. El aceite volátil de *F. vulgare* estimula la contracción de los músculos lisos de la tráquea, acción que podría facilitar la expectoración de moco, bacterias y otros corpúsculos extraños. El efecto de apertura del canal de potasio del por parte del hinojo puede contribuir en su efecto relajante sobre los anillos traqueales. (7)

### **Materiales y métodos**

#### **Preparación de la muestra**

Se recolectó la planta, posteriormente se pusieron a secar individualmente los tallos y las hojas para su preparación de acuerdo a cada una de las técnicas utilizadas.

#### **Proceso de preparación de extractos**

##### **Técnica de reflujo**

Se picaron y licuaron tanto las hojas como los tallos del hinojo para obtener un polvo fino. El proceso se realizó con distintas polaridades de solventes utilizando para ello, alcohol, cloroformo y hexano. Para el proceso realizado con cloroformo se pesaron 50 g de hojas, para el de hexano la misma cantidad, además de 50 g de tallos. A cada uno de los balones se les incorporó una pastilla magnética.

En los balones que contenían el polvo de las hojas se agregaron 200 ml de cloroformo en uno y en el otro 200 ml de hexano, el que correspondía al polvo de los tallos se agregó 200 ml de hexano.

Para el extracto etanólico se empleó un balón de 250 ml y se pesaron 20 g de hojas, al cual se le agregó un volumen de 100 ml de etanol y la pastilla magnética.

Estos balones se colocaron a reflujo durante una hora después de la caída de la primera gota, además contaban con agitación constante.

Una vez pasado el tiempo se dejó enfriar el contenido de los balones.

##### **Filtración al vacío**

Una vez que el contenido de los balones se encontraba a temperatura ambiente, se armó el equipo de filtración al vacío, seguidamente se encendió la

bomba de vacío y se vertió el contenido de los balones en el embudo que contenía papel filtro.

Se realizaron 3 lavados a los balones para verter la totalidad del contenido al embudo, esto con el fin de filtrar la mayor cantidad de líquido posible. El filtrado obtenido procedió a envasarse.

### **Destilación al vacío**

El contenido obtenido de la filtración al vacío procedió a utilizarse en esta etapa. Se vertió el contenido de cada uno de los extractos obtenidos por separado en el balón para el rotavapor. Se realizó el proceso hasta que quedara en el balón un aproximado de 10 ml de cada extracto. Se vació el contenido del balón en cada uno de estos recipientes. Nuevamente se pesaron los recipientes con el extracto para determinar la cantidad obtenida.

### **Cromatografía de capa fina**

Primeramente se reconstituyeron cada uno de los extractos en cloroformo. Se procedió a la preparación de 2 fases móviles en un beaker de 400 ml, que estaban constituidas por cloroformo, hexano y acetato de etilo, sin embargo, la primera se encontraba en una proporción 1:1:1 y la segunda en una proporción 3:1:1.

Se prepararon 4 placas cromatográficas, a dos de ellas con la ayuda de un capilar se les aplicó una muestra de los tallos, a las dos restantes se les aplicó una muestra de cada uno de los extractos de las hojas excepto el etanólico.

En cada beaker se colocó una placa con las muestras de hojas y otra placa con la muestra de tallos, posteriormente se tapó el beaker con papel aluminio, dejando correr la fase móvil hasta un centímetro antes del borde superior.

Pasado lo anterior se sacaron las placas para dejar secar la fase móvil. Una vez secas, se reveló las placas con una lámpara de luz ultravioleta de 250 nm.

### **Extracción del aceite esencial**

Una vez armado el equipo para la extracción del aceite esencial, en un balón de 250 ml se pesaron 10 g del polvo de hojas. Se adicionaron aproximadamente 100 ml de agua destilada junto con la pastilla magnética al balón.

Posteriormente, una vez acoplado el balón al sistema, se encendió la plantilla con agitación constante. Pasada una hora se subió nuevamente la temperatura y se envolvió el cleveger con aluminio para mantener una temperatura uniforme en el sistema, todo con el fin de favorecer la extracción del aceite.

Pasadas tres horas empezó a salir una especie de líquido acuoso de olor dulce, que periódicamente había que vaciar del clevenger en un beaker. Sin embargo, pasadas seis horas no se logró obtener el aceite esencial.

### **Espectroscopia UV**

Se reconstituyó con cloroformo en un vial el extracto obtenido de los tallos, además en otro vial se colocó una muestra del extracto en etanol de las hojas.

A continuación se procedió a utilizar el equipo de espectroscopia ultravioleta, se realizó la primera medición con el contenido del vial. Posteriormente se realizó una dilución del contenido del vial con cloroformo para obtener el dato a una concentración diferente. Una vez más se realizó otra dilución con cloroformo para obtener un segundo dato con una concentración distinta de las anteriores.

### **Espectroscopia Infrarroja**

Los extractos obtenidos de las hojas y los tallos en hexano y cloroformo se reconstituyeron en este último en 3 viales. Estos viales se dejaron en la universidad para la realización de la espectroscopia infrarroja.

### **Espectroscopia de gases asociada a masas**

Los extractos obtenidos de las hojas y los tallos se reconstituyeron con cloroformo en 3 viales, además la muestra del extracto etanólico obtenido también se colocó en un vial. Estos se dejaron en la universidad para su análisis cromatográfico.

## **Discusiones y resultados**

### **Análisis Químico**

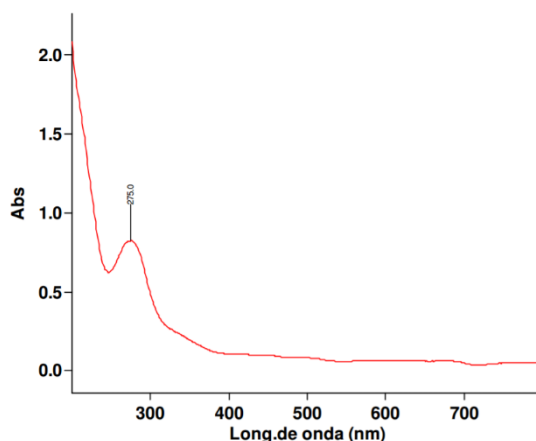
Se buscaba la obtención de extractos a partir de las hojas y los tallos del hinojo, por lo que se realizaron sistemas de reflujo para ambos, en el caso de las hojas se efectuaron las extracciones en 3 sustancias con polaridades distintas, donde el etanol es el más polar, el cloroformo con polaridad intermedia y el hexano que era no polar. Mientras que para los tallos la única extracción desarrollada fue en hexano.

Se elaboraron placas cromatográficas a los extractos de hojas y tallos, en el extracto de hojas se pudieron observar tres componentes mediante revelación de luz ultravioleta a 254 nm. El extracto de tallos que se realizó utilizando metanol como solvente, se pudo concluir que no aparecen compuestos polares importantes en dicho extracto, por lo tanto se descartó seguir trabajando en tallos ya que la idea inicial era encontrar esteroides.

Se desarrollaron distintas pruebas a los extractos brutos obtenidos, estas fueron: espectroscopia infrarroja, prueba de absorbancia ultravioleta y cromatografía de gases acoplada a masas. Se pretendió la obtención de aceite esencial a partir de las hojas del Hinojo, para esto se efectuó la técnica de arrastre con vapor de agua por medio del equipo clevenger. Tras la no obtención del aceite esencial, al extracto acuoso obtenido se le realizó un análisis ultravioleta, con el fin de verificar la obtención de al menos de trazas de aceite en las que estuviera presente el anetol.

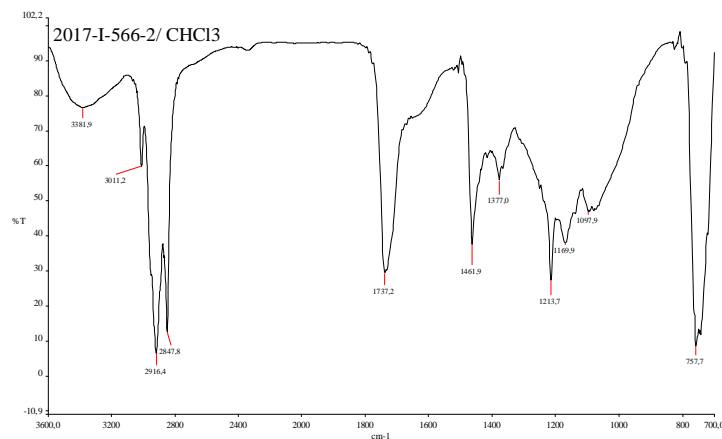
Las pruebas anteriores arrojaron resultados que demostraban la presencia de sustancias como ácidos grasos insaturados, esteroides conjugados con grupos cetónicos, además que el espectro ultravioleta demostró la presencia de anetol en el extracto acuoso de las hojas.

Cuando se realiza la extracción del aceite esencial de hojas por medio de clevenger, se puede observar la presencia de conjugación de dobles enlaces con una absorbancia cercana a 1 y un desplazamiento de 275 nm que generalmente son para moléculas conjugadas, que precisamente corresponden de acuerdo a la literatura a la molécula del anetol. Sin embargo, la presencia de otros aceites esenciales no es hasta el momento evidente.



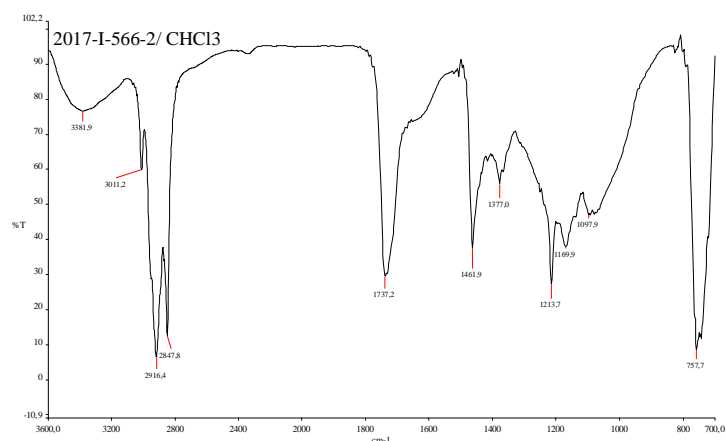
**Figura 1. Espectro ultravioleta de arrastre por vapor de agua del extracto acuoso de las hojas de hinojo.**

Posteriormente para estudios sobre la parte no polar, se realizan las espectroscopias infrarrojas de las hojas del extracto clorofórmico, donde se observan bandas características en 3007.4  $\text{cm}^{-1}$  correspondientes a dobles enlaces, en 2918.6 y 28248.7  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente correspondiente a los grupos alquilo, se da una banda en 1731.6  $\text{cm}^{-1}$  que es equivalente a grupos esteres los cuales probablemente provengan de esteroides relacionados con esteroides. Otras bandas presentes son características de grupos OH como la de 3380.7  $\text{cm}^{-1}$  y 1461.9  $\text{cm}^{-1}$ .



**Figura 2. Espectro infrarrojo del extracto clorofórmico de las hojas de hinojo.**

Con respecto al extracto de hojas en hexano igual se realiza espectroscopia infrarroja y se obtiene el siguiente espectro

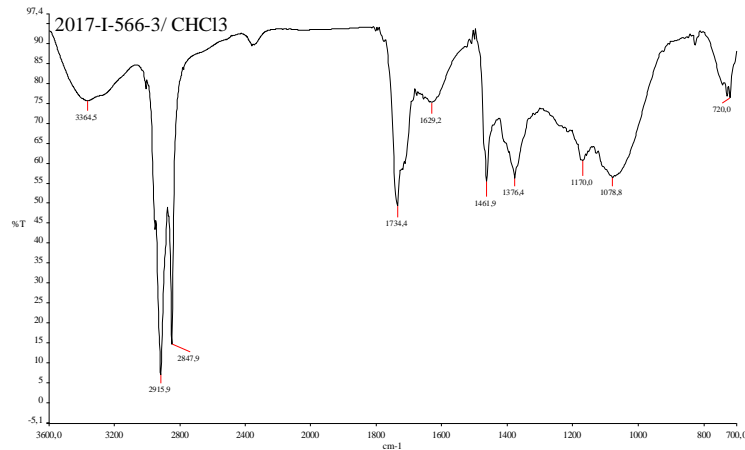


**Figura 3. Espectro infrarrojo del extracto de las hojas en hexano de hinojo.**

Donde se observa la presencia del doble enlace en 3011.2  $\text{cm}^{-1}$ , se percibe también los grupos alquilo en 2916.4 y 2847.8  $\text{cm}^{-1}$  y además la presencia de un éster en 1737.2  $\text{cm}^{-1}$ . Debido a las características del solvente es muy posible que esto corresponda a ácidos grasos, también se contemplan otras bandas de 3381.9 y 1461.9  $\text{cm}^{-1}$  que corresponden a alcoholes que eventualmente podrían estar relacionados también con esteroides con función antiinflamatoria.

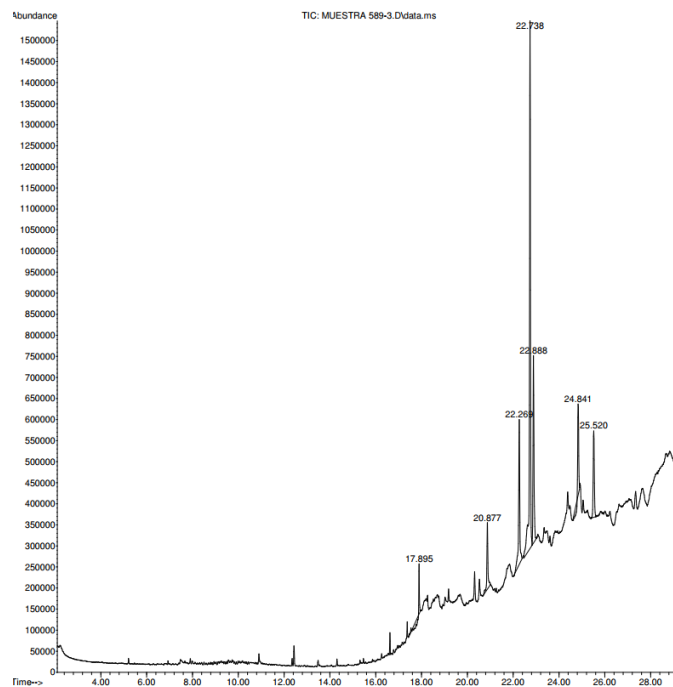
Como también se realizó un estudio a los tallos, el extracto de los mismos se efectuó en hexano, se le hace un análisis y se logra observar prácticamente que eventualmente el pico más representativo del espectro infrarrojo es 1734.4  $\text{cm}^{-1}$ , ello se puede relacionar con dos tipos de producto, uno que corresponde a las grasas naturales presentes y otro a posibles esteroides esterificados, así

como la presencia de otros grupos OH que también se ven en 3364.5 y 1461.9 cm<sup>-1</sup>; al igual prevalecen con bandas fuertes de 2915.9 y 2847.9 cm<sup>-1</sup> que corresponde a los grupos alquilo características de estas moléculas esteroidales y moléculas de ácidos grasos, sin embargo la parte más importante se encuentra en las hojas.



**Figura 4. Espectro infrarrojo del extracto del tallo en hexano de hinojo.**

Se le realiza al extracto de tallos en hexano la cromatografía de gases asociada a masas, en esta se observan 7 componentes principales, que se pasaran a describir. Los tiempos de retención que se observan en la cromatografía de gases son 17.894 min, 20.877 min, 22.273 min, 22.735 min, 22.886 min, 24.844 min y 25.517 min.





### Figura 5. Espectroscopia de gases asociada a masas del extracto de tallos en hexano.

Con un tiempo de retención de 24.844 min y un área porcentual relativa de 5.73 se encuentra la presencia de estigmasterol, considerado uno de los esteroides precursores de la familia.

Para estudiar la polaridad intermedia se utiliza como solvente el cloroformo, por lo tanto, se realiza una cromatografía de gases. Se analizaron los metabolitos secundarios más importantes de este extracto, con un tiempo de retención de 12.351 min y un área porcentual relativa de 20.99, se obtiene la presencia de flavonoides cuyo m/z es de 278; teniendo en cuenta su actividad altamente antioxidante, además de antiinflamatoria.

En el análisis de cromatografía de gases acoplado a masa, se presenta un tiempo de retención de 15.715 min y un área porcentual relativa de 9.28, un m/z de 280, se encuentra la presencia del ácido (z,z)-9,12-Octadecadienoico, es un ácido graso omega-6, tiene gran importancia debido a que posee acción hipolípida.

Se presenta un tiempo de retención de 25.608 min, un área porcentual relativa de 3.19 %, con un m/z de 430 se encuentra la molécula del beta sitosterol.

En análisis por espectroscopia ultravioleta, se encuentra la presencia de una absorción en 271 nm donde refleja la presencia de dobles enlaces z de los ácidos grasos hipolípidicos.

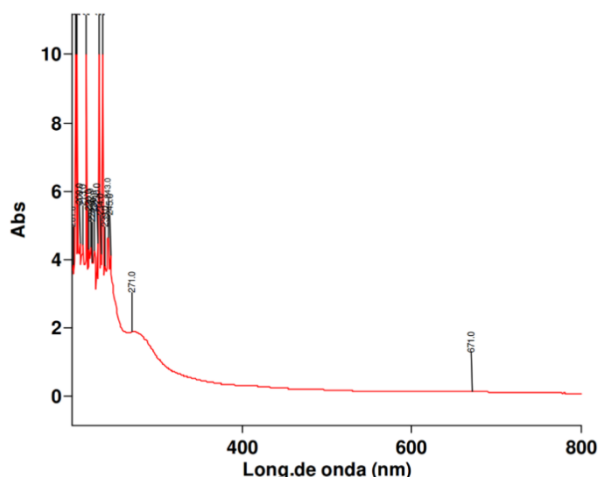


Figura 10. Espectro ultravioleta del extracto de tallos en hexano de hinojo.

### Conclusiones

Por medio de métodos de espectroscopia infrarroja se determinaron los grupos funcionales de las sustancias existentes, como lo son grupos alquilo, los cuales son característicos de moléculas esteroidales y moléculas de ácidos grasos.

Se pudo observar por medio de espectroscopia ultravioleta que había presencia de sustancias conjugadas entre sí, como los dobles enlaces conjugados presentes en la molécula de anetol.

Por medio de la cromatografía de gases acoplada a masas se pudo observar la presencia de varios metabolitos secundarios como: flavonoides, fitosteroles y ácidos grasos.

Mediante la cromatografía de gases acoplada a masas se determinó la presencia de metabolitos precursores de fitosteroles como el fitol, involucrado la acción antiinflamatoria del hinojo.

Mediante la cromatografía de gases acoplada a masas se determinó la presencia de ácidos grasos tipo omega-3 y omega-6 con acción antinflamatoria.

### **Recomendaciones**

Utilizar solventes con polaridades diferentes, con el objetivo de que haya la posibilidad de observar otros metabolitos como la fenchona, limoneno, cumarinas, entre otros.

Cuantificar los flavonoides presentes en la planta.

Estudiar plantas de hinojo de otras regiones de Costa Rica a fin de verificar si se mantiene la proporción de los componentes o por el contrario surgen nuevos metabolitos.

Solicitar a la universidad el aporte de mayor variedad de reactivos para evitar posibles obstáculos en el desarrollo de la investigación.

Desarrollar una formulación farmacéutica con base en aceite esencial de hinojo, para de esta manera aprovechar mejor sus propiedades medicinales.

### **Referencias bibliográficas**

1. Segura Munguía S, Torres Ripa J. Historia de las plantas en el mundo antiguo. Madrid: Universidad de Deusto; 2009.
2. Cecchini T. Enciclopedia de las hierbas y de las plantas medicinales. Barcelona: De Vecchi; 1999.
3. Arteché García A, Vanaclocha Vanaclocha B, Guenechea Salazar JI. Fitoterapia: vademécum de prescripción. 3 ra edición. Barcelona: Masson; 1998.
4. Castillo. E, Martínez. I. Manual de Fitoterapia. 2 a Edición. Elsevier, S.A. Barcelona, España, 2016
5. Ira Fox S, Fisiología Humana 12 a edición. Madrid, MCGRAW-HILL; 2014.
6. Constituents of *Mirabilis jalapa*. Siddiqui S., Siddiqui B.S., Adil Q. and Begum S., Fitoterapia, 1990.

7. Carrillo Esper R, Cedillo Juárez J, Pérez García M, Carrillo Córdoba L, Carrillo Córdoba J. Hiperinflación dinámica, 2007. (Citado el 8 de julio de 2017); 14(1). Disponible desde:  
<http://www.medigraphic.com/pdfs/medsur/ms-2007/ms071a.pdf>