

# Especialización en Terapéuticas Alternativas y Farmacología Vegetal



FUNDACIÓN UNIVERSITARIA  
**JUAN N. CORPAS**

Educación y Salud de Calidad  
con Sentido Social

## Trabajo de grado

**ACTIVIDAD REPELENTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Foeniculum vulgare*  
Mill. SOBRE *Aedes aegypti* Linneus (Diptera: culicidae)**

**AGUILAR ZARATE YEISON ALEXANDER  
DAZA PELÁEZ JULIANA  
PÉREZ GONZÁLEZ MARÍA CRISTINA  
VARGAS VARGAS JEIMY LORENA**

**FUNDACIÓN UNIVERSITARIA JUAN N. CORPAS  
ESCUELA DE MEDICINA  
ESPECIALIZACIÓN EN TERAPÉUTICAS ALTERNATIVAS Y  
FARMACOLOGÍA VEGETAL  
BOGOTÁ D.C.  
2017**

**ACTIVIDAD REPELENTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Foeniculum vulgare*  
Mill. SOBRE *Aedes aegypti* Linneus (Diptera: culicidae)**

**AGUILAR ZARATE YEISON ALEXANDER  
DAZA PELÁEZ JULIANA  
PÉREZ GONZÁLEZ MARÍA CRISTINA  
VARGAS VARGAS JEIMY LORENA**

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE ESPECIALISTA  
EN TERAPÉUTICAS ALTERNATIVAS Y  
FARMACOLOGÍA VEGETAL**

**POMBO OSPINA LUIS MIGUEL  
INGENIERO QUÍMICO**

**FUNDACIÓN UNIVERSITARIA JUAN N. CORPAS  
ESCUELA DE MEDICINA  
ESPECIALIZACIÓN EN TERAPÉUTICAS ALTERNATIVAS  
Y FARMACOLOGÍA VEGETAL  
BOGOTÁ D.C.**

**2017**

## CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	14
1. OBJETIVOS.....	16
1.1. OBJETIVO GENERAL .....	16
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
2.1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA .....	17
2.2. JUSTIFICACIÓN.....	17
3. MARCO TEÓRICO .....	20
3.1. Aedes aegypti LINNEO .....	21
3.1.1. DISTRIBUCIÓN.....	21
3.1. 2. ANTECEDENTES .....	22
3.1.3. Aedes aegypti L. EN COLOMBIA .....	23
3.1.4. TAXONOMÍA.....	26
3.2. HINOJO <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.....	37
3.2.1. LA PLANTA .....	37
3.2.2. EL HINOJO COMO ALIMENTO .....	39
3.2.3. EL HINOJO COMO PLANTA MEDICINAL .....	43
3.2.4. OTRAS UTILIDADES DEL HINOJO EN LAS CIENCIAS FARMACÉUTICAS.....	52
3.2.5. HINOJO COMO REPELENTE .....	53
3.3. REPELENTES .....	55
3.3.1. DEFINICIÓN.....	55
3.3.2. CARACTERÍSTICAS.....	55
3.3.3. EFICACIA.....	57
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	58
4.1. PLANTA MATERIAL .....	58
4.3. EXTRACCION DE ACEITE ESENCIAL.....	59

4.3. ANÁLISIS DE CROMATOGRAFÍA DE GASES .....	60
4.4. IDENTIFICACIÓN DE COMPONENTES .....	61
4.5. CRIADERO Y SEPARACION DE MOSQUITOS .....	61
4.6 VOLUNTARIOS EXPUESTOS .....	63
4.7. BIOENSAYO DE ACCIÓN REPELENTE .....	63
4.7.1. FASE UNO .....	63
4.7.2. FASE DOS .....	65
4.8. ANÁLISIS DE DATOS .....	67
5. RESULTADOS.....	68
5.1. FASE UNO.....	68
5.2. FASE DOS.....	70
5.3. ANÁLISIS QUÍMICO .....	75
5.4. ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD REPELENTE .....	75
6. DISCUSIÓN .....	77
7. CONCLUSIONES .....	79
8. RECOMENDACIONES.....	80
9. BIBLIOGRAFÍA .....	81

## LISTA DE TABLAS

		Pág
Tabla 1	Composición centesimal (g/100 g) y valor energético (Kcal/100 g) de hinojo silvestre (sobre sustancia fresca)	44
Tabla 2	Composición centesimal (g/100 g) y valor energético (Kcal/ 100 g) de hinojo cultivado (sobre sustancia fresca)	44
Tabla 3	Detalles de las actividades farmacológicas/biológicas reportadas de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	47
Tabla 4	Detalles de las actividades farmacológicas/biológicas reportadas de <i>Foeniculum vulgare</i> .	58
Tabla 5	Comparación entre la concentración de aceite esencial de <i>F. vulgare</i> P. Mill y variables clínicas de medición.	72
Tabla 6	Porcentaje de protección de aceite esencial de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	73
Tabla 7	Variación en el tiempo de concentraciones mínimas de aceite esencial de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. con efecto repelente.	74

## LISTA DE GRÁFICAS

	Pág
Gráfica 1 Porcentaje de protección para cada una de las concentraciones de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. estudiado	73
Gráfica 2 Relación entre variables estudiadas y tiempo en minutos para la exposición a DEET.	75
Gráfica 3 Relación entre variables estudiadas y tiempo en minutos para la exposición a aceite esencial del Hinojo al 0,7%.	75
Gráfica 4 Relación entre variables estudiadas y tiempo en minutos para la exposición a aceite esencial del Hinojo al 0,54%.	76
Gráfica 5 Relación entre variables estudiadas y tiempo en minutos para la exposición a aceite esencial del Hinojo al 0,39%.	76
Gráfica 6 Relación entre variables estudiadas y tiempo en minutos para la exposición a aceite mineral (control negativo).	77
Gráfica 7 Comparación entre número de picaduras, solución estudiada y su variación en el tiempo.	77
Gráfica 8 Comparación entre número de aterrizajes, solución estudiada y su variación en el tiempo.	76

## LISTA DE FIGURAS

	Pág	
Figura 1	Mapa de distribución mundial del dengue 2000.	24
Figura 2	Reinfestación de <i>Aedes aegypti</i> en el Continente Americano	26
Figura 3	Distribución de <i>Aedes aegypti</i> en Colombia, en 1949, 1967 y 1995.	27
Figura 4	R Ciclo Biológico del mosquito <i>Aedes aegypti</i>	30
Figura 5	<i>Foeniculum vulgare</i> en Köhler's Medicinal Plants, 1887.	43
Figura 6	Estructuras químicas: anetol, estragol, fenchona, ácido clorogénico, ácido rosmarínico, quercetina, kaempferol e isorhamnetina.	52
Figura 7	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	63
Figura 8	Equipo Clevenger	64
Figura 9	Equipo Thermo Trace 1300 acoplado a un espectrómetro de masas ISQ LT	65
Figura 10	Jaula Gerber	66
Figura 11	Procedimiento de selección de hembras de <i>Aedes aegypti</i>	66
Figura 12	Preparación del voluntario	68
Figura 13	Exposición del antebrazo en jaula Gerber	68
Figura 14	Conteo de número de aterrizajes y picaduras	69
Figura 15	Exposición cutánea del dorso de la mano	69
Figura 16	Frasco recolector de insectos utilizados	70

## LISTA DE ANEXOS

	Pág
Anexo A. Reporte final Herbario Nacional de Colombia	96
Anexo B. Reporte Cromatografía de gases acomplada a espectrometría de masas para <i>F. vulgare</i> Mill.	97

## GLOSARIO

**ABSORCIÓN:** El proceso por el cual un repelente entra en un sustrato como la piel.

**ACEITE ESENCIAL:** se define como una mezcla de componentes volátiles producidos a partir del metabolismo secundario de las plantas, se caracterizan por ser de aspecto oleoso, altamente volátiles, solubles en aceites, alcohol, éter de petróleo, tetracloruro de carbono y demás solventes orgánicos; insolubles en agua aunque le transmiten su perfume; son inflamables, responsables del aroma de las plantas, colores y sabores, con densidad generalmente inferior a la del agua. Están compuestos en su mayor parte por hidrocarburos de la serie polimetilénica del grupo de los terpenos que se encuentran con otros compuestos, generalmente oxigenados (1).

**ACTIVADOR:** Puede ser un disolvente o calor que al combinar con un repelente aumenta su disponibilidad o actividad.

**ATRAYENTE:** Sustancia o factores que atraen insectos realizando movimientos orientados hacia su fuente, es lo opuesto a repelente.

**ARTRÓPODO INVERTEBRADO:** Criatura con exoesqueleto y piernas articuladas. Son artrópodos que se alimenta de sangre como Clase Insecta ácaros, clase Arachnida, garrapatas u otros grupos de animales que afectan a numerosos seres humanos a través de mordeduras o envenenamiento como serpiente, escorpiones, arañas y avispas.

**DEET:** N, N-dietil-3-metilbenzamida conocida como N, N-dietil-meta-toluamida. Es el repelente dominante utilizado en todo el mundo. Es eficaz contra todos los grupos de artrópodos mordedores e incluso sanguijuelas. Las formulaciones que contienen de 4% a 100% de este compuesto son registradas por la Agencia de Protección del

Medio Ambiente de los Estados Unidos (EPA) para la aplicación directa de la piel para repeler insectos, en lugar de matarlos.

**ENFERMEDADES TROPICALES:** son aquellas que ocurren únicamente, o principalmente, en los trópicos. En la práctica, la expresión se refiere a las enfermedades infecciosas que predominan en climas calientes y húmedos, como el paludismo, la leishmaniasis, la esquistosomiasis, la oncocercosis, la filariasis linfática, la enfermedad de Chagas, la tripanosomiasis africana y el dengue (2).

**FACTORES ABIÓTICOS:** Son las variables no biológicas que puede o no influir en la repelencia. Por ejemplo, calidad del aire, humedad, luz, temperatura, viento.

**FACTORES BIÓTICOS:** Pertenece a los repelentes. Son las variables biológicas que pueden influir en la repelencia, como el estado fisiológico del insecto, nivel de hambre, ciclo de actividad.

**INSECTO:** Cualquier miembro de la clase de insectos artrópodos. Nombre derivado del latín *insectum*, refiriéndose al cuerpo cortado o articulado. Los adultos típicamente presentan tres pares de piernas.

**INSECTICIDA:** Son aquellas sustancias u organismos que matan a los insectos por medio de su acción química, física o biológica. Generalmente se agrupan en tres clases generales: venoso estomacales, venenos de contacto y fumigantes los cuales son venenos gaseosos que penetran por el sistema respiratorio del insecto por lo que generalmente son aplicados en ambientes cerrados (3).

**LARVA:** es una etapa donde el estado biológico de un insecto presenta grandes modificaciones estructurales y funcionales. Existen diversos tipos de larvas, entre ellos las vermiformes las cuales tienen forma de gusano entre ellas: dyptera, hymenóptera, coleóptera y leidóptera (4).

**PRODUCTOS NATURALES:** Materiales formados por la naturaleza que pueden ser utilizados como productos repelentes naturales.

**REPELENTE:** Cualquier estímulo que provoca una reacción evasiva. Existen repelentes de contacto y repelentes de vapor.

**SINTÉTICO:** Compuestos químicos producidos por humanos, en contraposición a los de origen natural.

**VISCOSIDAD:** Es la propiedad de los líquidos para resistir el flujo, debido a las fuerzas que actúan entre las moléculas.

**VOLATILIDAD:** Tasa de evaporación de un líquido o de un sólido.

**ZOOFAGIA:** Tendencia de los insectos hematófagos a morder o preferir huéspedes distintos de los humanos

## RESUMEN

*Aedes aegypti* Linneus es un vector importante de enfermedades de interés en salud pública, en Colombia actualmente se adelantan esfuerzos para reducir la incidencia de los principales vectores de este tipo de enfermedades mediante el uso de insecticidas de síntesis química en los estadios larvarios, sin embargo no han ofrecido los resultados deseados por lo que se adelantan estudios con el fin de identificar nuevas estrategias con el fin de controlar la reproducción y el control de este tipo de vectores, se han tenido en cuenta los aceites esenciales de algunas plantas dada la volatilidad y simplicidad de sus moléculas, así como su poca o nula toxicidad para los humanos en la mayoría de los casos, lo que los hace buenos candidatos para catalogarlos como repelentes amigables con el ambiente y la salud humana, es allí donde surge el interés por la búsqueda de una alternativa económica y de fácil acceso a la población urbana y rural en el control de vectores para el país, por lo que el objetivo fue evaluar la actividad repelente del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. sobre *Aedes aegypti* Linneo.

En cuanto a los materiales y métodos empleados se contó con la participación de personal profesional y técnico del laboratorio de entomología del Instituto nacional de salud, quienes facilitaron el acceso a la cepa del vector a estudio libre de contaminación viral externa, de esta manera se realizaron 2 fases de experimentación: la primera con el fin de determinar la actividad repelente del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. y sus concentraciones adecuadas para mantener tal efecto, y en la segunda fase la determinación del tiempo de protección del efecto repelente. Se pudieron concluir datos concordantes con la literatura revisada que corroboran el efecto repelente de esta sustancia en concentraciones que oscilan entre el 100% hasta el 0,7% del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill.

**Palabras claves:** *Aedes aegypti* Linneo, repelente, *Foeniculum vulgare* Mill.

## INTRODUCCIÓN

El mosquito *Aedes aegypti* Linneus, es un importante vector de enfermedades de gran significancia en salud pública tales como dengue, chikunguña, zika, fiebre amarilla y otras enfermedades virales en climas tropicales (5). En Colombia actualmente se adelantan esfuerzos para reducir la incidencia de los principales vectores de este tipo de enfermedades mediante el uso de insecticidas de síntesis química a los estadios larvarios, sin embargo no han ofrecido los resultados deseados (6), al igual es importante conocer que en Colombia existen pocos estudios acerca de la acción repelente de productos orgánicos. Es de gran valor resaltar que existen múltiples plantas que sintetizan metabolitos secundarios los cuales tienen propiedades tóxicas y repelentes para algunos insectos (7), por lo que es oportuno explorar estas alternativas biológicas con el fin de emplearlas en el control de vectores.

Los extractos de algunas plantas han mostrado actividad insecticida, especialmente algunas especies de las familias Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae, Piperaceae y Apiaceae (8) a la cual pertenece *Foeniculum vulgare* Mill. y del cual se ha descrito acción repelente sobre adultos de *A. aegypti* L. (9) por lo que se ha estimado como tema de estudio en la presente investigación. Los aceites esenciales dada la volatilidad y simplicidad de sus moléculas, tienen poca permanencia en el ambiente y en su mayoría no son tóxicos para mamíferos, aves y peces (10,11), lo cual los hace buenos candidatos para catalogarlos como repelentes amigables con el ambiente y la superficie cutánea humana. Generalmente este tipo de vectores son controlados mediante el uso de insecticidas de síntesis química, los cuales han ocasionado daños al ambiente, intoxicación a personas expuestas y resistencia por lo que se requiere la investigación de otras fuentes que sean solución a esta problemática de interés en salud pública.

El objetivo de la presente investigación es evaluar la actividad repelente sobre los adultos de los mosquitos *Aedes aegypti* Linneo a partir de la aplicación directa sobre la piel del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. en diferentes concentraciones, además de contribuir al conocimiento de alternativas amigables para el medio ambiente con el fin de controlar la presencia de vectores, así como de mitigar el efecto adverso sobre el ambiente causado por el uso continuado de insecticidas de síntesis química.

## 1. OBJETIVOS

### 1.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad repelente del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. sobre *Aedes aegypti* Linneo.

### 1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar la extracción del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. mediante hidrodestilación.
- Determinar la composición química del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS)
- Realizar bioensayo mediante aplicación tópica del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. y conteo del número de aterrizajes por parte del vector sobre la superficie cutánea.
- Identificar el rango de concentración en el cual el aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. mantiene un efecto repelente sobre *Aedes aegypti* Linneo.
- Determinar el porcentaje de protección de cada una de las concentraciones estudiadas del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill.
- Identificar el tiempo de protección de la concentración mínima con efecto repelente del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. sobre *Aedes aegypti* L.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **2.1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA**

Las enfermedades de interés en salud pública por definición son aquellas que presentan un alto impacto en la salud colectiva y ameritan una atención y seguimiento especial y oportuno (12), dentro de estas enfermedades se incluyen aquellas transmitidas por vectores, entre las que se encuentran con mayor proporción las arbovirosis: chikunguña, dengue, zika y fiebre amarilla las cuales en los últimos años han presentado una incidencia creciente y de no recibir control y seguimiento constante y adecuado, constituyen un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades de mayor gravedad, secuelas irreversibles, invalidez y muerte prematura (13); además tienen gran importancia por su alta transmisibilidad y poder epidémico, por lo tanto requieren de una atención eficaz para su control por lo que se han planteado algunas medidas de intervención donde incluye el control de su vector transmisor; sin embargo en las últimas décadas se ha reportado una alta resistencia de *Aedes aegypti* a los insecticidas tradicionales de síntesis química (14) lo que devala una pérdida de la capacidad de respuesta para prevenir y controlar estas patologías por parte de los programas nacionales, así que surge el interés por desarrollar una investigación en la que se determine la propiedad repelente de una planta de fácil acceso a la población general como es el Hinojo *Foeniculum vulgare* Mill. con el fin de contribuir a la disminución de la expansión de dichas enfermedades.

### **2.2. JUSTIFICACIÓN**

Las enfermedades en salud pública son situaciones trágicas que afectan siempre negativamente de una u otra forma a grandes grupos de población (15). En la presente investigación resaltamos el creciente papel epidemiológico de las enfermedades transmitidas por vectores, específicamente el del *Aedes aegypti* L. quien es el vehículo de contagio de enfermedades como fiebre amarilla, chikunguña,

dengue y más reciente del virus zika, del cual poco a poco se va acumulando más evidencia que apunta a una relación causal entre la infección por éste virus durante el embarazo y los incrementos de microcefalia y malformaciones, lo que convertiría una infección en principio leve en adultos sanos, en una enfermedad de alto riesgo para los recién nacidos (16).

En Colombia, según la publicación Boletín epidemiológico semanal del Instituto nacional de salud (17) para el 2016 la incidencia nacional de chikunguña es de 72,9 casos por 100 000 habitantes en población urbana. En el caso del virus del dengue la incidencia nacional fue de 366,2 casos por 100 000 habitantes en riesgo (población de área urbana). Esta enfermedad se considera la enfermedad vírica más importante transmitida por artrópodos, por el elevado número de personas afectadas, y según la publicación Dengue en Colombia: Epidemiología de la reemergencia a la hiperendemia (18), la incidencia anual del dengue alcanza los 50 millones de casos, de los cuales, 500 000 son hospitalizados por las formas graves de la enfermedad y 20 000 mueren. En las epidemias, la tasa de ataque puede llegar a ser de 80 a 90 % de los individuos vulnerables y la letalidad puede superar el 2 %. El 95 % de todos los casos de dengue grave ocurre en menores de 15 años (19).

Según el instituto nacional de salud (17), en cuanto a la fiebre amarilla durante el último año ingresaron al sistema de vigilancia epidemiológica (SIVIGILA) 12 casos, siete confirmados y cinco probables que continúan en estudio para su clasificación final de los cuales se confirmaron ocho muertes por esta causa. Con respecto al virus del Zika, esta misma institución reportó una incidencia nacional durante la fase epidémica (agosto de 2015 a julio de 2016) de 377,7 casos por 100 000 habitantes en población urbana, lo cual contrasta con los datos reportados en la fase post-epidémica en donde se registra un marcado descenso a 18,2 casos por 100 000 habitantes en población urbana, sin embargo vale la pena destacar el alto impacto de esta arbovirosis en relación con las secuelas neurológicas con las que se ha asociado, se ha reportado que una de cada 1 000 mujeres embarazadas con zika

puede tener un niño con alteraciones neurológicas(20), de acuerdo con las proyecciones oficiales en relación con los últimos datos reportados (17): desde el inicio de la fase epidémica de la enfermedad hasta la semana epidemiológica 52 del año 2016, se han confirmado 6363 casos en mujeres embarazadas y se han notificado 13383 casos sospechosos en gestantes que refieren haber tenido en algún momento síntomas compatibles con enfermedad por virus Zika; además es relevante resaltar que a la fecha se ha confirmado la circulación del virus en 554 municipios del territorio nacional. En cuanto a la vigilancia intensificada de microcefalias y otros defectos congénitos del Sistema Nervioso Central que se lleva a cabo en Colombia: entre las semanas epidemiológicas 01 a la 52 de 2016 se han confirmado setenta y siete casos de microcefalias y otros defectos congénitos del Sistema Nervioso Central asociados al virus zika, y con respecto a los síndromes neurológicos con antecedente de enfermedad compatible con infección por virus Zika: desde el 15 de diciembre de 2015 y con corte a la semana epidemiológica 52 de 2016 se han notificado al sistema de vigilancia epidemiológica 677 casos de síndromes neurológicos (Síndrome de Guillain-Barré, polineuropatías ascendentes, entre otras afecciones neurológicas similares) con antecedente de enfermedad febril compatible con infección por virus zika, los cuales se encuentran en proceso de verificación.

En los últimos años la incidencia de las arbovirosis ha aumentado 30 veces debido a la creciente expansión geográfica hacia áreas donde antes no existía transmisión (18); así, cada vez estas enfermedades son más frecuentes en las zonas rurales y ya no sólo se presentan en las áreas urbanas de las grandes ciudades. Existen múltiples factores que facilitan el incremento del número de criaderos de vectores como el mosquito *Aedes aegypti* (21) principal vector del virus del chikunguña, dengue y zika en las Américas; entre estos factores se encuentra el cambio climático, que influye en la intensidad y duración de las temporadas de lluvias y en la aparición de intensas sequías, y así los daños en la biodiversidad. Al igual, es importante resaltar la creciente resistencia de éste vector a los insecticidas

tradicionales (22, 23) dado que este factor y las características de vulnerabilidad propias del huésped son dos aspectos que influyen estrechamente en el comportamiento de la enfermedad y la presentación de las formas graves de éstas.

En relación con las alta incidencia de patologías transmitidas por este vector , la presente investigación pretende resaltar la creciente y generalizada resistencia a los insecticidas sintéticos convencionales en las poblaciones de vectores específicamente el *Aedes aegypti* y el difícil acceso a los repelentes de síntesis química por parte de la población vulnerable, lo cual ha puesto de relevancia la necesidad urgente de establecer alternativas en el sistema de erradicación y control de mosquitos; teniendo en cuenta que la población con mayor afectación es de localización tanto urbana como rural, surge el interés en la búsqueda de un producto orgánico y al alcance de la población general que contribuya con el descenso en la presentación de tales patologías de gran interés en salud pública.

### 3. MARCO TEÓRICO

Dado que la transmisión endémica e hiperendémica de las enfermedades tropicales es producto de la interacción multifactorial y compleja de determinantes y causas que favorecen la existencia de diferentes escenarios de transmisión, la carga de este tipo de enfermedades en municipios con mayor densidad poblacional urbana, el alto impacto sanitario en la población general y ante la necesidad de optimizar adecuadamente los recursos disponibles para lograr una mayor costo efectividad y sostenibilidad de las actividades que intervienen las causas ambientales y culturales que favorecen la transmisión de dichas enfermedades; es necesario ampliar en conceptos con respecto a su vector de transmisión, especificaciones en enfermedades tropicales y caracterización del *Foeniculum vulgare* Mill. material botánico del cual se pretende investigar.

#### 3.1. *Aedes aegypti* LINNEO

##### 3.1.1. DISTRIBUCIÓN

El *Aedes aegypti* L. es un insecto que presenta una amplia distribución en áreas tropicales y subtropicales del mundo (Figura 1) y está limitado a latitudes entre 35° norte y 35° sur, aunque a veces se ha observado a 45° latitud norte cuando hay invasiones en la estación cálida; sin embargo, no sobreviven en la estación de invierno (24). Su rango de distribución altitudinal se encuentra por debajo de los 2.000 m.s.n.m., pero en Colombia se tienen registros a los 2.200 m.s.n.m. en Málaga, en el departamento de Santander (25), en sitios donde la temperatura media anual es de 17°C (26). En las Américas se considera como una especie doméstica, en áreas urbanas y rurales (27), Mirsa en 1956 (28) describió que el *A. aegypti* L. puede ser trasladado por el hombre a largas distancias en todos sus estados de desarrollo (huevos, larvas, pupas y adultos). El hábitat del *A. aegypti* L. está estrechamente relacionado con el hábitat del hombre. Además, los climas cálidos, la alta humedad y la lluvia son factores que favorecen la propagación de la especie (29).



● Países o áreas en los que se ha reportado Dengue

Figura 1. Países o áreas en riesgo de Dengue para el año 2013. Las curvas de nivel de las isotermas de enero y julio indican áreas de riesgo, definidas por los límites geográficos de los hemisferios norte y sur para la supervivencia durante todo el año del *Aedes aegypti*, principal vector mosquito de los virus del dengue. (Tomado del <http://www.who.int/en/>)

### 3.1. 2. ANTECEDENTES

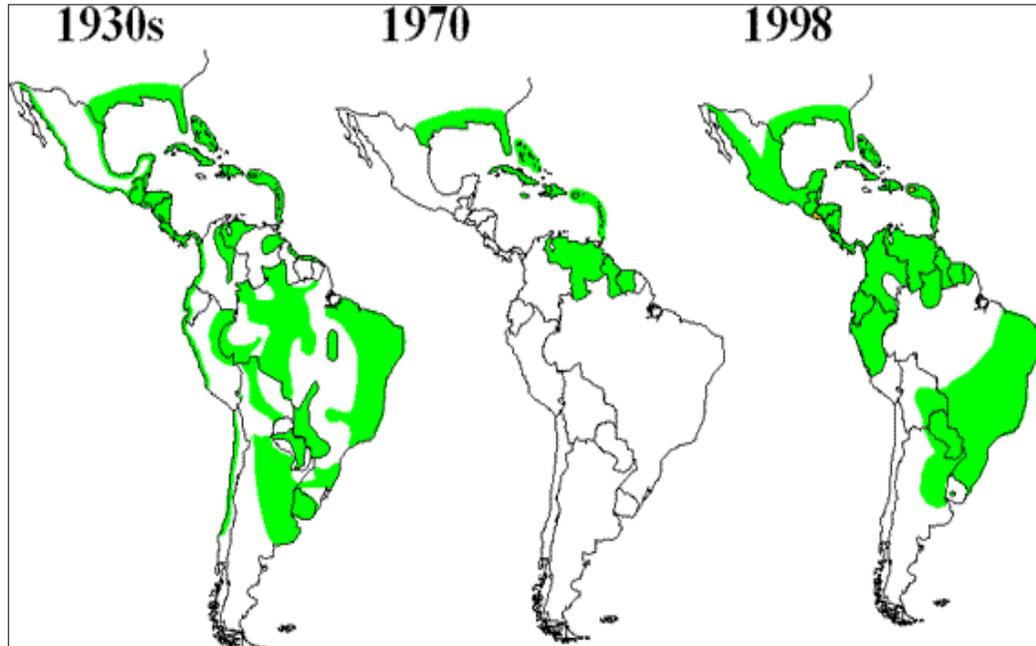
Es probable que el *A. aegypti* L. se haya originado en el oeste de África, donde el hábito de cría se ha alterado considerablemente con el tiempo y se han encontrado las formas no solamente selváticas sino también domésticas, mientras que en los países del resto del mundo, solo se encuentran las formas domésticas (29). Se cree además que migró a América durante los siglos XV al XVII a bordo de barcos con esclavos (30). En las regiones cálidas y tropicales de las Américas, el *A. aegypti* L. llegó a establecerse y propagarse en el interior del continente y durante siglos esta especie se convirtió en un grave problema de salud pública tanto en las Américas como en África por ser vector de la fiebre amarilla urbana (31). Estudios en Cuba sobre la fiebre amarilla durante 1900 y 1901 demostraron por primera vez que el *A. aegypti* L. era el vector de la fiebre amarilla. En Australia, en 1906 se sugirió que *A. aegypti* L. podría ser el vector del dengue y se comprobó que

transmitía el dengue en la epidemia de esta enfermedad durante 1916 (32). En septiembre de 1947, la Oficina Sanitaria Panamericana, recomendó a todos los gobiernos miembros en una reunión que tuvo lugar en Buenos Aires, la organización de programas destinados a erradicar del continente el *Aedes aegypti* L. (Figura 2), pero no fue eliminado (31). En la década de los 80's, cinco países: Bolivia, Brasil, Ecuador, Paraguay y Perú, que no presentaron casos dengue durante muchas décadas o que nunca lo habían registrado, sufrieron brotes explosivos. Igualmente pasó con Costa Rica y Panamá (países tropicales) que notificaron en 1993 la transmisión autóctona de la enfermedad (33), documentaron que la especie sigue extendiéndose en las Américas reinfestando no solo las regiones donde había sido erradicado sino extendiéndose a regiones que nunca había reportado la presencia del vector, asociado con una reemergencia del dengue en sus formas más graves: dengue con signos de alarma (25).

### **3.1.3. *Aedes aegypti* L. EN COLOMBIA**

*Aedes aegypti* L. entraría al interior de Colombia desde Cartagena cuando se estableció la navegación por el río Magdalena (34). En 1880 se detectó en Neiva (Huila), aunque posiblemente muchos años antes invadió a Ambalema, Honda y Girardot, donde posteriormente, ocurrieron epidemias de fiebre amarilla. En 1883 el *A. aegypti* L. se encontró en Cúcuta (Norte de Santander). En 1906 se halló en Bucaramanga (Santander). Para 1959, este mosquito había proliferado la Costa Atlántica, Buenaventura y los valles de los ríos Magdalena y Cauca. El oriente y sureste estaban libres (Figura 3) para ese entonces de esta especie (35). Colombia siguió las recomendaciones de la reunión efectuada en Buenos Aires en 1947 e inició a finales de los años 50 la campaña de erradicación contra el *A. aegypti* L. en agosto de 1959 (34). Como resultado del trabajo, el país permaneció libre del mosquito entre los años 1961 a 1967, excepto en la ciudad de Cúcuta ya que persistía un pequeño foco de infestación (Figura 1) en relación con la frontera, dado que Venezuela no participó en el programa de erradicación contra el vector en las

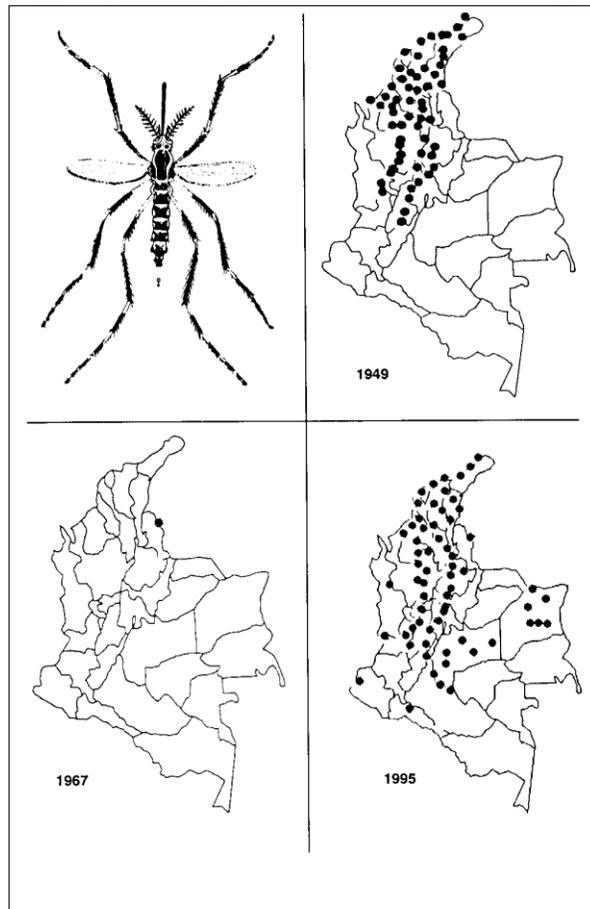
Américas porque no consideró el programa de erradicación como prioritario para el control de la Fiebre Amarilla y el Dengue (36).



● Presencia del *Aedes aegypti*.

Figura 2. Reinfestación de *Aedes aegypti* en el Continente Americano. Desafortunadamente, el éxito de la campaña de erradicación no se mantuvo. A partir de principios de la década de 1970, el programa comenzó a dismantelarse y muchos países canalizaron sus recursos limitados a otras áreas. En consecuencia, el *Aedes aegypti* comenzó a reinfestar los países de los cuales había sido erradicado. Comparando el mapa de 1970 con el de 1998, se puede ver al mosquito reestablecerse a lo largo de América Central y la mayor parte de América del Sur. Al propagarse el mosquito, el número y la frecuencia de las epidemias de dengue han aumentado, al igual que la actividad de dengue hemorrágico en las Américas. (Tomado de: <http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/dengue/slideset/spanish/set1/viii/slide03.htm>).

Por un tiempo la campaña de erradicación tuvo éxito debido a la susceptibilidad del mosquito al insecticida diclorodifeniltricloroetano (DDT). Sin embargo, en 1960 Alberto Morales del Instituto Nacional de Salud detectó por primera vez en Colombia, una muestra *de A. aegypti* L. procedente de Cúcuta resistente al DDT



(34-35).

Figura 3. Distribución de *Aedes aegypti* en Colombia, en 1949, 1967 y 1995.  
(Tomada de Informe Quincenal Epidemiológico Nacional. 1996.1(2):20)

En 1966 el mosquito infestó la ciudad de Santa Marta, en 1968 se reportó en la ciudad de Riohacha y de ahí pasó a los puertos de las ciudades de Cartagena y Barranquilla en 1969, para luego invadir el interior del país siguiendo las rutas de los ríos Magdalena y Cauca. En 1976 infestó a Villavicencio y a Florencia. Después de más de 7 años de control del vector, en la década del 70 en Colombia al

reinfestarse de *A. aegypti* L. (Figura 3) se presentaron continuos y repetidos brotes epidémicos por dengue sin signos de alarma. Dos años después de la gran reinfestación, en 1971 ocurrió la primera epidemia del dengue afectando a unas 400.000 personas y en 1972 ya se encontraba expandido en toda la costa Atlántica; lo mismo ocurrió en varias ciudades del interior del país, en donde se presentaron epidemias como la de Armero en 1975 y en Girardot en 1976 (34,35).

El *A. aegypti* L. ha invadido departamentos que en el pasado no habían tenido infestación por este mosquito como Putumayo, Vichada, Guaviare y Arauca (27). Esta situación planteó al país un grave problema en su momento pues, su erradicación sería muy difícil, costosa e inútil porque mientras los países vecinos estaban infestados podrían fácilmente volver a reinfestar a Colombia, además de la deficiencia y escasez de los programas orientados al control del mosquito, induciendo a la propagación de la especie a nuevas áreas y regiones del territorio colombiano (34). Para 1997, ya se ha encontrado en casi todos los departamentos del país; no ha sido hallado en Amazonas, Vaupés y Guainía (27). Y para el 2016, se confirmó la circulación del vector en 758 municipios y cuatro distritos del territorio nacional a la semana epidemiológica 52 de ese año, en el caso del dengue, por procedencia los departamentos de Antioquia, Valle del Cauca, Santander, Tolima, Cundinamarca, Huila, Risaralda, Norte de Santander, Meta, Quindío y Boyacá, notificaron el 86,2 % de los casos (17).

#### 3.1.4. TAXONOMÍA

*Aedes aegypti* L. responde a la siguiente jerarquía: **Reino:** Animalia, **Phylum:** Arthropoda, **Clase:** Hexápoda o Insecta, **Orden:** Díptera, **Familia:** Culicidae, **Subfamilia:** Culicinae, **Género:** Aedes, **Subgénero:** Stegomyia, **Especie:** aegypti

*A. aegypti* L. es un mosquito principalmente doméstico (32). Es un insecto holometábolo, es decir que presenta una metamorfosis completa y comprende las

etapas o fases de huevo, larva, pupa y mosquito adulto (37). Con excepción de la última fase (mosquito adulto) que es terrestre, todas las demás etapas se desarrollan en un ambiente acuático (Figura 4).

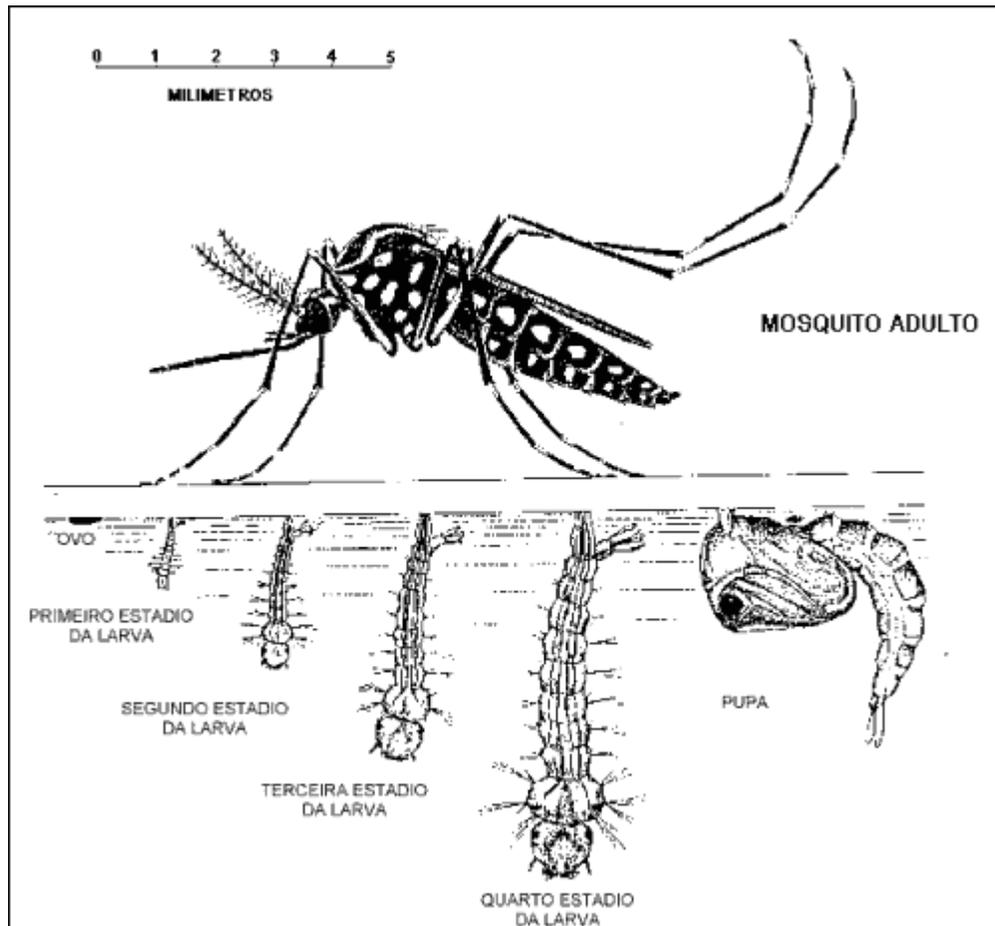


Figura 4. Ciclo Biológico del mosquito *Aedes aegypti*  
(Tomado del <http://www.soaresoliveira.br/combateadengue/doreito.htm> )

Algunos aspectos importantes de su bionomía se consideran a continuación:

- A. CÓPULA: *A. aegypti* L. puede aparearse 24 horas después de haber emergido a adulto (38). Durante el cortejo, las hembras pueden hacer enjambres de pocos individuos, el macho reconoce este ruido producido por

la frecuencia del movimiento de sus alas, vuela hacia el enjambre y en el aire, engancha con sus genitales a la hembra, ambos caen luego al suelo y en segundos la insemina vaciando sus testículos para llenar la espermateca, Cristophers R. en su obra *The Yellow Fever Mosquito: Its Life History, Bionomics, and Structure* (30) señala que el apareamiento puede tener lugar cuando la hembras están en reposo o están volando. La hembra queda fecundada de por vida, y cada vez que ovoposite los huevos saldrán fecundados.

B. **INGESTA DE SANGRE:** la ingesta de sangre ocurre principalmente en horas diurnas (39), proporcionando a la hembra la maduración de los oocitos (40). Las hembras de *A. aegypti* L. pueden tomar sangre de aves, murciélagos, monos, vacas, perros, conejos, curíes, ratones etc. (28), también de ranas y tortugas, pero evidentemente muestran una preferencia definida hacia los humanos, en lo que están de acuerdo todos los autores (39). Galun en su obra "Feeding Stimuli and Artificial Feeding" (41) enuncia que en el proceso de toma de sangre un mosquito cumple con cuatro etapas sucesivas: 1) reconoce el huésped y reposa sobre él, 2) explora la zona y pica, 3) succiona la sangre y 4) retira la probóscide de la piel. Por lo general, las hembras pican una sola vez para una ingesta de sangre, pero en numerosas ocasiones las hembras pican dos o más veces; no obstante, la toma de sangre repetida se observa generalmente en hembras relativamente débiles (28). La frecuencia en la toma de sangre que realiza el *A. aegypti* L. es importante a nivel epidemiológico porque se incrementa el contacto sobre el hospedero, favoreciendo la transmisión del virus (42). De hecho, el *A. aegypti* L. puede alimentarse más de una vez para cada ovoposición (43), especialmente si es perturbado antes de estar completamente lleno. En comparación con una sola alimentación, múltiples tomas de sangre en un solo ciclo gonotrófico incrementan las oportunidades para que el vector ingiera y transmita la infección viral (42, 44).

C. CICLO GONOTRÓFICO: se llama ciclo gonotrófico al periodo de tiempo que va desde la toma de sangre hasta que vuelve a tomar la siguiente alimentación. Un ciclo gonotrófico normal consiste en una toma de sangre, seguida de la digestión de la sangre, maduración de los oocitos y la oviposición (40).

El tiempo para la digestión de la sangre y su consecuente producción de huevos varía de 3 a 5 días dependiendo de la temperatura ambiental. La temperatura tiene una importante influencia en la duración de la digestión de la sangre y el desarrollo de los ovarios, pues tiende a retardarse a bajas temperaturas. Una baja humedad tiende a incrementar la duración de estos procesos. En áreas tropicales donde la temperatura es constante por largos períodos, la duración de un ciclo gonotrófico varía menos que en zonas donde hay marcadas estaciones climáticas. Un mosquito hembra tiene varios ciclos gonotróficos en su vida. La duración de cada ciclo gonotrófico en hembras gonoactivas depende de: 1) Tiempo requerido para encontrar y alimentarse de un huésped, 2) tiempo requerido para la digestión de la sangre y el desarrollo de los ovarios y 3) el tiempo hasta que ovoposite (45). Después de cada ingesta de sangre la mayoría de las hembras desarrollan un lote de huevos (28). Generalmente es suficiente una sola toma de sangre para que después de su digestión, lleguen los ovarios a su pleno desarrollo, pero puede ocurrir lo contrario y entonces la hembra necesitará tomar sangre de nuevo, a lo que Mirsa denomina disarmonía gonotrófica.

Morrison y sus colaboradores en su obra "Increased Fecundity of *Aedes aegypti* Fed Human Blood Before Release in a Mark – Recapture Study in Puerto Rico" (46), documentaron que una hembra con ciclos gonotróficos cortos tiene una alta probabilidad de realizar más ovoposuras en su vida como adulto que una hembra con ciclos gonotróficos largos. Frecuentemente

el *A. aegypti* L. realiza múltiples tomas de sangre en un ciclo gonotrófico (43, 47), asimismo las hembras requieren más de 10 días para finalizar su primer ciclo gonotrófico, entendiéndose esto como el tiempo transcurrido desde la ingesta de sangre hasta la última postura (48).

- D. OVOPOSTURA: habitualmente *A. aegypti* L. realiza sus ovoposturas al tercer día después de su ingesta de sangre, pero un pequeño porcentaje de las hembras hacen su ovopostura al cuarto día (28). Surtees en 1967 (49) especificó que las hembras ponen generalmente sus huevos sobre la superficie del agua o en superficies muy húmedas, así mismo indicó que los factores que pueden afectar la ovipostura en el *A. aegypti* L. son la contaminación del agua, la profundidad del agua y la superficie en donde son ovipositados los huevos, la temperatura y la intensidad de la luz. Se entiende por criadero a todo cuerpo de agua que puede ser colonizado por la hembra *A. aegypti* L. para la ovopostura, eclosión, desarrollo de larvas, pupas y emergencia de adultos (50).

Usualmente los recipientes artificiales tan abundantemente proporcionados por la moderna sociedad industrial son en gran medida el más importante lugar de ovopostura y de cría, además de ser esenciales para la producción y la conservación de las grandes poblaciones del *A. aegypti* L. Algunos recipientes son más atractivos para los mosquitos que otros, como los neumáticos, albercas, inservibles, abrevaderos de los animales domésticos, latas, floreros, etc. Las hembras del *A. aegypti* L. son atraídas por recipientes de colores oscuros con bocas anchas, especialmente si se encuentran a la sombra (26). Benavides y sus colaboradores en su obra “Evaluación del tiempo en que *A. aegypti* L. coloniza y desarrolla su fase acuática en los lavaderos de ropa de los barrios surorientales de Neiva” (50) encontraron que los criaderos permanentes más importantes y de uso obligado son las albercas o depósitos de agua de los lavaderos de ropa y los tanques

elevados de almacenamiento de agua para consumo. Las hembras prefieren para su ovopostura el agua limpia (28), evitando los recipientes muy contaminados y con olores. La ovopostura la realizan principalmente por la tarde y los huevos se agrupan individualmente (26).

- E. ESTADO DE HUEVO: los huevos más o menos ovoides, tienen menos de un 1 mm de longitud y son blancos recién hecha la ovopostura, pero rápidamente comienzan a ponerse grises, para hacerse negros a las dos horas (28). Generalmente colocan sus huevos a lo largo de la línea de agua y en recipientes de diferentes tamaños (51). En el momento de la postura los embriones dentro de los huevos no están listos para incubarse, para que se desarrolle completamente a la fase larval, se necesita un período de dos o tres días con mucha humedad (26) o donde el nivel del agua sea suficiente para que eclosionen. Después que el embrión esté completamente formado la eclosión puede llevarse a cabo en cualquier momento (51).

La resistencia de los huevos a eclosionar a temperaturas altas como bajas, depende del tiempo de exposición (28), a mayor temperatura este período de tiempo disminuye. La capacidad de los huevos para resistir desecación ha sido uno de los obstáculos mayores en la erradicación del *A. aegypti* L. (34).

Muchos huevos tienen un período de suspensión o interrupción en su desarrollo conocido como diapausa, debido a la ausencia de factores externos como internos suficientes para que eclosionen. Cuando las larvas están ya completamente formadas, los huevos resisten la desecación y pueden sobrevivir por períodos de varios meses hasta más de un año (32). Los huevos de una misma postura, sumergidos simultáneamente en agua, no eclosionan al mismo tiempo y la diferencia entre el primer nacimiento y el último oscila hasta un mes y más (28). Mirsa en su obra titulada "Datos experimentales sobre aspectos bioecológicos del *Aedes aegypti* (Linn),

desarrollados en el laboratorio” en 1956 encontró que la salida de las larvas de los huevos sucede muy rápidamente en algunos segundos y se realiza por medio de una rotura transversal en el extremo ancho del huevo (Fotografía 1). En cuanto a los huevos no fecundados, estos generalmente se abren en el agua de otro modo, ya que en uno o en los dos extremos del huevo se abren los vástagos tomando el aspecto de hojas semiabiertas de un cortaplumas y en este estado permanecen en el agua (Figura 5). También es posible encontrar los huevos no fecundados sin haberse abierto (28).

F. ESTADO DE LARVA: el *A. aegypti* L. se caracteriza por tener en el tórax en la base de los tubérculos (base de donde salen los pelos) unas espinas laterales largas y puntiagudas en forma de uña de gato, un sifón corto en forma de barril con pecten y un par de penachos subventrales compuesto por al menos de tres pelos (figura 7). El segmento anal no está rodeado completamente por una placa esclerotizada y el peine del octavo segmento presenta una serie de hileras de escamas las cuales tienen forma de tridente, cuyos dientes tienen una espina larga y espínulas laterales en un solo lado del eje (52).



Figura 7. Larva de *Aedes aegypti*

En 1980, el centro de control y prevención de enfermedades C.D.C. (32) notificó que la larva que emerge del cascarón roto es la primera de cuatro fases larvales, en cada una de estas fases la larva es mayor que la anterior (Figura 8). El paso de una fase larval a otra, se logra por el proceso de formación durante el cual los insectos sueltan su viejo exoesqueleto (exuvia). En la muda, el organismo segrega una sustancia líquida que permite la separación entre el exoesqueleto y la nueva cubierta del cuerpo ya formada debajo de la anterior. La cápsula de la cabeza y el tórax del exoesqueleto se quiebran y la larva emerge con una nueva cubierta que le cubre y le permite aumentar de tamaño.



Figura 8. Estadios larvales de *Aedes aegypti* L.

La larva pasa la mayor parte del tiempo alimentándose, usando las cerdas en forma de abanico para atrapar los microorganismos y las partículas en suspensión. No obstante, de acuerdo a los trabajos realizados por Mirsa (28) las larvas del *A. aegypti* L. están adaptadas a deficientes condiciones de alimentación. Las larvas del *A. aegypti* L. se pueden reconocer por sus movimientos serpenteantes al nadar. Normalmente el desarrollo larval toma de cinco a siete días y termina cuando la larva en la cuarta fase se desarrolla alcanzando el estado de pupa (32).

G. ESTADO DE PUPA: según Christophers (30) la pupa presenta un extremo anterior globuloso constituido por cefalotórax, seguido del abdomen

segmentado y curvo. Los sifones respiratorios están localizados en la parte anterior y poseen una trompa respiratoria corta un tanto dilatada (Figura 9).

Figura 9. Pupa de *Aedes aegypti* L.



Mirsa (28) indicó que el estado de pupa dura aproximadamente dos días, aunque este plazo puede abreviarse o alargarse dependiendo de la temperatura y también de algunas causas internas. En general, las pupas de los machos se desarrollan más rápidamente que las pupas de las hembras y la pupa del macho visiblemente es más pequeña que la de la hembra. En su mismo trabajo Mirsa señaló que la pupa recién formada es de color blanco, y luego comienza a oscurecerse a partir del extremo cefálico; después de un cuarto de hora la extremidad de la cabeza comienza a hacerse grisácea y durante la siguiente media hora el cefalotórax toma un color gris a oscuro. El oscurecimiento se intensifica progresivamente y se extiende a los tergitos abdominales delanteros.

H. ESTADO ADULTO: el adulto que emerge de la pupa es un mosquito oscuro cuyos tarsos posteriores tienen franjas claras y la franja basal pálida (Figura 10). Presenta en el mesonoto un patrón de escamas formando una lira. El abdomen también posee patrones de escamas blancas con pequeños puntos blancos (32).



Figura 10. Mosquito adulto de *Aedes aegypti* L.

Los machos al igual que las hembras, tienen los diseños de escamas muy parecidos, pero los machos son menos robustos que las hembras (32), además el tegumento quitinoso de los machos es más pigmentado a comparación de las hembras (28). Se pueden identificar la diferencia entre sexos con facilidad por las antenas, pues estas son plumosas en los machos y filiformes en las hembras. Por otra parte, la dieta del macho como de la hembra, es de líquidos con azúcares y los toma de las flores o frutos disponibles en la naturaleza, pero solo la hembra es hematófaga. A pesar de que las hembras pueden sobrevivir con azúcares como única fuente de alimentación, las hembras necesitan de la sangre para poder desarrollar los huevos (32), como anteriormente se ha mencionado. Los adultos son de hábitos domésticos en áreas urbanas y rurales. Después de pasar al estado

adulto, se ubican en el peridomicilio y en el intradomicilio de las casas principalmente en los dormitorios, reposando sobre superficies que se encuentren menos iluminadas (51).

El mosquito *A. aegypti* L. ha jugado un papel muy importante como transportador de virus y otros agentes etiológicos, además del dengue. Inicialmente se conoció comúnmente como el mosquito de la fiebre amarilla, porque durante siglos esta especie ha transmitido la fiebre amarilla urbana convirtiéndose en un grave problema de salud pública en África y en las Américas (31). La hipótesis que el *A. aegypti* L. era el vector del virus de la fiebre amarilla fue propuesta por el médico cubano Carlos Finlay en 1881 y confirmada por el médico norteamericano Walter Reed hacia 1901 (34).

Christophers (30), mencionó que el *A. aegypti* L. puede transmitir la encefalitis equina africana, ya que el virus se ha multiplicado cientos de veces en el mosquito. También reportó por numerosas observaciones que el *A. aegypti* L. no es un eficiente vector de *Wuchereria bancrofti* (nemátodo filiforme). Asimismo se ha comprobado que el *A. aegypti* L. es un vector del *Plasmodium gallinaceum* (53), y ha sido incriminado como posible vector urbano del virus de la encefalitis equina venezolana (54), entre otras enfermedades.

- I. LONGEVIDAD: generalmente el macho tiene una longevidad menor comparado con las hembras. La longevidad de un organismo está estrechamente relacionada con las condiciones del ambiente, temperatura, humedad, alimentación, etc., (28, 51). Los adultos sin alimentación y sin humedad viven menos que los que se alimentan y tienen una humedad; los mosquitos sin alimentación y con humedad, tienen una longevidad dos veces menor comparado con los mosquitos que se alimentan y no tienen una humedad (28). La longevidad del *A. aegypti* L. se puede ver afectada por el efecto del Temephos (larvicida), de acuerdo a los estudios realizados por

Reyes et al. (55, 56) al parecer tienden a aumentar longevidad de los mosquitos.

### **3.2. HINOJO *Foeniculum vulgare* Mill.**

Este apartado se ha dividido en cuatro subapartados: el primero de ellos trata sobre características de la planta; el segundo, sobre su interés como alimento; el tercero, desde el punto de vista medicinal, y el cuarto incluye aquellos aspectos de interés para las ciencias farmacéuticas que no pertenezcan a los apartados anteriores.

#### **3.2.1. LA PLANTA**

*Foeniculum vulgare* es el nombre válido más antiguo dentro del género *Foeniculum* para la planta designada por Karsten como *Foeniculum Foeniculutr*. Sin embargo, de acuerdo con las reglas internacionales de nomenclatura, el nombre binomial *Foeniculum vulgare* no fue válidamente publicado por Hill dado que no adoptó consistentemente el sistema binomial de nomenclatura. De acuerdo con las normas internacionales adoptadas en Cambridge, el nombre *Foeniculum vulgare* debe acreditarse a Philip Miller, quien lo publicó por primera vez válidamente en la octava edición de su obra "Diccionario de Jardineros" en 1768. A partir de entonces, el nombre de esta planta se escribe como *Foeniculum vulgare* Mill.

La planta de hinojo *Foeniculum vulgare* Mill. es originaria de la Europa del Mediterráneo, sin embargo se cree que se cultiva en casi todos los países. Existe una gran variedad de nombres vernáculos, tanto en castellano como en las distintas lenguas oficiales; algunos de estos nombres son: cañiguera, perejilón, cenoyo, fenojo, caramuda, fleiteiro y anado (57). Esta planta crece en los márgenes de los caminos, en campos de cultivo y matorrales y está presente a nivel del mar y hasta los 1200 metros de altitud (58). Actualmente se encuentra distribuido prácticamente por todo el mundo y en algunas zonas actúa como especie invasiva, desplazando a la flora autóctona. Existen programas de recuperación de la riqueza biológica de

estas zonas, pero es difícil llevarlos a cabo en grandes superficies y, en ocasiones, los resultados no son los esperados por las grandes diferencias entre los programas piloto llevados a cabo en los laboratorios y las condiciones reales del medio (59).

El encuadre taxonómico del hinojo es el siguiente: reino: *Plantae*, *phylum*: *Tracheophyta*, clase: *Magnoliopsida*, orden: *Apiales*, familia: *Apiaceae*, género: *Foeniculum* y especie *Foeniculum vulgare* Mill (60). Algunos autores distinguen varias subespecies: *vulgare* y *piperitum*, siendo la primera la especie cultivada. Pero se han realizado estudios con ejemplares de la península Ibérica y no se ha podido llevar a cabo la división en ambos grupos (58). Existen estudios cariológicos, como el de Silvestre (61), que sí diferencian entre ambas subespecies y en ambos casos el número de cromosomas es  $n = 11$ . Según Castroviejo (58), la familia Apiaceae o Umbelliferae cuenta con 2500-3700 especies repartidas en 300-450 géneros, datos cuestionables y sujetos a revisión por la difícil delimitación genérica. Otros autores, como Izco (62), hablan de 4250 especies repartidas en 460 géneros. La importancia de esta familia desde el punto de vista económico es notable, puesto que cuenta con gran cantidad de especies, aparte del hinojo, de interés alimentario y/o medicinal, tales como perejil (*Petroselinum crispum*), anís (*Pimpinella anisum*), eneldo (*Anethum graveolens*), el cilantro (*Coriandrum sativum*), el comino (*Cuminum cyminum*), la alcaravea (*Carum carvi*), entre otras (58). También pertenecen a esta familia algunas especies tóxicas, entre ellas la cicuta (*Conium maculatum*) y el nabo del diablo (*Oenanthe crocata*), cuya venta está regulada por la normatividad de cada país (63).

En cuanto a la descripción botánica, el hinojo, *Foeniculum vulgare* Mill., es una planta perenne que puede llegar a medir hasta 250 cm. Su tallo es erecto, estriado, glauco, glabro, sin restos fibrosos en la base y ramificado en su mitad superior. Las hojas 3-4 pinnatisectas poseen un contorno triangular y son pecioladas y glabras; las caulinares son alternas y progresivamente menos divididas y más cortas, mientras que las superiores se reducen a un pequeño apéndice más corto que la

vaina (64). Las inflorescencias son umbelas terminales y laterales que carecen de brácteas; la corola de las flores es amarilla, los pétalos poseen un ápice incurvado, el cáliz carece de dientes, el estilopodio es cónico y los estilos divaricados y ambos alcanzan la misma longitud en la fructificación. Los frutos son ovoideos, glabros y comprimidos en los laterales y sus mericarpos poseen cinco costillas prominentes (58). En la Figura 11 se muestra una representación de la planta.



Figura 11. *Foeniculum vulgare* en Köhler's Medicinal Plants, 1887.

### 3.2.2. EL HINOJO COMO ALIMENTO

El hinojo es una planta totalmente comestible y posee sabor y aroma anisados. En cuanto al hinojo cultivado destaca el uso del bulbo, el uso de brotes e inflorescencias es minoritario. El bulbo y las hojas de hinojo se consideran hortalizas condimentarias (65). El hinojo se usa también en la elaboración de bebidas alcohólicas como licores aromatizados (66), entre los que se encuentra la absenta, que se elabora con ajeno (*Artemisia absinthium* L.), anís verde (*Pimpinella anisum* L.) e hinojo. Esta bebida contiene tuyoona, monoterpeneo relacionado con el absintismo, aunque no se ha llegado a demostrar esta relación (67-68).

Existen diferentes estudios sobre la composición de las distintas partes del hinojo. En la Tabla 1 se recogen datos de las plantas silvestres (69) y en la Tabla 2 de las cultivadas (65,70).

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

	<b>Brotos(69)</b>	<b>Tallos(69)</b>	<b>Inflorescencias(69)</b>	<b>Hojas(69)</b>
<b>Humedad</b>	73,88 ± 0,83	77,46 ± 1,03	71,31 ± 4,01	76,36 ± 0,33
<b>Proteínas</b>	1,33 ± 0,04	1,08 ± 0,00	1,37 ± 0,05	1,16 ± 0,03
<b>Grasa</b>	0,49 ± 0,05	0,45 ± 0,07	1,28 ± 0,28	0,61 ± 0,16
<b>Carbohidratos</b>	21,91 ± 0,55	19,39 ± 0,65	22,82 ± 3,06	18,44 ± 0,06
<b>Cenizas</b>	2,39 ± 0,02	1,62 ± 0,12	3,23 ± 0,02	3,43 ± 0,04
<b>Valor energético</b>	97,37 ± 2,44	85,91 ± 3,02	108,23 ± 10,37	83,90 ± 1,34

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

	<b>Semillas(70)</b>	<b>Hojas(65)</b>	<b>Bulbo(65)</b>
<b>Humedad</b>	8,81 ± 0,74	73,88 ± 0,83	93,80 ± 1,51
<b>Proteínas</b>	15,80 ± 0,93	1,33 ± 0,04	1,42 ± 0,10
<b>Grasas</b>	14,87 ± 1,04	0,49 ± 0,05	0,17 ± 0,04
<b>Carbohidratos disponibles*</b>	12,49	1,32 ± 0,05	1,92 ± 0,40
<b>Fibra</b>	39,8	4,33 ± 0,18	1,62 ± 0,20
<b>Cenizas</b>	8,22 ± 0,26	1,93 ± 0,12	0,77 ± 0,15
<b>Valor energético</b>	345	40,49	18,13
<b>*Expresado en gramos de glucosa/100 g</b>			

Las semillas poseen unos valores de humedad muy bajos en comparación a los de hojas y bulbo; destaca proteínas, grasa y especialmente fibra. En algunas ocasiones se utilizan en forma de infusión (64).

Al ser el bulbo la parte de la planta con mayor consumo, se ha estudiado la composición nutricional no sólo crudo, sino también cocido. El bulbo de hinojo presenta una humedad elevada, grasa y proteínas en baja cantidad y la fracción mayoritaria es la hidratos de carbono. Una vez cocido, partiendo de agua hirviendo, dicho bulbo pierde un 6,6% de su peso, sin variar prácticamente la composición; el valor energético es bajo (18,13 Kcal/100 g en el crudo y 16,8 Kcal/100 g en el cocido). En la fracción de fibra, uno de los componentes mayoritarios son las sustancias pécticas, de lo que se hará referencia en el apartado 3.2.4.

Teniendo en cuenta la Reglamentación Técnico-sanitaria sobre declaraciones nutricionales autorizadas y etiquetados (71,72), se puede decir que el bulbo de hinojo cultivado, tanto crudo como cocido, es un alimento de bajo valor energético y sin grasa. De las hojas se puede indicar que son un alimento sin grasa y, además, fuente de fibra. Uno de los micronutrientes de mayor interés en las hortalizas es la vitamina C. Las hojas de hinojo cultivado presentan valores muy variables entre 5 y 82,4 mg/100 g, debido al origen de la planta, estado de madurez y forma de conservación, por lo que a partir de estos datos no se puede concluir si estas hojas son fuente de dicha vitamina. El bulbo cultivado crudo presenta valores en torno a 5,7 mg/100 g y, al someterlo a cocción, se pierde más de un 80% esta vitamina y su contenido se ve reducido a 0,9 mg/100 g<sup>26</sup>, lo que es común al cocinar los vegetales (73). Según Morales-Gómez (74), el contenido de vitamina C de hojas y tallos tiernos de hinojo silvestre es de 11,16 mg/100 g.

El contenido de minerales ha sido menos estudiado y existen pocos datos, pero destacan los niveles de potasio, 406 mg/100 g; calcio, 227 mg/100 g; y sodio, 90,5 mg/100 g de hojas y tallos tiernos de hinojo silvestre, que puede considerarse fuente

de potasio y de calcio y un alimento bajo en sodio. Además, según García-Herrera (75), el calcio tiene una alta biodisponibilidad por la reducida relación ácido oxálico/calcio, cuyo valor es 0,8.

En cuanto a la capacidad antioxidante total, determinada por el método de Folin-Ciocalteu y expresada en mg equivalentes de ácido gálico/100 g, es superior en hojas y tallos tiernos de hinojo silvestre, donde se alcanzan los 163,91 mg/100 g (74), respecto a los 123,51 mg/100 g de las hojas de hinojo cultivado. En el bulbo de hinojo cultivado, la capacidad antioxidante total es de 46,37 mg/100g y se mantiene tras someter el producto a cocción (65). Se debe tener en cuenta que en el hinojo existen diferentes compuestos fenólicos, responsables, en parte, de esta capacidad antioxidante, que se tratarán en el apartado 3.2.3. de este texto. Algunos autores (69-74) han estudiado ácidos grasos en diferentes partes de la planta de hinojo silvestre y los ácidos grasos poliinsaturados son los mayoritarios.

En cuanto a otros datos de composición, existen estudios que presentan datos aislados y que no son significativos desde el punto de vista nutricional, si bien es cierto que cabe destacar el contenido de ácido fólico de hojas y tallos tiernos de hinojo silvestre, que alcanza los 0,47 mg/100 g, por lo que se considera un alimento con alto contenido de ácido fólico (74). También existen estudios, como el de Rawson et al. (76), sobre la formación de compuestos indeseables en el bulbo de hinojo a causa del tratamiento culinario. Uno de estos compuestos es hidroximetilfurfural, que puede alcanzar una concentración de 120 µg/g cuando se asa el bulbo. En cambio, el tratamiento culinario también destruye algunos compuestos beneficiosos, como es el caso de los poliacetilenos, que disminuyen por degradación térmica al someter al hinojo a altas temperaturas en asados y cocciones (76-77). Los poliacetilenos, entre los que destaca el falcarinol, son unos compuestos ampliamente distribuidos en la familia *Apiaceae* y que poseen propiedades farmacológicas y toxicológicas interesantes, las cuales están siendo estudiadas desde hace unos años (77). En cuanto a la hipersensibilidad al hinojo, esta no es muy común, pero se han descrito casos de alergia cruzada con

melocotón, ya que su principal alérgeno es el mismo, una proteína transportadora de lípidos (PTL) (78).

### 3.2.3. EL HINOJO COMO PLANTA MEDICINAL

Como se ha mencionado anteriormente, existen distintas referencias en cuanto a las propiedades medicinales del hinojo a lo largo de la historia, en la tabla 3 se refleja un resumen de acciones con las que se ha relacionado, principalmente se utiliza como carminativo. A la hora de valorar la importancia del hinojo, *Foeniculum vulgare* Mill; sin tener en cuenta subespecies y variedades, lo más destacable y estudiado es su aceite esencial, que contiene hasta 87 compuestos volátiles diferentes. Según recogen Badgujar et al. (60), el compuesto mayoritario es el trans-anetol, que representa hasta el 75% del aceite esencial; el segundo componente más abundante es la fenchona, entre 8 y 15%, seguido del estragol, o metilchavicol, con un 5-9%. Para Telci et al. (79), los niveles de fenchona son menores y no llegan al 4% y el d-limoneno representa casi el 7% del aceite esencial.

Tabla 3. Detalles de las actividades farmacológicas/biológicas reportadas de *Foeniculum vulgare* Mill.

ACTIVIDAD	PARTE DE LA PLANTA UTILIZADA	FORMA DE DOSIFICACIÓN/ TIPO DE EXTRACTO	CONCENTRACIÓN/ DOSIS	SISTEMA DE VIDA PROBADO/ ÓRGANO/ CÉLULA/ TIPO DE ESTUDIO	RESULTADOS	REFERENCIAS
Anti-inflamatorio	Fruta	Metanólica extracto	200 mg / kg: administración oral	<i>In vivo</i> , ratones icr macho, ratones balb / c y ratas sprague-dawley	Efectos inhibidores contra las enfermedades inflamatorias agudas y subagudas y reacciones alérgicas de tipo iv	Choi E, Hwang J. Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of <i>Foeniculum vulgare</i> . <i>Fitoterapia</i> . 2004;75(6):557–565.

Hepato-protecto r	Semilla	Aceite esencial	0,4 ml / kg	<i>Invivo</i> , tetracloro inducida modelo de lesión de hígado de carbono en ratas sprague-dawley macho	Disminuye el nivel de enzimas en suero, a saber, la aspartato aminotransferasa (ast), alanina aminotransferasa (alt), fosfatasa alcalina (alp), y bilirrubina	Ozbek H, Uğraş S, Dülger H, et al. Hepatoprotective effect of <i>Foeniculum vulgare</i> essential oil. <i>Fitoterapia</i> . 2003;74(3):317–319.
Hipoglucemiant e	Semilla	Aceite esencial	30 mg / kg	<i>Invivo</i> , estreptozotocina indujo ratas diabéticas	La ingestión de aceite esencial a ratas diabéticas corrigió la hiperglucemia y la actividad de glutatión peroxidasa en suero y también mejoró los cambios patológicos notado en su riñón y páncreas	El-Soud NA, El-Laithy N, El-Saeed G, et al. Antidiabetic activities of <i>Foeniculum vulgare</i> mill. Essential oil in streptozotocin-induced diabetic rats. <i>Macedonian Journal of Medical Sciences</i> . 2011;4(2):139–146.
Antihirsu- tismo	Semilla	Extracto de hinojo	Las cremas que contienen 1%, 2% de extracto de hinojo y placebo	45 pacientes de sexo femenino entre 16-53 años con formas leves de hirsutismo idiopático a moderada	Crema que contiene 2% de hinojo es mejor que la crema que contiene 1% de hinojo y estos dos eran más potentes que el placebo	Javidnia K, Dastgheib L, Samani SM, Nasiri A. Antihirsutism activity of Fennel (fruits of <i>Foeniculum vulgare</i> ) extract: a double-blind placebo controlled study. <i>Phytomedicine</i> . 2003;10(6-7):455–458.
Citopro- tector	Fruta	Metanólica extracto	200 $\mu$ g / ml	Normal de linfocitos de sangre humana	Proporciona más citoprotección para los linfocitos humanos normales en comparación con la muestra estándar, es decir, doxorubicina	Pradhan M, Sribhuwaneswari S, Karthikeyan D, et al. In-vitro cytoprotection activity of <i>Foeniculum vulgare</i> and <i>Helicteres isora</i> in cultured human blood lymphocytes and antitumour activity against B16F10 melanoma cell line. <i>Research Journal of Pharmacy and</i>

						<i>Technology</i> . 2008;1(4):4 50–452.
Antitumoral	Fruta	Metanólica extracto	25 a 200 $\mu$ g / ml	Línea celular de melanoma b16f10	70% de extracto metanólico muestra buena actividad antitumoral en la concentración de 200 $\mu$ g / ml.	Pradhan M, Sribhuwaneswari S, Karthikeyan D, et al. In-vitro cytoprotection activity of <i>Foeniculum vulgare</i> and <i>Helicteres isora</i> in cultured human blood lymphocytes and antitumour activity against B16F10 melanoma cell line. <i>Research Journal of Pharmacy and Technology</i> . 2008;1(4):4 50–452.
Antioxidante	Semilla	Extracto de etanol y agua	100 $\mu$ g de extracto de etanol y agua	<i>In vitro</i> , no se indica	77,5% y 99,1% de inhibición de la peroxidación en el sistema de ácido linoleico, respectivamente.	Oktay M, Gülçin I, Küfrevioğlu ÖI. Determination of in vitro antioxidant activity of fennel ( <i>Foeniculum vulgare</i> ) seed extracts. <i>LWT-Food Science and Technology</i> . 2003;36(2): 263–271.
Estrogénica	Semilla	Extracto de acetona	No se indica	<i>In vivo</i> , ratas hembra	Peso de las glándulas mamarias aumenta también aumenta el peso del oviducto, endometrio, miometrio, cuello del útero y la vagina	Malini T, Vanithakumari G, Megala N, Anusya S, Devi K, Elango V. Effect of <i>Foeniculum vulgare</i> . Mill seed extract on the genital organs of male and female rats. <i>Indian Journal of Physiology and Pharmacology</i> . 1985;29(1):21–26.
Efectos vasculares	Hoja	Los extractos acuosos	0,1 a 0,4 ml de inyección	<i>In vivo</i> , ratas sprague-dawley anestesiadas con pentobarbital	Reducción relacionada con la dosis significativo de la presión sanguínea arterial, sin afectar a la frecuencia cardíaca o la frecuencia respiratoria	Abdul-Ghani AS, Amin R. The vascular action of aqueous extracts of <i>Foeniculum vulgare</i> leaves. <i>Journal of Ethnopharmacology</i> . 1988;24(2-3):213–218.

Anti estrés	Fruta	Los extractos acuosos	50, 100 y 200 mg / kg	<i>In vivo</i> , ratas amnésicos inducida por escopolamina	Inhibición significativa de la tensión inducida cambios bioquímicos en ácido mandélico vainillil y ácido ascórbico.	Koppula S, Kumar H. <i>Foeniculum vulgare</i> Mill (Umbelliferae) attenuates stress and improves memory in wister rats. <i>Tropical Journal of Pharmaceutical Research</i> . 2013;12(4):553–558.
Para mejorar la memoria	Fruta	Los extractos acuosos	50, 100, y 200 mg / kg	<i>In vivo</i> , ratas amnésicos inducida por escopolamina	La reducción significativa se logra en la amnesia en grupos de extracto-tratado en comparación con el grupo control de animales	Koppula S, Kumar H. <i>Foeniculum vulgare</i> Mill (Umbelliferae) attenuates stress and improves memory in wister rats. <i>Tropical Journal of Pharmaceutical Research</i> . 2013;12(4):553–558.
Quimio-protector	Semilla	Dieta de prueba de hinojo	4% y 6% dietas de prueba de hinojo	<i>In-vivo</i> , la piel y b (a) papillomagenesis gástrico p inducida por dmba inducida en ratones albinos suizos	Reducción significativa en la piel y la incidencia de tumores gástricos y tumor multiplicidad en comparación con el grupo de control de animales	Singh B, Kale RK. Chemomodulatory action of <i>Foeniculum vulgare</i> (Fennel) on skin and forestomach papillomagenesis, enzymes associated with xenobiotic metabolism and antioxidant status in murine model system. <i>Food and Chemical Toxicology</i> . 2008;46(12):3842–3850.
Hipoten-sor ocular	Semilla	Extracto acuoso	0,3%, 0,6% y 1,2% (w / v)	<i>In vivo</i> , conejos	Exhibe 17,49, 21,16, y la reducción de 22,03% de la presión intraocular (iop) en conejos normotensos al 0,3%, 0,6% y 1,2% (w / v) concentraciones de extracto	Agarwal R, Gupta SK, Agrawal SS, Srivastava S, Saxena. Oculohypotensive effects of <i>vulgare</i> experimental models of glaucoma. <i>Indian Journal of Physiology and Pharmacology</i> . 2008;52(1):77–83.
Anticancerígeno	Semilla	Extracto metanólico	100 mg / kg	<i>In vivo</i> , ratones albinos swiss	Aumento significativo de los niveles de malondialde-	Mohamad RH, El-Bastawesy AM, Abdel-Monem MG, et al. Antioxidant and

					hído y la disminución significativa en la actividad y el glutatión contenido catalasa en el hígado y tejido tumoral en ratones portadores de carcinoma de estómago	anticarcinogenic effects of methanolic extract and volatile oil of fennel seeds ( <i>Foeniculum vulgare</i> ) <i>Journal of Medicinal Food</i> . 2011;14(9):986–1001.
Antienvejecimiento	Semilla	Extracto de hinojo	Formulación que contiene extracto de 4%	Voluntarios varones con una edad media de 48 años	Formulación mostró efectos significativos sobre la humedad de la piel y la pérdida de agua transepidérmica	Rasul A, Akhtar N, Khan BA, Mahmood T, Uz Zaman S, Shoaib Khan HM. Formulation development of a cream containing fennel extract: in vivo evaluation for anti-aging effects. <i>Pharmazie</i> . 2012 ;67(1):54–58.
Apoptótica	Fruta	Extracto en etanol	100 a 300 $\mu$ g / ml	Nueve líneas celulares humanas: ml-1, j-45.01, hl-60, 1301, u-266b1, wicl, c-8166, rfl, y h-9-humana de células t	Mortalidad más alta en trypan blue test para la línea celular j45, 4% de las células viables y para la línea de células c8166, 100% de la mortalidad	Bogucka-Kocka A, Smolarz HD, Kocki J. Apoptotic activities of ethanol extracts from some Apiaceae on human leukaemia cell lines. <i>Fitoterapia</i> . 2008;79(7-8):487–497.
Antiulcerógenas	Partes aéreas	Extracto acuoso	75, 150, 300 mg / kg	<i>In vivo</i> , etanol indujo lesiones gástricas en ratas sprague-dawley	El pre tratamiento con extractos significativamente reducida etanol indujo daño gástrico.	Birdane FM, Cemek M, Birdane YO, Gülçin I, Büyükkokuroğlu E. Beneficial effects of vulgare ethanol-induced acute gastric mucosal injury in rat. <i>World Journal of Gastroenterology</i> . 2007;13(4):607–611.
Citotóxica	Root (parte del suelo)	Diclorometano y metanol (1:1) extracto	700 $\mu$ g / ml	Células de fibrosarcoma murino I929sa y en las células de cáncer de mama humano mda-mb231 y mcf-7	La actividad citotóxica puede actuar mediante la inhibición de la vía de nfkb.	Kaileh M, Vanden Berghe W, Boone E, Essawi T, Haegeman G. Screening of indigenous Palestinian medicinal plants for potential anti-inflammatory and cytotoxic activity. <i>Journal</i>

						<i>of Ethnopharmacology.</i> 2007;113(3):510–516.
Antimico - bacteriano	Partes aéreas	Cloroformo, hexano, metanol y extractos acuosos	100 a 200 µg / ml	Invitro , M. tuberculosis	Extracto de hexano es activo contra cepa sensible de M. tuberculosis	Camacho-Corona MDR, Ramírez-Cabrera MA, González-Santiago O, Garza-González E, Palacios IDP, Luna-Herrera J. Activity against drug resistant-tuberculosis strains of plants used in Mexican traditional medicine to treat tuberculosis and other respiratory diseases. <i>Phytotherapy Research.</i> 2008;22(1):82–85.

La presencia de compuestos fenólicos es significativa; destacan los ácidos fenólicos derivados del ácido cinámico, el extracto metanólico presenta un 15% de ácido rosmarínico y casi 7% de ácido clorogénico. Los flavonoides también son compuestos abundantes en el hinojo; los mayoritarios son los derivados de la quercetina, tales como quercetina-3- - 12 - glucurónido, isoquercetina y quercetina-3-arabinósido; kaempferol, como kaempferol-3- arabinósido y kaempferol-3- glucurónido; e isorhamnetina, sobre todo isorhamnetina-3- glucósido (Figura 12). Estos compuestos son los responsables de la actividad antioxidante del hinojo y son más abundantes en el hinojo cultivado que en el silvestre (60).

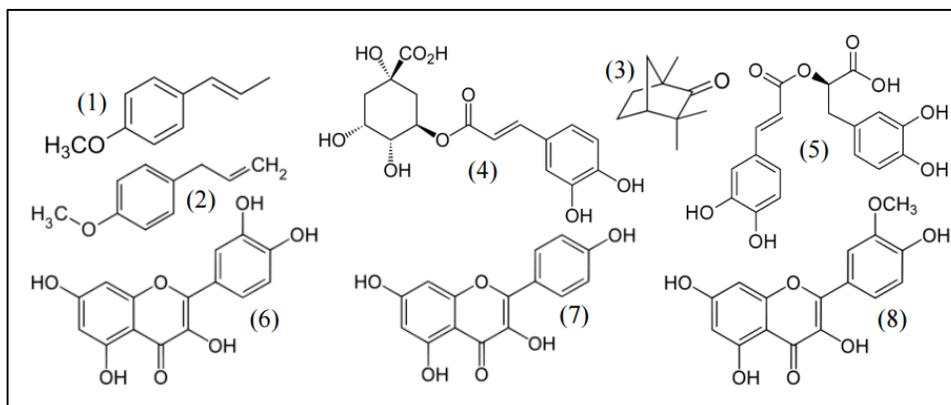


Figura 12. Estructuras químicas: anetol (1), estragol (2), fenchona (3), ácido clorogénico (4), ácido rosmarínico (5), quercetina (6), kaempferol (7) e isorhamnetina (8).

En los últimos años se han realizado numerosos estudios para determinar las propiedades farmacológicas del hinojo. En la última revisión de Badgujar et al. (60), se recogen datos de estudios que demuestran que el hinojo posee las más variadas actividades; de ellas destacamos carminativa, antimicrobiana, antiviral, antiinflamatoria, antialérgica, hepatoprotectora, ansiolítica, potenciadora de la memoria, estrogénica, galactógena, expectorante, diurética, antihipertensiva, antitrombótica, antitumoral, hipolipemiente, hipoglucemiante, antiespasmódica, antienvjecimiento, broncodilatadora y antioxidante. Si bien es cierto, algunas de estas actividades se han demostrado con extractos no caracterizados y de forma aislada, por lo que sería necesario continuar estudiando las distintas propiedades medicinales de la planta. En cuanto a los usos del hinojo en fitoterapia, Bruneton (80) indica que las semillas se emplean de forma tradicional por sus propiedades carminativas en el tratamiento sintomático de desórdenes digestivos, tales como flatulencia, digestiones lentas, así como en procesos dolorosos por trastornos digestivos.

Distintos extractos de hinojo, sobre todo acuoso y metanólico, han demostrado poseer actividad antimicrobiana y antiviral in vitro, llegando incluso a afirmar que el consumo de hinojo disminuye el riesgo de padecer enfermedades como la tuberculosis. Actualmente existen problemas por la presencia de microorganismos resistentes a los tratamientos disponibles, por lo que existe la necesidad de desarrollar nuevos agentes antimicrobianos. Algunos metabolitos del hinojo podrían ser una fuente potencial de estos nuevos antimicrobianos (60). La actividad estrogénica podría deberse a la acción de un estilbeno procedente de la dimerización del anetol (80). El hinojo promueve la menstruación y alivia los síntomas de la menopausia, también reduce la frecuencia de contracciones uterinas inducidas por la prostaglandina E2 (60).

En cuanto a la actividad galactógena, la similitud estructural del anetol con la dopamina podría ser la responsable, ya que el anetol se uniría a los receptores de dopamina responsables de la estimulación de la secreción de leche, impidiendo la acción antsecretora de la dopamina sobre tales receptores. Estudios recientes sugieren que el anetol podría formar unos polímeros, tales como dianetol y fotoanetol, que serían los responsables de la actividad (60). Las propiedades expectorantes se deben a la estimulación de la contracción del músculo liso traqueal por parte del aceite esencial del hinojo, lo que facilita la expectoración en resfriados (60,81).

Rocha D, et al. (82) en su publicación titulada “Larvicidal Activity Against *Aedes aegypti* of *Foeniculum vulgare* Essential Oils from Portugal and Cape Verde” describe una de las acciones recientemente estudiadas como es su actividad larvica dada la presencia de terpineol, cianhidrina y compuestos monoterpénicos los cuales han sido reportados como altamente tóxicos contra el mosquito *Aedes aegypti*. Con base en la Directiva 2004/24/CE del Parlamento Europeo y del Consejo (83) y después de su trasposición a la Normativa española en el Real Decreto 1345/2007 (84), en España, el hinojo, en concreto el fruto, está autorizado como medicamento tradicional a base de plantas, con un registro simplificado basado en su uso tradicional. Uno de estos medicamentos, a base de plantas, comercializado en España, está indicado en el tratamiento de molestias gastrointestinales, tales como flatulencia o hinchazón, y como expectorante en resfriados; su ficha técnica se encuentra en la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (85). En esta ficha técnica se hace referencia únicamente a la especie *Foeniculum vulgare* Mill., sin mencionar subespecies ni variedades.

No obstante, en las monografías de la Real Farmacopea Española (86) y de la Agencia Europea del Medicamento (87,88,89) se hace referencia a la subespecie *vulgare* y a las variedades *vulgare* y dulce, de los hinojos amargo y dulce,

respectivamente. La Real Farmacopea Española cuenta con cuatro monografías: fruto de hinojo dulce, fruto de hinojo amargo, aceite esencial de fruto de hinojo amargo y aceite esencial de las partes aéreas de hinojo amargo (86); y la Agencia europea del medicamento cuenta con tres monografías: fruto de hinojo dulce (87), fruto de hinojo amargo (88) y aceite del fruto de hinojo amargo (89). La indicación del hinojo como expectorante figura en las tres monografías de la Agencia europea del medicamento, mientras que las indicaciones para problemas gastrointestinales sólo aparecen reflejadas en dos, ya que no se le atribuye dicha indicación al aceite del fruto de hinojo amargo. La Real Farmacopea Española refiere que los frutos están constituidos por diaquenios y mericarpos secos de *Foeniculum vulgare* Mill sp. *vulgare* var. *vulgare*, en el caso del hinojo amargo, y var. *dulce* en el hinojo dulce. El fruto de hinojo amargo contiene al menos 40 ml/kg de aceite esencial respecto a la droga anhidra, del cual un 60% debe ser al menos anetol y 15% fenchona. En cuanto al fruto de hinojo dulce, el contenido de aceite esencial es menor, 20 ml/kg, pero con al menos un 80% de anetol (86).

En cuanto a la identificación, los exámenes macroscópicos y microscópicos descritos son los mismos para los frutos de hinojo amargo y dulce (64). El examen por cromatografía en capa fina sí difiere, ya que para el fruto de hinojo amargo se emplean patrones de anetol y fenchona, mientras que para el dulce sólo se emplea anetol como patrón. Al revelar los cromatogramas, éstos presentan una banda de atenuación de la fluorescencia en la parte central, correspondiente al anetol, y una mancha pardo rojiza en el tercio superior, correspondiente a los terpenos, y en el caso del hinojo amargo también aparece una banda amarilla en el tercio inferior, por la presencia de fenchona. Los ensayos que han de realizarse son prácticamente los mismos para los frutos de hinojo amargo y dulce. En ambos casos son elementos extraños, agua y cenizas totales. La única diferencia es que en el fruto de hinojo amargo se realiza el ensayo de estragol y en el dulce de estragol y fenchona, en ambos casos por cromatografía de gases. El aceite esencial se valora de la misma

manera en ambos frutos (64), pero en el amargo se valoran también anetol y fenchona y en el dulce sólo anetol.

Las monografías de la Real farmacopea española (86) sobre aceites esenciales de fruto y partes aéreas de hinojo amargo tienen más diferencias entre sí que las monografías de los frutos. Los métodos empleados en la identificación son dichos aceites esenciales, cromatografía en capa fina y cromatografía de gases, aunque los resultados son distintos. Los ensayos descritos en ambos casos son densidad óptica, índice de refracción, rotación óptica y perfil cromatográfico; además, la monografía del aceite esencial de las partes aéreas de hinojo amargo recoge también el ensayo de solubilidad en alcohol. Las especificaciones de estos ensayos son distintas en función de la procedencia del aceite esencial y dentro del aceite esencial de las partes aéreas de hinojo amargo también se diferencia entre los tipos España y Tasmania y debe quedar reflejado en el etiquetado si se trata de un tipo u otro.

### **3.2.4. OTRAS UTILIDADES DEL HINOJO EN LAS CIENCIAS FARMACÉUTICAS**

Una aplicación del hinojo más allá de su uso como alimento y como planta medicinal es la obtención de biopolímeros. Según Giosafatto et al. (90), el hinojo posee pectinas compuestas, principalmente, por ácidos urónicos y pequeñas cantidades de ramnosa, galactosa y arabinosa. Estas pectinas se extraen del bulbo de hinojo en condiciones ácidas y son la fuente de carbohidratos necesaria para la preparación de biopolímeros. Estos biopolímeros experimentan un hinchamiento isotrópico que aumenta si disminuyen la fuerza iónica y la presión osmótica del medio; en cuanto al pH, un cambio brusco produce la disociación de grupos ionizables y disminuye la carga del polímero, por lo que disminuye el efecto Donnan y la capacidad de hinchamiento se reduce. Estas características hacen de los biopolímeros de pectinas de hinojo un posible candidato a formar parte de matrices poliméricas en administración de fármacos con liberación modificada (91). Otra

aplicación del hinojo es su uso en la obtención industrial de anetol, ya que, durante muchos años, se ha empleado esta planta por su alto contenido de aceite esencial (80).

### 3.2.5. HINOJO COMO REPELENTE

En cuanto al efecto repelente, Kim D. et al (92), reportan que el extracto metanólico obtenido a partir de los frutos de *F. vulgare* mostró la presencia espectroscópica de constituyentes biológicamente activos como son (+)-fenchona y (E)-9-ácido octadecenoico. La actividad repelente de estos constituyentes se ensayó en hembras de *Aedes aegypti* mediante la realización de pruebas cutáneas y se comparó con la del agente repelente comercial llamado N,N-dietil-m-toluamida (DEET). En un ensayo cutáneo, la piel expuesta a (+)-fenchona y (Z)-9-ácido octadecenoico (0,4 mg/cm<sup>2</sup>) mostró una actividad repelente moderada hasta por 30 min después del tratamiento, mientras que el DEET proporcionó más de 1 h de protección contra los mosquitos adultos (0,2 mg/cm<sup>2</sup>). Así, se concluyó que el (+)-fenchona y (E)-9-ácido octadecenoico son potenciales repelentes de mosquitos. Por otro lado, la base de datos fitoquímica y etnobotánica del Dr. Duke's (93) reporta que algunos de los metabolitos secundarios de *F. vulgare* Mill. poseen actividad repelente (insectifuga) y/o insecticida (tabla 4) lo que sustenta el uso de este material botánico en la práctica diaria.

*Tabla 4. Metabolitos secundarios de F. vulgare relacionados con actividad repelente (insectifuga) y/o insecticida.*

METABOLITO	ACTIVIDAD	REFERENCIA BIBLIOGRAFICA
Anetol	Insecticida	Leung, A. Y. and Foster, S. 1995. Encyclopedia of Common Natural Ingredients. Third edition. Wiley.
Dipenteno	Insectifugo/Repelente	Blaschek, W., Hansel, R., Keller, K., Reichling, J., Rimpler, H., and Schneider, G. eds. 1998. Hager's Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Auflage Band 2 (A-K), 909 pp., (L-Z), 858 pp.
Beta-pineno	Insectifugo/Repelente	Jacobson, M., Glossary of Plant-Derived Insect Deterrents, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 213 p, 1990.
1,8-Cineole	Insectifugo/Repelente	*
Limoneno	Insecticida Insectifugo/Repelente	*

		Jacobson, M., Glossary of Plant-Derived Insect Deterrents, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 213 p, 1990.
Estragol	Insectifugo/Repelente  Insecticida	Jacobson, M., Glossary of Plant-Derived Insect Deterrents, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 213 p, 1990. Jacobson, M., Glossary of Plant-Derived Insect Deterrents, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, 213 p, 1990.
Anisaldehido	Insecticida	Newall, C. A., Anderson, L. A. and Phillipson, J. D. 1996. Herbal Medicine - A Guide for Health-care Professionals. The Pharmaceutical Press, London. 296pp.
Alfa-pineno	Insecticida Insectifugo/Repelente	J. Stored. Prod. Res., 22:141, 1986. J. Stored. Prod. Res., 22:141, 1986.
Terpinen-4-ol	Insectifugo/Repelente	*
Alfa-felandreno	Insectifugo/Repelente	Pakistan Encyclopedia Planta Medica. 1986.
Geraniol	Insectifugo/Repelente	Merck 11th Edition
P-cimeno	Insectifugo/Repelente	Blaschek, W., Hansel, R., Keller, K., Reichling, J., Rimpler, H., and Schneider, G. eds. 1998. Hager's Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Auflage Band 2 (A-K), 909 pp., (L-Z), 858 pp. Springer-Verlag, Berlin

\*Corresponden a Duke, James A. 1992. Manual de componentes fitoquímicos de hierbas GRAS y otras plantas económicas. Boca Raton, FL. CRC Pulse.

Por otro lado, Kuri-Morales, et al. (94) en su estudio titulado “Repellency of 29 Synthetic and Natural Commercial Topical Insect Repellents Against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Central Mexico” evaluaron el tiempo de repelencia y protección de 16 productos comerciales sintéticos y 13 naturales contra *Aedes aegypti* (L.) de un área endémica de dengue en el centro de México, cuyos resultados mostraron que los repelentes de DEET (N,N-Dietil-3-metilbenzamida) proporcionaron los mayores tiempos de protección y duración contra el insecto, y los productos de base natural presentaron un adecuado efecto repelente (ni aterrizaron ni mordieron) sin embargo en un tiempo no mayor a 30 minutos.

### **3.3. REPELENTES**

#### **3.3.1. DEFINICIÓN**

Un repelente se define como una sustancia química volátil que induce a los artrópodos a moverse en la dirección opuesta a su fuente (95). Idealmente, los repelentes deben proteger contra diversos insectos mordedores, su protección debe ser por un período preferiblemente prolongado y no debe causar reacciones adversas (96, 101).

#### **3.3.2. CARACTERÍSTICAS**

Los repelentes de insectos tienen diversas formas de presentación como: aerosoles, cremas, lociones, aceites y pomadas, por ello el tipo de formulación juega un papel importante en la eficacia de la sustancia aplicada (97,98). El tiempo de repelencia depende de varios factores y cada compuesto tiene una protección intrínseca diferente que varía entre especies de mosquitos (99). Inicialmente, hay un período en el que la sustancia repele todos los mosquitos por lo tanto éstos no aterrizan ni muerden la piel expuesta. Sin embargo, este efecto es seguido por un período en el que la sustancia pierde algunos de sus efectos y los mosquitos pueden aterrizar en la piel tratada. Cuando el efecto del repelente se pierde por completo, los mosquitos comienzan a morder (100). Los huéspedes humanos pueden atraer inicialmente a los mosquitos sin embargo, estos se repelen en las proximidades del huésped debido a los componentes volátiles que emanan del repelente dependiendo de su punto de ebullición, de la evaporación de la piel y de la distancia a la que los mosquitos se alejan (99).

Las interacciones entre parásitos y huésped son complejas, y entre los factores que influyen en la efectividad de un repelente están: el ingrediente activo y la formulación, la biología del artrópodo, las condiciones y modo de uso y los rasgos individuales del usuario (101). Entre otros factores están la temperatura del aire, la humedad y la velocidad del viento como entes externos que influyen en la eficacia de repelentes, así se describe que para los climas húmedos y cálidos y en lugares

con altas velocidades de viento, la duración efectiva el repelente es generalmente menor y son necesarias las reaplicaciones frecuentes (99).

La pérdida de eficacia se determina por la tasa de evaporación de los repelentes y por penetración percutánea. Además, los repelentes pierden fácilmente su eficacia mediante el lavado de la piel y cuando se frota con ropa u objetos e área aplicada. La sudoración, además de atraer a los mosquitos, diluye el repelente y reduce la eficacia del compuesto (99). Se cree que los productos que contienen alcohol penetran más profundamente en la piel, lo que resulta en una pérdida más rápida de eficacia (98).

Los repelentes de insectos son un método accesible para protegerse contra los artrópodos y así mismo los patógenos transportados por éstos que causan enfermedades (101).

A fines de los años 20' se patentaron los primeros repelentes, pero fue 1946 el año en que cambio la historia de los repelentes con el descubrimiento del DEET o N,N-dietil-3-metilbenzamida, que es desde 1956 el repelente más utilizado en el mundo. Los repelentes fabricado en base a DEET son altamente eficaces, con una baja toxicidad cuando son correctamente utilizados, pero con riesgos ante la exposición indebida al mismo. La creencia de la alta toxicidad del DEET se ve negada por las estadísticas, existen muy pocos casos de intoxicación por esta sustancia, y esos escasos casos son por mal uso de los repelentes, especialmente al ser manipulados por niños. Debido a esto es que muchos repelentes naturales son comercializados pero sin llegar a ser tan efectivos como el DEET.

El DEET se encuentra en estado líquido a 25 °C, es incoloro y con un ligero aroma, puede ser utilizado en todo tipo de repelentes contra mosquitos y garrapatas. La solución de DEET con agua tiene un pH cercano al neutro y es muy estable almacenado, por lo que tiene un tiempo de duración extenso. En los repelentes el

DEET se mezcla con alcohol, agua, ácido etildiaminotetracético (EDTA) y butilhidroxitolueno (BHT), aunque la composición puede variar dependiendo el fabricante, al igual que la concentración de DEET se modifica dependiendo del lugar donde será comercializado (en zonas tropicales por ejemplo se utilizan repelentes potentes debido a la gran cantidad e inmunidad de insectos). Hay poca información sobre el funcionamiento de los repelentes de insectos, y este conocimiento serviría para desarrollar repelentes basados en principios bioquímicos y neurofisiológicos; es por esto que el avance se realiza por medio de la inferencia a través de los datos de la historia natural (101).

### **3.3.3. EFICACIA**

Existen diferentes maneras de expresar la eficacia repelente. Entre ellos: a) la protección completa media, la cual se representa en una medición del tiempo de acción, y b) el porcentaje de repelencia, el cual depende del número total aterrizajes o mordeduras de los mosquitos en un intervalo de tiempo definido.

- A. Tiempo completo de protección (CPT): es la medición del período de tiempo entre la aplicación repelente y las dos primeras picaduras de mosquito posterior a su aplicación (100, 102).
- B. Porcentaje de protección: se registra el número de mosquitos que aterrizan o intentan morder la piel expuesta en intervalos de tiempo determinados, se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Protección} = (C - T) / C \times 100$$

Donde C corresponde al número de mordeduras al exponer la extremidad de control (no tratada o con un disolvente tal como etanol como sustancia de control) y T exponiendo la extremidad tratada con el repelente estudiado (103

-107). Esta es la fórmula más utilizada sin embargo, este porcentaje se puede calcular con otras fórmulas tales como:

$$\% \text{ Protección} = (C \times t - T) / (C \times t) \times 100\%$$

Donde t representa el tiempo, o como porcentaje de reducción de picadura (108), de acuerdo con la fórmula:

$$\% \text{ Reducción de la picadura} = 100 \times (1 - \text{media de grupo tratado/grupo no tratado})$$

C. Dosis mínima efectiva: Consiste en el cálculo de la dosificación efectiva mínima, que repele el 50% y 90% o 95% de los mosquitos: ED50 y ED90 (dosis efectiva) o RD50 y RD90 (dosis repelente) (109, 110).

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. PLANTA MATERIAL

Se emplearon las partes aéreas de *Foeniculum vulgare* Mill. recolectado en marzo de 2017 de los cultivos del Jardín Botánico Jorge Piñeros Corpas ubicado en la Fundación universitaria Juan N. Corpas en Bogotá, Colombia. Una muestra de la planta (Figura 12) fue llevada al Herbario Nacional Colombiano con el fin de realizar el proceso de identificación del material botánico, identificándose plenamente con nombre: *Foeniculum vulgare* Mill, familia: Apiaceae, N°col: 595899 con su debida certificación del 13 de marzo del 2017 (ver Anexo A).



Figura 12. *Foeniculum vulgare* Mill.

### 4.3. EXTRACCION DE ACEITE ESENCIAL

Se recolectaron 594 gramos de *Foeniculum vulgare* P. Mill de los cuales se tomaron las hojas frescas, se separaron de las ramas, se cortaron en trozos pequeños y se sometieron a un proceso de hidrodestilación mediante el uso de equipo Clevenger (Figura 13), se recupera el aceite con cloroformo en un equipo de extracción continua líquido-líquido, posteriormente se concentró el aceite en un rotaevaporador obteniendo 1.5 cc de aceite esencial el cual se expuso al proceso de bioexperimentación. Éste proceso se realizó en las instalaciones del laboratorio de farmacología vegetal (LABFARVE) de la Fundación Juan N. Corpas de la ciudad de Bogotá, Colombia.



Figura 13. Equipo Clevenger

### 4.3. ANÁLISIS DE CROMATOGRAFÍA DE GASES

El análisis se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), los datos fueron obtenidos con un equipo Thermo Trace 1300 acoplado a un espectrómetro de masas ISQ LT con cuadrupolo sencillo como analizador (Figura 14). Para el análisis se utilizó una columna Rxi® 5Sil MS de 60 m, 0.25 mm ID y 0.25  $\mu\text{m}$  df (5% difenil/95% dimetilpolisiloxano). Se implementó un programa de temperatura empezando en 120°C manteniéndose durante 2 minutos, luego se aplicó una rampa de 6°C/min hasta llegar a 300°C manteniéndose durante 10 min; el volumen de inyección fue 1  $\mu\text{L}$  en modo Split, con un flujo de 1 mL/min y una relación de Split de 10. La forma de ionización fue impacto electrónico (E.I) a 70 eV. Dicho procedimiento fue realizado en el Laboratorio de Química Bioorgánica de la Universidad Militar Nueva Granada en Cajicá, Colombia.

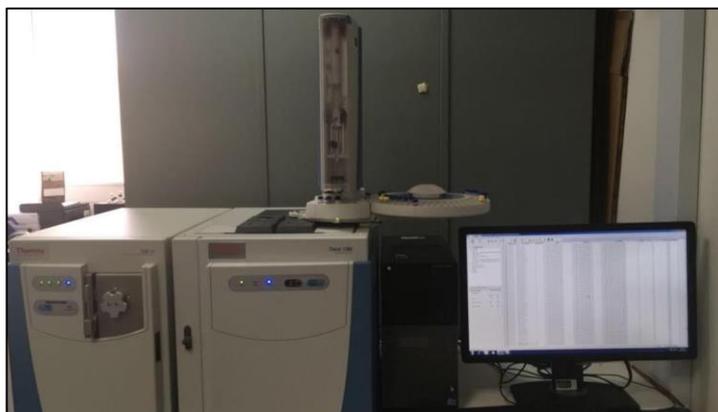


Figura 14. Equipo Thermo Trace 1300 acoplado a un espectrómetro de masas ISQ LT

#### **4.4. IDENTIFICACIÓN DE COMPONENTES**

La identificación de los compuestos se basó en la comparación de los índices de retención (RI), tiempo de retención (RT) y espectros de masas con los obtenidos de muestras auténticas (adquiridas en la Universidad Militar Nueva Granada).

#### **4.5. CRIADERO Y SEPARACION DE MOSQUITOS**

Los bioensayos se realizan con hembras adultas de *Aedes aegypti* de la colonia de referencia del laboratorio de entomología del Instituto Nacional de Salud ubicado en Bogotá, Colombia, cuya fecha de recolección fue el 17 de diciembre de 2016 en la ciudad de Neiva, Huila; a partir de esta fecha se inició el proceso de cuidado y reproducción de la cepa por parte del personal de la institución quienes garantizan su estado virgen libre de contaminación viral externa; para ello los insectos se mantienen a una temperatura de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  con 35% de humedad ambiental relativa, en jaula Gerber de 30 x30 cm, la cual cuenta con material plástico en su polo superior e inferior, anejo plástico en tres caras y una única vía de acceso circular protegida con manga de tela en una de sus caras (Figura 15). Durante su tiempo de vida los insectos son alimentados en etapa larvaria con alimento para roedores (Agrinal Rodentina) y en edad adulta con soluciones de sacarosa (para los machos) y sangre de cobayos previa sedación del roedor.

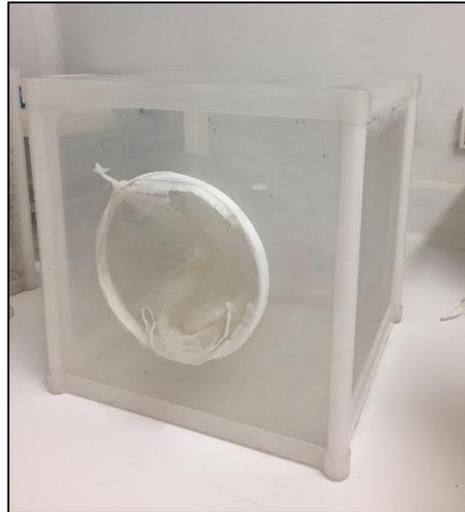


Figura 15. Jaula Gerber

Dado que inicialmente se encuentran mezclados hembras y machos de *Aedes aegypti*, se realiza la selección del insecto hembra el cual será empleado en la investigación, este procedimiento es realizado por el personal entrenado de la institución mediante el método de aspiración bucal con succionador plástico (figura 16), así se consigue la selección de 100 unidades de hembras adultas las cuales se distribuyen en dos jaulas Gerber quedando divididas en 50 unidades en cada una para su posterior uso experimental.

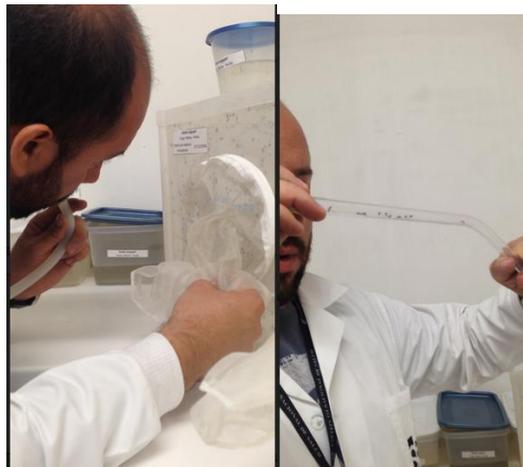


Figura 16. Procedimiento de selección de hembras de *Aedes aegypti*.

Con el fin de garantizar el estado de avidez por parte del vector, se garantizó un estado de ayuno de 4 días previos a la experimentación; para la fecha de la aplicación del bioensayo los insectos se encontraban en el día 10 de vida y en el día 5 de su estadio como adulto.

#### **4.6 VOLUNTARIOS EXPUESTOS**

Se contó con cuatro personas voluntarias (1 hombre y 3 mujeres) con edades entre los 27 y 35 años de edad, previa anamnesis se descartaron antecedentes patológicos, farmacológicos y/o alérgicos de base, se indicó no aplicar algún tipo de producto cosmético en superficie corporal para las fechas acordadas de experimentación.

#### **4.7. BIOENSAYO DE ACCIÓN REPELENTE**

##### **4.7.1. FASE UNO**

En la primera etapa de la experimentación se buscó identificar la actividad repelente del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. y así mismo realizar las pruebas para establecer la concentración mínima requerida del aceite esencial con dicho efecto; en las instalaciones del Laboratorio de entomología del Instituto Nacional de Salud se llevó a cabo el proceso de determinación de la actividad repelente del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill, para ello inicialmente se realizaron las diluciones correspondientes del aceite esencial utilizando como solvente aceite mineral, se partió de una concentración del 100% hasta descender a 0.19%, con el fin de garantizar una adecuada mezcla de las sustancias se empleó un agitador tipo Vortex durante 20 segundos para cada tubo. Posteriormente se procede a la preparación física de los voluntarios: para ello se emplean batas de aislamiento tipo Rainbow a la cual se abren #2 orificios de 5 x 3 cm a nivel de la cara anterior de los antebrazos (Figura 17), seguido a su colocación se fija el material sintético de la

bata a nivel del antebrazo con cinta adhesiva protectora de papel con el fin de evitar movilización de la bata y asegurar el área de exposición durante las pruebas.



Figura 17. Preparación del voluntario

El estudio se realizó en # 2 jaulas Gerber (30 x30 cm) la cual cuenta con una única vía de acceso circular de 15 cm protegida con manga de tela en una de sus caras a través del cual se introduce el antebrazo del voluntario expuesto (Figura 18). Cada jaula contiene 50 mosquitos adultos (de sexo femenino), los cuales presentan una edad de 10 días y un periodo de ayuno de 4 días previos a la prueba, se encuentran a una temperatura ambiental de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  y 35% de humedad relativa.



Figura 18. Exposición del antebrazo en jaula Gerber

Se realizaron en total 12 bioensayos mediante la aplicación tópica en la piel del antebrazo de 3 voluntarios de sustancias específicas: aceite mineral tomado como

control negativo, DEET al 98% tomado como control positivo y aceite esencial de *Foeniculum vulgare* P. Mill disuelto en 10 diferentes concentraciones (que oscilaban entre el 100 y el 0.19%). A cada uno de los voluntarios se aplicó inicialmente 0.3 cc de la sustancia a evaluar en el área del antebrazo expuesta, se dio un tiempo de espera de absorción cutánea de 30 segundos y se procedió a la introducción de la extremidad a la jaula Gerber durante 5 minutos, durante este tiempo los observadores determinaron el número de hembras que se posaron sobre la piel expuesta (Figura 19).



Figura 19. Conteo del número del número de hembras que se posaron sobre la piel expuesta y número de picaduras

Posterior a la culminación del tiempo de espera de cada bioensayo, se procedió al recambio de la jaula y los insectos de experimentación. Finalmente al determinar la concentración mínima con actividad repelente, se aplicó a los 3 voluntarios la misma sustancia y se realizara una reexposición con el fin de confirmar el dato obtenido.

#### **4.7.2. FASE DOS**

Teniendo en cuenta los resultados de la fase previa se determinó realizar prueba de repetitividad con el fin de garantizar la objetividad del estudio, para ello se tomó la concentración mínima con efecto repelente del aceite esencial de *Foeniculum*

vulgare Mill. la cual correspondió a 0.7% junto con la concentración inmediatamente inferior a ésta (0.39%) y se determinó una concentración media (0,54%); para un total de 3 muestras a estudiar, junto con estas se repitió estudio de control negativo y positivo. Se determinó la realización de 5 exposiciones repetidas de cada uno de los compuestos posterior a una única aplicación de la sustancia, teniendo en cuenta la duración de la exposición de 5 minutos y un tiempo de espera entre cada prueba de 8 minutos, el tiempo de espera de absorción cutánea posterior a la aplicación cutánea única inicial fue de 30 segundos. Durante el tiempo de exposición los observadores determinaron el número de aterrizajes y de picaduras en la piel expuesta.

Esta etapa se realizó un día después de la fase previa, para ella se contó con 4 voluntarios en los que se expuso un área de 15 cm<sup>2</sup> a nivel de la piel del dorso de la mano (Figura 20), delimitada con cinta adhesiva protectora de papel.



Figura 20. Exposición cutánea del dorso de la mano

Se contó con 2 jaulas Gerber en las que se introdujeron #10 insectos hembras con 5 días de ayuno, los cuales fueron reemplazados en cada exposición con el fin de evitar contaminación externa ya que el olor, la temperatura, la humedad, entre otras

variables, pueden causar estrés y el comportamiento del insecto puede ser diferente. (Figura 21).

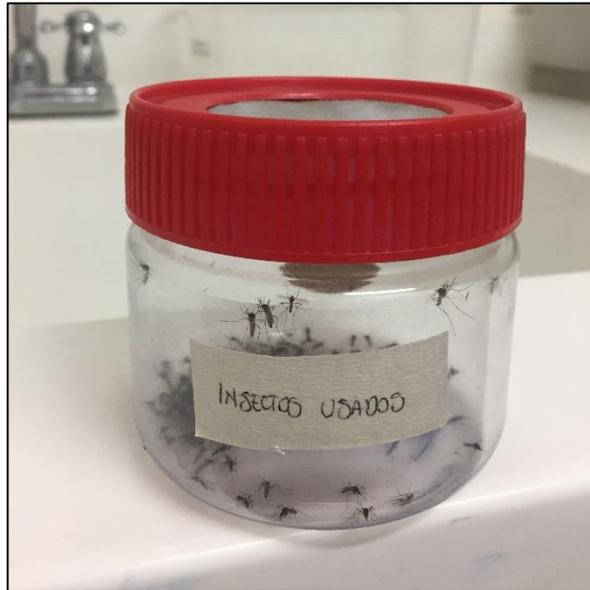


Figura 21. Frasco recolector de insectos utilizados

#### 4.8. ANÁLISIS DE DATOS

Con el fin de determinar la actividad repelente del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. inicialmente se realizó observación y conteo directo del número de hembras que se posaron sobre la piel expuesta y número de picaduras en el área expuesta a 10 diferentes concentraciones de la sustancia, basado en ello se determinó el porcentaje de protección con base en la fórmula: **% Protección =  $(C - T) / C \times 100$** . Donde C corresponde al número de mordeduras al exponer la extremidad de control (no tratada o expuesta al control negativo, en nuestro caso aceite mineral) y T exponiendo la extremidad tratada con el repelente estudiado.

En la segunda fase de experimentación se realizó observación y cuantificación del tiempo de protección de la actividad repelente.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. FASE UNO

Con el fin de determinar la actividad repelente del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. se realizó observación y conteo directo de variables como número de picaduras en el área expuesta, número de aterrizajes en el área expuesta y en la periferia a la aplicación del producto logrando resultados expresados en la tabla 5.

*Tabla 5. Comparación entre la concentración de aceite esencial de F. vulgare P. Mill y variables clínicas de medición.*

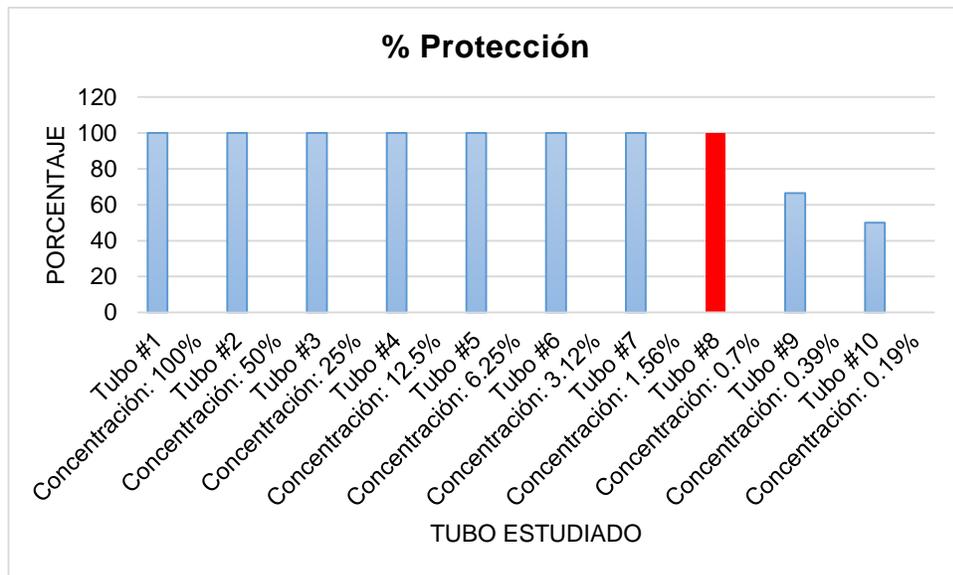
<b>Tiempo de exposición estándar: 5 minutos</b>	<b>Numero de picaduras en zona de exposición</b>	<b>Numero de aterrizajes en la zona de exposición</b>	<b>Numero de aterrizajes en la periferia</b>
Control negativo: aceite mineral	6	30	30
Tubo #1 Concentración: 100%	0	0	6
Tubo #2 Concentración: 50%	0	0	9
Tubo #3 Concentración: 25%	0	0	12
Tubo #4 Concentración: 12.5%	0	0	13
Tubo #5 Concentración: 6.25%	0	0	15
Tubo #6 Concentración: 3.12%	0	0	17
Tubo #7 Concentración: 1.56%	0	0	15
Tubo #8 Concentración: 0.7%	0	0	20
Tubo #9 Concentración: 0.39%	2	2	22
Tubo #10 Concentración: 0.19%	3	4	22
Control positivo: DEET 98%	0	0	0

Se realizó medición de porcentaje de protección para cada una de las concentraciones evaluadas, obteniendo los datos reportados en la tabla 6.

Tabla 6. Porcentaje de protección de aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill.

<b>Concentración evaluada</b>	<b>% protección</b>
Tubo #1 Concentración: 100%	100
Tubo #2 Concentración: 50%	100
Tubo #3 Concentración: 25%	100
Tubo #4 Concentración: 12.5%	100
Tubo #5 Concentración: 6.25%	100
Tubo #6 Concentración: 3.12%	100
Tubo #7 Concentración: 1.56%	100
Tubo #8 Concentración: 0.7%	100
<b>Tubo #9</b> <b>Concentración: 0.39%</b>	66,6
<b>Tubo #10</b> <b>Concentración: 0.19%</b>	50

A continuación, en la gráfica 1 se representa gráficamente en porcentaje de protección para cada uno de las concentraciones estudiadas.



Gráfica 1. Porcentaje de protección para cada una de las concentraciones de *Foeniculum vulgare* Mill. Estudiado

Se observó que el tubo número 8, que contenía el aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill, en una concentración de 0,7% fue la concentración más baja en mantener un efecto repelente evidente con un porcentaje de protección del 100%.

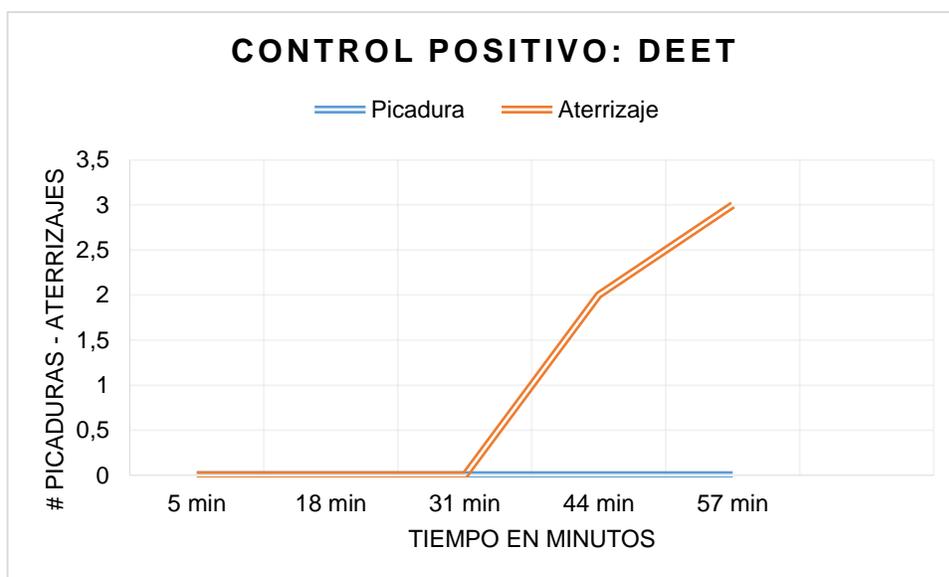
## 5.2. FASE DOS

En esta última etapa se obtuvieron los datos reportados en la tabla 7, en la que se muestra la variación en el tiempo de las variables evaluadas como son : número de picaduras en área expuesta y número de aterrizajes o acercamiento del insecto al área expuesta, lo que determina el efecto insectifugo/repelente de la concentración evaluada de aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill, para esta etapa se tuvieron en cuenta las concentraciones de 0,7% y 0,39% así como una media de estas la cual fue 0,54%.

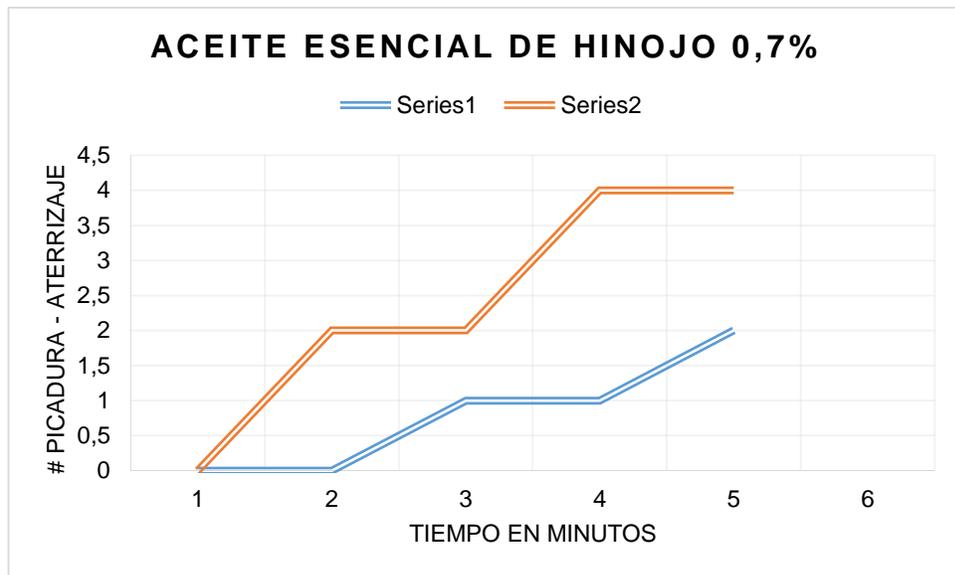
Tabla 7. Variación en el tiempo de concentraciones mínimas de aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. con efecto repelente.

Sustancia evaluada	Variable	5 min	18 min	31 min	44 min	57 min
<b>Control positivo: DEET</b>	Picadura	0	0	0	0	0
	Aterrizaje	0	0	0	2	3
<b>Aceite esencial de Hinojo al 0.7%</b>	Picadura	0	0	1	1	2
	Aterrizaje	0	2	2	4	4
<b>Aceite esencial de Hinojo al 0.54%</b>	Picadura	0	0	1	2	2
	Aterrizaje	3	5	10	13	18
<b>Aceite esencial de Hinojo al 0.39%</b>	Picadura	0	1	1	3	4
	Aterrizaje	7	12	16	18	24
<b>Control negativo: aceite mineral</b>	Picadura	2	3	2	3	4
	Aterrizaje	5	4	7	12	15

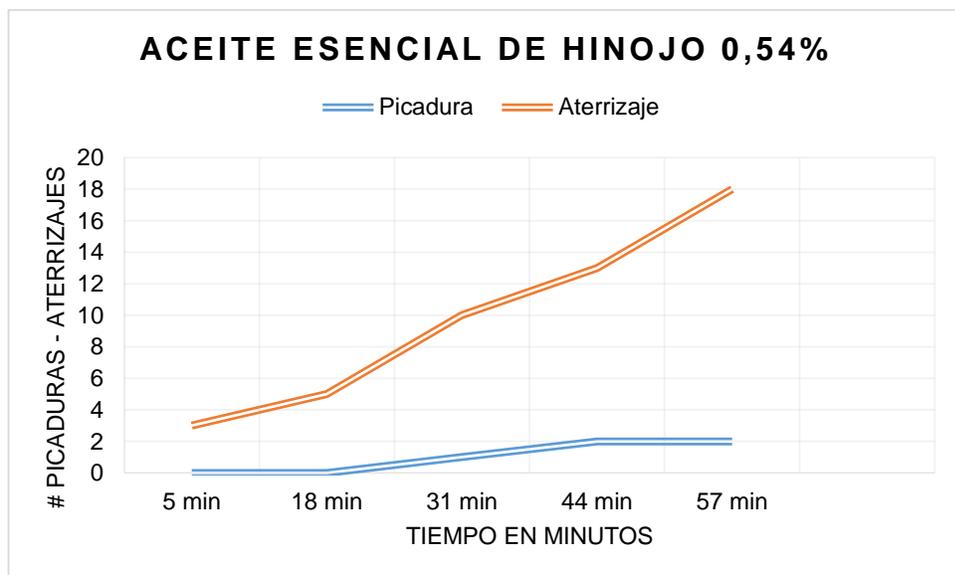
A continuación se presenta representación gráfica de la variación para cada una de las concentraciones estudiadas.



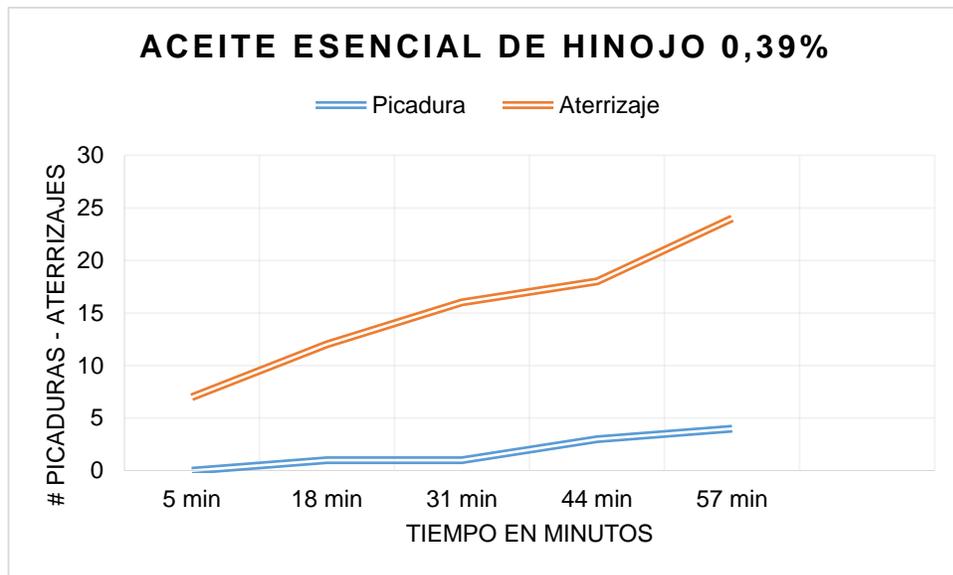
Gráfica 2. Relación entre variables estudiadas y tiempo en minutos para la exposición a DEET.



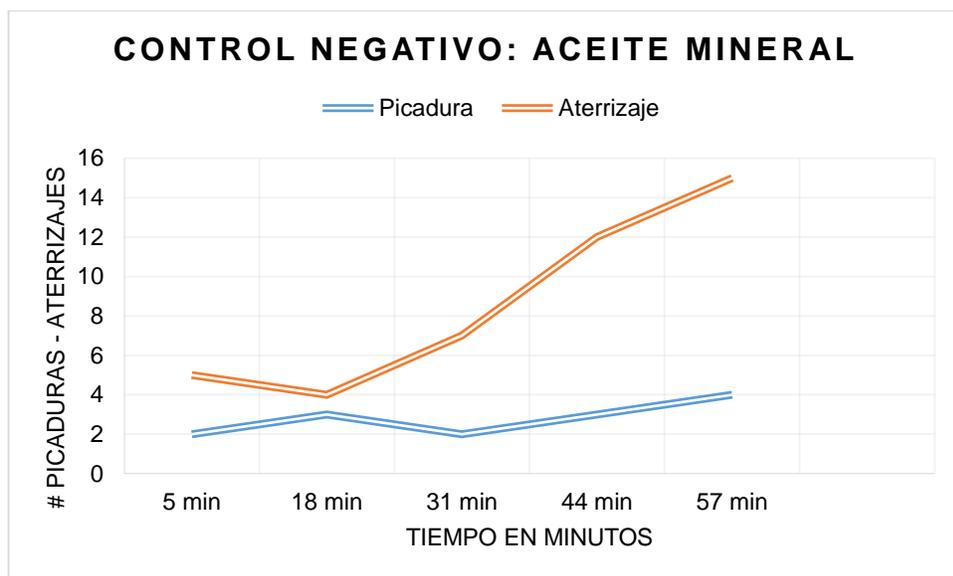
Gráfica 3. Relación entre variables estudiadas y tiempo en minutos para la exposición a aceite esencial del Hinojo al 0,7%.



Gráfica 4. Relación entre variables estudiadas y tiempo en minutos para la exposición a aceite esencial del Hinojo al 0,54%.

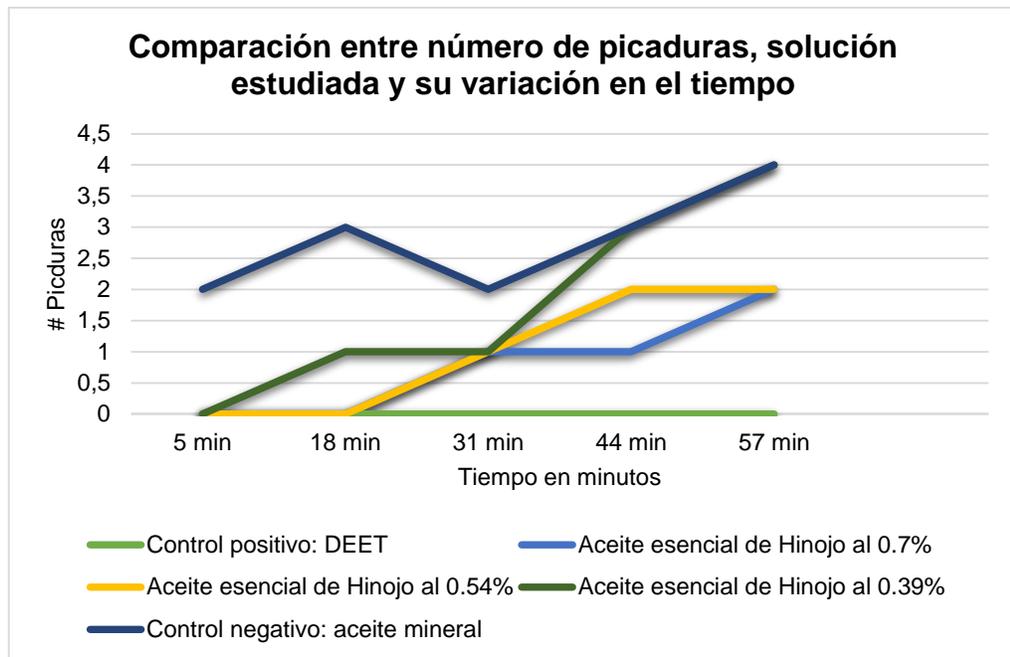


Gráfica 5. Relación entre variables estudiadas y tiempo en minutos para la exposición a aceite esencial del Hinojo al 0,39%.

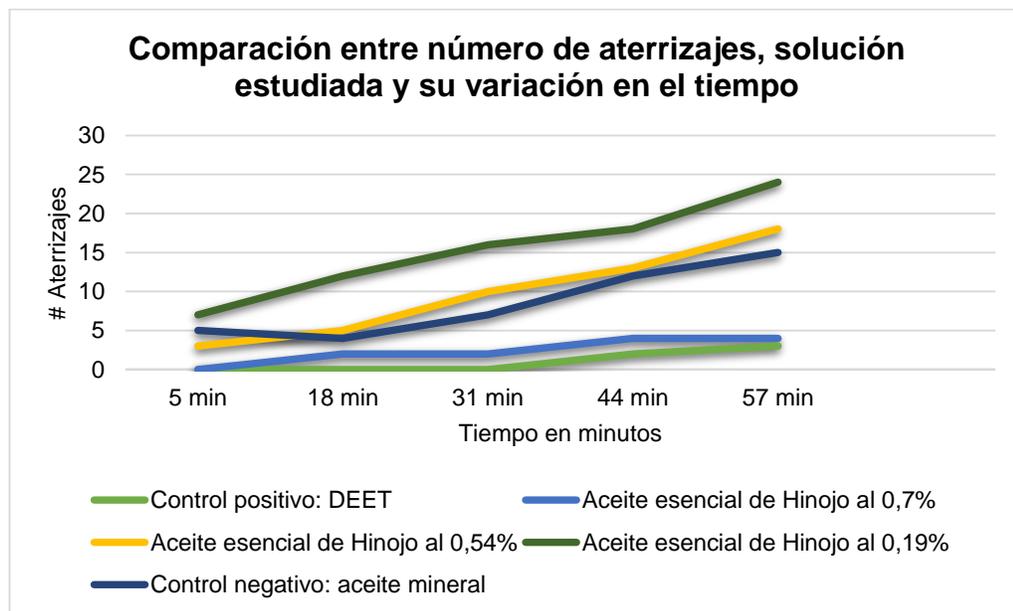


Gráfica 6. Relación entre variables estudiadas y tiempo en minutos para la exposición a aceite mineral (control negativo).

A continuación se presenta gráficamente la relación entre las variables estudiadas por separado y su variación en el tiempo con respecto al tipo de sustancia estudiada.



Gráfica 7. Comparación entre número de picaduras, solución estudiada y su variación en el tiempo.



Gráfica 8. Comparación entre número de aterrizajes, solución estudiada y su variación en el tiempo.

### **5.3. ANÁLISIS QUÍMICO**

Mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas se identificaron un total de 33 componentes, constituyendo el 80% del total de los metabolitos secundarios conocidos para el Hinojo *Foeniculum vulgare* Mill. según la literatura revisada, dentro de ellos se encontró el Anetol en mayor proporción con respecto a los demás, a este metabolito se debe el sabor distintivo de la planta. También se le conoce como parapropenilnilosa, sin embargo su nombre químico completo es trans-1-metoxi-4-(prop-1-enil) benceno y químicamente es conocido como un éter insaturado aromático. El segundo metabolito en proporción identificado fue el Estragol el cual se considera un éter aromático comúnmente utilizado en la industria de perfumes y como aditivo alimentario. El tercer metabolito en proporción encontrado fue la Fenchona la cual se considera como un monoterpeno y una cetona, éstos datos son concordantes con la literatura reportada en el apartado teórico, en donde se informa la composición química de hinojo en donde el 60 al 65% corresponde a Anetol y del 10 al 11 % de fenchona (ver Anexo B)

### **5.4. ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD REPELENTE**

En la primera fase del estudio se comprobó la actividad repelente del aceite esencial de Hinojo *Foeniculum vulgare* Mill. en diferentes concentraciones que oscilaron entre el 100% y el 0,7% con la misma efectividad (100%) según los resultados obtenidos mediante fórmula de porcentaje de protección. Se identificó la presencia de actividad repelente contra una cepa de *Aedes aegypti* libre de contaminación viral externa aun en concentraciones bajas.

En la segunda fase del bioensayo se evaluó el tiempo de protección repelente de las concentraciones bajas estudiadas inicialmente, encontrando que esta propiedad se ve notoriamente disminuida en relación con el tiempo de aplicación inicial del aceite esencial de Hinojo *Foeniculum vulgare* Mill. Como dato adicional

independiente a los objetivos del estudio se halló que no se presentaron reacciones de hipersensibilidad cutánea o sistémica en los voluntarios expuestos ante la aplicación tópica del aceite esencial de Hinojo *Foeniculum vulgare* Mill.

## 6. DISCUSIÓN

Los repelentes permiten la reducción de la proporción de enfermedades transmitidas por vectores, en este caso particularmente se evaluó un repelente orgánico sobre el mosquito *Aedes aegypti* L. el cuál es el principal vector de importantes enfermedades de interés en salud pública como son: dengue, fiebre amarilla, zika y chikunguña entre otras. Sin embargo, el motivo principal por el que los consumidores adquieren estos repelentes es evitar la picadura del insecto, mientras que la reducción del riesgo de enfermedad parece un objetivo secundario. Según la búsqueda bibliográfica realizada, se dispone de escasos datos directos acerca del mecanismo de acción específico de los repelentes así como de la eficacia de los repelentes en cuanto a la prevención de enfermedades tropicales específicas, lo que da pie para continuar la investigación acerca de este tema.

En la mayoría de los estudios, los repelentes se aplican en una proporción de 1.7 mg/cm<sup>2</sup>, considerado el patrón habitual de los productos que contienen DEET. Esta dosis permite cubrir la superficie cutánea en forma completa en condiciones agradables para los usuarios. La eficacia del DEET fue demostrada en diferentes estudios de distintos países, tanto en condiciones de laboratorio como en trabajos de campo por lo que se empleó como control positivo en la presente investigación.

Los principales componentes descrito en la literatura para el *Foeniculum vulgare* Mill. son anetol (69.2%), fenchona (8.7%), y Estragol (5.6%), lo cual es concordante con los resultados descritos en el apartado de análisis químico, sin embargo vale la pena destacar que el en reporte del herbario nacional no se reportaron otras especificaciones como hinojo dulce o amargo, pues en alguna literatura varía su composición química.

En general, se considera que los repelentes a base de componentes de origen vegetal tienen una duración limitada, lo que es concordante con los datos del

presente estudio reportados lo que podría relacionarse con el grado de volatilidad de los aceites esenciales y específicamente de sus metabolitos secundarios principalmente los que se han encontrado con actividad insectifuga/repelente; sin embargo el tiempo de evaluación en la presente investigación solo logró 57 minutos como máximo, por lo que se podría dar paso a nuevos estudios cuyo tiempo de evaluación fuese mayor y aun con un mayor número de voluntarios. Además, es necesario hacer pruebas adicionales en las que se evalúe el efecto de factores intrínsecos a la persona expuesta como el sudor humano, reconocido por reducir la acción de los repelentes. Además, de considerarse factores extrínsecos como la temperatura, la humedad y la luz solar, los cuales pueden afectar la absorción, la evaporación y la estabilidad de la estructura química del repelente en la piel.

Por otro lado, Kim D. et al (92), reportan que el extracto metanólico obtenido a partir de los frutos de *F. vulgare* mostró la presencia espectroscópica de constituyentes biológicamente activos como son (+)-fenchona y (E)-9-ácido octadecenoico, lo que es de relevancia dado que pese a que el presente estudio se realizó mediante la obtención inicial del aceite esencial, dentro de los metabolitos reportados en el estudio de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas si se reporta la fenchona la cual se ha relacionado con la actividad repelente.

Al igual, la base de datos fitoquímica y etnobotánica del Dr. Duke's (93) reporta algunos de los metabolitos secundarios de *F. vulgare* Mill. como causa de su actividad repelente (insectifuga), entre ellos: dipenteno, beta-pineno, 1,8+cineol, limoneno, estragol, alfa-pineno, terpineno-4-ol, geraniol, terpinen-4-ol; los cuales han sido reportados como componentes principales del aceite esencial obtenido del *Foeniculum vulgare* Mill, mediante el proceso de estudio de cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

Kuri-Morales, et al. (94), realizaron un estudio en el que se evaluó el tiempo de repelencia y protección de 16 productos comerciales sintéticos y 13 naturales contra

*Aedes aegypti* (L.) encontrando que los repelentes de DEET (N,N-Dietil-3-metilbenzamida) proporcionaron los mayores tiempos de protección y duración contra el insecto, mientras que los productos de base natural presentaron un adecuado efecto repelente sin embargo, en un tiempo no mayor a 30 minutos lo que es concordante con los datos reportados en la segunda fase del presente estudio.

## 7. CONCLUSIONES

- El aceite esencial del *Foeniculum vulgare* Mill. si presenta algún grado de actividad repelente sobre *Aedes aegypti* L durante las pruebas entomológicas preliminares que ameritan un estudio más detallado.
- Mediante el método de hidrodestilación se obtuvieron 1.5 cc de aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill.
- Por la técnica de cromatografía de gases asociada a espectrometría de masas se obtuvo el reporte de los metabolitos secundarios contenidos como son: atenol, estragol y fenchona lo cual es concordante con la literatura revisada.
- El rango de concentración en el cual el aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. mantiene un efecto repelente sobre *Aedes aegypti* Linneo oscila entre el 100 y el 0,7%.
- El porcentaje de protección para la mayoría de las concentraciones estudiadas del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill fue del 100%, tan solo las concentraciones de entre 0,39% y 0,19% manejaron niveles inferiores sin embargo no despreciables.
- El tiempo de protección repelente del 100% de la concentración mínima con efecto repelente del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill. sobre *Aedes aegypti* L. es de 30 minutos aproximadamente, en la medida que el tiempo de aplicación avanza así mismo el potencial repelente disminuye.
- No se evidenciaron manifestaciones clínicas de hiperesensibilidad cutánea o sistémica relacionadas con la aplicación del aceite esencial de *Foeniculum vulgare* Mill.

## 8. RECOMENDACIONES

- Se reconoce la necesidad de mayor investigación relacionada con los productos de origen vegetal, con el objetivo de elaborar repelentes para las poblaciones de escasos recursos, en las que la flora local puede procesarse con reducidos recursos técnicos para la elaboración de repelentes accesibles y eficaces.
- Continuar estudios de investigación teniendo en cuenta otros aceites esenciales que comparten metabolitos secundarios junto con hinojo, con el fin de determinar si hay otras opciones con mejores resultados, en el efecto repelente de insectos voladores.
- Tener en cuenta la factibilidad de producir repelentes naturales a nivel comercial debido a su bajo costo, y a su aceptable efectividad cuando se obtienen los aceites esenciales de manera correcta.
- Se sugiere el uso del aceite esencial de hinojo *Foeniculum vulgare* Mill. como agente repelente, sin embargo se debe aclarar la importancia de su reaplicación frecuente.
- Tener en cuenta en futuras investigaciones la posibilidad de mezclar un producto repelente cuya base sea la farmacología vegetal por sus múltiples ventajas mezclado con un producto con actividad protectora solar, lo que comercialmente podría considerarse como una estrategia innovadora para el cuidado corporal.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Introducción a la Industria de los Aceites Esenciales extraídos de Plantas Medicinales y Aromáticas by Sistema de Bibliotecas SENA [internet]. Bogotá: ISCIII: c2006. Servicio Nacional de aprendizaje; [citado 20 sep 2016]. [1 pantalla]. Disponible en [http://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion\\_industria\\_aceites\\_esencial\\_es\\_plantas\\_medicinales\\_aromaticas/pdf/ACEITES%20ESENCIALES%20EXTRAIDOS%20DE%20PLANTAS%20MEDICINALES%20Y%20AROMATICAS.pdf](http://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion_industria_aceites_esencial_es_plantas_medicinales_aromaticas/pdf/ACEITES%20ESENCIALES%20EXTRAIDOS%20DE%20PLANTAS%20MEDICINALES%20Y%20AROMATICAS.pdf)
2. Organización mundial de la salud OMS; c2016 [citado 20 sep 2017]. [1 pantalla]. Disponible en: [http://www.who.int/topics/tropical\\_diseases/es/](http://www.who.int/topics/tropical_diseases/es/)
3. Metcalf CL, Flint WP. Insectos destructivos e insectos útiles, sus costumbres y su control. 4ª ed. México: Continental S.A., México; 1979. 1208 p.
4. Entomologíaa2 [internet]. Bogotá: ISCII; c2007; [citado 10 sep 2016]. [1 pantalla]. Disponible en: [http://entomologiaa2b.blogspot.com.co/2007\\_05\\_01\\_archive.html](http://entomologiaa2b.blogspot.com.co/2007_05_01_archive.html)
5. Infografía Aedes aegypti. [Internet]. Organización mundial de la salud, Organización panamericana de la salud; Washington, D.C; c2016; [citado 27 feb 2017]. [1 pantalla]. Disponible en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=11661&Itemid=41735&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=11661&Itemid=41735&lang=es)
6. Matasyoh J, Wathuta E, Kariuki T, Chepkorir R. Chemical composition and larvicidal activity of Piper capense essential oil against the malaria vector Anopheles gambiae. Journal of Asia-Pacific Entomology [internet]. 2011 mar [citado 10 sep 2016]; 14(1):26–28. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1226861510001184>
7. Miresmailli S, Isman MB. Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. Trends in Plant Science [internet]. 2014 mar [citado 20 sep 2016]; 19(1):29-35. Disponible en: <http://dx.doi.org/sci-hub.cc/10.1016/j.tplants.2013.10.002>

8. Tripathi AK, Upadhyay S, Bhuiyan M, Bhattacharya PR. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy* [internet]. 2009 mar [citado 20 sep 2016]; 1(5):052-063. Disponible en: <http://www.academicjournals.org/sci-hub.cc/journal/JPP/article-abstract/370D4E01129>
9. Rocha DK, Matos O, Novo MT, Figueiredo AC et al. Larvicidal Activity Against *Aedes aegypti* of *Foeniculum vulgare* Essential Oils from Portugal and Cape Verde. *NPC Natural Product Communications* [Internet]. 2015 feb [citado 10 feb 2017]; 10(4):677-82. Disponible en: <http://cqib.fc.ul.pt/wp-content/uploads/2016/01/Larvicidal-Activity-Against-Aedes-aegypti-of-Foeniculum.pdf>
10. Stroh J, Wan MT, Isman MB, Moul DJ. 1998. Evaluation of the acute toxicity to juvenile Pacific coho salmon and rainbow trout of some plant essential oils, a formulated product, and the carrier. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* [Internet]. Jun 2010 [citado 10 nov 2016]; 60(6):923–930. Disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9606271>
11. Rattan RS. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection* [Internet]. Feb 2010 [citado 10 sep 2016]; 29:913-920. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9606271>
12. Consejo nacional de seguridad social en salud. Ministerio de salud, Republica de Colombia. Acuerdo número 117. Disponible en [http://www.ins.gov.co:81/normatividad/Acuerdos/ACUERDO%20117%20D E%201998.pdf?Mobile=1&Source=%2Fnormatividad%2F\\_layouts%2Fmobile%2Fview.aspx%3FList%3Dbbd5d0e6-696c-4a26-90a3-7748fd5ce807%26View%3De0c9b1eb-51af-4d9a-b12c-4a0ce987c922%26CurrentPage%3D1](http://www.ins.gov.co:81/normatividad/Acuerdos/ACUERDO%20117%20D E%201998.pdf?Mobile=1&Source=%2Fnormatividad%2F_layouts%2Fmobile%2Fview.aspx%3FList%3Dbbd5d0e6-696c-4a26-90a3-7748fd5ce807%26View%3De0c9b1eb-51af-4d9a-b12c-4a0ce987c922%26CurrentPage%3D1)
13. Informe. Aumento de defunciones relacionadas con enfermedades por arbovirus – Pernambuco, Brasil/actualización. Mayo 2016. Disponible en:

<http://files.sld.cu/vigilancia/files/2016/05/Informe-aumento-de-defunciones-relacionados-con-enfermedades-por-arbovir-.pdf>

14. Resistencia a los insecticidas. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Centro Nacional de Enfermedades Infecciosas Emergentes y Zoonóticas (NCEZID). 800-CDC-INFO (800-232-4636), TTY: 888-232-6348. Disponible en: <https://espanol.cdc.gov/enes/zika/vector/insecticide-resistance.html?mobile=nocontent>
15. Simon F. Emergencias de salud pública de importancia internacional: Una oportunidad para mejorar la seguridad sanitaria global. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. Mar 2016 [citado 20 feb 2017]; 34(4):219–221. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-emergencias-salud-publica-importancia-internacional--S0213005X16300477>
16. Martínez P, Suy A, Sánchez-Montalvá A, et al. Zika fever. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet] jun 2016 [citado 20 feb 2017]; 34:247–52. Disponible en: <http://sci-hub.cc/10.1016/j.eimc.2016.02.016>
17. Boletín epidemiológico semanal. Semana epidemiológica número 52 de 2016 [Internet]. Instituto Nacional de Salud – Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública; 2016 [citado 10 enero 2017] 93-119p. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn%20Epidemiolgico/2016%20Bolet%20C3%ADn%20epidemiol%20C3%B3gico%20semana%2052%20-.pdf>
18. Padilla J, Rojas D, Saenz R. Dengue en Colombia: Epidemiología de la reemergencia a la hiperendemia [Internet]. Bogotá: Guías de impresión LTDA; 2012 [citado 10 sept 2016]. 13p. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/INEC/INV/Dengue%20en%20Colombia.pdf>
19. Martínez E. Dengue. *Estud. Av* [Internet]. São Paulo; 2008 [citado 10 marzo de 2017]. 22:64. Disponible en:

[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-40142008000300004](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40142008000300004)

20. Gestantes con zika deben catalogarse como embarazos de alto riesgo. <sup>1</sup> Boletín de Prensa No 002 de 2016. Ministerio de Salud y Protección Social. Disponible en <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Gestantes-con-zika-deben-catalogarse-como-embarazos-de-alto-riesgo.aspx>
21. Quintero D, Osorio J, Martínez M. Competencia vectorial: consideraciones entomológicas y su influencia sobre la epidemiología del Dengue. Iatreia [Internet]. Jun 2010 [citado 1 marzo 2017]; 23:2. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-07932010000200006](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-07932010000200006)
22. Bisset J, Mondelo R, Rodríguez M, et al. Evaluación de la resistencia a insecticidas en *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) de Argentina. Rev Cubana Med Trop [Internet]. Dic 2014 [citado 1 marzo 2017]; 66:3. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0375-07602014000300005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602014000300005)
23. Conde M, Orjuela L, Castellanos C, et al. Evaluación de la sensibilidad a insecticidas en poblaciones de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) del departamento de Caldas, Colombia, en 2007 y 2011. Biomédica [Internet]. c2015 [citado 1 marzo 2017]; 35:43-52. Disponible en: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/2367>
24. Ruiz F, González A, Vélez A, et al. Presencia de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) y su infección natural con el virus del dengue en alturas no registradas para Colombia. Rev Biomédica [internet]. Abr 2016 [citado 10 abril 2017]; 36:303-8. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v36n2/v36n2a17.pdf>
25. Dengue memorias. Ministerio de salud y protección social, federación médica colombiana [Internet]. Bogotá D.C; 2012-2013. Iladiba educación en salud; [citado 10 abril 2017]. Disponible en: [https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/TH/Memorias\\_dengue.pdf](https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/TH/Memorias_dengue.pdf)

26. Guía de vigilancia entomológica y control de dengue. Ministerio de salud y protección social [Internet]. Bogotá D.C; c2010. Educación en salud; [citado 10 abril 2017]. Disponible en: [http://www.paho.org/col/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=1215&Itemid=](http://www.paho.org/col/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=1215&Itemid=)
27. Morales A, Olano V, Ferro C. 80 Años del INS: Una Historia, Un Compromiso. 1era edición. Bogotá D.C: Instituto nacional de salud, Laboratorio de Entomología: 1997, 1934 – 1997. 414 p.
28. Mirsa A. Datos experimentales sobre aspectos bioecológicos del *Aedes aegypti* (Linn), desarrollados en el laboratorio. Revista de sanidad y asistencia social [internet]. Caracas; 1957. [citado 10 febrero 2017]; 341. Disponible en: <http://catalogo.ins.gov.co/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=13825>
29. Cheong W. Preferred *Aedes aegypti* Larval Habitats in Urban Areas. *Bull Wild Hlth Org [internet]*. Kuala Lumpur, Malaysia; 1967. [citado 1 febrero 2017]; 36:586-589. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2476416/pdf/bullwho00598-0071.pdf>
30. Christophers R. The Yellow Fever Mosquito: Its Life History, Bionomics, and Structure. The syndics of the Cambridge University press [internet]. London; 1960. [citado 1 febrero 2017]; 739p. Disponible en: [http://www.dpi.inpe.br/geocxnets/wiki/lib/exe/fetch.php?media=wiki:christophers\\_1960.pdf](http://www.dpi.inpe.br/geocxnets/wiki/lib/exe/fetch.php?media=wiki:christophers_1960.pdf)
31. Soper F. The 1964 status of *Aedes aegypti* eradication and yellow fever in the Americas. *Am. J. Trop. Med. Hyg* [Internet]. Chicago; 1964. [citado 1 febrero 2017]; 14: 887- 891. Disponible en: <http://www.ajtmh.org/content/journals/10.4269/ajtmh.1965.14.887>
32. Center for Disease Control CDC, Bureau of Tropical Diseases. Vector Topics. N° 4. Biología y Control del *Aedes aegypti*. Atlanta Georgia; 1980. 77 p.

33. Rey J, Lounibos P. Ecología de *Aedes aegypti* y *Aedes albopictus* en América y transmisión de enfermedades. Rev biomédica [internet]. Florida; 2015. [citado 1 febrero 2017]; 35:2. Disponible en: <http://www.revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/2514/279>  
[3](#)
34. Gast A. Historia de la Fiebre amarilla en Colombia: Historia de los Vectores. Instituto Nacional de Salud. Santafé de Bogotá; 1982. 95 p.
35. Groot H. The Reinvasión of Colombia by *Aedes aegypti*: Aspects to Remember. *Am. J. Trop. Med. Hyg* [internet]. 1980. [citado 1 febrero 2017]; 29:330 – 338. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7386716>
36. Restrepo A, Robledo J, Bedoya V, et al. Fundamentos de Medicina: Enfermedades infecciosas. Quinta Edición. Corporación para Investigaciones Biológicas. Medellín, Colombia. 622 p.
37. Solomon E, Martín D, Berg L. Biología de Vilee. Tercera Edición. McGraw – Hill. Interamericana. México; 1996. 1193 p.
38. Schoof, H.F. 1967. Mating, Resting Habits and Dispersal of *Aedes aegypti*. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 36:600 – 601.
39. Tinker M. E. & Olano, V. A. 1993. Ecología del *Aedes aegypti* en un pueblo de Colombia, Sur América. *Biomédica*. 13: 5 – 14.
40. Klowden, M.J. & Lea A.O. 1978. Blood Meal Size as a Factor Affecting Continued Host – Seeking by *Aedes aegypti* (L.). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 27: 827 – 831.
41. Galun, R. 1967. Feeding Stimuli and Artificial Feeding. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 36:590 – 593.
42. Scott, T.W., Naksathit A., Day J.F., Kittayapong P. & Edman J.D. 1997. A Fitness Advantage for *Aedes aegypti* and the Viruses it Transmits when Females Feed only on Human Blood. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 57: 235 – 239.
43. Scott, T.W., Clark G.G., Lorenz L.H., Amerasinghe P.H., Reiter P. & Edman J.D.,. 1993. Detection of Multiple Blood Feeding in *Aedes aegypti*

- (Diptera:Culicidae) During a Single Gonotrophic Cycle Using a Histologic Technique. *J. Med. Entomol.* 30:94 – 99.
44. Day, J.F., Edman J.D. & Scott, T.W. 1994. Reproductive Fitness and Survivorship of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Maintained on Blood, with Field Observations from Thailand. *J. Med. Entomol.* 31: 611 – 617.
45. W.H.O. 1975. Manual on Practical Entomology in Malaria. Part II Methods and Techniques. W.H.O. Switzerland. 191 p.
46. Morrison, A.C., Costero A., Edman J.D., Clark G.G & Scott T.W. 1999. Increased Fecundity of *Aedes aegypti* Fed Human Blood Before Release in a Mark – Recapture Study in Puerto Rico. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 15:98 – 104.
47. Pant C.P. & Yasuno M. 1973. Field Studies on the Gonotrophic cycle of *Aedes aegypti* in Bangkok, Thailand. *J. Med. Entomol.* 10: 219 – 223.
48. Mather, T.N. & DeFoliart G.R. 1983. Effect of Host Blood Source on the Gonotrophic Cycle of *Aedes triseriatus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 32:189 – 193.
49. Surtees, G. 1967. Factors Affecting the Oviposition of *Aedes aegypti*. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 36:594 – 596.
50. Benavides, M.L., Realpe, L.O. & Fajardo, P. 1997. Evaluación del tiempo en que *Ae. aegypti* coloniza y desarrolla su fase acuática en los lavaderos de ropa de los barrios surorientales de Neiva. *Biomédica.* 14: 282 – 285.
51. Horsfall, W.R. 1972. Mosquitoes. Their bionomics and relation to disease. New York, Hafner Publishing Company, Inc. 723 p.
52. Forattini, O.S. 1965. Entomologia Médica. Volumen 2. Culicini: *Culex*, *Aedes* e *Psorophora*. Universidade de São Paulo. Brasil. 506 p.
53. Mazzacano, C.A., Vargas J.C., A.J. Mackay & J.C. Beier. 1998. *Plasmodium gallinaceum*: Effect of Insect Cells on Ookinete Development in Vitro. *Experiment. Parasitol.* 88:210 – 216
54. Suárez, O.M. & Bergold G.H. 1968. Investigations of an outbreak of Venezuelan equine encephalitis in towns of eastern Venezuela. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 17: 875 – 880.

55. Reyes – Villanueva F., Juárez M., Flores A. 1990. Effects of Sublethal Dosages of Abate Upon Adult Fecundity and Longevity of *Aedes aegypti*. *J. Amer. Mosq. Control Assoc.* 6:739 – 741.
56. Reyes – Villanueva F., Garza H. de la, Flores J.A. 1992. Efecto de Concentraciones Subletales de Abate sobre Algunos Parámetros Biológicos de *Aedes aegypti*. *Salud Pública de México.* 34:406 – 412.
57. Aedo C, Castroviejo S. Anthos. Sistema de información sobre plantas de España. [Internet]. Available from <http://www.anthos.es> [Accessed 2015 June 22].
58. Castroviejo S. Flora Ibérica: Plantas vasculares de la Península Ibérica e Islas Baleares. Vol. X. Araliaceae-Umbelliferae. Madrid: Real Jardín Botánico-CSIC; 2003.
59. Erskine-Odgen JA, Rejmánek M. Recovery of native plant communities after the control of a dominant invasive plant species, *Foeniculum vulgare*: Implications for management. *Biological Conservation.* 2005; 125:427-439.
60. Badgujar SB, Patel VV, Bandivdekar AH. *Foeniculum vulgare* Mill: A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application and Toxicology. *BioMed Research International.* 2014; Article ID 842674.
61. Silvestre, S. Contribución al estudio cariológico de la familia Umbelliferae en la península Ibérica. I. Lagascalia. 1976; 6(1):23-32.
62. Izco J. Botánica. 2ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2004.
63. Orden SCO/190/2004, de 28 de enero, por la que establece la lista de plantas cuya venta al público queda prohibida o restringida por razón de su toxicidad. Boletín Oficial del Estado núm. 32 de 6/2/2004.
64. Alonso J. El hinojo (*Foeniculum vulgare* Mill.) en las Ciencias Farmacéuticas. FACULTAD DE FARMACIA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE. Madrid 2015. Diponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/JOSE%20IGNACIO%20ALONSO%20ESTEBAN.pdf>

65. Alonso-Esteban JI, Longoni T, Matallana-González MC, Torija-Isasa ME. Valor nutritivo y propiedades funcionales del hinojo *Foeniculum vulgare*. En Serrano M, Valero D. (eds.) Actas de Horticultura núm. 71. Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas: Retos de la Nueva Agricultura Mediterránea; 2015 jun 2-5; Orihuela, Alicante. Sociedad Española de Ciencias Hortícolas; 2015. p. 441-444.
66. Belitz HD, Grosch W, Schieberle P. Food Chemistry. 4ed. Germany: Springer; 2009.
67. Lachenmeier DW, Emmert J, Kuballa T, Sartor G. Thujone-Cause of absinthism? Forensic Science International. 2006; 158:1-8.
68. Pelkonen O, Abass K, Wiesner J. Thujone and thujone-containing herbal medicinal and botanical products: Toxicological assessment. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2013; 65:100-105.
69. Barros L, Carvalho AM, Ferreira ICFR. The nutritional composition of fennel (*Foeniculum vulgare*): Shoots, leaves, stems and inflorescences. LWT-Food Science and Technology. 2010; 43:814-818.
70. USDA. National Nutrient Database for Standard Reference, National Agricultural Library. Full Report 02018, Spices, fennel seed. [Internet]. Available from <http://ndb.nal.usda.gov/> [Accessed 2014 June 4].
71. Reglamento (CE) nº 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo de 20 de diciembre de 2006 relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. Diario Oficial de la Unión Europea L 404/9 de 30/12/2006.
72. Directiva 2008/100/CE de la Comisión de 28 de octubre de 2008 por la que se modifica la Directiva 90/496/CEE del Consejo, relativa al etiquetado de propiedades nutritivas de los productos alimenticios, en lo que respecta a las cantidades diarias recomendadas, los factores de conversión de la energía y las definiciones. Diario Oficial de la Unión Europea L 285/9 de 29/10/2008.

73. Pighín AF, Rossi AL. Espinaca fresca, supercongelada y en conserva: contenido de vitamina C pre y post cocción. *Revista Chilena de Nutrición*. 2010; 37(2):201-207.
74. Morales-Gómez P. Vegetales silvestres de uso alimentario: determinación de compuestos bioactivos y valoración de la capacidad antioxidante [Tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2011.
75. García-Herrera P. Plantas silvestres de consumo tradicional en España: caracterización de su valor nutricional y estimación de su actividad antifúngica [Tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2014.
76. Rawson A, Hossain MB, Patras A, Tuohy M, Brunton N. Effect of boiling and roasting on the polyacetylene and polyphenol content of fennel (*Foeniculum vulgare*) bulb. *Food Research International*. 2013; 50:513-518.
77. Rawson A, Brunton NP, Rai DK, McLoughlin P, Tiwari BK, Tuohy MG. Stability of falcarinol type polyacetylenes during processing of Apiaceae vegetables. *Trends in Food Science & Technology*. 2013; 30:133-141.
78. Pastorello EA, Farioli L, Satafyaraki C, Scibilia J, Giuffrida MG, Mascheri A, Piantanida M, Baro C, Primavesi L, Nichelatti M, Schroeder JW, Pravettoni V. Fennel allergy is a lipid-transfer protein (LTP)-related food hypersensitivity associated with peach allergy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013; 61(3):740-746.
79. Telci I, Demirtas I, Sahin A. Variation in plant properties and essential oil composition of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruits during stages of maturity. *Industrial Crops and Products*. 2009; 30:126-130.
80. Brunton J. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. 2ed. Zaragoza: Acribia; 2001.
81. Reiter M, Brandt W. Relaxant effects on tracheal and ileal smooth muscles of the guinea pig. *Arzneimittel-Forschung*. 1985; 20(6):408-414.
82. Rocha D, Matos O, Novo M, et al. Larvicidal Activity Against *Aedes aegypti* of *Foeniculum vulgare* Essential Oils from Portugal and Cape Verde. Npc.

2015. Disponible en: <http://cqb.fc.ul.pt/wp-content/uploads/2016/01/Larvicidal-Activity-Against-Aedes-aegypti-of-Foeniculum.pdf>

83. Directiva 2004/24/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 31 de marzo de 2004 por la que se modifica, en lo que se refiere a los medicamentos tradicionales a base de plantas, la Directiva 2001/83/CE por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos para uso humano. DOUE L 136/85 de 30/4/2004. Diario Oficial de la Unión Europea.
84. Real Decreto 1345/2007, de 11 de octubre, por el que se regula el procedimiento de autorización, registro y condiciones de dispensación de los medicamentos de uso humano fabricados industrialmente. Boletín Oficial del Estado núm. 267 de 7/11/2007.
85. AEMPS-CIMA. Ficha técnica Arkocápsulas Hinojo. [Internet]. Available from [http://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/74026/FT\\_74026.pdf](http://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/74026/FT_74026.pdf) [Accesed 2015 June 27].
86. Real Farmacopea Española. 5ed. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad; 2015.
87. EMEA-HMPC. Community herbal monograph on *Foeniculum vulgare* Miller subsp. *vulgare*, var. *dulce* (Miller) Thellung, fructus. [Internet]. Available from [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Herbal\\_-\\_Community\\_herbal\\_monograph/2009/12/WC500018540.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_Community_herbal_monograph/2009/12/WC500018540.pdf) [Accesed 2015 June 27].
88. EMEA-HMPC. Community herbal monograph on *Foeniculum vulgare* Miller subsp. *vulgare*, var. *vulgare*, fructus. [Internet]. Available from [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Herbal\\_-\\_Community\\_herbal\\_monograph/2009/12/WC500018464.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_Community_herbal_monograph/2009/12/WC500018464.pdf) [Accesed 2015 June 27].
89. EMEA-HMPC. Community herbal monograph on *Foeniculum vulgare* Miller subsp. *vulgare*, var. *vulgare*, aetheroleum. [Internet]. Available from [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Herbal\\_-\\_](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Herbal_-_)

[Community herbal monograph/2009/12/WC500018480.pdf](#) [Accesed 2015 June 27].

90. Giosafatto CVL, Mariniello L, Ring S. Extraction and characterization of *Foeniculum vulgare* pectins and their use for preparing biopolymer films in the presence of phaseolin protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2007; 55:1237-1240.
91. Expósito-Harris R. Quitosano, un biopolímero con aplicaciones en sistemas de liberación controlada de fármacos [Tesis doctoral]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid; 2010.
92. Kim D, Kim S, Chang K, Ahn Y. Repellent activity of constituents identified in *Foeniculum vulgare* fruit against *Aedes aegypti* (diptera: Culicidae) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;50(24):6993–6996. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12428949>
93. Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases. National agricultural library. Disponible en: <https://phytochem.nal.usda.gov/phytochem/plants/show/923?qlookup=&offset=920&max=20&et=#act-74740-close>
94. Kuri-Morales P, Correa-Morales F, González-Acosta C, et al. Repellency of 29 Synthetic and Natural Commercial Topical Insect Repellents Against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Central Mexico. *J Med Entomol* tix076. 2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28402436>
95. Miller J.R., Siegert P.Y., Amimo F.A., and Walker E.D.: Designation of chemicals in terms of the locomotor responses they elicit from insects: an update of Dethier et al. (1960). *J Econ Entomol* 2009; 102: pp. 2056-2060.
96. Rudin W.: Schutz vor Insekten. *Therapeutische Umschau* 2005; 62: pp. 0713-0718
97. Brown M., and Hebert A.A.: Insect repellents: an overview. *J Am Acad Dermatol* 1997; 36: pp. 243-249.
98. Bissinger B.W., and Roe R.M.: Tick repellents: past, present, and future. *Pestic Biochem Physiol* 2010; 96: pp. 63-79

99. Maibach H.I., Khan A.A., and Akers W.: Use of insect repellents for maximum efficacy. *Arch Dermatol* 1974; 109: pp. 32-35.
100. Griffin B.A., and Lagakos S.W.: Design and analysis of arm-in-cage experiments: inference for three-state progressive disease models with common periodic observation times. *Biometrics* 2008; 64: pp. 337-344
101. Debboun M, Frances S, Strickman D. Insect repellents: principles, methods and uses. CRC Press. Boca ratón, FL 2007; 5:103-110
102. Elango G., Abduz Zahir A., Bagavan A., Kamaraj C., Rajakumar G., and Santhoshkumar T.: Efficacy of indigenous plant extracts on the malaria vector . *Indian J Med Res* 2011; 134: pp. 375-383
103. Trongtokit Y., Rongsriyam Y., Komalamisra N., Krisadaphong P., and Apiwathnasorn C.: Laboratory and field trial of developing medicinal local thai plan products against four species of mosquito vectors. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2004; 35: pp. 325-333.
104. Kwon H.W., Kim S.-I., Chang K.-S., Clark J.M., and Ahn Y.-J.: Enhanced repellency of Binary mixtures of . *J Med Entomol* 2011; 48: pp. 61-66.
105. Naucke T.J., Kröpke R., Benner G., Schulz J., Wittern K.P., and Rose A.: Field evaluation of the efficacy of proprietary repellent formulations with IR3535 and picaridin against . *Parasitol Res* 2007; 101: pp. 169-177.
106. Kamsuk K., Choochote W., Chaithong U., Jitpakdi A., Tippawangkosol P., and Riyong D.: Effectiveness of . *Parasitol Res* 2007; 100: pp. 339-345.
107. Thavara U., Tawatsin A., Chompoosri J., Suwonkerd W., Chansang U.R., and Asavadachanukorn P.: Laboratory and field evaluations of the insect repellent 3535 (ethyl butylacetylaminopropionate) and deet against mosquito vectors in Thailand. *J Am Mosq Control Assoc* 2001; 17: pp. 190-195.
108. Carroll S.P., and Loye J.: PMD, a registered botanical mosquito repellent with deet-like efficacy. *J Am Mosq Control Assoc* 2006; 22: pp. 507-514

109. Costantini C., Badolo A., and Ilboudo-Sanogo E.: Field evaluation of the efficacy and persistence of insect repellents DEET, IR3535, and KBR 3023 against . *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2004; 98: pp. 644-652
110. Badolo A., Ilboudo-Sanogo E., Ouédraogo A.P., and Costantini C.: Evaluation of the sensitivity of . *Trop Med Int Health* 2004; 9: pp. 330-334

## ANEXOS

### ANEXO A. Reporte herbario nacional



COL - 82  
Bogotá D.C., 13 de marzo de 2017

Señores  
**Juliana Daza Peláez**  
Ciudad

Asunto: **Identificación Taxonómica.**

Cordial Saludo,

Me permito dar respuesta a su solicitud referente a la identificación taxonómica de la(s) muestra(s) botánica(s):

cs Nombre: *Foeniculum vulgare* Mill.  
cs Familia: APIACEAE  
No. COL 595899  
Colector Gustavo Gómez  
No. Colecta 1  
Determinó O. Rivera-Díaz/2017

Esta certificación no es válida para trámites ante el INVIMA o el ICA. El (Los) pliego(s) testigo(s) quedará(n) como muestra permanente en nuestro herbario.

**Prof. CARLOS ALBERTO PARRA**  
Administrador General  
Herbario Nacional Colombiano –COL  
Universidad Nacional de Colombia  
E-mail: herbacol\_fcbog@unal.edu.co

Copia: Archivo COL  
[Firma]

---

Carrera 30 No. 45-03, INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES,  
"HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO (COL)" Edificio 425- 2º piso, Oficina 222  
Conmutador: (57-1) 316 5000 Ext.11538 – 11518 Fax: 11538  
Correo electrónico: herbacol\_fcbog@unal.edu.co  
Bogotá, Colombia, Sur América

ANEXO B. Reporte Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

<b>HINOJO CROMATOGRAFIA DE GASES</b>			
<b>tr</b>	<b>% Coincidencia</b>	<b>% Área</b>	<b>Nombre Compuesto</b>
11.30	92.3	0.04	2-Thujene
11.55	93.6	3.91	1R-à-Pinene
13.52	91.5	10.07	à-Phellandrene
14.35	95.0	2.6	á-Phellandrene
16.37	95	0.71	2-Norbornanone, 1,3,3-trimethylO
20.09	95.3	6.41	Estragole
23.20	94.9	64.43	Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-
28.92	92.9	0.05	á-Phenylethyl butyrate
30.99	91.9	0.02	Cadina-3,9-diene