



**UNAP**



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**TESIS**

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICO Y ESPECTROMETRÍA ULTRAVIOLETA  
VISIBLE DE LA ISOFLAVONA AISLADO DE *Swartzia simplex* Y SU SIMILITUD  
FILOGENÉTICA CON BIOCHANINA A**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE**

**QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**PRESENTADO POR:**

**KATHERINE GARCIA RENGIFO  
JEAN FRANCO MARIN CHISTAMA**

**ASESOR**

**Ing. CLETO JARA HERRERA, Mtro.**

**IQUITOS, PERÚ**

**2022**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN



Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°049-PCGT-FFyB-UNAP-2022/OFICIO N°125-DINV-UNAP-2021

En el caserío de Nina Rumi, distrito de San Juan Bautista, departamento de Loreto, a los 31 días del mes de mayo de 2022, a horas 10:00, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICO Y ESPECTROMETRÍA ULTRAVIOLETA VISIBLE DE LA *Isoflavona aislada* DE *Swartzia simplex* Y SU SIMILITUD *Filogenética* CON *Biochanina A*", aprobada con Resolución Decanal N°128-2022-FFyB-UNAP, presentada por los bachilleres: Katherine Garcia Rengifo y Jean Franco Marin Chistama, para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°082-2022-FFyB-UNAP, está integrada por:

- |   |            |
|---|------------|
| - Ing. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra. | Presidente |
| - Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Dr.    | Miembro    |
| - Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.              | Miembro    |

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: ADECUADAMENTE

El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:


La sustentación pública de la tesis ha sido APROBADA con la calificación BUENA

Estando los bachilleres aptos para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Siendo las 11:00 se dio por terminado el acto ACADÉMICO

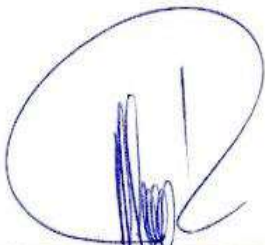
  
Ing. REYNA GLADYS CÁRDENAS VDA. DE REÁTEGUI, Dra.  
Presidente

  
Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Dr.  
Miembro

  
Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.  
Miembro

  
Ing. CLETO JARA HERRERA, Mtro.  
Asesor

## JURADOS Y ASESOR



---

Ing. Reyna Gladys Cárdenas vda. de Reátegui, Dra.  
Presidente de Jurado calificador y dictaminador  
CIP: 28912



---

Q.F. Carlos Enrique Calloapaza Valladares, Dr.  
Miembro de Jurado calificador y dictaminador  
CQFP: 05274



---

Q.F. Frida Enriqueta Sosa Amay, Dra.  
Miembro de Jurado calificador y dictaminador  
CQFP: 3468



---

ING. CLETO JARA HERRERA, Mtro.  
Asesor  
CIP:63042

## DEDICATORIA

Es trabajo va dedicado a Dios, quien como guía estuvo presente en el caminar de mi vida, bendiciéndome y dándome fuerzas para continuar con mis metas trazadas sin desfallecer. A mis padres que, con su apoyo incondicional, amor y confianza permitieron que logre culminar mi carrera profesional

***Katherine García Rengifo***

A mis padres Fernando y Gretel por su amor y soporte que han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por haber inculcado con ejemplos de esfuerzo y valentía, de no temer las adversidades porque Dios está conmigo siempre. A mi hermana Flavia por su cariño y apoyo incondicional; finalmente agradecer a todo mi familia por apoyarme cuando más lo necesitaba

***Jean Franco Marin Chistama***

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a todos los ingenieros que me ayudaron con las inquietudes durante el desarrollo de este proyecto y su culminación porque me brindaron la información necesaria en el tema de estudio y a todas las personas que de una u otra manera aportaron para el desarrollo de este trabajo.

Expresar mi gratitud a Dios por bendecirme en todo momento. Mi profundo agradecimiento a todos los docentes de la Facultad de Farmacia y bioquímica por sus enseñanzas y valiosos conocimientos que gracias a ello pude formarme profesionalmente; finalmente agradecer a los Ings. Julio Arce y Cleto Jara, principales colaboradores que con su dirección y conocimientos se pudo avanzar hasta culminar este trabajo

***Katherine García Rengifo y Jean Franco Marin Chistama***

## ÍNDICE

<b>PORTADA</b>	i
<b>ACTA DE SUSTENTACIÓN</b>	ii
<b>JURADOS Y ASESORES</b>	iii
<b>DEDICATORIA</b>	iv
<b>AGRADECIMIENTO</b>	v
<b>ÍNDICE</b>	vi
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	viii
<b>RESUMEN</b>	ix
<b>ABSTRACT</b>	x
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO</b>	3
1.1. Antecedentes	3
1.2. Bases teóricas	5
1.2.1. Especie en estudio	5
1.2.2. Biochanina A	6
1.2.3. Biogénesis de Biochanina A	7
1.2.4. Método de aislamiento de la biochanina A	8
1.2.5. Determinación de los parámetros fisicoquímicos	8
1.2.6. Caracterización por espectrometría UV/visible de Biochanina A	11
1.3. Definición de términos básicos	11
<b>CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES</b>	13
2.1. Formulación de la hipótesis	13
2.2. Variables de estudio y su operacionalización	13
2.2.1. Variable de Estudio	13

<b>2.2.2. Operacionalización de Variables</b>	14
<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA</b>	15
<b>3.1. Diseño metodológico</b>	15
<b>3.2. Diseño muestral</b>	15
<b>3.3. Procedimiento de recolección de datos</b>	16
<b>3.4. Procesamiento y análisis de datos</b>	19
<b>3.5. Aspectos éticos</b>	24
<b>CAPITULO IV: RESULTADOS</b>	25
<b>4.1. Rendimiento de Bichanina A</b>	25
<b>4.2. Valores de los parámetros fisicoquímicos</b>	25
<b>4.3. Mediciones de longitud de onda</b>	25
<b>CAPÍTULO V: DISCUSIÓN</b>	26
<b>CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES</b>	28
<b>CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES</b>	29
<b>CAPÍTULO VIII: REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	30
<b>ANEXOS</b>	33

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Biogénesis de Biochanina A (19).	7
<b>Figura 2.</b> Esquema de una cromatografía bidimensional en papel whatmann 3MM	9
<b>Figura 3.</b> Diagrama de Bloque de la obtención de Biochanina A	20

## RESUMEN

Las isoflavonas constituyen motivo de estudio por sus grandes propiedades bioactivos en la salud humana, dentro de este grupo se encuentra biochanina A, que se comporta como un singular fitoestrógeno por su conformación estrogénica similar a estos; pero también porque evidencia protección cardiovascular dado a sus efectos hipocolesterolémicos. El objetivo del estudio fue aislar y caracterizar la isoflavona del duramen de *Swartzia simplex* de una muestra de esta especie que guarda relación filogenética con *S. polyphylla* recolectada en el Arboretum “El Huayo” de la Facultad de Ingeniería Forestal de la UNAP, ubicado entre los caseríos de Zungarococha y Nina Rumi, Distrito de San Juan Bautista, Provincia de Maynas, Región Loreto. El producto purificado se identificó y caracterizó mediante la determinación de sus parámetros fisicoquímicos y espectrométricos UV-visible. Los resultados fueron los siguientes: Punto de fusión 216 °C, valor de R<sub>f</sub> en TLC corrido en solución 2% de Metanol: 98% de diclorometano fue 50, Peso Molecular 284,262 g/mol y las longitudes de ondas de absorción máxima en metanol fueron 261, 330 sh nm y en metanol acetato de sodio fue 272, 327 nm. Estos resultados son similares a los que muestra la literatura para biochanina A.

**Palabras clave.** *Swartzia simplex*, Biochanina A, Caracterización fisicoquímica, espectrometría UV-visible.

## ABSTRACT

Isoflavones are a subject of study due to their great bioactive properties in human health, within this group is biochanin A, which behaves as a unique phytoestrogen due to its estrogenic conformation similar to these; but also, because it shows cardiovascular protection due to its hypocholesterolemic effects. The objective of the study was to isolate and characterize the isoflavone from the heartwood of *Swartzia simplex* from a sample of this species that is phylogenetically related to *S. polyphylla* collected at the "El Huayo" Arboretum of the Faculty of Forestry Engineering of the UNAP, located between the Zungarococha and Nina Rumi hamlets, District of San Juan Bautista, Province of Maynas, Loreto Region. The purified product was identified and characterized by determining its physicochemical and UV-visible spectrometric parameters. The results were as follows: Melting point 216 °C, Rf value in TLC run in 2% Methanol solution: 98% dichloromethane was 50, Molecular Weight 284.262 g/mol and wavelengths of maximum absorption in methanol were sh 261.330 nm and in sodium acetate methanol it was 272.327 nm. These results are similar to those shown in the literature for biochanin A.

**Keywords.** *Swartzia simplex*, Biochanin A, Physicochemical characterization, UV-visible spectrometry.

## INTRODUCCIÓN

Soukup reporta para la Amazonía peruana varias especies del género *Swartzia* tales como: *S. amplifolia*, *S. arborescens*, *S. brachyrachis*, *S. cardiosperma*, *S. cuspidata*, *S. macrophylla*, *S. péndula*, *S. polyphylla* (1). Además, Duke *et al.*, menciona la presencia de *S. laevicarpa* y *Swartzia simplex* (2); de estas especies citados por ambos autores, solo ha sido estudiado *S. polyphylla* de la que se obtuvo Biochanina A (3), pero también de esta misma especie se ha aislado aceites esenciales (4). En lo referente a *Swartzia simplex* no tiene estudios previos en relación a su presencia de isoflavonas, en este contexto fue preciso realizar su estudio.

En la Familia Fabaceae (o Papilionideae) están presentes Isoflavonas como Daidzeina, Genisteina, formononetina y Biochanina A, siendo conocida la monofilia de las Fabaceae, sus diversas características morfológicas y de las de secuenciación del ADN hacen pensar que las Isoflavonas son estructuras químicas que son comunes a los subgrupos: Cesalpinoideae, Mimosoideae, y Faboideae de la familia Fabaceae, dentro de esta familia está presente el género *Swartzia* que posee 130 especies (5). Biochanina A fue aislado de *Trifolium pratense* conocido como Trébol rojo (6), del duramen de *Swartzia polyphylla* (7) y de los frutos de *Cassia fistula* “caña fistula” (8).

Biochanina A, como isoflavona es de gran importancia por su amplia actividad biológica como Fitoestrógeno un compuesto químico no esteroideo que se encuentra en los vegetales con similar actividad que los estrógenos humanos por su estructura conformacional parecida a los estrógenos, con acción similar u opuesta a éstos y se usa en el tratamiento de la menopausia, post – menopausia y sus secuelas, normalmente se encuentra en pequeñas cantidades en los alimentos. Cuando fue aislado de trébol rojo (*Trifolium repens*) y de otras leguminosas atrajo considerable atención de los investigadores en los últimos años, debido a su amplio espectro de actividades farmacológicas, además, exhibe actividades biológicas multifacéticas como neuroprotector, anticanceroso, antioxidante, antiinflamatorio, osteogénico, antíhiperglucémico y protector de la integridad y función de las células endoteliales (9).

El propósito de obtener Biochanina A del género *Swartzia* de considerable abundancia en la Amazonía para demostrar que este género de las fabáceas puede representar una gran alternativa frente a plantas que poseen menor biomasa vegetal y están sujetos a la temporalidad de la siembra y cosecha mientras *S. simplex* es un árbol que para obtener Biochanina A, se utilizará por sistema de poda de sus ramas gruesas.

Además de las propiedades bioactivas ya señalados, esta isoflavona modula la transcripción de la información genética; es decir permite copias del ARN mensajero del ADN el ARNm, que transporta la información genética necesaria para que se elabore las proteínas en una célula, promueve la apoptosis, una vía de muerte celular programado realizada por el mismo organismo con el fin de controlar su desarrollo y crecimiento y deshacerse de células anormales o innecesarias al metabolismo y favoreciendo respuestas inmunitarias. Los estudios epidemiológicos indican que las poblaciones con una alta ingesta de Isoflavonas como Genisteína, Biochanina A: daidzeína, formononetina, etc., experimentan tasas más bajas de varios tipo de cáncer: mama, próstata, vejiga, colon, de suerte que las Isoflavonas en general se consideran como quimioprotectores y pueden usarse como terapia alternativa para una amplia gama de trastornos hormonales, de suerte que ya existen extractos de plantas disponibles comercialmente en base a sus beneficios para la salud humana, y son inócuos (10), estas bondades de las isoflavonas nos permitirá abordar el estudio de *S. simplex* una especie abundante y disponible en la Amazonía peruana, en el que aplicando métodos adecuados podemos lograr su aislamiento y caracterización.

En base a estas consideraciones, el objetivo del presente trabajo consistió en extraer Biochanina A de *S. simplex*, caracterizar por determinación de sus propiedades fisicoquímicas y espectrométricas y comparar con la información existente en la literatura.

## CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes

**Oza et al.** (2018) en su artículo “La Biochanina A mejora la sensibilidad a la insulina y controla la hiperglucemia en la Diabetes tipo 2” señala que se indujo diabetes tipo 2 en animales de experimentación, por lo cual se manipuló la dieta impartiendo un alto contenido en grasas durante 14 días y luego se administró estreptozotocina por vía intraperitoneal a dosis de 35 mg/kg para inducir hiperglucemia. Estos animales diabéticos fueron tratados con 10, 20 y 40 mg de Biochanina A por kilogramo de peso durante 28 días. Evaluaron cambios del peso corporal, parámetros bioquímicos, índice de sensibilidad a la insulina, la resistencia hemostática a la insulina (HOMAIR), tolerancia a la glucosa oral, glucohemoglobina, nivel de glucógeno hepático, los cambios en las características histológicas del tejido pancreático y la inmunohistoquímica del tejido pancreático para la expresión de SIRT1. Los resultados mostraron que las dosis de Biochanina A redujeron significativamente la glucosa en sangre, la dosis de 40 mg/kg de peso redujo la tolerancia a la glucosa en animales diabéticos (14).

**Parveen et al.** (2015), en el artículo “Isolation of Biochanina A an isoflavona and its selective sensing of cooper (II) Ion”, señala que Biochanina A una Isoflavona natural O-metilado es utilizada como sonda sonora de iones Cu (II) con buena selectividad y sensibilidad y la sonda del sensor de Biochanina A exhibe extinción selectiva de la fluorescencia mediante una transformación de carga intramolecular tras la adición de Cu<sup>2+</sup> que forma un complejo (Biochanina A – Cu<sup>2+</sup>) (13).

**Fevre et al.** (2013), en su artículo “Anti cándida Cassañe Type Diterpenoides from The Root Bark Of *Swartzia Simplex*”, señala que usó metanol, agua, diclorometano para extraer los componentes de la raíz de la planta recolectada en Panamá, cada extracto fue liofilizado, pero solo el extracto diclorometano fue analizado para la determinación de sus componentes por HPLC, UHPLC- HRESIMS y MPLC, y para la elucidación de sus estructuras usaron resonancia magnética nuclear y HREIMS. Separaron 14

diterpenos de los cuales 7 son compuestos antimicóticos nuevos: simplexena A (5S,10S)-11-15(R)-Dihidroxi-12-Metoxi, swartziarboreal G, Simplexene B, Simplexene C, simplexene D, 11-12 Dihidroxi-15,16-Dihydro Swartzia arbored C, simplexene E, también evaluó con esos componentes las propiedades antifúngicas contra Cepas de *Candida albicans* con resultados positivo (12).

**Ling et al.** (2011), en su artículo “In vitro and In vivo Melanogénesis inhibition Biochanina A from *Trifolium pratense*”, señala que el extracto metanólico de esta planta ejerce potente actividad de inhibición melanogénica en células del melanoma B16, siendo el responsable de esta actividad Biochanina A identificado por RMNH y C-13 y por espectrometría de masas (11).

**Sartorelli et al.** (2009), en el artículo “Antiparasitic activity of biochanin A, an isolated isoflavone from fruits of *Cassia fistula* (Leguminosae)”, señala que aisló Biochanina A, de los frutos de *C. fistula* macerado con metanol, el filtrado fue fraccionado con solventes de polaridad creciente: hexano, diclorometano, acetato de etilo y butanol, siendo la fracción diclorometano del que se aisló Biochanina A, mediante cromatografía de columna usando como soporte sílice gel, recogió 19 fracciones, la fracción 19-1 fue llevado a RMN de protones que permitió elucidar su estructura como 5, 7 dihidroxi, 4' metoxi isoflavona ó Biochanina A (8).

**Judd et al.** (2002), señala que existen 130 especies de Género Swartzia, Familia Fabaceae cuya característica filogenética es de ser monofilética es decir que todos los integrantes de esta familia comparten un mismo antepasado común del cual se originaron por eso no es casual que se puede encontrar Biochanina A en los géneros *Trifolium*, *Cassia* y en el Género Swartzia, esto explica además que puede existir más especies de este último género en el que puede estar presente esta isoflavona (5).

**Osawak et al.** (1992), en su artículo. “Isoflavones from the heartwood of *Swartzia polyphylla* and their antibacterial activity against Cariogenic bacteria”, señala que separó del extracto metanólico del duramen de *S. polyphylla* 7 flavonoides de los

cuales tres Isoflavonas son conocidos: dihidrobiochanina A, Ferreirina y darbergioidina y una nueva isoflavonona, 5,2',4'-trihidroxi-7-metoxiisoflavonona (dihidrocajanina) los otros 4 flavonoides no tienen actividad conocida pero las citadas isoflavonas poseen actividad antibacteriana contra bacterias cariogénicos responsable de la caries dental (7).

**Pope et al.** (1953), en su artículo "Isolation of an *Trifolium pratense* oestrogénic Isoflavon (Biochanina A) from red clover", señala que por cromatografía de partición usando columnas de Celice 545, aisló del Trébol rojo un compuesto cristalino que lo identificó basándose en sus propiedades físicas y mediante preparación de derivados como el 5,7 dihidroxy-isoflavona y resultó ser Biochanina A. Además, usando la sustancia aislada por el método de peso uterino del ratón se encontró que muestra actividad estrogénica tan igual que Genisteína (6).

## **1.2. Bases teóricas**

### **1.2.1. Especie en estudio**

#### **A) *Swartzia simplex***

##### **A.1) Identificación Botánica**

Esta planta fue clasificada en el Herbarium de la Amazonia CIRNA-UNAP por el especialista (ver anexo 1), y responde a la clasificación siguiente:

Reino	: Plantae
Sub reino	: Traqueobionta
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Fabales
Familia	: Fabaceae (Leguminosae)

Sub familia : Faboideae  
Género : Swartzia  
Especie : *Swartzia simplex* (Sw) spreng

## **A.2) Descripción botánica**

*S. simplex* pertenece a la familia Fabaceae cuyo género se compone de 130 especies de considerable abundancia en el bosque amazónico primario, árbol de hasta 20 m de altura de hojas simples y alternas de 3,12 x 2,6 cm de forma elíptica con ápice agudo (5). Copa con follaje denso y lustroso. Tronco irregular y torcido. Corteza exterior blanca y con puntos negros y manchas verdes o gris. Ramitas terminales cubiertas de lenticelos blancos. Estípulas pequeñas y persistentes. Pecíolo de 0,5-1 cm de largo, ligeramente alado. Flores amarillas. Frutos en legumbres, de 2,5-5 cm de largo, verdes, tornándose anaranjados y dehiscentes al madurar. Semillas negras, rodeadas parcialmente de un arilo blanco (15,16).

## **A.3) Distribución ecológica**

Ampliamente distribuido en regiones tropicales del mundo, Sudamérica, Centro América, África (2).

## **A.4) Uso e información etnobotánica**

La madera es empleada en construcciones de viviendas rústicas, postes de cercas, mangos de herramientas. La etnia “Cuna” de Panamá usa los extractos de frutos y hojas para dolores cerebrales para lo cual se lavan la cabeza continuamente con el extracto; los “kubeos” usan las hojas en el tratamiento de la hepatitis (2).

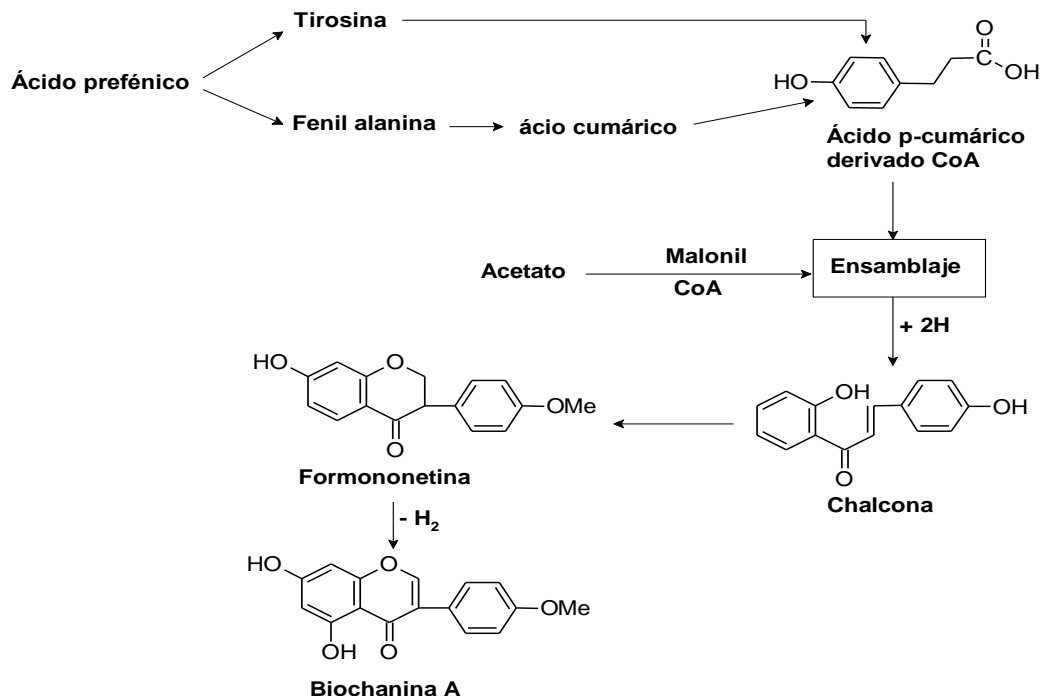
### **1.2.2. Biochanina A**

Es una isoflavona o-metilada en posición 4' se denomina 5,7 dihidroxi, 4'-metoxi Isoflavona ó 5, 7-dihidroxy-3-(4-metoxifenil) Cromen-4-ona. Se comporta como un

Fitoestrógeno, tan igual al papel que cumplen las Isoflavonas de la soya: Daidzeina, Genisteina, Formononetina, etc. Cuando la Biochanina A se halla en el colon, la flora colónica la transforma en Genisteina por eso posee actividad postmenopáusicas en las mujeres (17), pero también evidencia protección cardiovascular dado a sus efectos hipocolesterolémicos (18), y se le asigna beneficios en la profilaxis del cáncer, especialmente mamario cuando la paciente manifiesta ser receptora estrogénica negativa, también inhibe el ácido graso hidrolasa amida y actúa como antagonista del PPA gamma que es proliferador de peroxisomas que producen peróxido de hidrógeno que en exceso contribuyen al estrés metabólico con consecuencias irreparables en el daño celular (11).

### 1.2.3. Biogénesis de Biochanina A

Biogénesis de Biochanina A: Como todas las flavonas sigue la vía de los Shikimatos con transposición del anillo B de posición 2 a posición 3.



**Figura 1.** Biogénesis de Biochanina A (19).

#### **1.2.4. Método de aislamiento de la biochanina A**

La Biochanina A es una isoflavona estructuralmente sin contenido de azúcar (aglicona) que difiere de la Genisteina por el grupo metoxilo que posee en posición 4', como aglicona no tiene sustituyentes O-glucósidos (19). Para poder aislarlo de los vegetales se requiere diferenciar las características de solubilidad en relación con las isoflavonas azucaradas solubles en solventes polares. Para una adecuada separación de esta isoflavona se debe tratar el extracto alcohólico-acuoso con una mezcla de disolventes de baja polaridad ya que, en una partición de fases, de la fase acuosa se extraen las isoflavonas de estructura glucosídica, mientras que las isoflavonas que están en forma de agliconas como el caso de Biochanina A son insolubles en agua, pero solubles en solventes orgánicos como: cloroformo, diclorometano, acetona, acetato de etilo, medio en el que son aislados.

El procedimiento más adecuado es utilizar 60 % de alcohol en agua por lo cual el material vegetal que contiene la isoflavona (Biochanina A) se expone a la mezcla agua-solvente orgánico, el tiempo de exposición es inversamente proporcional a la temperatura de la mezcla, esto puede oscilar entre la temperatura ambiente y la temperatura de ebullición, el tiempo de exposición puede estar comprendido entre una hora y 4 semanas o aún más. Se ha determinado que los tiempos adecuados para la extracción máxima de la isoflavona es de 2 semanas a 50° C y 24 horas a 90°C (8).

El sobrenadante se separa del material vegetal no disuelto con el disolvente apolar que luego se elimina por destilación, la fracción acuosa puede contener las isoflavonas glucosídicas mientras que en las fracciones apolares se halla la Biochanina A que luego se cristaliza. También se puede extraer en columna cromatográfica con Sílice gel usando como solvente de elución una mezcla 94 % de cloroformo y 6% de Etanol (20).

#### **1.2.5. Determinación de los parámetros fisicoquímicos**

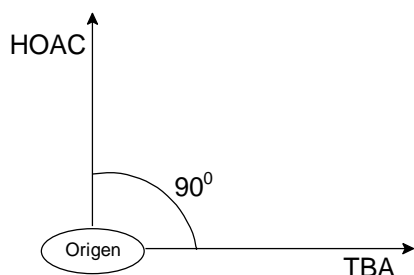
## A. Punto de fusión

El punto de fusión es una forma indirecta de identificación de compuesto desconocido esta propiedad física mide el intervalo de temperatura en el cual un compuesto pasa de su fase sólida o líquida.

El método tradicional para probar si dos sólidos son idénticos es decir si el patrón auténtico (sustancia de comparación de alta pureza) es idéntico al compuesto desconocido, se logra usando una mezcla de ambas muestras si no hay depresión en el punto de fusión, es decir es invariable el Punto de fusión del patrón auténtico y de la muestra en estudio ya que ambos se funden a un mismo punto de fusión, quiere decir que el compuesto desconocido es idéntico (21).

## B. Valores de hRf por cromatografía de papel bidimensional

El desarrollo se realiza en una cromatocabina y la distribución de flavonoides sobre solventes TBA/HOAC en cromatografía bidimensional de papel se desarrolla siguiendo el camino siguiente:



**Figura 2.** Esquema de una cromatografía bidimensional en papel whatmann 3MM

**Fuente.** Mabry T. J et al. The Systematic Identification of flavonoides

Primero se corre en la posición del TBA por 24 horas y luego cuando se halla seco la hoja de papel Whatmann 3 MM se acomoda el papel en una posición de giro de 90 grados para que corre en HOAC (15ml) y 85 ml de agua. Para Biochanina A los valores de Rf son los siguientes: En TBA 0,89 y en HOAC 0,30 o en hRf TBA 89 y en HOAC 30.

### C. Valores de hRf en cromatografía TLC para Biochanina A

Devlin Jhon P. PhD, aisló Biochanina A usando como soporte silica gel con un espesor de capa de 0,25 mm y usando como solvente de resolución una mezcla de metanol (2%): diclorometileno (98%) obtuvo un valor de hRf de 50, pero también utilizó una mezcla de 94% de cloroformo y 6% de etanol (22).

### D. Determinación del peso molecular por el método de Rast

En compuestos desconocidos cuando no se dispone de un espectrómetro de masas como es nuestra limitación se suele determinar el peso molecular por medición de la depresión del punto de fusión del D-camphor natural, conocido como método de Rast (21).

Se determina el peso de un tubo de 8 x 50 mm limpio y seco. En el tubo se coloca 50 mg del compuesto del que se quiera determinar su peso molecular y se pesa; luego se añade 0,5 g de D-camphor y el tubo se pesa nuevamente. El contenido del tubo se funde rápidamente con una llama de mechero de Bunsen hasta que se forma un líquido transparente. Después que se ha enfriado el contenido del tubo se saca y coloca sobre una luna de reloj limpia este material se pulveriza y se determina el punto de fusión en el FISATOM 431 D, antes solía hacerse por el método del capilar en el aparato de Thiele, se medía el valor de depresión del punto de fusión que se producía en el D-camphor, al hallarse mezclado con el compuesto de estudio donde se observa un descenso del punto de fusión del D-camphor ahora es más fácil medir esta depresión en el aparato FISATOM 431 D. Dado que es conocido el punto de fusión del D-camphor, la diferencia obtenida del punto de fusión del D-camphor menos la depresión en el punto de fusión de la mezcla D-camphor y compuesto desconocido da el valor  $\Delta T$ .

El peso molecular del compuesto desconocido se calcula con la fórmula siguiente:

$$M = \frac{K \cdot w \cdot 100}{\Delta T \cdot W}$$

K: Constante molar del descenso del punto de fusión del D- Camphor

w: Peso del compuesto desconocido

W: Peso del D-Camphor

$\Delta T$ : diferencia de temperatura del Punto de Fusión del D-Camphor con el punto de depresión de la mezcla D-Camphor y muestra de estudio.

### 1.2.6. Caracterización por espectrometría UV/visible de Biochanina A

Biochanina A tiene un grupo oxhidrilo en posición 7 que tiene la propiedad de ionizarse específicamente cuando se disuelve en una mezcla de Metanol y acetato de sodio experimentando un desplazamiento de la banda II en el espectro UV/visible, desplazamiento de tipo batocrómico es decir a la región rojo del espectro a un valor de 11 nm de longitud de onda. Este quiere decir en Metanol sufre un desplazamiento de 261 nm mientras en una mezcla Metanol con acetato de sodio es de 272 nm.

### 1.3. Definición de términos básicos

**Isoflavona.** Dentro de la clasificación de los flavonoides y compuestos afines a la que pertenece las isoflavonas son pigmentos vegetales que poseen un esqueleto carbonado  $C_6 - C_3 - C_6$  se identifica su presencia en una planta cuando adicionándole al extracto alcohólico un álcali viran a diversas tonalidades de rojo (20), aunque es difícil su reconocimiento ya que no responden específicamente a una reacción de color, por su significativa movilidad en que se distinguen de otras agliconas flavonoides para el estudio de plantas, TLC en silica gel es recomendado usando como solventes metanol 11% en cloroformo, los spots son detectados con reactivo Folin Ciocalteu un método para su determinación cuantitativa es usando cromatografía de columna con Sephadex G-25. Las Isoflavonas tienen el anillo fenólico B en posición 3 del grupo gamma benzopirona un mecanismo de transposición natural muy propio de las leguminosas.

**Filogénesis.** El uso de criterios filogenéticos no solo sirve para establecer parentesco entre las especies vegetales que pueblan el planeta sino también para poder establecer que principios activos pueden estar presentes en una especie vegetal, que guarde parentesco con otra, que pertenecen una misma familia y género.

Los estudios filogenéticos asumen que después de 2 linajes divergentes, ellos nunca intercambian información genética de nuevo, esta suposición puede de hecho ser violada, con frecuencia, si la hibridación es común una planta puede compartir los caracteres derivados de dos plantas con parentesco no relacionado y su historia parece común un tejido hecho con hilos que se trenzan y anudan tan igual que un árbol. El análisis filogenético asume que la evolución filogenética fue diagramada como las ramas de un árbol (5).

**Caracterización.** Es el conjunto de procedimientos fisicoquímicos e instrumentales cromatografía y espectrométricos que se utilizan para determinar la estructura química de una sustancia desconocida a veces cuando no se dispone de las técnicas más sofisticados se recurre al análisis comparativo usando una sustancia patrón conocida por sus propiedades fisicoquímicos y espectrométricas.

## CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

### 2.1. Formulación de la hipótesis

Las propiedades que caracterizan a Biochanina A aislada de *S. simplex* pueden determinarse mediante pruebas fisicoquímicas y espectrometría UV-visible.

### 2.2. Variables de estudio y su operacionalización

#### 2.2.1. Variable de Estudio

**Características fisicoquímicas.** Son las propiedades físicas que identifican al producto químico aislado luego del proceso de extracción

**Característica espectrométricas.** Determinada por la longitud de onda que determina el pico máximo de absorción del producto aislado luego del proceso de extracción

### 2.2.2. Operacionalización de Variables

Variable de Estudio	Definición operacional	Tipo de investigación por naturaleza	Indicador	Escala de medición	Medios de verificación
Características fisicoquímicas de Biochanina A	La Biochanina A es una isoflavona que fue aislada y purificada del duramen de <i>S. simplex</i> y se caracterizó mediante la determinación de sus propiedades fisicoquímicas.	Cuantitativa	Punto de fusión Valores Rf x 100 Peso molecular	Grados centígrados (°C) Adimensional g/mol	Valores de las propiedades fisicoquímicas
Espectrometría UV-Visible de Biochanina A	La Biochanina A purificada se analizó en un espectrómetro UV-visible, en el que se midió las longitudes de ondas máximas de absorción característicos en solventes como metanol y acetato de etilo.	Cuantitativo	Longitudes de onda máxima ( $\lambda$ )	Nanómetro (nm)	Espectro UV-visible

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Diseño metodológico

Diseño prospectivo. Porque busca explicar la presencia de una isoflavona de gran importancia en el campo farmacológico, que se requiere explicar su actividad para darle su uso adecuado, los datos se recolectan en el transcurso de la transformación de la materia prima en el laboratorio, donde se determinan las características fisicoquímicas de Biochanina A aislado de *S. simplex* (22), y por espectrometría ultravioleta visible del componente aislado.

Este estudio es cuantitativo porque se mide las características fisicoquímicas y espectrométrica UV/visible y se define como un proceso algorítmico, porque se aplica un conjunto elaborado de pasos secuenciales que se aplican para aislar el principio activo, realizar los cálculos del rendimiento de las propiedades fisicoquímicas y espectrométricas cuantificables (22).

### 3.2. Diseño muestral

**Población de estudio.** Conjunto de árboles de *S. simplex* que se hallan en el Arboretum “El Huayo” de la facultad de Ingeniería Forestal de la UNAP ubicado entre los centros poblados de Zungarococha y Nina Rumi del Distrito de San Juan Bautista, Provincia de Maynas Región Loreto.

**Muestra de estudio.** Se recolectó un trozo de rama gruesa aserrando con un serrucho de las cuales se obtuvo 200 g de serrín para su procesamiento correspondiente.

#### **Criterio de selección**

**Criterio de inclusión.** Se seleccionó la rama de mayor grosor del árbol de *S. simplex* cuyo diámetro tenía 8 cm y 40 cm de largo.

**Criterio de exclusión.** Se descartaron ramas que tenían un diámetro menor a 8 cm.

### **3.3. Procedimiento de recolección de datos**

#### **A.1. Colección de muestra vegetal**

La muestra vegetal se recolectó en el Arboretum “el Huayo” de la Facultad de Ingeniería Forestal de la UNAP, ubicado entre los caseríos de Zungarococha y Nina Rumi Distrito de San Juan Bautista Provincia de Maynas, Región Loreto cuyas coordenadas georreferenciales son las siguientes 3° 46' 30" S; 73° 17' 20" O; altitud 138 msnm.

Se tomaron fotografías para documentar el estudio se cortó con sierra una rama de 8 cm de diámetro, la muestra fue trasladado hasta el laboratorio de Productos Naturales y Fitoquímica de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP).

#### **A.2. Certificación de la especie vegetal**

La muestra vegetal fue llevada al Herbarium Amazonense CIRNA-UNAP de la Universidad Nacional de la Amazonia peruana (UNAP), donde el especialista el Botánico Juan Ruiz Macedo certificó la especie vegetal y entregó una constancia con su respectivo código de identificación permanente 025200.

#### **A.3. Preparación y limpieza de la muestra**

El trozo de madera se llevó al laboratorio primero se quitó la corteza con cuchillo afilado luego se quitó la albura con escofina; al llegar al duramen este se convirtió a serrín, se secó en atmosfera de aire acondicionado a 19 °C.

#### **A.4. Desengrase**

El serrín puesto en cartuchos de papel de filtro se llevó al compartimiento de extracción del equipo de Soxhlet en el reservorio de solvente se agregó éter de petróleo y se programa el calentador a 70 °C se trabajó con 500 g de muestra 100 g por tanda (En 5 tandas). Se filtró el extracto para recuperar el Éter de petróleo el residuo se llevó a maceración.

#### **A.5. Maceración de la muestra**

El Serrín desengrasado se introdujo en un balón de 2 litros y se agregó 1,2 litros de alcohol de 96° y se maceró por 16 días agitando en forma intermitente ya que experimentalmente quedó demostrado que para la extracción máxima de Isoflavonas se requiere 2 semanas a 50 °C (Baño de arena regulable) (23).

#### **A.6. Filtración**

El macerado se llevó a filtración con embudo Buchner acoplado a una bomba de vacío, se descartó el serrín y la solución filtrada se recogió para seguir con el proceso.

#### **A.7. Evaporación**

El filtrado se concentró a presión reducida a 45 °C en rota vapor Buchi R 300 hasta sequedad obteniéndose 38 gr de extracto seco.

#### **A.8. Desengrase**

El extracto seco se volvió a desengrasar nuevamente en Soxhlet para eliminar vestigio de grasa.

#### **A.9. Extracción de la isoflavona**

El extracto seco se diluyó en 260 ml de alcohol de 96 °GL, secundamente se agregó 170 ml de agua se llevó a una pera de decantación y se extrajo con 200 ml de diclorometano por 3 veces (600 ml), para separar las Isoflavonas agliconas del medio alcohólico acuoso. En la fracción diclorometano se separan las Isoflavonas agliconas que nosotros requerimos porque en la fracción acuosa con seguridad están presentes las Isoflavonas glucósidas.

#### **A.10. Evaporación.**

Se tomó la fracción diclorometano donde se hallan las Isoflavonas no glucósidas (aglicona) llevando a destilación donde se separó el solvente y se obtuvo un polvo blanquecino.

#### **A.11. Purificación**

Se disolvió el polvo blanquecino en Dimetilsulfóxido (DMSO), se calentó y luego filtró se dejó el filtrado en reposo y se obtuvo un precipitado blanco cristalino cuyo peso fue de 1,962 g; este polvo cristalino blanco fue semejante al que se obtuvo de *S. polyphylla* que se aisló y purificó para servirnos de él como patrón de comparación.

#### **A.12. Medición del valor de hRf por TLC**

La solución fue llevado a cromatografía en placas cromatográficas, se midió la distancia recorrida por el solvente (17 cm) y la distancia recorrida de la solución (8,5 cm) luego se procedió a determinar el valor de hRf con la siguiente relación.

$$hRf = \frac{\text{Desplazamiento de soluto (cm)}}{\text{Desplazamiento del solvente (cm)}} \times 100$$

El valor de hRf fue de 50, igual al obtenido por Devlin para la Biochanina A aislada en *Swartzia polyphylla* (20) con el que se evidenció que se trata de Biochanina A. Para separar la Biochanina A de la placa se raspó con una espátula la mancha de la placa cromatografica que se halla adherida la silica gel, el polvo obtenido se recogió en un

vaso de precipitado, se diluyó en etanol y se filtró, se descartó la silica gel que quedó retenido en el embudo cónico y el filtrado se dejó en reposo hasta que precipitó unos cristales de color blanco. Con estos cristales se procedió a realizar la cromatografía de capa fina (TLC). Se utilizó cromatofolios de 20 x 4 cm recortada de cromatoplaques de 20 x 20 cm. El polvo blanquecino se diluyó en Metanol se aplicó a 2 cm del borde inferior de la tira, en el lado izquierdo de la placa a un centímetro equidistante del borde longitudinal derecho se colocó la muestra y a 1 cm del borde longitud izquierda el patrón de comparación aislada de *S. polyphylla* se corrió la placa usando como reactivo de desplazamiento 2% de metanol y 98% de cloruro de metileno (24).

#### **A.13. Determinación de los parámetros fisicoquímicos**

**Punto de fusión** se determinó usando el equipo FISATOM 341 D de USV 60 Hz rango 50 a 300 °C.

**Valor R<sub>f</sub>** se utilizó la técnica señalada por Stahl-Egon en su libro "Thin Layer Chromotography (26)

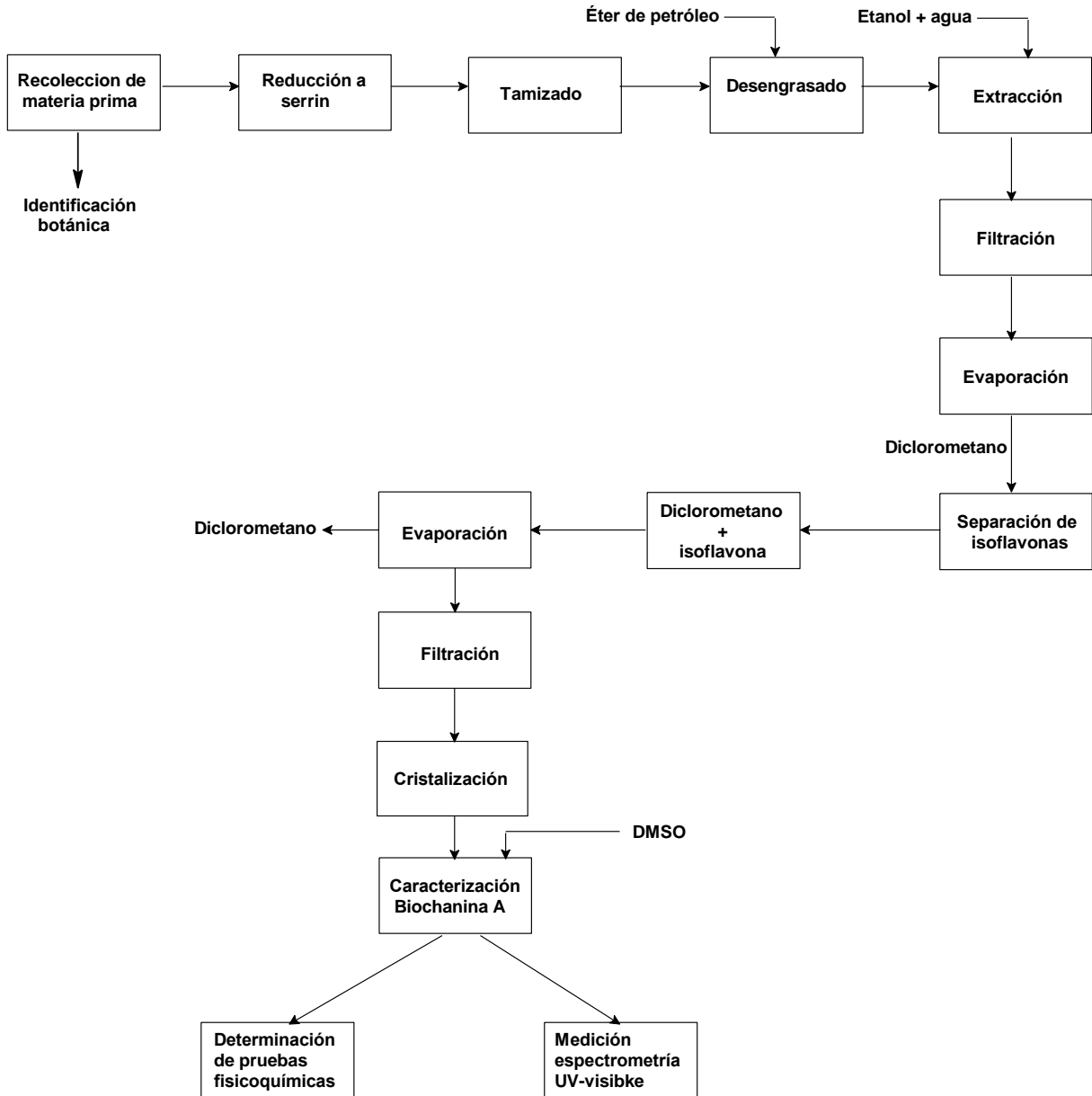
**Peso molecular** se utilizó el método de Rast técnica señalada por Shriner *et al.* en su libro Systematic identification of organic compounds (21).

#### **A.14. Análisis por espectrometría UV/visible**

Las mediciones de longitud de onda máxima de Biochanina A se realizó en el equipo 2800 UV/Vis spectrophotometer UNICO.

#### **3.4. Procesamiento y análisis de datos**

Las etapas del procesamiento de la muestra para la obtención de bichanina A se muestra en el siguiente diagrama de bloques (ver figura 3).



**Figura 3.** Diagrama de Bloque de la obtención de Biochanina A

Las etapas del proceso son los siguientes: Recolección e identificación de la muestra botánica, reducción a serrín, desengrasado, filtración, evaporación, extracción con diclorometano, purificación, filtración, evaporación, cristalización, determinación de las pruebas fisicoquímicas y medición por espectrometría UV-visible.

### B.1. Identificación botánica de la planta

Para la identificación se cortó una rama de la planta con hojas, flores y frutos de un árbol de *S. simplex* en el arboretum el “huayo” de la Facultad de Ingeniería Forestal de la UNAP que se llevó al Herbarium Amazonense CIRNA- UNAP donde fue identificado por especialista en botánica Juan C. Ruiz Macedo, teniendo en cuenta sus características morfológicas y los criterios filogenéticos que cada especie vegetal posee de acuerdo con la clasificación establecida por Arthur Cronquist.

## **B.2. Obtención de biochanina A**

A la rama se le quitó la corteza y la albura quedando libre el duramen del tallo que se le redujo a serrín con escofina y luego con un molino de discos se redujo a granulometría fina obteniendo 200 g de muestra luego de pasar por malla 60 ASTM. Se realizó el desengrasado del serrín en el equipo Soxhlet por 8 horas con éter de petróleo, luego se maceró el serrín con una mezcla etanol-agua por 2 semanas y con agitación intermitente se preparó 1 litro de la mezcla. El extracto se filtró utilizando un equipo de Buchner que lleva incorporado una bomba de vacío obteniendo 850 ml de filtrado. Se evaporó para concentrar la solución en rotavapor Buchi R-300 hasta  $\frac{1}{4}$  de su volumen 213 ml.

La separación de la isoflavona (aglicona) se realizó poniendo en una pera de decantación el extracto acuoso, extrayendo con 150 ml de diclorometano (3 veces). Se recogieron los extractos y se concentró nuevamente en rotavapor obteniendo 80 ml de concentrado, se filtró y se dejó en reposo obteniendo unos cristales blanquecinos. Para la purificación se diluyó con dimetilsulfóxido, se agregó norita, se calentó y se filtró 2 veces consecutivos para eliminar toda traza de carbón activado, el filtrado se dejó en reposo y precipitó un sólido blanco cristalino. El sólido blanco cristalino obtenido se pesó en una balanza analítica dando un peso de 1,962 g.

## **B.3. Determinación del punto de fusión**

Para determinar el punto de fusión se usó el método de Shriner R. L *et al* (21). La muestra se introdujo en un tubito capilar y se colocó en el Equipo FISATOM 431 D,

luego se prendió el equipo y a partir de la elevación de la temperatura a 200 °C se comenzó a observar con detenimiento el comportamiento de la muestra y del patrón cuando llegó a 216 °C ambas muestras se disolvieron completamente. Siendo que la temperatura de fusión fue idéntica para la muestra y el patrón de Biochanina A.

#### **B.4. Determinación del valor $hR_f$ por cromatografía de capa fina**

Siguiendo el método señalado por Devling P. (22) y el de Stahl Egon (26) se preparó cromatofolios de Silica gel de 20 x 4 cm cortando un cromatopla de 20 x 20 cm, se preparó una muestra de 50 mg diluyéndolo en Metanol. Se aplicó a 2 cm del borde inferior de la placa (origen) y se corrió en una mezcla de Metanol 2% y cloruro de metileno 98% se introdujo en la cámara cromatográfica y a 1/2 cm del borde superior se quitó el cromatopla, se secó, se midió con una regla milimétrica las distancias de corrida del soluto previamente se reveló el cromatofolio con yodo resublimado y el revelador UV a 254 nm, dio un valor de 8,75 el frente del solvente arrojó un valor de 17,50 y aplicando la siguiente relación se obtuvo el valor de 50 (ver anexo 5)

$$hR_f = \frac{\text{Desplazamiento del soluto}}{\text{Desplazamiento de solvente}} \times 100$$

#### **B.5. Determinación del peso molecular por el método de Rast.**

Para determinar el peso molecular de una sustancia se siguió las indicaciones de Shriner *et.al.* en su libro "The Systematic Identification of Organic Compounds" (1965 pág. 72, 73), por lo cual se procede del modo siguiente (24).

Se utilizó un tubo cilíndrico de 8x50 mm limpio y seco, se pesó, luego se colocó 50ml del compuesto y se pesó nuevamente, después se añadió 0,5g de D-camphor y se volvió a pesar nuevamente el tubo, esta muestra se fundió con una llama baja del mechero de Bunsen hasta que apareció un líquido transparente. Después que se enfrió el contenido se secó y se colocó sobre una luna de reloj limpia. Este material se pulverizó y se determinó su punto de fusión, por el método de THIELE, aunque resulto más rápido y sencillo realizarlo en el aparato de FISATOM 431 D. cuando se volvió completamente limpio, transparente esta mezcla, se tomó el valor del punto de fusión

de la mezcla fue 165,784 °C, luego se determinó el punto de fusión del D-camphor (179,75°C) la sustracción del punto de fusión del D-camphor menos el punto de fusión de la mezcla D-camphor más la muestra de estudio da el punto de depresión  $\Delta T$  del camphor. Con estos datos se determinó el peso molecular de Bichanina A que es igual a 284,262 g/mol (ver anexo 6).

## **B.6. Medición de longitudes de onda máxima espectrómetro UV-visible**

Se preparó una muestra de 10 mg, pesado con precisión luego se diluyó en 100 ml de metanol, se llevó a la celda de cuarzo de 1 cm<sup>2</sup>, 3 ml de la solución luego se introdujo en la cubeta de referencia en la cavidad denominada área de muestra donde los haces de radiación llegan al área del detector hacia unos tubos foto-multiplicadores separados que generan un voltaje proporcional a la energía incidente en los detectores. El balance de voltaje producido de la absorción de energía en el haz de la muestra, se balancea por medio de un voltaje equivalente que se deriva de una porción de alambre deslizante, en este momento la plumilla del registrador se desplaza y aparecen los valores de longitud de onda. En nuestro estudio programamos un barrido en rango de longitudes de onda entre 200 a 500 nm en medio metanólico y se pudo observar los picos siguientes:

$\lambda_{\max \text{ MeOH}}$  261, 331 sh, nm.

Luego se agregó 2 mg de AlCl<sub>3</sub> a la solución de 100 ml de Metanol donde se halla disuelta la muestra se llenó una cubeta de cuarzo y se hizo funcionar el espectrofotómetro UV-visible, se observó la presencia de 3 bandas a las longitudes de onda siguientes: 273, 310 sh, 375 nm

El espectro UV de Isoflavonas que contienen usualmente grupos OH en el anillo A muestran desplazamiento batocrómico tanto de la banda I, como en la banda II en presencia de metanoato de sodio (NaOMe) se observaron los valores siguientes: 248 sh, 273, 327 nm respectivamente, para mayor nitidez se usó como reactivo de desplazamiento acetato de sodio para lo cual a la solución de metanol que contiene la muestra se agregó acetato de sodio se observó un espectro de las longitudes de onda

siguiente: 272, 327 nm respectivamente. Estos son los valores de desplazamiento de mayor nitidez en relación con el valor desplazante de la muestra disuelta en metanol se observó un efecto batacrómico de 11 nm.

### **3.5. Aspectos éticos**

Al aislar Biochanina A del duramen del tallo de la especie *S. simplex*, ésta no fue amenazada en su dinámica de crecimiento y propagación, porque la muestra se extrajo de una rama del árbol órgano vegetal que se renueva permanentemente en su desarrollo normal

## CAPITULO IV: RESULTADOS

### 4.1. Rendimiento de Biochanina A

El rendimiento de Biochanina A de *S. simplex* es la relación proporcional entre el peso del producto sobre el peso de la materia prima del cual se aisló expresado en valor porcentual, se trabajó con 200 gr de muestra del cual se obtuvo 1,9629 gr de Biochanina A, que corresponde a un rendimiento de 0,981% (ver anexo 4)

### 4.2. Valores de los parámetros fisicoquímicos

La medida del punto de fusión de los cristales de muestra fue de 216 °C. El peso molecular determinada por el método de Rast dio 284,2618 g/mol. El valor Rf utilizando como solvente de corrida una mezcla de 98% de diclorometano: 2% de Metanol sobre la placa de silicagel dio 50, valor que es congruente con lo que señala la literatura.

### 4.3. Mediciones de longitud de onda

En el barrido de la muestra disuelta en metanol se observó las longitudes de onda siguientes.  $\lambda_{\max, \text{MeOH}}$  :273:310 sh, 375 nm

Corrido en una mezcla de metanol acetato de sodio se observó los valores siguientes:

$\lambda_{\text{MeOH}+\text{CH}_3\text{COONa}}^{\text{max}}$  :272, 327 nm. Estos valores son plenamente coincidentes con los

reportados por la literatura para biochanina A..

## CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

De acuerdo con la literatura consultada hay evidencias de que Biochanina A está presente en varios géneros de la familia Fabaceae; como *Trifolium repens* (trébol blanco), *T. pratense* (trébol rojo) (6)(25), en *Cassia fistula*, en *Glicina max* (soya) y en *S. polyphylla* (8). De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, se puede afirmar que *S. simplex* de la amazonia peruana también contiene Biochanina A y guarda una coincidencia filogenética con los otros géneros de Fabáceas que quedó confirmada por la coincidencia de las propiedades fisicoquímicas y por espectroscopia UV-visible.

Osawak *et al.*, aisló del duramen de *S. polyphylla* (cumaceba) 7 flavonoides de los cuales tres isoflavonas fueron identificados el dihidrobiochanina A, Ferreirina y darbergioidina posee actividad antibacteriana, no señala la presencia de biochanina A como señala el estudio que sobre esta planta realizó Gómez y López (3), mientras que de acuerdo con el estudio realizado con *S. simplex* de la amazonia peruana se logró aislar Biochanina A, fue comprobado por los análisis que realizamos; esto prueba que las propiedades que caracterizan a estos géneros de contener patrones moleculares comunes como Biochanina A se debe a que pertenecen a una familia monofilética, es decir comparten la condición de descender de un antepasado común (7).

Sartorelli *et al.*, logró aislar Biochanina A de los frutos de *Cassia fistula* (Leguminosae), y por pruebas de RMN logró elucidar su estructura molecular como 5, 7 dihidroxi, 4' metoxi isoflavona ó Biochanina A (8), en la especie de *S. simplex* de la Amazonía peruana que hemos realizado se logró aislar esta isoflavona que fue identificado realizando pruebas indirectas comparando con la sustancia patrón biochanina A que fue aislada de *S. polyphylla*, además se encontró que el rendimiento de Biochanina A fue de 0,981 % una cantidad nada desdeñable tratándose de una molécula con estructura de aglicona muy importante en el campo farmacéutico, de este modo *S. simplex* podría constituirse una fuente importante para la obtención de esta isoflavona.

En el año 2011, Ling *et al.*, logró identificar Biochanina A de *Trifolium pratense* usando RMNH y C-13 y espectrometría de masas (11), además, las pruebas de actividad de inhibición melanogénica resulto positiva. Como se puede observar biochanina A está presente en otros géneros de leguminosas que no se existen en la Amazonía peruana y en las especies del género *Swartzia*. Asimismo, con el estudio de la especie *S. simplex* de la Amazonia peruana se puede señalar que es posible que esté presente en otras especies de este género en las cuales puede ser posible aislar biochanina A. El método de aislamiento usado aplicando solventes apolares es funcional cuando se trata de aislar Isoflavonas con estructura de aglicona es decir sin presencia de glicósidos como es el caso de Biochanina A.

## CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

En el duramen de *S. simplex* de la amazonia peruana se encontró Biochanina A; cuyo rendimiento fue de 0,981% lo que muestra que esta planta dejaría de ser un árbol meramente de uso poco significativo como árbol maderable, a tener un uso mayor como fuente proveedora de biochanina A para propósitos farmacológicos. Su punto de fusión fue de 216 °C, el valor de  $R_f$  en TLC con solvente de corrida usando 2% de metanol y 98% de diclorometano fue de 50 y el peso molecular usando el método de Rast fue de 284,2496 g/mol es semejante al valor del peso molecular de 284,268 g/mol (IUPAC) observando un porcentaje de error de 0,084%.

Los valores de longitudes de ondas máximas en metanol fueron de 273, 330 sh nm y en una mezcla [metanol: ácido acético] 272, 327 nm. Todos los valores reportados son idénticos a los del patrón de Biochanina A aislado de *Swartzia polyphylla* y los datos de la literatura lo que permite afirmar que el producto aislado de *S. simplex* es Biochanina A.

## CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de otras especies del género *Swartzia* de la amazonia peruana para la obtención de Biochanina A con la finalidad de ampliar las fuentes de obtención de este principio activo tan importante para el tratamiento de secuelas post menopaúsicas, tratamiento del cáncer de vejiga, próstata, artrosis y caries dental.
- La Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNAP, debe elaborar a partir de Biochanina A productos Fitoterapéuticos.
- La facultad de Ing. Forestal de la UNAP debe realizar proyectos de reforestación y ampliación del cultivo de esta especie vegetal con la finalidad de incrementar la población de *S. simplex* planteando mejores alternativas de uso que superen las actuales capacidades de uso, así como sus ventajas comparativas.

## CAPÍTULO VIII: REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Sukoup J. vocabulario de los nombres vulgares de la Flora Peruana. Catálogo de géneros. Editorial Salesiana Lima 1970 pag. 391.
2. Duke J. A. Vásquez Rodolfo. Amazonian Ethnobotanical Dictionary Editorial CRC – Press Boca Ratón, Ann Arbor, London Tokio, 1984 pag. 162.
3. Gómez Sánchez A.V.R, Lopez Ruiz J. Determinación estructural y aislamiento de Isoflavonas en el duramen de Swartzia polyphylla ADC cumaceba aplicando métodos de Identificación Iquitos 2011. Tesis para el título de Químico Farmacéutico UNAP. Iquitos – Perú 2011 pag.60.
4. Ramos Ramírez CR, Vásquez Flores A.C constituyente del aceite esencial de Swartzia polyphylla APC por el método de cromatografía de gases – espectrometría de masa HRGC- MB. Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico UNAP Iquitos – Perú 2014 60 pag.
5. Judd, Campbell Kelloga, Stevens, Donoghue. Plant Systematics.Phylogenetica Approach. Editorial Sunderlant, Masechustts USA 2002 pag 356, 361.
6. Pope G.S, Elcoate P.V, Simpson S.A, And beus, D,G,Isolation of an o estrogenic Isoflavona (biochanina A) from red clover. Reviste chemistry and Industry National Institute Research Dairying University of Reading. London 1953 pag. 1092.
7. Osawa K,yasuda H, Maruyama T, Morita H, Takeya K, Itokawa H, Isoflavonas from the heartwood of Swartzia polyphylla and their antibacterial activity against cariogenic bacteria, chemical pharmaceutical bulletin Tokio Japon.. Doi:10.1248/CPb. 40.2970
8. Satorelli Patricia Salomone Carvalho Camile, Quero Reimao Jualiana, Peña Ferreiro Marcelo José Tampone Andre Gustavo. Antiparasetic Activity of Biochanina A, an Isolated isoflavona from fruits of Cassia fistula (Leguminosae). Parasitology Research 2009 vol 104 pag 311 – 314. Doi: 10.1007/S 00436- 008- 1193. Z.
9. Shikha Rahaj, Deepti, Amit Girdher. Tendencia en ciencias y tecnología de los alimentos vol 79 2018 pag.56,66.

10. Chenyu, Peng Z hang, Lixin Lou, Yang Wang. Perspectiva sobre el papel de la biochanina A en los seres humanos. [https://www.Frontiersin.org/Articles/10.3389/fphar-2019.00793 full #Supplementary – material.](https://www.Frontiersin.org/Articles/10.3389/fphar-2019.00793-full-#Supplementary-material)
11. Ling Victor C, Yu Ding, Hsiou , Tsai Pin- chin, Wu Jiumm- Yih, Lu Yen- Hsing, chan Te – sheng. In Vitro and In vivo melanogenesis inhibition by Biochanina A from trifolium pretense. Bioscience. Bioteshnol. Biochen 75(5) Taiwan 2011 pag. 914, 918.
12. Fevre – Godal et at. Anticandida Cassane – Type Diterpenoid from the root berk of Swartzia simplex. Journal of Natural Products 2013 vol 79 Doi: 1055/S- 0033 – 1351866.
13. Perveen J. D. sh, Kumar B, S, Kumar S. R, Khan R. I, Pichumani K. Isolation of Biochanina A an Isoflavona and its selective Sensing of cooper (II) ion: Doi: 10.1016/J. Snb.2015.06.060
14. Oza Manisha J, KulKarni yogesh A. La Biochanina A mejora la sensibilidad a la insulina y controla la hiperglucemia en la diabetes Tipo 2. Editorial ELSEVIER MASSON SAS. Vol 107.2018 pag: 1119, 1127.
15. <https://panamabiota.org/stri/taxa/index.php?tid=70118&taxauthid=1&clid=0>
16. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:520020-1>
17. Wangen Kerry E, Duncan Alison M, Xu Xia, Kurzer S Mendy. Soy Isoflavonas Improve plasma lipids in normocholesterolemic and mildly hypercholesterolemic postmenopausal women. American fournal clinical Nature vol 73, 2001 USA. Pag: 225, 231.
18. Gonzales Natalia, Duran agiiero Samuel, Isoflavonas de soja y evidencias sobre la protección cardiovascular. HOSp vol 29 N°6 Mdrid España 2014.
19. Alberto Marco J, Química de los productos Naturales Editorial síntesis SA. Madrid España 2006 pag: 156.
20. Domínguez X, Métodos de Investigación Fitoquímica Editorial Limusa México. 1979 pag. 84.
21. Shriner R.L, Fuson R.C, Curtin D.Y, Systematic identification of organic compuuds Editorial Wiley 5<sup>ta</sup> Edición N. York 1965 pag: 72,73.

22. Devlin Jhon P. Microbotanica. Ine connectium USA Personnel communication (7/08/1998).
23. <https://patents.google.com/patent/ES2225822T3/es>, utilización de Extractos de Fitoestrógenos de Isoflavonas, a partir de soya o trébol, análogos o metabolitos de los mismos y su utilización
24. Mabry T.J, Markham K.R, Thomas M.B, The Systematic identification of flavonoids. Editorial Springer – Verlag N.Y, Heidelberg. Berlin 1970 pag: 415, 119.
25. Medjakovic S, Jungbauer A. Las Isoflavonas del trébol rojo, la Biochanina A y la formononetina, son potentes ligando del receptor de hidrocarburo Arílico humano. The journal of steroid Biochemistry and molecular Biology ELSEVIER Austria vol 108 numeros 14 2, 2008, pag. 171- 177.
26. Stalh Egon, Thin layer chromatography. Editorial Spring verlog. Berlin Heidelberg, N.Y., 1968, pág. 688.

## ANEXOS

### ANEXO N<sup>o</sup>. 1. Identificación botánica de la planta



Centro de Investigación de  
Recursos Naturales  
Herbarium Amazonense - AMAZ

INSTITUCION CIENTIFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO  
CODIGO DE AUTORTIZACION AUT-ICND-2017-005

### CONSTANCIA

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana

### HACE CONSTAR:

Que, las muestras botánicas presentado por KATHERINE GARCÍA RENGIFO y JEAN FRANCO MARIN CHISTAMA, bachilleres de la Facultad Farmacia y Bioquímica, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, pertenece a la tesis titulado: CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICO Y ESPECTROMETRÍA ULTRAVIOLETA VISIBLE DE LA ISOFLAVONA AISLADO DE *Swartzia simplex* Y SU SIMILITUD FILOGENÉTICA CON BIOCHANINA A.; han sido DETERMINADAS en este Centro de Investigación y Enseñanza, Herbarium Amazonense-AMAZ, del Centro de Investigación de Recursos Naturales de la UNAP-CIRNA-UNAP, como se indica a continuación:

Código AMAZ	Nombre Científico	Familia
025200	<i>Swartzia simplex</i> (Sw.) Spreng.	Fabaceae

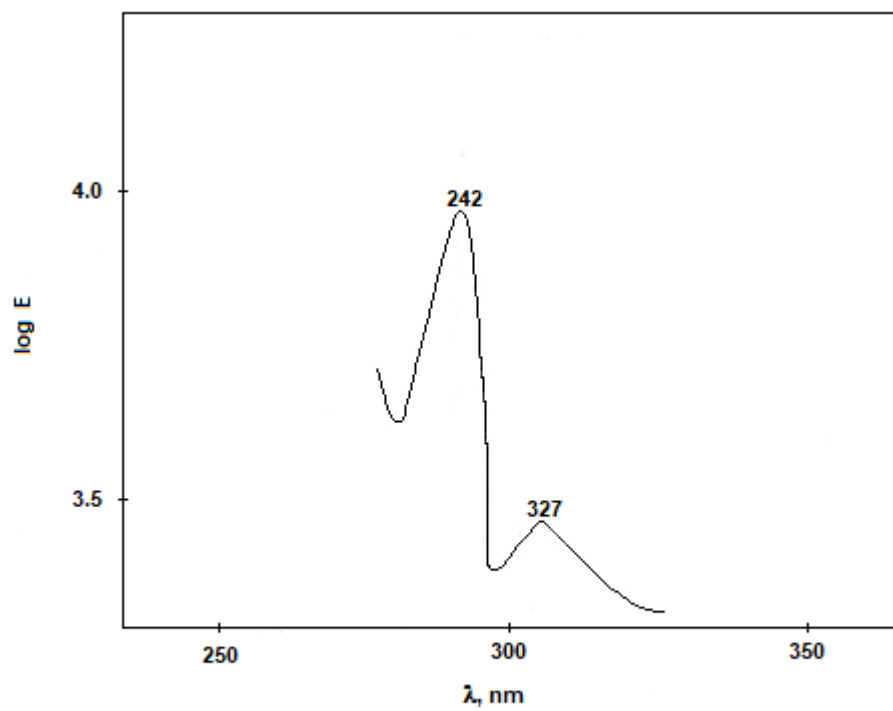
Se expide la presente constancia al interesado, para los fines que estime conveniente.

Atentamente,

Iquitos, 29 de octubre del 2021

  
  
Richard Huancasa Acostupa  
Coordinador Herbarium Amazonense

## ANEXO Nº. 2. Espectro de la Biochanina A



ESPECTRO UV-VISIBLE DE BIOCHANINA A  
EN ACETATO DE SODIO + METANOL

**ANEXO 3. fotografía de la planta**



#### **Anexo 4.** Cálculo del rendimiento de Biochanina A

Se calcula estableciendo una relación entre el peso de Biochanina A obtenida sobre el peso de la materia prima utilizado en forma porcentual.

$$\%rendimiento = \frac{\text{Peso de Vitexina obtenida}}{\text{Peso de la materia prima}} \cdot 100$$

Materia prima utilizada 200 gramos de serrín, se obtuvo 1,962 gramos de Biochanina A, el cálculo es el siguiente:

$$\%rendimiento = \frac{1,962 \text{ g}}{200 \text{ g}} \cdot 100 = 0,981\%$$

## **Anexo 5.** Determinación de los vales de Rf de Biochanina A

### **A.** Solvente de corrida, mezcla metanol 2%: cloruro de metileno 98%

Los valores de las distancias corridas por el sólido y solvente fueron las siguientes:

Distancia de corrido del solido 8,75 cm

Distancia de corrido del solvente 17,50 cm

$$Rf = \frac{\textit{Distancia de corrida del soluto}}{\textit{Distancia de corrida del sovente}} \times 100$$

$$Rf = \frac{8,75}{17,50} \times 100 = 50$$

## Anexo 6. Determinación del peso molecular de Biochanina A

Punto de fusión de la mezcla del componente y D-camphor: 165,748°C

Punto de fusión del D-camphor: 179,75°C

Se halla la diferencia del punto de fusión

$$\Delta T = 179,75 - 165,748 = 13,966$$

Aplicando la formula

$$M = \frac{k \cdot p \cdot 1000}{\Delta T \cdot P}$$

Sabiendo que

K= Depresión molar del D-camphor 39,7

w= peso de la muestra 50 mg= 0,05 g

W= peso del D-camphor 0,5 g

$$\Delta T = 13,966$$

$$M = \frac{39,7 * 0,05 * 1000}{13,966 * 0,5} = \frac{1985}{6,983} = 284,262$$

M=284,262 g/mol

Se determinaron el porcentaje de error la relación al peso molecular de Biochanina A 284,2496 g/mol promedio del modo siguiente

$$\%em = \left( \frac{\text{Peso molecular experimental} - \text{Peso molecular real}}{\text{Peso molecular experimental}} \right) * 100$$

$$\% \text{ error} = \frac{284,2496 - 284,262}{284,2496} \times 100 = \frac{1,84}{284,2496} = 0,0064$$

Encontramos que el margen de error es de  $\pm 0.0064$  un valor relativamente bajo, que significa que la muestra analizada con el peso molecular de 284,2496 es el que corresponde a Biochanina A.