



UNAP



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

TESIS

**CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y ESPECTROMETRÍA ULTRAVIOLETA
VISIBLE DEL FLAVONOIDE AISLADO DE *Vitex pseudolea* RUSBY
(PALIPERRO) Y SU SIMILITUD FILOGENÉTICA CON VITEXINA**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

IBONY SABOYA VELA

ASESOR

Ing. CLETO JARA HERRERA, Mtro.

IQUITOS, PERÚ

2022

ACTA DE SUSTENTACIÓN



Facultad de Farmacia Bioquímica

Escuela Profesional de Farmacia Bioquímica

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°028-PCGT-FFyB-UNAP-2022/OFICIO N°729-DINV-UNAP-2021

En la ciudad de Iquitos, distrito de Iquitos, departamento de Loreto, por vía Zoom de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, a los 30 días del mes de marzo de 2022, a horas *19:15*, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA Y ESPECTROMETRÍA ULTRAVIOLETA VISIBLE DEL FLAVONOIDE AISLADO DE *Vitex pseudolea* Rusby (paliperro) Y SU SIMILITUD FILOGENÉTICA CON VITEXINA", aprobada con Resolución Decanal N°086-2022-FFyB-UNAP, presentada por la bachiller: **Ibony Saboya Vela**, para optar el Título Profesional de Química Farmacéutica que otorga la Universidad de acuerdo con Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°262-2021-FFyB-UNAP, está integrada por:

- | | |
|---|------------|
| - Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra. | Presidente |
| - Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOPAZA VALLADARES, Mtro. | Miembro |
| - Q.F. LENIN FERNÁNDEZ ARELLANO, Mtro. | 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 *muy buena*...

Estando la bachiller apta para obtener el Título Profesional de Química Farmacéutica.

Siendo las *20:36* se dio por terminado el acto *académico de sustentación*


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


Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOPAZA VALLADARES, Mtro.
Miembro


Q.F. LENIN FERNÁNDEZ ARELLANO, Mtro.
Miembro


Ing. CLETO LARA HERRERA, Mtro.
Asesor

Somos la Universidad licenciada más importante de la Amazonía del Perú, rumbo a la Acreditación

Calle Zungarococha - Niza Itasi
Correo electrónico: farmacia@un.uap.edu.pe - Loreto - Perú. Celular N° 942917936
www.unapiguito.edu.pe



JURADO Y ASESOR



Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.
Presidente de Jurado calificador y dictaminador
CQFP: 3468



Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOPAZA VALLADARES, Mtro.
Miembro de Jurado calificador y dictaminador
CQFP: 05274



Q.F. LENIN FERNÁNDEZ ARELLANO, Mtro.
Miembro de Jurado calificador y dictaminador
CQFP: 14332



Ing. CLETO JARA HERRERA Mtro.
Asesor
CIP:63042

DEDICATORIA

Se le dedica al forjador de mi camino a mi Padre celestial, por darme la vida, salud, sabiduría a lo largo de mis estudios. A mis padres por el apoyo constante ya que, sin ellos, no hubiera logrado la meta que me tracé en la vida ser una competente profesional

Ibony Saboya Vela

AGRADECIMIENTOS

Mi agradecimiento va a quien a forjado mi camino y me ha dirigido por el sendero correcto, a Dios, quien guía el destino de mi vida.

A mi amiga Liz por su consejo por su tiempo y por el apoyo incondicional que me brinda.

A mis maestros por el tiempo y esfuerzo que dedicaron al compartir sus conocimientos, sin su orientación profesional no habría llegado a este nivel.

Ibony Saboya Vela

ÍNDICE

PORTADA	i
ACTA DE SUSTENTACION	ii
JURADOS Y ASESORES	iii
DIDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1. Antecedentes	3
1.2. Bases teóricas	4
1.2.1. Especie en estudio	4
1.2.2. Vitexina	5
1.2.3. Actividad biológica de la Vitexina	7
1.2.4. Aislamiento de vitexina o Apigenina 8-C -glicósido	7
1.2.5. Métodos fisicoquímicos utilizados en la caracterización de vitexina	8
1.2.6. Caracterización por espectrometría ultra violeta	9
1.3. Definición de términos básicos	9
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	11
2.1. Formulación de la Hipótesis	11
2.2. Variables de estudio y su operacionalización	11
2.2.1. Variables de estudio	11
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	13
3.1. Diseño metodológico	13
3.2. Diseño muestral	13
3.3. Procedimiento de recolección de datos	13
3.4. Procedimiento y análisis de datos	18
3.5. Aspectos éticos	19
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	20

4.1. Rendimiento de Vitexina	20
4.2. Valores de los parámetros fisicoquímicas	20
4.3. Mediciones de longitud de onda	20
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	21
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	24
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
ANEXOS	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Biosíntesis de vitexina	7
Figura 2. Reaccion de vitexina con tricloruo de aluminio	9
Figura 3. Diagrama de bloque para obtención de vitexina	18

RESUMEN

La finalidad del estudio fue lograr el aislamiento y purificación de vitexina de *Vitex pseudolea* Rusby que es el principio activo presente en varias especies de género *Vitex* en razón de sus propiedades filogenéticas que le caracterizan al pertenecer a una familia monofiléticas. La muestra fue recolectada en la localidad de Tamshiyacu, distrito de Sgto. Fernando Lores Tenazoa, Maynas, Loreto, el duramen fue llevado a serrín para la extracción con solventes. El principio activo se caracterizó mediante la determinación de sus propiedades fisicoquímicas y por espectrometría UV-Visible. Se obtuvo 2,352 g de vitexina, el punto de fusión fue de 204°C., soluble en metanol, etanol y agua caliente. Las pruebas coloridas dieron positivo para flavonoide, el peso molecular calculado por el método de Rast dió 432,37 g/mol \pm 0,049. Los valores de Rf se realizaron con varias mezclas de solventes, usando una mezcla de acetato de etilo: butanona: ácido fórmico: agua el valor Rf dio 37, con benceno: metanol: butanona dio un valor de 68, por último, usando como solvente de elusión: agua: etanol: butanona: acetil acetona dio un valor de 25. Los valores de longitud de onda máximo en UV/visible usando como reactivo de desplazamiento espectrométrico MeOH dio los siguientes 270, 302 Sh, 366 nm. y en una mezcla de MeOH: AlCl₃: HCl dio 278, 303, 343, 383 nm. Estos valores coinciden plenamente con los reportados por la literatura de este modo se concluye que el componente aislado del tallo de *Vitex pseudolea* Rusby es Vitexina.

Palabras claves: Caracterización fisicoquímica, espectrometría, cromatografía de capa, *Vitex pseudolea* Rusby, Vitexina.

ABSTRACT

The purpose of the study was to achieve the isolation and purification of Vitexin from *Vitex pseudolea* Rusby, which is the active principal present in several species of the genus *Vitex* due to its phylogenetic properties that characterize it as belonging to a monophyletic family. The sample was collected in the town of Tamshiyacu, District of Sgto. Fernando Lores Tenazoa, Maynas, Loreto, the heartwood was taken to sawdust for extraction with solvents. The active principle was characterized by determining its physicochemical properties and by UV-Visible spectrometry. 2.352 g of vitexin were obtained, the melting point was 204 ° C., Soluble in methanol, ethanol and hot water. The colored tests were positive for flavonoid, the molecular weight calculated by the Rast method gave 432.37 g / mol \pm 0.049. The Rf values were made with various solvent mixtures, using a mixture of ethyl acetate: butanone: formic acid: water, the Rf value gave 37, with benzene: methanol: butanone gave a value of 68, finally, using as solvent elution: water: ethanol: butanone: acetyl acetone gave a value of 25. The maximum wavelength values in UV / visible using MeOH as the spectrometric shift reagent gave the following 270, 302 Sh, 366 nm. and in a mixture of MeOH: AlCl₃: HCl gave 278, 303, 343, 383 nm. These values fully coincide with those reported by the literature thus it is concluded that the component isolated from the stem of *Vitex pseudolea* Rusby is Vitexin.

Keywords: Physicochemical characterization, spectrometry, chromatography, *Vitex pseudolea* Rusby, Vitexin

INTRODUCCIÓN

En la actualidad los flavonoides han adquirido notoriedad mundial debido a su marcada actividad biológica y nutracéutica. Vitexina dentro de la clasificación establecida por Harborne J.B, se halla dentro de las flavonas como un C-heterósido o C-glicosil-flavona que tiene como característica la unión del carbono aromático del azúcar (glucosa) y el carbono-8 de la genina o aglicona conocida como Apigenina (1, 2). Vitexina es de gran importancia por su amplia actividad farmacológica como: antiinflamatoria, antioxidante, antiagregante plaquetario, antihemorrágico, cardioprotector, neuroprotector, antitumoral y en rejuvenecimiento de la piel (3).

Vitexina se ha encontrado en diversa plantas como alforjón (*Fagopyrum esculentum*), familia Polygonaceae, marihuana (*Cannabis Sativa*) familia Cannabaceae, alholva (*Trigonella foenum-graecum*) y frijol mungun (*Vigna radiata*), familia Fabaceae, bambú negro (*Phyllostachys nigra*) y mijo perla (*Pennisetum glaucum*) familia Poaceae, flor de la pasión (*Passiflora incarnata*) familia Passifloraceae, espino blanco (*Crataegus monogyna*), familia Rosaceae, *Vitex agnus-castus*, *Vitex trifolia* L., *Vitex negunda*, de la familia Lamiaceae (1, 3), ninguna de estas especies citadas existe en la amazonia peruana.

Vitex pseudolea Rusby es una especie de *Vitex* existente en la amazonia peruana. Estableciendo criterios filogenéticos partimos de la consideración siguiente: si varias especies de *Vitex* contiene vitexina tienen un precursor común dado por la monofilaxia de la familia Lamiaceae, asumimos que *V. pseudolea* Rusby (paliperro) de la flora amazónica contiene vitexina (4), por lo que en afán de constatar su presencia, emprendimos su estudio ya que siendo un árbol corpulento y frondoso, esta planta es poco utilizado sirviendo solo como árbol para lindero natural de terrenos agrícolas; pero no se le concede ninguna utilidad por su contenido de vitexina. Iniciamos su estudio.

Primero realizando un análisis preliminar de la molécula ya que si contiene vitexina necesariamente tiene una estructura 2-fenilbenzo cetopirona en cuya estructura fue posible detectar la presencia del núcleo α -benzopireno característico de los

flavonoides, haciendo reaccionar con soluciones de cianidina a diferentes concentraciones, el extracto acuoso de *V. pseudolea* dando reacción positiva (coloración rojiza), pero también se probó con reactivo de Shinoda que es Zn en polvo más HCl concentrado que produjo una coloración rojiza (5).

En base a las pruebas preliminares realizadas, en el presente trabajo se procedió a su aislamiento, purificación y se caracterizó mediante la determinación de sus propiedades fisicoquímicas y por análisis espectrométrico UV-visible la determinación de sus longitudes de onda y ver si son semejantes a los valores que reporta la literatura (6).

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

Jin et al. (2002), en su artículo “The isolation and antioxidative effects of vitexin from *Acer palmatum*”, aisló vitexina de un extracto etanólico de las hojas de Acer japonés, el extracto suspendido en agua fue particionado con n-hexano, cloroformo, acetato de etilo y butanol y probaron la actividad antioxidante de cada una de estas fracciones, encontraron que todos son activos, pero el que supera ostensiblemente por su actividad es la fracción aislada con acetato de etilo que produce una inhibición de ROS de 84.5% usando el test de NBT (azul de nitrotetrasolio). (3).

Marcano et al. (1991), en su libro “Fitoquímica Orgánica”, refiriéndose a vitexina lo denomina 8-C- glicósido de la flavona aislado por primera vez en 1898 por Perkin de *Vitex lucens* cuya estructura fue elucidada por Brigg en 1956 (7)

Ganapaty et al. (2005), en su artículo “Phytoconstituents and biological activities of Vitex. A review” resalta los fitoconstituyentes de especies de Vitex tales como: *Vitex agnuscostus* que contiene apigenina, vitexina, β -Cariofileno; *Vitex lactama* contiene 6B, 7B-diacetoxy-13-hidroxilo- α -8,14-dieno-rotundifurano, vitexylactona, β -sitosterol, isovitexina, en *Vitex altesina* tan igual que en *Vitex pseudolea* Rusby está presente vitexina, en *Vitex cannabifolia* está presente vitexilactona, en *Vitex cymasa* vitexina, en *Vitex fisheri* vitexirona en *Vitex lanaexylon* vitexina, isovitexina, en *Vitex littoralis* vitexina, isovitexina, en *Vitex negunda* vitexicarpina, en *Vitex pedicularis* vitexina, isovitexina, en *Vitex pubescens* vitexina, isovitexina y en *Vitex poligala* vitexina, isovitexina, casi todos con contenido de vitexina (8).

Meena et al. (2010), en su artículo “Pharmacological and Phytochemical evidences for the extracts from plants of the genus vitex-A Review”, señala que el género Vitex representado por 270 especies alrededor del mundo es una interesante fuente potencial de moléculas bioactivas como compuestos iridoides, flavonoides, derivados diterpenoidales, fitoesteroides con actividad antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobial, hepatoprotector, analgésico y antiestamínica (9).

Papachen et al. (2013), en su artículo “Isolation and characterization of flavone glycoside vitexin from *Peperomia pellucida* Linn”, señala que aisló vitexina usando cromatografía de capa fina (TLC) con silical gel y como eluyente una mezcla de acetonitrilo: agua: ácido acético (6:4:01) y encontró un valor de Rf igual a 0,61 (10).

1.2. Bases teóricas

1.2.1. Especie en estudio *Vitex pseudolea* Rusby

A. Identificación taxonómica

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Magnolidae
Orden	: Lammiaceae
Familia	: Lammiaceae
Género	: <i>Vitex</i>
Especie	: <i>Vitex pseudolea</i> Rusby
Nombre vulgar	: Paliperro, aceituna de monte, corniñón

B. Descripción botánica

Es un árbol que llega a medir hasta 20 metros de altura, hojas opuestas disecadas en foliolos; aserrados, la inflorescencia con un indeterminado eje principal cimosamente ramificado, flores bisexuales, usualmente bilateral, sépalos en número de 5 connatos, Calix, radial o bilateral, más o menos tubular parecidas a una campana, pétalos connatos en número de 5 doblemente labiados, 4 estambres, granos de polen tricolpate(3 aberturas largas ranuradas), 2 carpelos connatos, ovario superior, 2 estigmas , dos óvulos por carpelo. El fruto es una drupa (11), se reproduce por acodo formando comunidades vegetales amplias. Contiene vitexina, isovitexina y sustancias iridoides (12).

C. Distribución ecológica

Es cosmopolita, se encuentra en la India, en la amazonia continental, en el Perú es abundante en selva alta y menos abundante en selva baja (11). Hay zonas en selva alta como son los valles: de Tingo María y Madre de Dios donde se está realizando cultivos intensivos de *V. pseudolea* solo con propósito de reforestación y captación de CO₂ cuyo nivel se halla por encima de la capacidad fotosintética de la vegetación planetaria que está en peligro de extinción, por eso se ha tomado a esta planta como vitrina de presentación por ser de rápido crecimiento, forma amplias comunidades vegetales, cuyos tallos servirían para el aislamiento de vitexina para su uso en el campo nutraceútico en la industria farmacéutica y biocidal.

D. Uso e información etnobotánica

Duke J.A y Vásquez R. señalan que las semillas de *V. pseudolea* Rusby son comestibles, también el arilo del fruto que es agridulce (13). Observaciones de campo permiten señalar que es un árbol usado como postes, sombra de ganado y como lindero natural del terreno.

Se le atribuye una actividad antioxidante, antiinflamatoria, anticancerígena, como regulador hormonal, esto refrendado por estudio que se describen en el ítem siguiente, también es considerado como antialimentario (antifeedants) en el combate de plagas agrícolas; que sería una nueva forma ecológica de evitar la presencia de depredadores.

1.2.2. Vitexina

Dentro de la clasificación de los pigmentos flavonoidales, Harborne J.B, señala que vitexina, está integrado por un núcleo básico el 2-fenilcromano y sus sustituyentes que son -OH y C-Ósido y el -2-fenilcromano es conocido como genina o aglicona mientras el sustituyente osídico que es la glucosa se conoce como glucósido, por eso vitexina se conoce también como C-heterósido o como C-glicosilflavona porque tiene como sustituyentes la glucosa anomérica (isómero de un monosacárido de más de 5 átomos de carbono que ha desarrollado una unión hemiacetífica que le permite tomar una estructura cíclica (14). El sustituyente glicósido se une al núcleo

A bencénico en posición 8 con el carbono C-1' de la glucosa formando un enlace más fuerte que la que forman los O-glicósidos.

Vitexina es una molécula importantísima por su probable actividad biológica, tiene potente y amplia actividad antitumoral (15,16), y también tiene actividad cardiovascular; porque produce inotropismo positivo, es decir aumenta la fuerza de contracción del corazón (17).

Padmaletha *et al.* en su artículo “ethanopharmacological and biotechnological significances of *Vitex*, bioremediation a biodiversity and bioavailability”, señala que experimentos con cerdo de guinea hembra dados en forma de tintura oral a una alta dosis de 90 días observó que hubo un incremento de los niveles de progesterona, el extracto etanolico de las hojas de *Vitex negundo* muestra actividad antifúngica contra *Trichophyton mentagrophytes*, también muestra actividad antiinflamatoria, analgésica, antihistamínica (18).

A. Actividad biológica de la Vitexina

Hasta el siglo XX fue poco reconocido su uso en relación con su actividad biológica, pero en este siglo las pruebas de actividad de biológica antioxidante han suscitado la atención de la comunidad científica y se están relacionando trabajos experimentales in vitro, evidenciándose las múltiples actividades biológicas como: antiinflamatorio, antitumoral, antioxidante, neuroprotector, cardioprotector, endocrino, estrés metabólico, antiagregante plaquetario, antidiabético e inclusive como antifúngico e insecticida natural. Vitexina al ser aplicado sobre vasos sanguíneos periféricos induce una disminución significativa de la producción del factor α de necrosis tumoral (TNF- α) (10).

Vitexina como isoflavona por su estructura molecular tiene propiedades fitoestrogénicas y por eso en la actualidad tiene una gran demanda en el mercado internacional, la planta más utilizada para extraer vitexina es *Pasiflora* con un rendimiento de 4-5% de este principio activo, sin embargo, estableciendo una relación comparativa entre biomasa de la flor de *Pasiflora* y el tallo de *V. pseudolea*

resulta siendo mayor la de *V. pseudolea* lo que le da una gran ventaja comparativa y una mayor capacidad de uso.

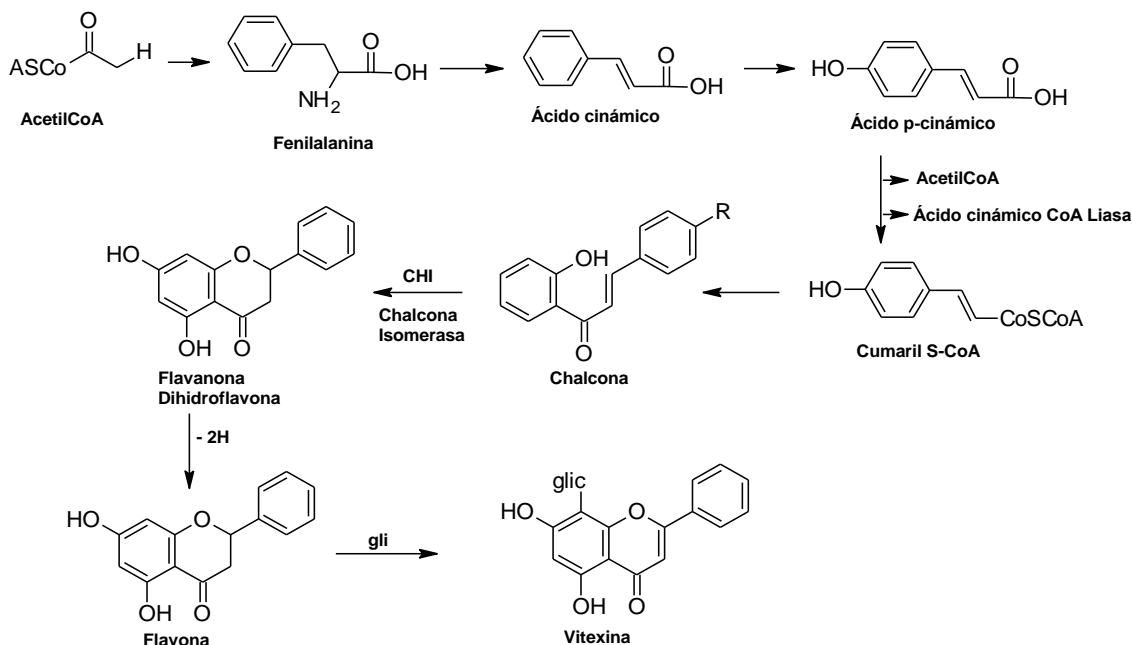


Figura 1. Biosíntesis de vitexina siguiendo *la vía del ácido shikímico*

Fuente: Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia

1.2.3. Aislamiento de vitexina o Apigenina 8-C -glicósido

Depende del material de planta a tratar flores, hojas, corteza o tallo, si contiene aceites esenciales, grasa y clorofila, primero hay que separar del material vegetal con solventes apolares (n-hexano, éter de petróleo), la clorofila con acetona y los glicósidos con agua. Como vitexina va a ser aislada del tallo de *V. pseudolea* Rusby, se precisa reducir la madera a serrín, luego someterla a extracción con agua hirviendo durante 8 horas en 10 volúmenes de agua (p/v), se filtra en equipo de Buchner separando el serrín que se descarta, el filtrado se concentra hasta sequedad, se desengrasa con éter de petróleo y luego se diluye en etanol y se filtra, se obtiene el extracto etanólico este proceso se repite varias veces hasta obtener una resina anaranjada, se disuelve en agua y se extrae con cloroformo, en este solvente apolar puede separarse la aglicona quedando la vitexina, en la fase acuosa se concentra a sequedad y se diluye en alcohol para purificarlo.

En plantas que no pertenecen al género *Vitex*, sucede que siempre están unidos 2 componentes vitexina y orientina, el ejemplo más importante es el método adoptado por Sharma *et al.* quien aisló orientina y vitexina simultáneamente de la corteza de *Parkinsonia aculata* y señala que , solo se distingue uno del otro en que vitexina lleva 3-oxidrilos en posición 4,5 y 7 en cambio orientina lleva 4 grupos oxidrilos en posición 3,4,5 y 7 pero en ambos es común la glucosa como sustituyente en posición 8 siendo ambos C-heterósidos, los separó con éter de petróleo colocando en baño de vapor por 72 horas, el extracto fue concentrado a presión reducida, la masa de jarabe obtenido fue tratada con acetonitrilo para quitar las grasas, el extracto libre de grasa fue extraído con benceno, se evaporó el benceno a presión reducida y el residuo fue llevado a cromatografía de columna y eluído con solvente de polaridad creciente. La fracción I fue eluida con éter de petróleo: benceno (1:3) y el solvente separado a presión reducida observándose una masa solida amarilla (vitexina) (19).

1.2.4. Métodos fisicoquímicos utilizados en la caracterización de vitexina

Consiste en lograr la información necesaria en base a las propiedades fisicoquímicas de vitexina pura tales como: Punto de fusión, es decir el intervalo de temperatura de la vitexina pura en el momento que pasa de la fase sólida a líquida. Cuando se quiere probar la identidad de 2 sólidos que deben tener puntos de fusión idénticos se mezcla convenientemente ambas sustancias, si su temperatura es la misma es que se trata de una sustancia idéntica. Determinación del peso molecular por el método de Rast basado en la depresión del punto de fusión del D-camphor ocasionado por la presencia de la muestra problema con la que se muestra (20).

Pruebas cromogénicas con el reactivo de Shinoda para la confirmación de su estructura flavonoidal (HCL concentrado + láminas de magnesio) con los que se observa un color rosado (5).

El valor R_f en TLC con un solvente o mezclas de solventes corridas sobre una placa cromatográfica cuya fase estacionaria es sílica gel puede ser utilizado para asignar la identidad del compuesto frente a otro que se tiene como patrón o marcador auténtico o con los valores que señala la literatura, si corre a un mismo valor de R_f es que se trata de dos sustancias idénticas.

1.2.5. Caracterización por espectrometría ultra violeta

Consiste en determinar las longitudes de onda máxima en espectrometría UV-visible que da lugar a que se pueda observar la longitud de onda λ_{max} a 277,305,350, 386 nm. Cuando la muestra es corrida en una mezcla de metanol con tricloruro de aluminio, como la vitexina tiene un grupo oxidrilo en posición C-5 es fácil que el tricloruro de aluminio forme con la vitexina el compuesto siguiente: (ver figura 2).

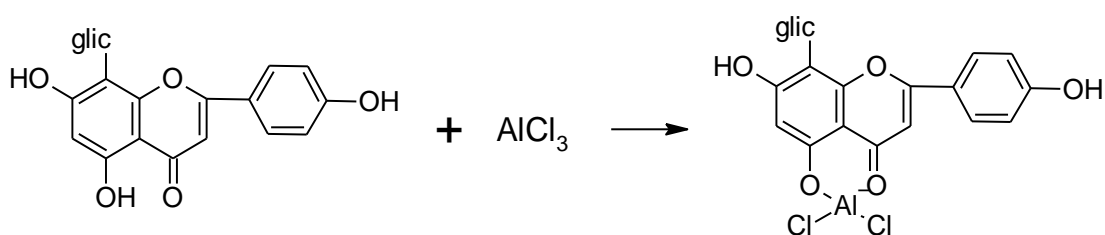


Figura 2. Reacción de vitexina con tricloruro de aluminio

Fuente. Mabry T.J. *et al* The systematic identification of flavonoids

1.3. Definición de términos básicos

Aislamiento: Método que se aplica para separar un compuesto del material vegetal que permitirá su purificación e identificación. Existen muchas técnicas de aislamientos dependiendo de la materia prima con que se trabaja, se utilizan fluidos supercríticos, cromatografía de columna, TLC, partición de fases, sublimación, destilación, centrifugación, etc.

Glicoflavona: La vitexina es una glicoflavona, donde la glucosa es un sustituyente en la posición C-8 del 2-fenilcromano que además consta de 3 sustituyentes oxidrilos en las posiciones 5 y 7 en el núcleo A de la 2-fenilcromano y 4' en el núcleo C del 2-fenilcromano.

Caracterización: Consiste en identificar al componente o los componentes puros aislados, usando técnicas de cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas, resonancia magnética nuclear de protones y de carbono-13,

espectrometría ultravioleta visible, infrarrojo, rayos X, dicroísmo circular y espectrometría de masas.

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1. Formulación de la Hipótesis

No aplica por ser un estudio descriptivo.

2.2. Variables de estudio y su operacionalización

2.2.1. Variables de estudio

Características fisicoquímicas explica aspectos físicos y químicos simultáneamente y que depende de condiciones externas como son las variables temperatura, presión, volumen y de las modificaciones químicas que se producen. Estas propiedades son punto de fusión, peso molecular y valor del Rf.

Espectrometría UV-visible es la medición de las longitudes de onda máxima de los compuestos que tienen una estructura con dienos conjugados y que tienen la tendencia de absorben radiación de los electrones que se excitan a una determinada longitud de onda (entre 180 a 650 nm) y que pueden verse afectado por el solvente.

2.2.2. Operacionalización de variables

Variable de Estudio	Definición operacional	Tipo de investigación por naturaleza	Indicadores	Escala de medición	Medios de verificación
Características fisicoquímicas de vitexina	Vitexina es un flavonoide conocido como glicosil flavona, antes de extraer se desengrasó usando solventes apolares luego se macera con alcohol, se separa las agliconas con cloroformo mientras que la vitexina queda en la fase acuosa; la cual se concentra y precipita y purifica con etanol.	Cuantitativa	Punto de fusión Valores Rf Peso molecular	Grados centígrados Número adimensional g/mol	Valores de las propiedades fisicoquímicas
Espectrometría UV-Visible de Vitexina	La vitexina purificada se analizó en un espectrómetro UV-visible, en el que se midió las longitudes de ondas máximas de absorción característicos.	Cuantitativa	Longitud de onda máxima	Nanómetro (nm)	Espectro UV-visible

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Diseño metodológico

El estudio fue de tipo descriptivo; porque se caracterizó al compuesto vitexina aislada de la especie botánica *V. pseudolea* Rusby, (20). El diseño fue no experimental, transversal ya que la muestra se recolectó por una sola vez y no se manipuló variable alguna.

Se elaborará un algoritmo, es decir un conjunto de procedimientos, fases, etapas para la realización de operaciones procesos químicos, mediciones, cálculos matemáticos, sistemas de control. Los pasos experimentales en la obtención de vitexina: Recolección de la muestra, identificación botánica, molienda (reducir la muestra a serrín), desengrasar con solvente de baja polaridad, extracción acuosa, filtración, evaporación, disolución en etanol, pruebas fisicoquímicas y espectrometría UV-visible y evaluación del producto puro.

3.2. Diseño muestral

Población de estudio. Conjunto de árboles de *V. pseudolea* Rusby existentes en la localidad de Tamshiyacu. distrito Fernando Lores, Región Loreto.

Muestra de estudio. Se recolectó un trozo de tallo (rama) grueso cuyo diámetro uniforme fue mayor a 8 cm con un serrucho, de las cuales se obtuvo 200 g de serrín usando escofina.

3.3. Procedimiento de recolección de datos

A. Colección de muestra vegetal

La muestra vegetal se recolectó en la localidad de Tamshiyacu, distrito de Sargento Lores, Región Loreto, cuyas coordenadas georreferenciales son las siguientes 4°00'07" S; 73°09'46" O; altitud 106 msnm.

Se tomaron fotografías para documentar el estudio se cortó con sierra una rama de 8 cm de diámetro, in situ se extrajo un poco de serrín y en una muestra etanólica se realizó la prueba de Shinoda que resulto positiva para flavonas. La muestra luego fue trasladada hasta el laboratorio de Productos Naturales y Fitoquímica de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP).

B. Certificación de la muestra vegetal

Para la identificación se cortó una rama de la planta que tenía hojas, flores y frutos para la exicata que fue llevada al Herbarium Amazonense CIRNA-UNAP de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana (UNAP), donde fue evaluada por un taxónomo botánico por sus características morfológicas y los criterios filogenéticos que cada especie vegetal posee de acuerdo con la clasificación establecida por Arthur Cronquist. La certificación de la especie vegetal, permitió la emisión de una constancia con su respectivo código de identificación.

C. Obtención de la vitexina

La corteza del tallo fue retirada con cuchillo, para dejar solamente el tallo limpio para su procesamiento. El tallo se le redujo a serrín con escofina y luego por molino de disco se pasó por malla 60 ASTM para reducir el tamaño de las partículas con molino de discos se redujo a granulometría fina obteniendo 200 g de muestra que pasó por malla 60 ASTM.

Se tomó 200 g de muestra que se desengrasó en el equipo Soxhlet por 8 horas con n-hexano. Luego se realizó la extracción en una marmita de 10 L de capacidad se agregó 2 litros de agua destilada y se llevó a hervir por 8 horas, el extracto se filtró utilizando un equipo de Buchner que lleva incorporada al matraz de Kitasato por la tubuladura lateral una bomba de vacío para una extracción óptima luego se evaporó el filtrado a sequedad y se pesó obteniéndose 42 g.

El extracto seco se disolvió en 200 mL de etanol de 96° GL (varias veces) y se filtró para separar las impurezas. El filtrado etanólico se redujo a $\frac{1}{4}$ de su volumen y se

dejó en reposo hasta que se forma un jarabe de color amarillo, nuevamente se disolvió en etanol y se filtró.

El filtrado se pasó a una pera de decantación y se agregó cloroformo para extraer las agliconas presentes como la apigenina que es la aglicona de la Vitexina, luego se separó la fase clorofórmica, se tomó la fase etanólica que se filtró y se evaporó hasta 1/5 de su volumen, se dejó en reposo sobre hielo y precipitaron unos cristales amarillos anaranjados, se filtró el agua madre separando los cristales de *vitexina*. se repitió los mismos pasos en afán de obtener otras cosechas. Los cristales que quedaron retenidas se secaron en el papel de filtro, se pesó y dio un valor de 2,352 g.

D. Determinación de los parámetros fisicoquímicos

Punto de fusión se determinó usando el aparato FIJATOM 43LD de USV 60Hz Rango 50 a 300°C. Un cristal de muestra se introdujo a un tubo abierto milimétrico, se llevó al aparato FISATOM 431D de USV 60Hz Rango 50 a 300°C, que posee un ocular con un aumento que permitió agrandar la imagen, se encendió el equipo, en 5 minutos se hizo la lectura digital, en el momento en el que se fundía el cristal la temperatura del equipo indicaba 204°C esa temperatura denominada punto fusión es semejante a la reportada por Pappachen et al. para vitexina (10).

Solubilidad la muestra de los cristales se probó en los solventes siguientes:

- Etanol ... soluble
- Metanol ... soluble
- Cloroformo ... insoluble

Pruebas coloridas la muestra se disolvió en etanol y se agregó pequeñas granallas de magnesio y ácido clorhídrico concentrado, aparece una coloración rojiza propias de las flavonas. Una pequeña solución de clorhidrato de cianidina, se vertió sobre la solución metanólica de vitexina, dando una coloración rosada que indica la presencia del núcleo α -Benzopirona característico de un flavonoide (5).

Peso molecular se utilizó 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) (20); para lo cual se procede del modo siguiente.

Se utilizó un tubo cilíndrico de 8x50 mm limpio y seco, se pesó, luego se colocó 50 mL 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 (170,6°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 ΔT del camphor. Con estos datos se determinó el peso molecular de vitexina que es igual a $M = 432,37 \text{ g/mol}$ con error de ± 0.049 con respecto al valor de la literatura de 432,168 g/mol (ver anexo 4).

Valor del factor de retención - R_f por cromatografía en capa fina – TLC, se utilizó la técnica señalada por Stahl-Egon en su libro “Thin Layer Chromotography (1969, pag.670). Se procedió del modo siguiente se preparó de un cromatofolio 20 x 20 cm cuyo soporte es sílica gel, 5 tiras cromatográficas de 20 cm de longitud y 4 cm de ancho.

Se prepara la muestra diluyendo la muestra en etanol se aplicó a 2 cm por encima del margen inferior (origen) a una distancia 2 cm entre el borde lateral derecho y el borde lateral izquierdo.

La longitud de corrida de la mezcla de solvente se hizo con una regla milimétrica. Antes de medir se reveló la tira en la cámara de UV, que dio un color amarillo verdoso. Los valores de R_f calculados utilizando diferentes mezclas de solventes de corrida para vitexina pueden verse en el anexo 5.

Primera mezcla de solventes: Se preparó la solución de corrida que consistió en una mezcla de [acetato de etilo: butanona: ácido fórmico: H₂O] (50+ 30+10+10) que se vertió en la cámara de vidrio que se tapó para saturar el ambiente, se introdujo la tira cromatográfica dentro de la cámara y se corrió, se detuvo la corrida cuando el solvente se hallaba cerca del borde superior de la tira (frente del solvente) (21).

Segunda mezcla de solventes: Se preparó la solución de corrida que consistió en una mezcla de [Benceno: metanol: Butanona] (60+20+20).

Tercera mezcla de solventes: Se preparó la solución de corrida que consistió en una mezcla de [agua: etanol: butano: acetilcetona] (65+15+15+5).

E. Análisis por espectrometría UV-visible

Las mediciones de longitud de onda máxima de vitexina se realizó en el equipo 2800 UV/Vis Spectrophotometer UNICO.

Se preparó una muestra de 20 mg pesado con precisión luego se diluyo en metanol que se trasvasó a un matraz aforado de 250 ml, se llevó a la celda de cuarzo de 1 cm² 3 ml de la solución luego se introdujo con la cubeta de referencia en la cavidad denominada área de muestra donde los haces de radiación pasa al área del detector donde funcionan 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, es cuando 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 de 200 – 500 nm en medio metanólico y se pudo observar los picos siguientes:

λ_{\max} MeOH 270, 302 Sh,366 nm

Después se preparó una muestra usando como solvente de desplazamiento una mezcla metanol, AlCl₃ y HCl.

Se observan los valores siguientes de longitudes de onda máxima λ_{\max} 278,305,345, 383 nm, que son valores semejantes a los reportados por Kim Jin Wa *et al.* (3) y por Mabry T.J.R *et al.* (6); lo que prueba que el compuesto aislado de *V. pseudolea* Rusby corresponde a la vitexina.

3.4. Procedimiento y análisis de datos

Las etapas del procesamiento de la muestra para la obtención de vitexina se muestra en el siguiente diagrama de bloque (Ver fig 3)

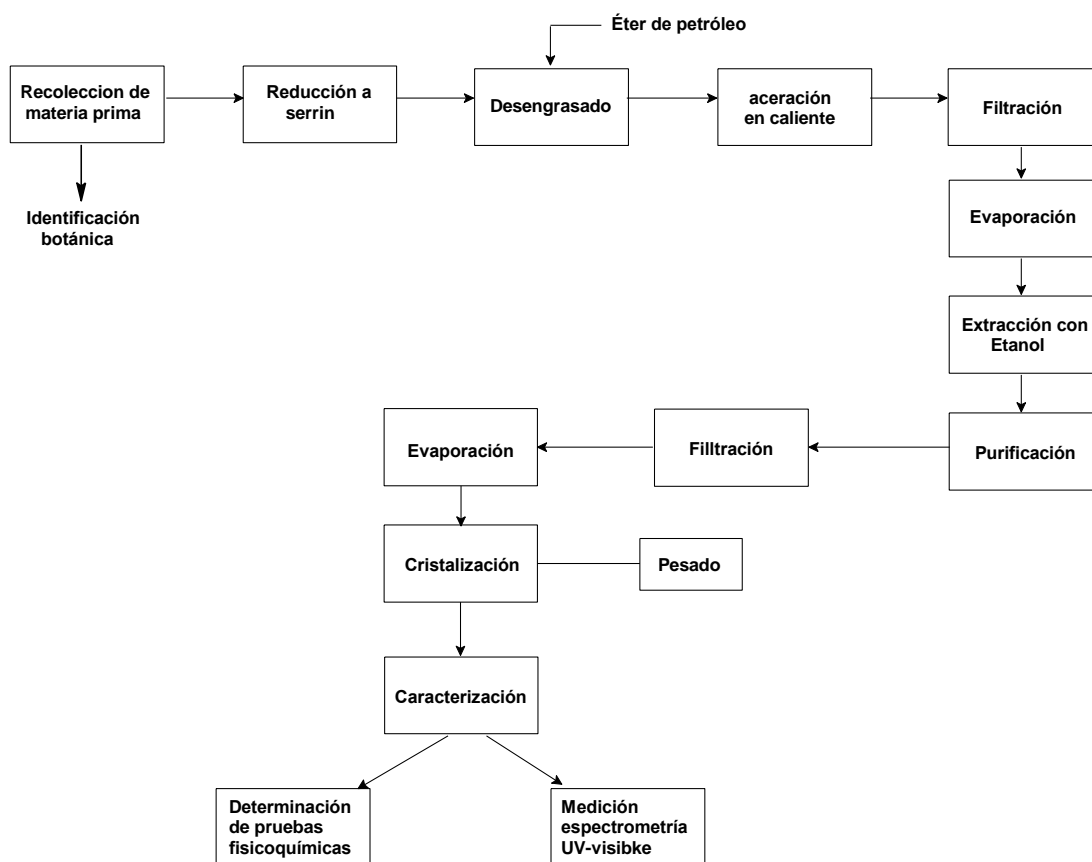


Figura 3. Diagrama de bloque para obtención de vitexina

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

3.5. Aspectos éticos

Al aislar Vitexina del tallo de la especie *V. pseudolea* Rusby esta no fue amenazada en su dinámica de crecimiento y propagación, porque la muestra que se extrajo corresponde al órgano de una rama del árbol que se renuevan permanentemente en su desarrollo normal.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Rendimiento de Vitexina

El rendimiento de Vitexina de *V. pseudolea* Rusby es la relación proporcional entre el peso del producto sobre el peso de la materia prima expresado en valor porcentual, se trabajó con 200 gr de muestra de los cuales se obtuvo 2,352 gr de vitexina, dando un rendimiento de 1,18% (ver anexo 5)

4.2. Valores de los parámetros fisicoquímicas

Punto de fusión de vitexina es de 204 °C, es soluble en solventes de mediana y escasa polaridad que son: Etanol, metanol y en CHCl_3

Pruebas coloridas, la reacción dio positiva al Reactivo de Shinoda dando una coloración de rojiza, también la muestra al reaccionar con clorhidrato de Cianidina dio positiva dando una coloración rosada. El peso molecular dio 432,37 g/mol. Los valores Rf utilizando como solvente de corrida una mezcla de acetato de etilo: butanona: ácido fórmico: agua dio 37, en una mezcla de Benceno: metanol: Butanona dio 68 y por último usando solvente de corrida de agua: etanol: butano: dio un valor de Rf 25 concordante con los valores reportados en la literatura.

4.3. Mediciones de longitud de onda

El barrido de las longitudes de onda en Metanol se observa las longitudes de onda siguientes. $\lambda_{\text{max.MeOH}}$:271:302 Sh, 362 nm

Corrido en una mezcla de sustancias Metanol+ AlCl_3 +HCl se observó los valores siguientes: $\lambda_{\text{MeOH+AlCl}_3+\text{HCl}}^{\text{max}}$:278:305,344,383 nm. Estos valores son coincidentes

con los de la literatura.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

Si comparamos los estudios realizados por varios investigadores con especies del género *Vitex* de la familia *Lamiaceae* en todas ellas se ha encontrado como componente principal Vitexina (Apigenina-C-8-glicopiranos) (3,7,8,10), lo que es más frecuente en otras familias y géneros es isovitexina con el glicósido en posición 6 como sustituyente en la molécula de Apigenina, a veces en el género de algunas familias se encuentra asociado como orientina, como por ejemplo *Parkinsonia aculeata* de la familia *Caesalpinaceae*, donde el primer componente es orientina seguido de vitexina, pareciera como si una de estas moléculas fuera precursora de otra aunque no ha sido demostrado.

Vitexina fue aislada de *Peperomia pellucida* Linn por Papachen (10) utilizando cromatografía de capa fina cuyo valor de Rf fue de 0,61, mientras que en nuestro estudio utilizamos una metodología distinta para aislar vitexina de *V. pseudolea*, solo para la prueba de identificación se usó cromatografía de capa fina cuyos valores de Rf fueron 37, 68 y 25 respectivamente corridas en diferentes mezclas de solventes. Estos valores difieren al de Papachen et al que usaron otras mezclas de solventes diferentes al que se usó.

Jin *et al.*, (3), aisló vitexina de *Acer palmatum* obteniendo 110 mg, por cromatografía de capa fina obtuvo un valor de Rf de 0,74, también determinaron las longitudes de ondas máximas de absorción que fueron de 270 y 336 nm. Mientras que de *V. pseudolea* se obtuvo 2,352 g de vitexina los valores Rf fueron de 37, 68 y 25 respectivamente. El rendimiento de vitexina de *A. palmatum* fue 0,11%, mientras que en *V. pseudolea* Rusby fue de 1,18%, estos resultados muestran que *V. pseudolea* Rusby tiene mayor rendimiento y que podría ser fuente importante para extraer vitexina.

En otro estudio Chen *et al.*, (22) usando una técnica de recirculación ultrasónica aisló vitexina de las flores de *Trollius chinensis* obteniendo 6,05 mg/g de orientina y 0,96 mg/g de vitexina, este mismo autor (23) usando la técnica de extracción homogenizada iónica líquida obtuvo 5,66 mg/g de orientina y 0,85 mg/g de vitexina, mientras que en el estudio realizado de *V. pseudolea* Rusby de la Amazonía

peruana utilizando una técnica diferente al utilizado por Fengli Chen se obtuvo 2,352 g de vitexina. En ambos estudios realizado por Fengli Chen la cantidad de vitexina obtenido son casi similares, aunque con la técnica de recirculación ultrasónica fue un poco mayor. Se observa que *Trollius chinensis* tiene menor rendimiento de vitexina que *V. pseudolea* Rusby de la Amazonía peruana.

Mulia *et al.*, (24) usando un solvente Eutéctico NADES aisló vitexina de las hojas de *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis obteniendo 46 ppm a temperatura ambiente, pero a temperatura de 55 grados obtuvo 200 ppm de vitexina, mientras que en el estudio de *V. pseudolea* Rusby de la amazonia peruana, usando una técnica diferente se obtuvo 2,352 g de vitexina con un rendimiento de 1,18%. Estos resultados difieren en ambos estudios, sin embargo, el que tiene mayor rendimiento de vitexina es *V. pseudolea* Rusby de la amazonia peruana.

Daba *et al.*, (25) en su estudio en Senegal aisló vitexina de hojas de *Combretum micranthum* y obtuvo 0,0575 g de vitexina, equivalente a 0,013% de rendimiento, mientras en nuestro estudio de *V. pseudolea* Rusby de la amazonia peruana se aisló 2,352 g de vitexina que equivale a un rendimiento de 1,18%, el rendimiento de vitexina en estas dos especies son diferentes, pero se puede observar que la mejor fuente vegetal para extraer vitexina es *V. pseudolea* Rusby de la amazonia peruana. Además, se observa que las especies diferentes al género *Vitex* producen menor cantidad de este componente, por lo que en este estudio se ha encontrado que el rendimiento de vitexina es mayor con respecto a otras especies del mismo género.

V. pseudolea Rusby (paliperro) y *Vitex triflora* son las dos únicas especies de *Vitex* existentes en la amazonia peruana de las 250 especies registradas en el mundo. Otra especie de *Vitex* donde se ha encontrado vitexina es en *Vitex littoralis* conocido como el árbol puriri de Nueva Zelanda y en *Saponaria officinalis* se ha obtenido homovitexina y vitexina. Conviene precisar que en mayor medida la vitexina está presente en especies del género *Vitex* que dentro de la familia de las *Lamiaceae* es monofilética, vale decir que procede de un antepasado común todos sus descendientes en consecuencia es posible señalar que las demás especies de *Vitex* aun no estudiadas pueden contener vitexina ya sea como 8-C-glicósido o como 6-

C-glicosido lo que avizora la posibilidad de obtener vitexina con el propósito de ser utilizado en la industria farmacéutica en el combate contra el cáncer y en el tratamiento de diabetes y como antioxidante.

Vitexina fue aislada de *Peperomia pellucida* Linn por Papachen utilizando cromatografía de capa fina cuyo valor de Rf fue de 0,61, mientras que en nuestro estudio utilizamos una metodología distinta para aislar vitexina de *V. pseudolea*, solo para la prueba de identificación se usó cromatografía de capa fina cuyos valores de Rf fueron 37, 68 y 25 respectivamente corridas en diferentes mezclas de solventes. Estos valores difieren al de Papachen *et al* que usaron otras mezclas de solventes diferentes al que se usó.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

En *V. pseudolea* Rusby de la amazonia baja (paliperro) se encontró en el tallo vitexina un glicósido flavonoidal que tiene como sustituyente en el núcleo 2-fenilbezopirano, la glucosa en posición C-8 que le da una gran estabilidad a la molécula que hace que su hidrólisis ácida no sea fácil de lograrse.

El rendimiento de vitexina del duramen de la madera de *V. pseudolea* fue de 1,18%. Los valores de Rf en una mezcla de acetato de etilo: butanona: ácido fórmico: agua dio 37, en una mezcla de [benceno: metanol: butanona] dio 68 y por último en una mezcla [agua: etanol: butanol] dio 25.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

- El rendimiento superior en vitexina de la especie *V. pseudolea* superior a otras especies de otros géneros y familias y dada la expectativa de utilidad de esta molécula, es conveniente realizar otros estudios orientados a al cultivo con fines de producción de este compuesto.
- Que se encaminen otros trabajos de investigación en buscar nuevas actividades farmacológicas de vitexina, con la finalidad de elaborar productor fitoterapéuticos y posteriormente incursionar en la química fina es decir del aislamiento, purificación y venta de este producto como lo hacen los laboratorios: SIGMA de Estados Unidos y laboratorios chinos Alibaba que venden sus productos puros para la industria farmacéutica, para servir como patrones o como marcadores auténticos en los trabajos de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Harborne J.B Phytochemical Methods Editorial Chapman and Hall Londres 1973 pag. 52
2. Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y Farmacoquímica Editorial Acribia S.A España 1991 pag.161
3. Jin HK, Bum CL, Jin HK, Gwan SS, Dong HL, Kyung EL, et al. The isolation and antioxidative effects of vitexin from *Acer palmatum*. Arch Pharm Res. 2005;28(2):195–202.
4. Soukup J. Vocabulario de los nombres de la Flora peruana, Catálogo de Generos Editorial Salesiana Lima Perú pag. 424
5. Dominguez X. Metodos de Investigación Fitoquímica Editorial Limusa Mexico 1979 pag. 39
6. Mabry T.J,Markhem K.R,Thomas M.B. The Systematic Identification of flavonoids. Editorial Springer-Verlag N.Y. Heidelberg.Berlin1970 ,pag 48,52
7. De Marcano Deanne Hasegawa Masahisa. Fitoquímica orgánica Editorial Universidad central de Venezuela CDCH Venezuela 1991 pag. 97
8. Ganapaty S, Vidyadhar K.N. Phytocomtituents and biological activities of Vitex A Rewiw. Journal of Natural Remedios,2005, 5 (2), 75,95
9. A K Meena, Uttam Singh, A K Yadav, B Singh MMR. Pharmacological and Phytochemical Evidences for the Plants of Wedelia Genus Vitex - A Review. Int J Pharm Clin Res [Internet]. 2010;2(1):1–9. Available from: www.ijpcr.com
10. Papachen Leena K, Chocko Annam. Isolation of Charaterization of flavone glicoside of vitexin fron Peperomia pellucida Linn Journal of Drug Delivery y Therepentic 2013, 3(6), 91,92
11. Judd,Campbell, Kellog, Stevens,Donoghue,Plant Systematics, Aphylogenetic Approach. Second Edition Editorial Sinauer Associates Inc. Publichers.Sunderland,Massachusetts.USA Pag. 466,468
12. Harborne J.B. Phytochemical Methods. Editorial Chapman and Hall. London 1973. Pag.52,74
13. Duke J.A, Vásquez Rodolfo. Amazonian Ethnobotanical Dictionary Editorial CRC-Prey Usa, London, Tokio 1994 pag. 177
14. Bruneton J. Elementos de Fitoquímica y Farmacognosia Editorial Acribia S.A España 1991 pag.161

15. Al-Jeebory Ali, Dizaye Kawa F. Irq Journal Pharm Universidad de Begded 2006, Vol 6 N°1 , Pag 14-19
16. Zafari, Shariff M, Optimazation of Solvent Systems for the extraction of Vitexin as the major bioactive flavonoids in Prosopis Fracts. American Journal of Plant Sciences USA, 2020 Vol 11 Pag.595,603
17. Al-Jeebory Ali, Dizaye Kawa F. Irq Journal Pharm Universidad de Begded 2006, Vol 6 N°1 , Pag 14-19
18. Padmaletha K Jayaramk K, Raju N.L, Prascd M.N.V.Arona Rajesh Ethnopharmacological and Biothechological and Biovilability , India 2009 pag 6,14
19. Sharma K.K, Sharma Ak, Sharma M.C Tanwer K. Isolation of Orientin and Vitexin fron stem Bark of Parkinsonia aculeeta (Caesalpinaceae) and their suecessive blending and sheep Wool fiber. International. Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Reserch .India 2014, pag 556,561
20. Shiner R,L , Fuson R.C, Curtin D.Y. Systemetic Identification of organic Compound , Editorial Wiley, 5^{ta} Edition N.Y 1965 Pag.72,74
21. Stahl Egon. Editors. Thin Lager Chromotophy, Editorial Springer-Verleg, Berlin, Heidelberg ,N.Y, 1969, Pag. 690
22. Chen F, Zhang Q, Liu J, Gu H, Yang L. An efficient approach for the extraction of orientin and vitexin from Trollius chinensis flowers using ultrasonic circulating technique. Ultrason Sonochem [Internet]. 2017;37:267–78. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.01.012>
23. F, Zhang Q, Mo K, Fei S, Gu H, Yang L. Optimization of ionic liquid-based homogenate extraction of orientin and vitexin from the flowers of Trollius chinensis and its application on a pilot scale. Sep Purif Technol [Internet]. 2017;175:147–57. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.seppur.2016.10.062>
24. Mulia K, Muhammad F, Krisanti E. Extraction of vitexin from binahong (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis) leaves using betaine - 1,4 butanediol natural deep eutectic solvent (NADES). AIP Conf Proc. 2017;1823
25. Daba T, Dior FA, Mbacké DS, Abdou S, Weiting L, Qingli-Li W, et al. Rapid isolation of vitexin from leaves of kinkeliba, Combretum micranthum G. Don. J Pharmacogn Phytochem. 2021;10(1):14–6

ANEXOS

Anexo 1. Constancia de identificación taxonómica



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, la muestra botánica presentado por IBONY SABOYA VELA, Bachiller de la Facultad Farmacia y Bioquímica, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, pertenece a la tesis titulado: Caracterización Físicoquímica y Espectrométrica de Vitexina Aislada de *Vitex pseudolea* Rusby (paliperro); 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:

Codigo AMAZ	Nombre Vulgar	Nombre Cientifico	Familia
018875	paliperro	<i>Vitex pseudolea</i> Rusby	Lamiaceae

Se expide la presente constancia a la interesada, para los fines que estime conveniente.

Atentamente,

Iquitos, 11 de octubre del 2021

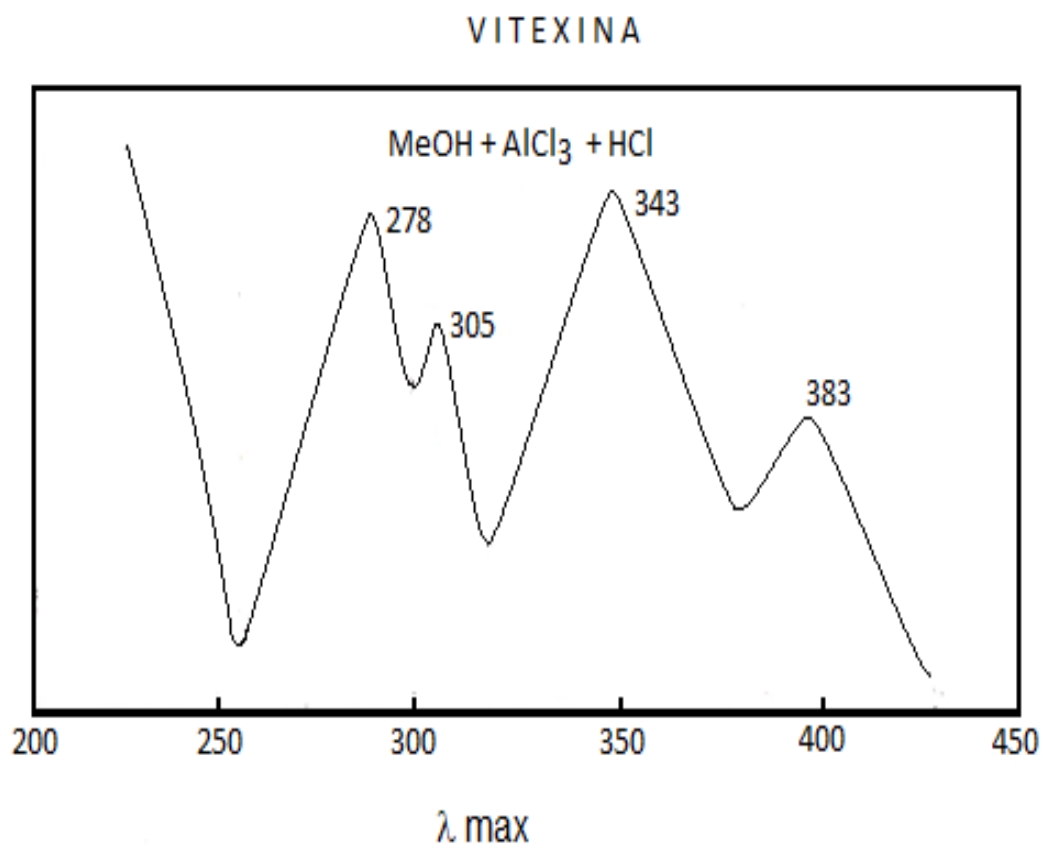

Richard J. Huananca Acostupa
Coordinador Herbarium Amazonense



Anexo 2. *Vitex pseudolea* Rusby



Anexo 3. Espectro UV-visible de Vitexina



Anexo 4. Determinación del peso molecular de vitexina

Punto de fusión de la mezcla del componente y D-camphor: 170,6°C

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

Se halla la diferencia del punto de fusión

$$\Delta T = 179,75 - 170,6 = 9,182$$

Aplicando la formula

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

Sabiendo que

K= Depresión molar del D-camphor 39,7

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

P= peso del D-camphor 0,5 g

$$\Delta T = 9,182$$

$$M = \frac{39,7 * 0,05 * 1000}{9,182 * 0,5} = \frac{1985}{4591} = 432,37$$

M=432.37 g/mol

Se determinaron el porcentaje de error la relación al peso molecular de Vitexina 432.168 g/mol, promedio del siguiente

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

$$\%em = \left(\frac{432.37 - 432.16}{432.37} \right) * 100 = \frac{21}{4337} = 0.049$$

Encontramos que el margen de error es de ± 0.049 un valor relativamente bajo, que significa que la muestra analizada con el peso molecular de 432.7 es el que corresponde a Vitexina.

Anexo 5. Determinación de los vales de Rf de vitexina

A. Solvente de corrida, mezcla acetato de etilo: butanona: ácido fórmico: H₂O (50+30+10+10).

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

Distancia de corrido del solido 5,12 cm

Distancia de corrido del solvente 16 cm

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

$$Rf = \frac{5.92}{16} \times 100 = 37$$

B. Solvente de corrida una mezcla de Benceno: metanol: Butanona (60+20+20).

También es preciso señalar que se realizó corridos en capas de poliamida usando en un primer caso reactivos Benceno: metanol: Butanona (60+20+20), seguidamente se midió las corridas por el sólido y solvente.

Distancia de corrido del soluto 10,88 cm

Distancia de corrido del solvente 16 cm

$$Rf = \frac{10.88}{16} \times 100 = 68$$

C. Solvente de corrida una mezcla de agua: etanol: butano: acetilcetona (65+15+15+5).

seguidamente se mide la distancia de corrida del sólido y solvente:

distancia de corrido del soluto: 4

distancia de corrido del solvente :16

$$Rf = \frac{4}{16} \times 100 = 25$$

Estos valores coinciden con los valores que por la vitexina reporta Stahl –Egem ya citados

Anexo 6. Cálculo del rendimiento de Vitexina

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

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

Materia prima utilizada 200 gramos de serrín, se obtuvo 2,352 gramos de vitexina, el cálculo es el siguiente:

$$\%rendimiento = \frac{2,352 \text{ g}}{200} \cdot 100 = 1,18\%$$