



**UNAP**



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

**TESIS**

**IDENTIFICACIÓN POR SUS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y  
ESPECTROMETRÍA DE LA RUTINA AISLADA DE *Preslianthus pittieri*  
(STANDL.) ILTIS Y CORNEJO**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**PRESENTADO POR:**

**FLOR DE LUCERO GRÁNDEZ VELA  
SHARON ESTEFANY VIENA LECCA**

**ASESOR:**

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

**IQUITOS, PERÚ**

**2023**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN



Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N°040-2023-CGT-FFyB-UNAP

En el caserío de Nina Rumi, distrito de San Juan Bautista, departamento de Loreto, a los 20 días del mes de setiembre de 2023, a horas *11:30*, se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulada "IDENTIFICACIÓN POR SUS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS Y ESPECTROMETRÍA DE LA RUTINA AISLADA DE *Preslianthus pittieri* (STANDL.) ILLIS Y CORNEJO", aprobada con Resolución Decanal N°223-2023-FFyB-UNAP presentada por las bachilleres: Flor De Lucero Grández Vela y Sharon Estefany Viena Lecca, 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°243-2022-FFyB-UNAP, está integrada por:

- |   |            |
|---|------------|
| - Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.      | Presidente |
| - Q.F. CARLOS ADOLFO CONTRERAS LICETTI, Dr. | Miembro    |
| - Q.F. LILIANA RUIZ VÁSQUEZ, Dra.           | Miembro    |

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: *...[firmas]...*


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

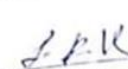
La sustentación pública de la tesis ha sido *aprobada* con la calificación *muy buena*.

Estando las bachilleres aptas para obtener el Título Profesional de Químico Farmacéutico.

Siendo las *11:30* se dio por terminado el acto *académico de sustentación*.

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

  
Q.F. CARLOS ADOLFO CONTRERAS LICETTI, Dr.  
Miembro

  
Q.F. LILIANA RUIZ VÁSQUEZ, Dra.  
Miembro

  
Ing. CLETO JARA HERRERA, Mtro.  
Asesor

## JURADO Y ASESOR



---

Q.F. Frida Enriqueta Sosa Amay, Dra.  
Presidente de Jurado calificador y dictaminador  
CQFP: 03468



---

Q.F. Liliana Ruiz Vásquez, Dra.  
Miembro de Jurado calificador y dictaminador  
CQFP: 12491



---

Q.F. Carlos Adolfo Contreras Licetti, Dr.  
Miembro de Jurado calificador y dictaminador  
CQFP: 11601



---

Ing. Cleto Jara Herrera, Mtro.  
Asesor  
CIP:63042

NOMBRE DEL TRABAJO

**FFB\_TESIS\_GRANDEZ VELA\_VIENA LEC  
CA.pdf**

AUTOR

**GRANDEZ VELA / VIENA LECCA**

RECuento DE PALABRAS

**9003 Words**

RECuento DE CARACTERES

**45817 Characters**

RECuento DE PÁGINAS

**35 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**421.7KB**

FECHA DE ENTREGA

**Dec 14, 2023 3:17 PM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Dec 14, 2023 3:17 PM GMT-5**

● **10% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base c

- 10% Base de datos de Internet
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de Crossref
- Base de datos de contenido publicado de Crossr
- 8% Base de datos de trabajos entregados

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

Esta tesis está dedicado a mi madre **Olga Vela**, mujer a quien le debo toda mi vida, luchadora incansable que hizo todo por sus hijos. Sin ti madre mía no habría logrado el éxito deseado. En el estadio de mi vida tu bendición me protege, me orienta por el camino correcto. Por todo eso te dedico este logro con todo mi corazón y mi amor.

A pesar de tu ausencia física, tengo impreso en los sueños de mi mente tus enseñanzas y sabiduría que me trasmitiste en vida. Te amo madre mía en la eternidad.

A mi hijito **Eydan Rahif** aun tierno por ser el motor y motivo de levantarme a diario con todas las fuerzas y actitud positiva. Porque su amor y compañía me ayudó a culminar mi profesión. Por último, mi gratitud a mis familiares y amigos que me brindaron su tiempo y afecto para poder concluir con éxito lo que ha de ser que adelante mí ejercicio profesional.

***Flor Grández Vela***

La presente tesis es un reconocimiento a DIOS, a mis progenitores **Silverman** y **Marly**, por la paciencia, por el soporte incondicional y sus consejos.

A mis hermanos Lindos, **Kaylinn** y **Kampuy**, que alentaron mi superación.

A mi pareja **Angelo**; por su sacrificio y esfuerzo, porque siempre ha estado brindándome su comprensión, cariño y amor.

***Sharon Viena Lecca***

## **AGRADECIMIENTO**

Primeramente agradecemos a Dios, el que creó todo el universo, nos dió la fortaleza para seguir luchando cuando nos sentíamos desvanecer; por ello, con toda la humildad que da nuestros corazones no nos alejó de predicar las virtudes que nos otorgó. Pero también por darnos unos padres maravillosos.

A nuestras familias, especialmente a nuestras madres por darnos la vida, por guiarnos en nuestros pasos a lo largo de nuestro camino, sin dejarnos desfallecer, porque sus enseñanzas, sus apoyos, siempre permanecerán en nuestros pensamientos y en nuestra vida diaria, y que nos inculcó en la verdad, al trabajo y dedicación que repercutirá de manera positiva en nuestra vida profesional.

A nuestros hijos, hermanos, por ser el motor y motivo que nos alentó para continuar con nuestros estudios indeseablemente, ya que su presencia en nuestra vida, nos impulsan a ser mejores cada día, nuestro amor y cariño está para ustedes.

Agradecemos a todas aquellas personas que nos ayudaron y motivaron a seguir adelante con este proyecto de tesis, ya que sus palabras de aliento nos ayudaron a no desfallecer y por último a nuestro asesor el Ing. Cleto Jara, por brindarnos su apoyo y sabiduría a lo largo de este proyecto, a fin de hacer posible la culminación de esta tesis.

***Flor Grández Vela y Sharon Viena Lecca***

## ÍNDICE DE CONTENIDO

PORTADA	i
ACTA DE SUSTENTACIÓN	ii
JURADO Y ASESOR	iii
RESULTADO DEL INFORME FINAL DE SIMILITUD	iv
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	2
1.1. Antecedentes	2
1.2. Bases teóricas	6
1.2.1. Especie vegetal en estudio	6
1.2.2. Rutina	7
1.2.3. Biogénesis de la rutina	9
1.2.4. Métodos de aislamiento de la rutina	10
1.2.5. Determinación de los parámetros fisicoquímicos	11
1.3. Definición de términos básicos	15
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	16
2.1. Formulación de la hipótesis	16
2.2. Variables de estudio y su operacionalización	16
2.2.1. Variable de Estudio	16
2.2.2. Operacionalización de variables	17
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	18
3.1. Diseño metodológico	18
3.2. Diseño muestral	18
3.3. Procedimiento de recolección de datos	19
3.4. Procesamiento y análisis de datos	22
3.5. Aspectos éticos	25

CAPÍTULO IV: RESULTADOS.	26
4.1. Rendimiento de rutina	26
4.2. Características fisicoquímicas	26
4.3. Características espectrométricas	27
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN	28
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	33
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	34
CAPÍTULO VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	41



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura química de la rutina	7
<b>Figura 2.</b> Biogénesis de rutina por vía del Shikimato	10
<b>Figura 3.</b> Cromatografía bidimensional en papel whatman 3MM (36)	13
<b>Figura 4.</b> Diagrama: Aislamiento de rutina de <i>P. pittieri</i> (Standl) Iltis & Cornejo	19

## RESUMEN

La rutina, un flavonol con propiedades bioactivos, que tiene múltiples actividades farmacológicas como antitumoral, antimicrobiana, antiinflamatoria, etc. El objetivo del presente estudio fue identificar la rutina aislado de *Preslianthus pittieri* (Standl.) Iltis y Cornejo por determinación de sus características fisicoquímicas y por espectrometría ultravioleta visible. La muestra fue colectada en el Arboretum “El Huayo” ubicado en la ciudad universitaria de Zungarococha de la UNAP. La muestra se desengrasó en el equipo Soxhlet con éter de petróleo, se maceró en etanol, el residuo se diluyó con tetracloruro de carbono y se extrajo con agua destilada, se concentró y se dejó reposar, luego se recristalizó con metanol y agua. Se obtuvo cristales amarillos, los valores de los parámetros fisicoquímicos medidos fueron: rotación óptica específica  $[\alpha]_D^{25} = +13,82$ , los valores de Rf en TLC monodimensional en sílicagel fue 0,3 y en poliamida 0,3 respectivamente; mientras que en cromatografía bidimensional corridos en TBA fue 0,44 y en NaOAc (acetato de sodio) 0,56. Por método de Rast el peso molecular determinado fue 610,77 g/mol. La medición espectrométrica en el equipo UV/visible en acetato de sodio, mostró las siguientes longitudes de onda máximas: 271, 325, 393 nm. Todos los parámetros que se determinó tuvieron similitud con los que reporta la literatura para esta molécula estudiada en otras especies vegetales, en consecuencia, el flavonol aislado de las hojas de *P. pittieri* (Standl.) Iltis y Cornejo es rutina, y que puede constituirse en una fuente alternativa para extraer este compuesto.

**Palabras clave:** *Preslianthus pittieri* (Standl.) Iltis & Cornejo, caracterización fisicoquímica, espectrometría UV-Visible, rutina, cromatografía de capa delgada, peso molecular.

## ABSTRACT

Rutin, a flavonol with bioactive properties, has multiple pharmacological activities such as antitumor, antimicrobial, anti-inflammatory, etc. The present study aimed to identify rutin isolated from *Preslianthus pittieri* (Standl.) Iltis and Cornejo by determination of its physicochemical characteristics and by ultraviolet-visible spectrometry. The sample was collected in the Arboretum "El Huayo" located in the university town of Zungarococha of the UNAP. The sample was decreased in the Soxhlet equipment with petroleum ether, and macerated in ethanol, the residue was diluted with carbon tetrachloride and extracted with distilled water, concentrated and left to rest, recrystallized with methanol and water. Yellow crystals were obtained, and the values of the physicochemical parameters measured were: specific optical rotation  $[\alpha]_D^{25} = +13,82$ , the Rf values in one-dimensional TLC in silica gel was 0.3 and in polyamide 0.3 respectively; while in two-dimensional chromatography run in TBA was 0.44 and in NaOAc 0.56. By Rast's method, the molecular weight determined was 610.77 g/mol. Spectrometric measurement in UV/visible equipment in sodium acetate showed the following maximum wavelengths: 271, 325, and 393 nm. All the parameters determined were similar to those reported in the literature for this molecule studied in other plant species; consequently, the flavonol isolated from the leaves of *P. pittieri* (Standl.) Iltis and Cornejo is routine, and may constitute an alternative source for extracting this compound

**Keywords:** *Preslianthus pittieri* (Standl.) Iltis & Cornejo, physicochemical characterization, UV-Visible spectrometry, rutin, thin layer chromatography, molecular weight

## INTRODUCCIÓN

La familia Capparaceae, todas tienen origen monofilético es decir que derivan de un antecesor que le es común filogenéticamente; por tanto, los componentes sobresalientes que sintetizan lo son comunes a todos ellos (1). En la amazonia peruana existe varias especies de la familia Capparaceae, género *Capparis* tales como *C. anginata*, *C. cordata*, *C. flexuosa*, *C. macrocarpa*, *C. mollis*, y *Capparis shunckei* (2). *Capparis spinosa* (alcaparra) de origen asiático guarda estrecha relación filogenética con especies del género *Capparis* propios de la amazonia, en particular, de *Capparis shunckei* hoy conocido como *P. pittieri* (Standl.) Iltis y Cornejo debido a ciertas modificaciones filogenéticas realizadas en el género *Capparis* con nuevos estudios filogenéticos de esta planta (3).

Las especies del género *Capparis* estudiadas con contenido de rutina son: *Capparis spinosa* L. "alcaparra" (4), *Capparis ovata* Var. (5), *Capparis ovata* Desf. (6), *Capparis zeylanica* Linn Root (7). De estas especies, del que se extrae rutina con fines medicinales es de *C. spinosa* (4). Pero también, se extrae de otras especies tales como *Fagopyrum esculentum* "alforfón", *Viola* Sp "Flores de Magnolia", *Nicotiana tabacum* "tabaco" (4) y de *ruta chalepensis* "ruda" (8,9).

La rutina, también conocido como vitamina P o rutósido (10,11), cuya estructura química es 3,3',4',5,7-pentahidroxiflavona-3-ramnoglucósido, se encuentra en muchas especies vegetales en el mundo (10,12). Es un flavonol que presenta diversos efectos biológicos y farmacológicos (13). Además, los estudios han demostrado que tiene efectos anticancerígenos, antioxidante, antidiabético, antiinflamatoria, antibacteriana, antifúngica, neuroprotector, cardioprotector, hepatoprotector, nefroprotector y hematoprotector (10).

Este amplio espectro de propiedades biológicas y farmacológicas reportadas para la rutina en beneficio de la salud humana, ha permitido aislar e identificar la rutina obtenida a partir de *P. pittieri* (Standl.) Iltis y Cornejo por las propiedades fisicoquímicas y espectrometría; esto permitirá aumentar la fuente de materia prima para conseguir rutina y aportar con este insumo natural como alternativo para atender dolencias y enfermedades.

## CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes

En el 2020, se aisló rutina de las hojas secas de *Manihot esculenta* Grantz “yuca”, las muestras fueron adquiridos en el mercado local en Bandung, Indonesia. Para extraer la rutina usaron cinco técnicas de extracción maceración, ebullición, reflujo, extracción asistida por ultrasonido y por microondas, el análisis fue hecho en un cromatógrafo líquida de alta resolución (HPLC). En condiciones óptimas de extracción los resultados fueron los siguientes: por maceración  $16,00 \pm 0,21$  g, por ebullición  $20,38 \pm 0,66$  g, por reflujo  $22,33 \pm 2,3$  g, por UAE  $24,49 \pm 0,41$  g y por MAE  $23,37 \pm 1,00$  g de rutina. El rendimiento de rutina fue de hasta 2,4%; además, la eficiencia de extracción por UAE y MAE es de hasta 99 y 94%, respectivamente, el extracto purificado por enfriamiento produjo un bioflavonoide que contenía 82% de rutina y 17% de nicotiflorina. Los autores concluyen que *M. esculenta* Grantz por su alto rendimiento es una nueva fuente de rutina (14).

En el 2020, la rutina se aisló de las hojas secas de *Euphorbia pulcherrima*. Las hojas fueron recolectadas en Mount Carmel College Garden, Bangalore, Karnataka, India. Para extraer la rutina usaron metanol al 80%, purificaron en cromatografía de capa fina (TLC) en isopropanol: agua (4:6) e identificaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). El análisis cualitativo mostró una mancha amarilla en luz visible y en ultravioleta una mancha de color naranja brillante, el valor de Rf fue de 0,8. El cromatograma mostro el pico más alto en 3,178 minutos. Los autores concluyen que en recientes estudios han mostrado que la rutina es un flavonol potente que tiene beneficios farmacológicos de amplio espectro en el tratamiento de diversas enfermedades crónicas y que en la actualidad se están realizando estudios para mejorar aún más sus propiedades farmacológicas (15).

En el 2020, se extrajo rutina de las hojas de *Musa balbisiana* (plátano). Las hojas se adquirieron en un mercado de Ban Klong Krachong, distrito de Sawankhalok, provincia de Sukhothai, Tailandia. Para la extracción cruda usó etanol e identificó por cromatográfica de capa fina (TLC), para separar y purificar la rutina usó cromatografía de columna de Sephadex y cromatografía líquida de fase inversa

semipreparativa (RP-HPLC). La rutina asilada fue caracterizado y cuantificado por RMN, espectroscopía de masas (EM) y HPLC respectivamente. El rendimiento fue de 5,3%. El cromatograma mostro un pico a 365 nm de longitud de onda específica. El valor Rf en metanol: agua fue 0,6. El peso molecular fue 610 daltons y la estructura química caracterizada es el 3,3',4',5,7-pentahydroxy flavones-3-rutinoside (rutina). Los autores concluyen que las hojas de plátano, tienen el potencial de ser utilizada como una fuente nueva y económica de rutina (16).

En el 2016, se extrajo rutina de las cáscaras de *Fagopyrum tataricum* Gaertn (trigo sarraceno tartario), para lo cual se usó una combinación de ultrasonido y solventes eutéuticos profundos naturales (NADES). La muestra fue adquirida en la región de Liangshan, Provincia de Sichuan, China. Con el uso de estos solventes se logró extraer 9,5 mg/g de rutina con una eficiencia de extracción de 95%. Además, señalan que la solubilidad de rutina en los NADES a base de cloruro de colina y glicerol fue entre 660 y 1577 veces mayor al del agua. Por otra parte, resaltan que los NADES se puede recuperar y realizar varias extracciones. Los autores concluyen que el método que se usó para extraer la rutina es ecológico y eficiente y los NADES mostraron ser excelentes solventes con toxicidades muy bajas y son biodegradables, y que pueden usarse como solventes verdes para extraer compuestos bioactivos (17).

En el 2011, se extrajo rutina de Flos de *Sophorae* inmadura (es un botón floral seco derivado de *Sophora japonica* L). Las muestras crudas fueron adquiridas en Hebei, China. Se usó la metodología de superficie de respuesta y para maximizar el rendimiento usaron la extracción asistida por infrarrojo, el análisis fue realizado en un cromatógrafo HPLC. Encontraron que, los parámetros óptimos de extracción fueron: potencia infrarroja 204,90 W, relación líquida: sólido 30 ml/g, concentración de metanol 70% y tiempo de extracción 4,80 min. Se logró extraer 126,32 ± 0,67 mg de rutina/0,5 g de materia prima, el perfil cromatográfico se registró a 254 nm y mediante el análisis por cromatografía líquida- espectroscopia de masas mostro el pico en m/z de 611, que corresponde a la rutina protonada ([R +H]<sup>+</sup>). Los autores concluyen que la metodología usada fue precisa y confiable (18).

En el 2006, se estudió cinco variedades de trigo sarraceno común (*Fagopyrum esculentum* Moench) para determinar la influencia de la variedad y las condiciones ambientales en la distribución de la rutina en la planta, usaron cromatografía capilar electrocinética micelar para determinar el contenido de rutina en tallos, hojas y flores en estado de floración y en aquenios en madurez. El resultado del estudio mostró que las variedades seleccionadas difieren en forma significativa en cuanto al contenido de rutina en hojas, tallos y aquenios. La variedad Krupinka presentó un nivel más alto de rutina en las partes aéreas de la planta, la variedad tetraploides tuvo menor nivel de rutina que las variedades diploides. La variedad Krupinka presentó mayor contenido de rutina en hojas, mientras que las otras variedades fueron en flores, en conclusión, afirma que la variabilidad en el contenido de rutina en flores, tallos y aquenios se debe a la influencia climática y a la edad de la planta (19).

En el 2006, se extrajo flavonoides y la rutina se cuantificó de tres muestras de hojas de tabaco, hojas secas fermentadas y no fermentadas y de desechos procedentes de la fábrica de cigarrillos de Khoi (Azerbaiyan). Las extracciones lo hicieron con metanol al 70%, la fase acuosa fue fraccionado utilizando solventes de diferente polaridad resultando la fracción de acetato de etilo con mayor cantidad de flavonoides, fue sometida a cromatografía de columna para separar los compuestos y por análisis de resonancia magnética nuclear, identificaron 3 flavonoides: apigenina, quercetina y rutina y cuantificaron por HPLC. Las hojas de desperdicios produjeron 0,6% de rendimiento, las hojas no fermentadas 1,5% y las hojas fermentadas 0,5%. El artículo señala que las hojas de tabaco puede ser una fuente importante de rutina y baratos en su extracción en la industria farmacéutica (20).

En el 2003, se realizó pruebas de actividad anticancerígena de diosmetina, diosmina, seguido por la rutina (3 – glucósido de la quercetina), estos flavonoides mostraron tener la máxima capacidad de inhibición contra la formación de nódulos pulmonares, así como el menor porcentaje de implantación, índice de crecimiento y de invasión de los pulmones, esto se explicaría por la actividad reforzante de los capilares que aumenta la resistencia a la invasión y por su actividad antiinflamatoria al inhibir la secreción de prostaglandinas (21).

En el 2001, se extrajo rutina de los capullos de las flores secas de *Sophora japonica*, usaron metanol y solución alcalina acuosa y el ultrasonido, luego compararon los resultados de la extracción de los dos métodos. El efecto del ultrasonido redujo la producción de rutina comparado con el método convencional de extracción usando solución acuosa, mientras que el efecto del ultrasonido aumenta la producción de rutina comparado con el método convencional de extracción usando metanol. Los autores concluyen que usando solución acuosa se evita la degradación de componentes antioxidantes, pero usando ultrasonido o con la extracción metanólica aumenta significativamente la extracción máxima de rutina (22).

En 1990, se extrajo rutina de las semillas, tallos, hojas y flores de trigo sarraceno *Fagopyrum esculentum* Moench por electroforesis, se usó como solvente una mezcla de 60% de etanol y 5% de amoníaco en agua (5g de amoníaco en 100ml de agua), concluyen que la presencia de rutina en todos los órganos de esta planta es una valiosa fuente nutricional (23).

En 1948, se aisló rutina de Satsumelo (*Citrus unshiu*, un cítrico híbrido resultante del cruce entre pomelo y naranja Satsuma). Para la extracción usaron solución de hidróxido de sodio 3N seguido de acidulación con ácido clorhídrico y recristalizado en agua hervida. Para el análisis de la sustancia usaron pruebas espectrofotométricas y punto de fusión. De 268,9 g de cáscara aislaron 1,86 g de rutina con un rendimiento de 3,23%. El punto de fusión fue de 185,5-187,5°C, las longitudes de onda de absorción máxima en UV-visible fueron de 257,5 y 362,5 nm. Los autores concluyeron que la sustancia aislada de la corteza de Satsumelo (*Citrus unshiu*), un cítrico híbrido resultante del cruce entre pomelo y naranja Satsuma es rutina (24).



## 1.2. Bases teóricas

### 1.2.1. Especie vegetal en estudio

#### a) Identificación botánica

De acuerdo con el esquema de clasificación filogenética (1,25), esta planta tiene la siguiente clasificación:

Reino	: Plantae
Sub reino	: Traqueophyta
Division	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Brassicales antes Capparales
Familia	: Capparaceae
Género	: <i>Preslianthus</i>
Especie	: <i>Preslianthus pittieri</i> (Standl.) Iltis & Cornejo.
Nombre vulgar	: sachá granadilla

#### b) Descripción botánica

Se hará nuestra, la descripción botánica realizado por Cornejo y Iltis: “Arbustos o árboles delgados 3 a 12 m, cubiertos por tricomas estrelladas pardo rojizas, [...]; semillas 19-21 × 15-18 × 10-12 mm, cocleado-reniformes, ligeramente complanadas, cubiertas por una sarcotesta vellosa de tricomas simples de 2 mm de largo” (3,26).

#### c) Distribución ecológica

Ampliamente distribuido en selvas tropicales y bosques húmedos, desde el río San Juan en Costa Rica, la frontera con Nicaragua hasta el este de los Andes en Ecuador, Perú, Acre en Brasil y el norte de la Amazonía boliviana, con unos pocos especímenes muy separados conocidos de las Guayanas y el este de Brasil. Esta

especie se parece a *P. detonsa*, pero se distingue por sus flores más pequeñas y discretas y sus frutos globosos (3).

#### d) Usos e información etnobotánica

Hasta hoy, la madera de la especie solo ha sido usado para construcción de viviendas rústicas, no se conoce sus aplicaciones en la medicina tradicional.

##### 1.2.2. Rutina

Rutina es un flavonol, que en la estructura 2-fenil Benzo- $\gamma$ -pirona contiene cuatro grupos OH en posiciones 3',4',5',7' y un azúcar en la posición tres, es la (Rutinosa o Rhamnoglucósido), se conoce como quercetina-3-rutinósido, goza de importancia como quelante formando complejos de coordinación, en el cuerpo humano fija al ion  $Fe^{2+}$  de la sangre que previene enlazarse al peróxido de hidrógeno y evita la formación de radical libre altamente reactivo capaz de causar daño a las células (11,27).

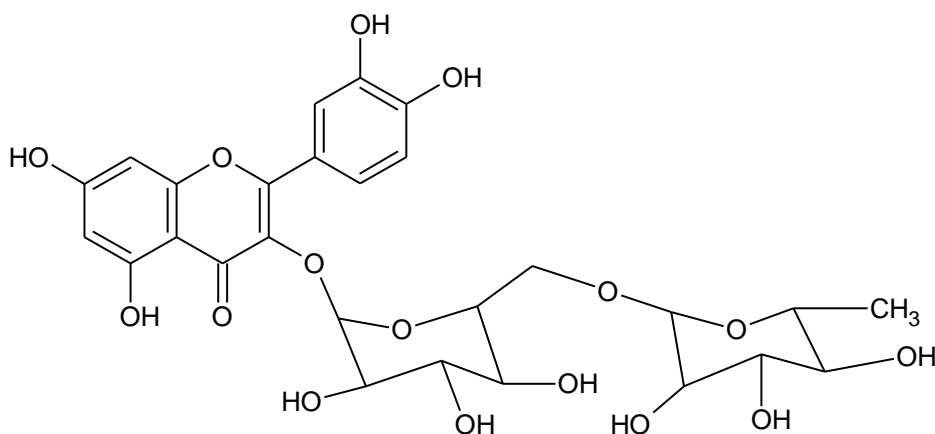


Figura 1. Estructura química de la rutina

#### Propiedades farmacológicas

Es un potente inhibidor de angiogénesis, que es la formación de nuevos vasos sanguíneos para diseminarse, propicio en la ramificación de los neoplasmas. Actúa como inhibidor de algunos tipos de cánceres en el tratamiento del quilotórax (acumulación de linfa) que causa derrame pleural por causas traumáticas o no traumáticas como neoplasias, sarcoidosis, irradiación torácica etc, evita la agregación plaquetaria (30). Es activa contra hemorragias recurrentes producidas

o relacionadas con una disminución de la fragilidad capilar (31), tiene actividad contra los efectos de una exposición a emanaciones radioactivas (32), tiene efecto analgésico y antiinflamatorio, es un modulador de áreas cerebrales como la sustancia gris perioconductal ventrolateral (33). Además, es antioxidante, antimicrobiano, antidiabético, anticancerígeno y tiene efecto neuro protector (34).

## Propiedades fisicoquímicas

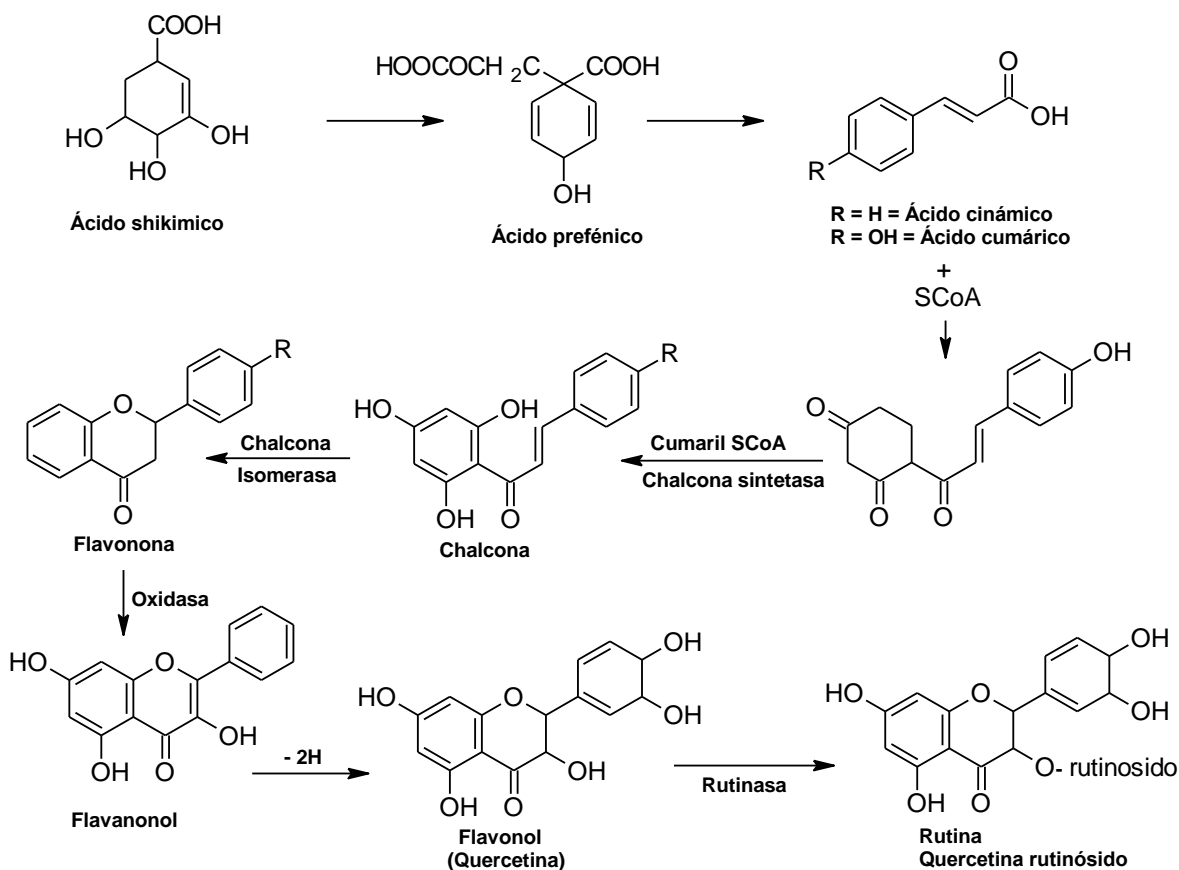
La rutina tiene las siguientes propiedades fisicoquímico (2): peso molecular de 610,515 g/mol, punto de fusión está entre 195 a 197°C, índice de rotación  $[\alpha]_D^{23} = +13,82^\circ$  en etanol y  $[\alpha]_D^{23} = -39,43^\circ$  en piridina, color amarillo pálido, cristales en forma de agujas, soluble en: piridina, acetato de etilo, formamida y dimetilformamida (30).

## Espectrometría UV- Visible de la rutina

La rutina absorbe radiación ultravioleta y muestra bandas de absorción a longitudes de ondas máxima de  $\lambda_{\text{máx}}$ : a: 259, 266 y 363 nm en etanol absoluto usado como reactivo de desplazamiento. Pero si se añade 2 gotas de hidróxido de sodio, se notará un desplazamiento batocrómico hacia la región roja del espectro cuyos valores de longitudes de onda máxima son  $\lambda_{\text{máx}}$  272, 327, 415 nm (35,36), el desplazamiento batocrómico entre 363 y 415 da una diferencia de 52 nm. Otros desplazamientos espectrales pueden ser notables añadiendo acetato de sodio y ácido bórico y la adición de 2 gotas de cloruro de aluminio al 5%.

### 1.2.3. Biogénesis de la rutina

Como todos los flavonoles sigue la vía de los Shikimatos, partiendo del ácido Shikimico forma el ácido prefénico, y alternativamente ácido cinámico o cumárico, pasando por chalconas, llega a flavononas sigue a flavanonol al deshidrogenarse pasa a flavanol adquiere un sustituyente azucarado y se transforma en rutina como se muestra en la figura 2 (37).



**Figura 2.** Biogénesis de rutina por vía del Shikimato

#### 1.2.4. Métodos de aislamiento de la rutina

La rutina se extrae del material vegetal con etanol o metanol (80% v/v) a reflujo hasta agotamiento. El extracto se filtra y se evapora al vacío en rotavapor hasta alcanzar  $\frac{1}{4}$  de su volumen original. Al concentrado se añade agua destilada 2,5 veces más del volumen del concentrado, se añade éter de igual volumen, se agita la mezcla, se deja en reposo, la fase etérea se separa, a la fase hidroalcohólica se vuelve a repetir el mismo procedimiento por 3 veces. La fase hidroalcohólica se evapora en un rotavapor hasta obtener  $\frac{1}{5}$  de su volumen. Al concentrado se hace el mismo procedimiento con cloroformo por tres veces, la fase acuosa se deja en reposo por 72 horas. El precipitado se filtra y se lava con una mezcla de [cloroformo: acetato de etilo: etanol] (50:25:25). La parte no disuelta del precipitado se disuelve en etanol o metanol caliente y se filtra, el filtrado se evapora a sequedad y se obtiene un polvo amarillo "rutina" (9,38).

Mediante otro procedimiento, la rutina se ha aislado del material de planta con el uso de columnas con relleno en fase sólida, se usa metanol para la extracción inicial a reflujo en Soxhlett. Las columnas se lavan con metanol para estabilizar los rellenos. Luego se acondiciona con una mezcla metanol-agua (2:8 v/v) para empaques no polares y para empaques polares con 1,4 dioxano. El extracto obtenido con el reflujo se diluye con agua para relleno no polares y para rellenos polares con dioxano, luego se inyecta en la columna. La rutina absorbida en la columna en empaques no polares se lava con metanol y en empaques polares con agua caliente (60°C). Los lavados se concentran y se secan obteniendo la rutina (39).

En la actualidad se dispone del método de fluidos supercríticos y la extracción asistida por microondas y el de electroforesis por capilaridad (14,19,22,23), con el que se obtiene rutina preparativa.

Un método de obtención de rutina cuyo proceso puede ser sobredimensionado y extrapolado a nivel industrial, consiste en seguir los pasos siguientes: Las hojas secas de la ruda se pulverizan y tamizan en malla ASTM de 0,5 mm de diámetro. Se macera en etanol por 6 días con agitación intermitente, se filtra y concentra a presión reducida. El extracto seco se diluye con cloroformo (50 mL) y se extrae con 25 mL de agua destilada (4 veces). Se concentra el extracto acuoso, se deja en reposo y se forma un precipitado amarillo que se recristaliza con [metanol: agua] (9:1) (35).

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

#### **A. Punto de fusión**

Es un indicador que muestra la temperatura, en que el compuesto puro pasa de la fase sólida a la fase líquida, el proceso puede ir acompañado de descomposición del compuesto, que no siempre puede ser la temperatura de equilibrio sino la temperatura de transición de sólido a líquido (40).

El método se usa para probar la identidad de un compuesto conocido. También, para identificar una sustancia desconocida, si se mezclan dos sustancias sólidas, uno conocido y otro desconocido, si no hay depresión de la temperatura del punto de fusión de la sustancia conocida, entonces se trata de la misma sustancia (40).

Inicialmente este parámetro se medía con el aparato de Thiele. Posteriormente se usó el aparato Fisher Johns, el aparato Nalge-Axelrod (40), pero el más moderno y de mayor exactitud es el equipo FISATOM 431D. con pantalla visor de lectura digital de temperatura, en el que las mediciones se hacen con rapidez y precisión (40).

## **B. Índice de rotación óptica**

Se mide a sustancias ópticamente activos, cuyas moléculas poseen un centro quiral (centro de giro), se conoce como índice de rotación óptica, este parámetro se mide con el polarímetro, indica el sentido de rotación de la sustancia ópticamente activa. La rutina tiene un centro de giro hacia la izquierda en piridina (Levógiro) (40).

Este valor se calcula mediante la fórmula siguiente (40).

$$[\alpha]_{\lambda}^T = \frac{\alpha}{bC}$$

*a = Rotación observada en grados*

*b = espesor de la capa en centímetros*

*C = concentración del sólido en  $\frac{g}{100} ml$*

Procedimiento, se disuelve 10mg de la muestra para cada ensayo, si la sustancia analizada es rutina la rotación óptica en etanol es:  $[\alpha]_D^{23} = \pm 13,82$  y en piridina  $[\alpha]_D^{23} = -39,43^\circ$  (30).

## **C. Solubilidad**

Es la capacidad de disolución de un soluto en un solvente en el que forma solución homogénea. En caso de la rutina es soluble en piridina, formamida y en soluciones alcalinas (30).

#### D. Reacción colorida

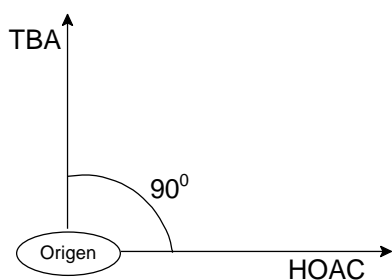
Es el cambio de coloración que presenta la molécula cuando reaccionan con un reactivo químico, la rutina da color verde en solución diluida de cloruro férrico (30) y en solución de hidróxido de sodio color amarillo (41).

#### E. Valores de Rf en cromatografía de capa fina

En cromatografía TLC usando como absorbente silica gel y como solventes de resolución [acetato de etilo: Butanona: ácido fórmico: agua] (50:30:10:10)] y en placas de poliamida en [Agua: etanol: butanona: acetilacetona (65+15+15+5)] da un valor Rf de 0,3 en ambos casos (42).

#### F. Valores de Rf por cromatografía bidimensional en papel de la rutina

Se corre la muestra en una cabina cromatográfica con 2 solventes: terbutil: ácido acético glacial: agua (TBA) y ácido acético glacial: agua (HOAc) (36,43):



**Figura 3.** Cromatografía bidimensional en papel whatman 3MM (36)

Primero se procede usando papel Whatman 3 MM con TBA en forma vertical por 24 horas, cuando está seco el papel se acomoda en una posición de giro de 90 grados, para el segundo procedimiento se usa HOAc (15:85). La rutina tiene los siguientes valores Rf (36,43): En TBA [terbutil: ácido acético: agua (3:1:1)] es 0,44



y en HOAc [ácido acético glacial: agua] (15:85) es 0,56 (36). Se calculan con la fórmula siguiente

$$Rf = \frac{\text{Distancia de corrida del soluto}}{\text{Distancia de corrida del solvente}}$$

### G. Peso molecular por el método de Rast

Para determinar el peso molecular de una sustancia se usa el método descrito por (40,44,45) denominado método de Rast, que consiste en determinar la depresión del punto de fusión del D-camphor puro. Luego se determina la diferencia de temperatura, dado que los otros parámetros como el punto de fusión, el constante molar del D-camphor puro son conocidos, el peso molecular se calcula usando la siguiente fórmula (40,44,45).

$$M = \frac{K \cdot w \cdot 1000}{\Delta T \cdot W}$$

w: Peso del compuesto desconocido (g); K: constante molar del descenso del punto de fusión 39,7; W: peso del D-Camphor (g);  $\Delta T$ : diferencia de temperatura (40,43–45).

Según IUPAC el peso molecular de la rutina es 610,515 g/mol. Si la sustancia aislada es rutina obtendremos un valor similar (30).

#### 1.2.6. Caracterización por espectrometría UV/visible de la rutina

La rutina como flavonol tiene un grupo oxhidrilo en posición 7, en presencia de acetato de sodio experimenta un desplazamiento batacrómico de 12 nm en el espectro Ultravioleta visible en la banda II, es decir de 259 nm que es la referencia con metanol a 271 nm con acetato de sodio. Los valores de longitud de onda máxima ( $\lambda_{\text{máx.}}$ ) observables de rutina en el espectrómetro UV en metanol es  $\lambda_{\text{MeOH}}^{\text{max}}$  259, 266 sh, 299 sh, 359 nm (I) y en metanol más acetato de sodio es  $\lambda_{\text{MeOH} + \text{NaOAc}}^{\text{max}}$  271, 325, 393 nm (II) en esta última se eliminan los hombros que aparecen en metanol a 266 nm y a 299 nm dando picos mucho más nítidos (36).

### 1.3. Definición de términos básicos

**Caracterización:** es la identificación del componente o componentes por determinación de los parámetros fisicoquímicos y por mediciones instrumentales: espectrometría, cromatografía y métodos fisicoquímicos, estos métodos se usan en la determinación de la estructura química de sustancias desconocidas. Pero si no se dispone de instrumentos más sofisticados, se puede realizar mediante el análisis comparativo usando sustancias patrones conocidos por sus propiedades fisicoquímicos y espectroscópicos (40,43).

**Filogénesis:** se usa para comprobar el parentesco que hay entre las plantas en el planeta, pero también ayuda a determinar los metabolitos activos que se encuentran en ellas, que guardan parentesco entre la especie y el género, dado que las plantas para sobrevivir crean mecanismos de defensa o ventajas adaptativas (43).

La filogenética relaciona los ancestros con los descendientes, para estimar partiendo de las características de ellos, la relación de parentesco y representar el árbol filogenético de la especie (46).

**Flavonol:** es una clase de sustancia dentro de los denominados pigmentos flavonoidales. Tiene las características de ser copigmento, principalmente incoloro tanto en flores ciánicas y antocianicas y se halla ampliamente distribuido en las hojas (18), derivan de la flavona en 2-fenil Benzo- $\gamma$ -pirona que posee una sustitución OH en posición 3 y sus modificaciones con sustituyentes OH en diferentes posiciones que son conocidos como quercetina, kaempherol, apigenina (47).

## CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

### 2.1. Formulación de la hipótesis

Las hojas de *P. pittieri* (Standl.) Ittis y Cornejo contiene rutina puede ser identificada por sus propiedades fisicoquímicas y espectrometría.

### 2.2. Variables de estudio y su operacionalización

#### 2.2.1. Variable de Estudio

##### Variable independiente

**Presencia de rutina**, Sustancia aislado y purificado de las hojas de *P. pittieri* (Standl.) Ittis usando métodos adecuados de aislamiento (9,38).

##### Variable dependiente

**Características fisicoquímicas.** Son las propiedades físicas y químicas simultaneas en el comportamiento de un compuesto que identifica a la molécula aislado luego del proceso de aislamiento y purificación, que son únicas de cada compuesto.

**Características espectrométricas.** Son propiedades determinadas por espectrometría ultravioleta visible, que mide la longitud de onda máxima de cada banda de absorción de la sustancia aislado disuelto en un solvente de resolución, que por su estructura química conjugada produce efectos batocrómicos o efectos hipsocrómicos.

## 2.2.2. Operacionalización de variables

Variable independiente	Definición operacional	Tipo por naturaleza	Indicadores	Escala de medición	categoría	Valores de las categorías	Medios de verificación
Rutina aislada de <i>P. pittieri</i> Ittis y Cornejo.	Las hojas pulverizadas de <i>P. pittieri</i> Ittis y Cornejo se desengrasó con éter de petróleo, se maceró en etanol, el extracto se concentró, luego se diluyó con tetracloruro de carbono, se filtró, con agua caliente se extrajo con pera de decantación, se obtuvo cristales de color amarillo de rutina.	Cuantitativa	Mesa (g)	Razón	Ninguna	Ninguna	Cristales de rutina

Variable dependiente	Definición operacional	Tipo por naturaleza	Indicadores	Escala de medición	categoría	Valores de las categorías	Medios de verificación
Características fisicoquímicas	Se identificó por evaluación de las propiedades fisicoquímicas: rotación óptica, punto de fusión, valores Rf en TLC y peso molecular.	Cuantitativa	Ángulo de giro (grados)  Temperatura (°C) Valor Rf (%) peso molecular (g/mol)	Razón	Ninguna	Ninguna	Registro óptico en polarímetro (etanol). Registro de temperatura Valores de Rf (anexo 5) Peso molecular (anexo 6)
Características espectroscópicas	Se registró por espectrometría UV, las longitudes de onda máxima, usando reactivos de desplazamiento.	Cuantitativa	Nanómetro (nm)	Razón	Ninguna	Ninguna	Espectro de hesperidina (anexo 2)

## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 3.1. Diseño metodológico

Es de tipo descriptiva porque se realizó comparaciones entre el valor obtenido mediante las mediciones experimentales que se hizo para esta molécula, aislada en especies vegetales diferentes que obran en la literatura científica (8,9,15,17). Asimismo, los datos se recolectaron en el transcurso del procesamiento de la muestra en laboratorio (43,48).

Es cuantitativo porque se mide las características fisicoquímicas y espectrométricas en UV/visible (31,40, 42), y se define como un proceso algorítmico porque está constituida por un conjunto ordenado de etapas secuenciales que se sigue hasta la obtención del producto y se determinó las propiedades fisicoquímicas y espectroscópicas cuantificables, al que se denomina elucidación (43,48).

### 3.2. Diseño muestral

En esta investigación las muestras se tomaron por conveniencia y no fueron aleatorios porque en todas las hojas está presente la rutina, por esta razón no se aleatoriza algo “*per se*” presente en todas ellas (48).

#### **Población de estudio**

Está constituido por el conjunto de árboles de *P. pittieri* (Standl.) Itis y Cornejo que están en el Arboretum “El Huayo” ubicado en la ciudad universitaria de Zungarococha de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, San Juan, Maynas, Loreto (43).

#### **Muestra de estudio**

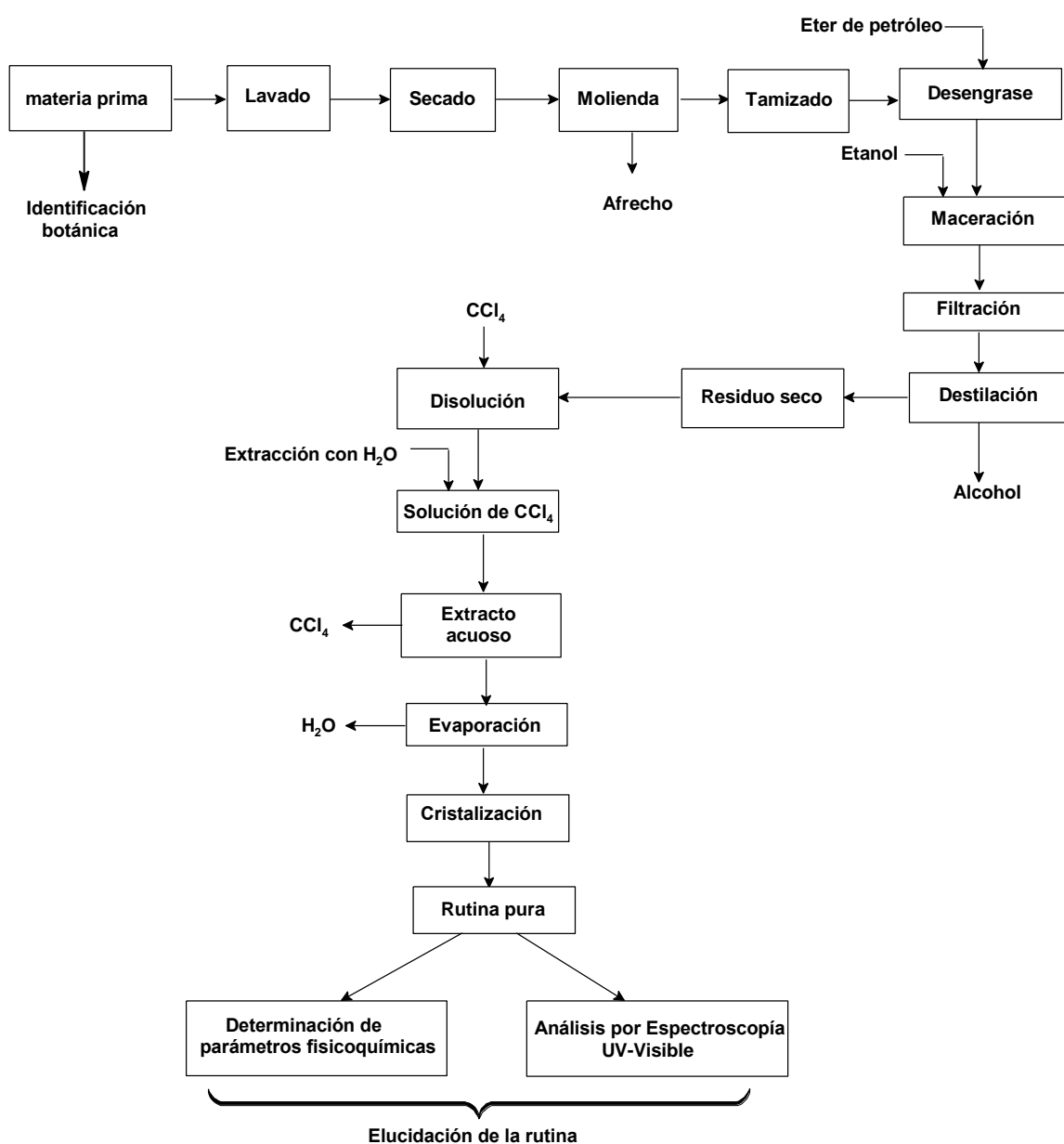
La muestra fue 5 kg de hojas frescas con 70% de humedad, por secado se obtuvo 1,5 kg de peso seco que se llevó a pulverización y del cual se tomó 200 g para su procesamiento.

## Criterio de selección

**Criterio de inclusión.** Se seleccionó las hojas de mayor tamaño libre de ataques de insectos y/o depredadores.

### 3.3. Procedimiento de recolección de datos

Se procedió del siguiente modo: tratamiento inicial de la materia prima, aislamiento y purificación de la rutina y por último su caracterización. Los pasos se muestran en la siguiente figura (figura 3).



**Figura 4.** Diagrama: Aislamiento de rutina de *P. pittieri* (Standl.) Iltis & Cornejo

### **A.1. Recolección de la muestra vegetal**

La muestra vegetal se recolectó en el Arboretum “el Huayo”, ubicada en la ciudad universitaria de Zungarococha de la UNAP, cuyas coordenadas georreferenciales son las siguientes 3° 46' 30" S; 73° 17' 20" O; altitud 138 msnm. En esta misma ubicación realizó (43) la recolección de otra especie.

La recolección de la muestra se documentó con toma de fotografías, las hojas colectadas se llevaron al Laboratorio de Fitoquímica y Productos Naturales de la Facultad de Ingeniería Química de la UNAP.

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

Se recolectó una rama con frutos, flores y hojas de la especie de *P. pittieri* (standl.) Iltis y Cornejo en el arboretum el “Huayo” en la ciudad universitaria de Zungarococha de la UNAP, la muestra fue identificado en el Herbarium Amazonense CIRNA-UNAP, por el especialista en botánica, y emitió el certificado correspondiente (ver anexo 1)

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

Las hojas fueron lavadas con agua limpia, y se colocaron en hojas de papel de filtro para que absorba el exceso de humedad de éstos luego, fueron depositados en un anaquel a 17°C.

### **A.4. Pesada y molienda**

Se pesó 1,5 kilogramos de hojas secas de *P. pittieri* (standl.) Iltis y Cornejo se molió en un molino de discos y se obtuvo un polvo fino.

### **A.5. Tamizado**

La muestra molida se pasó por un tamiz ASTM número 60 (0,25 mm de diámetro) y se obtuvo partículas de tamaño homogénea, el peso final de la muestra fue 750 g.

### **A.6. Desengrase**

Se tomó 200 gramos de polvo fino y se puso en cartuchos de papel de filtro, el proceso de desengrase se llevó a cabo en un equipo de Soxhlet y se usó éter de petróleo como solvente, se trabajó por tandas hasta agotar toda la muestra. El extracto se filtró, el polvo desengrasado se llevó a maceración (43).

### **A.7. Maceración**

La maceración se realizó en un balón de vidrio de dos litros con 800 ml de alcohol de 96° por una semana, con agitación intermitente (43).

### **A.8. Filtración**

La solución se filtró al vacío en un embudo Buchner, para separar las impurezas presentes en el macerado (43).

### **A.9. Concentración**

El filtrado se concentró en rotavapor a 45°C de temperatura y presión reducida hasta obtener el extracto seco.

### **A.10. Disolución**

El extracto seco se disolvió con 300 mL de tetracloruro de carbono. Se filtró en embudo de espiga.



### **A.11. Extracción**

La solución filtrada de tetracloruro de carbono se extrajo con agua destilada en una pera de decantación, se extrajo 3 veces, con porciones de 100 mL de agua destilada cada vez, luego se juntaron los extractos obteniendo 300 mL de extracto acuoso (9,38).

### **A.12. Concentración**

El extracto acuoso se concentró hasta 1/5 de su volumen (40 mL) en rotavapor a presión reducida.

### **A.13. Purificación**

El extracto acuoso concentrado se dejó en reposo precipitaron cristales de color amarilla, los cristales se separaron del agua madre por filtración. Este procedimiento se realizó varias veces obteniendo a través de varias precipitaciones (9,38).

### **A.14. Recristalización**

Para elevar a su alta pureza se volvió a recristalizar, para lo cual se disolvió los cristales obtenidos en una mezcla de metanol: agua (9:1) en 100 mL de ésta, se calentó a 90° C, se filtró, se dejó en reposo y precipitaron unos cristales de color amarillo pálido.

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

### **Rendimiento**

Se procesó 200 g de materia prima. Después del proceso de aislamiento, se obtuvo 2,6965 g de cristales en forma de agujas de color amarillo pálido, se pesó en una balanza analítica, con estos datos se obtuvo el rendimiento. Se depositó en un frasco de vidrio color ámbar para evitar el impacto fotoquímico de la luz.

## **Características fisicoquímicas**

### **Punto de fusión**

Se determinó en el equipo FISATOM 431 D. Una pequeña cantidad de cristales se depositó en un tubo capilar de 1mm de diámetro y 8mm de longitud, se ubicó horizontalmente en el área de calefacción del equipo, en el momento en el que los cristales (rutina-3H<sub>2</sub>O) pasaron al estado líquido, se observó en la pantalla el valor del punto de fusión (40).

### **Solubilidad**

Se usó 5 mg de rutina en cada prueba y 3 mL de cada solvente, piridina, formamida y dimetilformamida, en los tres tipos de solventes se disolvió la muestra formando una solución homogénea (30).

### **Rotación específica**

Se usó un polarímetro. Se trabajó con 100 mg de muestra disuelta en 25 mL de etanol que se pasó por un filtro, se reguló el equipo a una temperatura 23°C y se llenó completamente el tubo con la muestra, se encendió la lámpara, se enfocó el ocular haciéndolo girar hacia la derecha o hacia la izquierda hasta que la línea divisor de los dos campos quedó perfectamente definida, se aflojó el seguro para determinar la lectura cero y los dos campos se igualaron, se encendió la lámpara, el vernier o escala exterior está dividido en 25 divisiones permitiendo lecturas hasta de 0,1°. Una vez determinado el cero, se procedió a la lectura. Se obtuvo un valor de  $[\alpha]_D^{23} = +13,82^\circ$  en etanol, esto nos indica que la sustancia es dextrógira, es decir, desvía hacia a la derecha el plano polarizado de la luz al atravesar por ella (49).

### **Reacción colorida**

Para determinar la reacción de coloración de rutina se usó cloruro férrico e hidróxido de sodio. Se preparó una solución de rutina en etanol, luego se añadió unas gotas de solución de cloruro férrico, la reacción produjo un color verde clásica (30), luego se añadió unas gotas de solución de hidróxido de sodio, la reacción dio un color amarillo (41). También se aplicó un spot de la muestra aislada sobre un pequeño

cromatofolio de silicagel F<sub>254</sub>, se puso en el revelador UV donde mostró unas manchas amarillo verdosos clásica reacción en flavonoles (41).

### **Valores R<sub>f</sub> en cromatografía (TLC)**

Se usó placas de Cromatofolios de silica gel de 20 x 4 cm. Se aplicó la muestra disuelta en etanol a 2 cm del borde inferior. Se dejó secar la cámara cromatográfica, se saturó con el solvente I [acetato de etilo: butanona: ácido fórmico: agua], en la cámara se depositó la placa, se midieron las distancias recorridas por el solvente y soluto. Cuando el solvente alcanzó el borde superior de la placa que fue de 17 cm, el soluto solo subió 5,10 cm.

En otra placa de cromatofolio de silicagel, se realizó el mismo procedimiento, pero la cámara cromatográfica se saturó con solvente II [agua: etanol: butanona: acetilacetona] (65+15+15+5). Cuando el solvente alcanzó el borde superior de la placa que fue de 17,5 cm (42), el soluto solo subió 4,95 cm. Con estos valores se calculó el R<sub>f</sub> en ambos solventes de desplazamiento respectivamente.

### **Cromatografía bidimensional de papel descendente**

Se usó papel Whatman N°1 de dimensiones 50 X 50 cm. Se aplicó la muestra disuelta en etanol sobre el papel a 8 cm del borde de contacto del soluto con el solvente. Primero se corrió con TBA (terbutilo-ácido acético-agua) (3:1: 1), se midieron las distancias recorridas por el solvente y soluto. Cuando el frente de solvente alcanzó 40 cm, el soluto solo se desplazó 17,60 cm. Segundo, después de la primera corrida se secó el papel y se giró 90° grados. Se realizó el mismo procedimiento que lo anterior, pero el solvente de corrida fue ácido acético y agua (15:85). Cuando el frente de solvente alcanzó 40 cm, el soluto solo se desplazó 22,40 cm (37). Con estos valores se calculó el R<sub>f</sub> correspondiente.

## **Determinación del peso molecular por el método de Rast**

Se procede a mezclar el D-camphor puro con la muestra en un tubo de ensayo y se funde luego se enfría, después se pulveriza, se toma una pequeña muestra y se introduce en la porta muestra del equipo FISATOM 431 D, cuando la muestra inicia a fundirse la pantalla visor del equipo muestra el valor de 171,25°C que correspondiente a la temperatura de fusión de la mezcla (40,43–45).

Con este valor y el punto de fusión del D-camphor puro conocido (177,75°C), se procedió a calcular la depresión de la temperatura cuyo valor fue  $\Delta T = 6,5$ . Además, el valor de la constante molar es  $k = 39,7$ , con estos parámetros se procedió a calcular el peso molecular de muestra, para la cual se usó la fórmula indicada en la parte teórica (40,43–45), los cálculos (ver anexo 6).

## **Características espectrométricas**

### **Medición de longitudes de onda máxima**

Se usó un Spectrophotometer 2800 UV/vis marca "UNICO". Se disolvió 5 mg de rutina en metanol, se filtró, se llenó la cubeta de cuarzo. Otra cubeta de referencia lleva como solvente metanol. Las cubetas se pusieron en la cámara de muestras del equipo y se midió directamente las longitudes de onda de absorción. Después, se preparó una solución de acetato de sodio y metanol, se procedió como en el caso anterior (36).

### **3.5. Aspectos éticos**

No aplica para esta investigación. Sin embargo, las pequeñas cantidades de residuos químicos que se genera en el proceso se almacena en frascos de botella, estas son enviados a la unidad medio ambiental de la universidad, las que se encargan su disposición final.

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS.

### 4.1. Rendimiento de rutina

De 200 g de muestra de *P. pittieri* (Standl.) Iltis y Cornejo se logró extraer 2,6965 g de rutina, que corresponde a un rendimiento de 1,3483% (ver anexo 4).

### 4.2. Características fisicoquímicas

Los valores de los parámetros fisicoquímicos de rutina aislada de *P. pittieri* y de la muestra auténtica, se muestra en la tabla 1

**Tabla 1.** Características fisicoquímicas de la rutina aislada de *p. pittieri* y de la muestra auténtica.

Propiedades fisicoquímicas	Valores	
	Rutina aislada de <i>P. pittieri</i>	Rutina auténtica (estándar)
Punto de fusión	195°C.	195°C -197°C (30)
Rotación óptica	$[\alpha]_D^{23} = +13,82^\circ$ (en etanol)	$[\alpha]_D^{23} = +13,82^\circ$ (en etanol) (30)
Solubilidad	Piridina, formamida y dimetilformamida	Piridina, acetato de etilo, formamida y dimetilformamida (30)
Valores Rf [acetato de etilo: Butanona: ácido fórmico: agua	0,3	0,3 (42)
Valor Rf en Agua: etanol: butanona: acetilacetona	0,3	0,3 (42)
Valor Rf en TBA	0,44	0,44 (36)
Valor Rf en HOAc	0,56	0,56 (36)
Peso molecular (Método RAST)	610,7692 ± 0,0413 g/mol	610,515 g/mol (30)

Ver anexo 5 y 6; TBA= terbutil: ácido acético: agua; HOAc = ácido acético glacial: agua

### 4.3. Características espectrométricas

Los valores de longitudes de onda de absorción máxima de la rutina aislada de *P. pittieri* y de muestra auténtica en diversos solventes se muestra en la siguiente tabla.

<b>Espectro en UV/visible</b>	<b>Muestra aislada (<math>\lambda_{m\acute{a}x}</math>)</b>	<b>Muestra auténtica (<math>\lambda_{m\acute{a}x}</math>)</b>
Espectro: en MeOH	259, 266 sh, 299 sh, 359 nm	259,266 sh, 299 sh, 359 nm (36)
Espectro: en MeOH: NaOAc	271, 325, 393 nm	271, 325, 393 nm (36)

Sh=hombro; MeOH= metanol (CH<sub>3</sub>OH); NaOAc= acetato de sodio (CH<sub>3</sub>COONa)

En el barrido de las longitudes de onda de la muestra disuelta en metanol, mostró las siguientes longitudes de onda: 259, 266 sh, 299 sh, 359 nm, pero en MeOH y NaOAc las bandas de absorción se desplazaron 12 nm y 34 nm respectivamente hacia la derecha, efecto batocrómico.

## CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

*P. pittieri* y *Capparis spinosa* (alcaparra) ambos géneros de la Familia Capparaceae guardan estrecha relación monofilética, es decir, ambos géneros proceden de un antecesor común (1). Además, se ha determinado que el género de una familia posee una secuencia genética idéntica “rbcl” (50). Esto muestra que las diferentes especies pertenecientes al mismo género, pueden metabolizar el mismo componente. Por ejemplo, *C. Spinosa* contiene rutina (51,52), al igual que *P. pittieri* como se demostró en este trabajo.

La extracción de rutina de *P. pittieri* se realizó por método convencional, se usó solventes como el agua, etanol, éter de petróleo, cloroformo y tetracloruro de carbono. También, rutina fue aislado de otros géneros de plantas por métodos convencionales con agua en medio básico, metanol (22), seguido por éter de petróleo y cloroformo (9). Además, se usaron métodos más sofisticados para extraer la rutina, tales como: extracción por fluidos supercríticos (53); extracción con líquido presurizado (54,55), extracción en fase sólida (56), extracción asistida por ultrasonido (22,57) y extracción asistida por microondas (14,58). Si bien, son excelentes métodos de laboratorio resultan poco prácticos y costosos en países subdesarrollados como el Perú, pero más aun la extracción asistida por microondas por prescripciones sanitarias no debe ser usado por irradiar partículas de alta energía degenerativa del cuerpo humano.

El porcentaje de rutina encontrado en *P. pittieri* fue de 1,348%, mientras que en las semillas de *Fagopyrum esculentum* 2,3% (23), en *Capparis Spinosa* 2,2% (51), en *capparis zeylanica* linn 0,876 mg/g de extracto seco (7). El rendimiento de rutina en *P. pittieri* es un poco menor que en estas dos fuentes naturales clásicas. Por otra parte, *F. esculentum* es una planta de vida útil corta que parece después de la cosecha y *C. spinosa* tiene menor biomasa que *P. pittieri* que es un árbol de larga vida útil y abundante follaje. Para obtener la rutina solo es cuestión de podar al árbol y recoger las hojas permitiendo que pueda aportar múltiples cosechas en su largo periodo de vida (1). En consecuencia *P. pittieri* (Standl.) Iltis y Cornejo, árbol que tiene un largo periodo de vida útil, de fácil rebrote con gran abundancia de biomasa

vegetal, y dada el carácter removible del follaje, resulta una planta ideal como fuente natural de rutina.

Por otra parte, también se aisló rutina de otros géneros y especie de plantas. Por ejemplo, el rendimiento de rutina en hojas de tabaco fluctúa entre 0,5 y 1,5% (20), en *M. esculenta* “yuca” de Indonesia, en hojas fluctúa entre 1,6% y 2,4% (14); en hojas de *Fagopyrum esculentum* moench (trigo sarraceno) de Polonia, Rusia y Checoslovaquia, en hojas varía de 8,2 a 9,3%, en flores de 8,8 a 9,2%, en tallos de 1,1 a 1,4% (59); pero en *F. esculentum* de Slovenia, en hojas 0,03%, en tallos 0,1%, en flores 4,6% y en semillas 0,046% respectivamente (23) y en *Saphora japonica* L. 2% (60). La variabilidad en el contenido de rutina de las especies se debe a factores medioambientales y ubicación geográfica (59,61). Estas especies tienen una vida útil muy limitada con relación a *P. pittieri* que es perenne, por lo tanto, en la amazonia sería una fuente importante para extraer rutina para propósitos medicinales.

En cuanto a las propiedades físicas generales, la rutina aislada de *P. pittieri* es un cristal en forma de agujas color amarillo pálido que se oscurecen gradualmente cuando está expuesta a la luz. Asimismo, Shukla encontró las mismas propiedades de la rutina aislada de *Phyllanthus amarus* (38). De otro lado, el análisis cualitativo, en luz visible mostro una mancha de color amarilla y en luz ultravioleta una mancha de color naranja brillante (15). Las propiedades físicas evaluadas y observadas en estos estudios son coincidentes con el de nuestro estudio de *P. pittieri*.

Se evaluó la solubilidad del extracto metanólico de ruda hembra y determino que es soluble en etanol y metanol, poco soluble en acetato de etilo y cloroformo e insoluble en agua (8). Krewson y Naghski determinaron la solubilidad de rutina en 100 ml de diferentes solventes: en metanol fue 5,5 g, en etanol 0,55 g, en isopropanol 1,45 g, en n-propanol 0,6 g, en acetona 0,56 g y en piridina 37,3 g (49). Asimismo, en otra evaluación de solubilidad se encontró que el 4% de rutina (p/v) en etanol y metanol a temperatura ambiente fue soluble y al incrementar la temperatura también se incrementaba la solubilidad, pero fue poco soluble en 2-propanol y la rutina trihidratada tuvo el mismo comportamiento, contrariamente el incremento de la temperatura no influyó en la solubilidad (60). Valente encontró que



la rutina aislada de *Eucalyptus macrorrhyncha* fue soluble en agua caliente, en metanol, etanol, isopropanol, acetona, poco soluble en agua fría e insoluble en cloroformo, éter y benceno (62). También, Shukla señala que la rutina es soluble en piridina, formamida, metanol y soluciones alcalinas (38,63). La rutina aislada de *P. pittieri* fue soluble en piridina, formamida y dimetilformamida. De acuerdo a los resultados mostrados, la rutina es soluble en solventes ligeramente polares, pero no es soluble en solventes polares.

En cuanto a las pruebas de identificación en cromatografía TCL, los valores Rf que mostro la rutina aislada de *P. pittieri* en acetato de etilo: butanona: ácido fórmico: agua fue 0,3 y en cromatografía de papel bidimensional en TBA fue 0,44 y en HOAc 0,56. Hamed, uso mezclas de diferentes solventes y encontró los valores Rf de rutina aislada de *Ruta graveolens*, en acetato de etilo: butanona: ácido fórmico: agua fue 0,31; en acetato de etilo: ácido fórmico: ácido acético: agua 0,38; en ácido acético: agua 0,57 y en alcohol isopropil: agua 0,78 respectivamente (9,63), en butanol: ácido acético 0,58 (51), la rutina aislada de *Benincas hispida* y *Carissa congesta* en metanol: ácido acético: ácido fórmico: agua fue 0,82 y 0,81 respectivamente (64). Asimismo, en tabletas de Tarosin, los valores Rf de rutina en acetato de etilo: ácido acético fue 0,44 y en ácido acético: agua 0,77 (31), en isopropanol: agua 0,8 (15). Los valores Rf para la rutina varía de acuerdo al tipo de solvente utiliza para la elución, si se usa el mismo tipo de solvente, los valores son similares, esto demuestra que la sustancia analizada es la misma.

Los espectros de absorción en UV/Vis de la rutina aislada de *P. pittieri* en metanol mostró las longitudes de onda máximas a 259, 266 sh, 299 sh, 359 nm. La rutina aislada de hojas de tabaco en metanol a 359, 299 (sh), 267 (sh), 257 nm (20) y la rutina aislada de *Ruta graveolens* a 359 y 370 nm (9). Por otro lado, la rutina aislada de *Capparis spinosa* en etanol al 50% a 260 y 360 nm (51), de *Ruta chalapensis* “ruda hembra” a 259, 299 (sh), 369 nm (8), y de rutina aislada de *Phyllanthus amarus* fue a 257 y 359 nm (38). Los espectros de absorción de la rutina en metanol y etanol son similares, por tanto, se puede usar independientemente cualquiera de estos solventes para determinar los espectros de rutina en UV/Vis. Además, las bandas de longitud de onda máxima de absorción de rutina son a 260 y 360 nm respectivamente. Por otro lado, estas bandas pueden desplazarse a la derecha

(batocrómico) o la izquierda (hipsocrómico) con mezcla de solventes para mejorar la resolución de las bandas de absorción de un componente.

La caracterización de la rutina aislada de *Euphorbia pulcherrima* mediante HPLC mostro un pico de absorción máxima en 3,178 minutos (15), la rutina aislada de *Musa balbisiana* (plátano) mostro un pico en 5,7 minutos (16), de la rutina aislada de *Sophorae* Inmadura mostro un pico de absorción máxima en 4,80 minutos (18) y de la rutina aislada de *Annona squamosa* el tiempo de retención fue a 2,375 minutos (63). Se observa que el mismo compuesto tiene tiempos de retenciones diferentes, esto se debe probablemente al tipo de solvente usado para la prueba y a las características del equipo usado. Son pruebas de análisis más precisas, que en nuestro estudio no lo hicimos por no disponer de estos equipos.

La rotación óptica de rutina fue evaluada con diferentes solventes a una concentración 2 g/100 ml y encontró los siguientes valores: en etanol absoluto +13,26, en metanol absoluto +6,68, en piridina al 80% -48,12 y en ácido acético al 99,8% +37,97 (49). Asimismo, en el estudio que se realizó de *P. pittieri*, la rotación óptica que mostró rutina en etanol fue +13,82. Se puede observar que, en etanol el valor de la rotación óptica es similar en ambos estudios, pero un poco mayor por centésimas en nuestro estudio. Esto puede estar relacionado con la pureza del producto obtenido o por el grado de pureza del solvente de resolución usado.

Por otra parte, el peso molecular de rutina que se aisló de *P. pittieri* con el uso del método de RAST fue similar al valor reportado en la literatura (38,65,66), con un error de 0,041%. Pero, con el uso de análisis más sofisticados a través de NMR- $H^1$  y NMR- $C^{13}$ , se determinó con mayor precisión la estructura molecular y el peso molecular de la rutina (20). Además, por espectroscopía (m/z) se encontró el valor de 611 de rutina protonada ( $[M+H]^+$ ) (18,38) y por  $^{13}C$ NMR el valor de 610,53 g/mol (38). También, Además, con el uso del mismo procedimiento de análisis m/z se encontró el valor de 611,16 ( $[M+H]^+$ ) (16). Los métodos de determinación de ambos estudios por resonancia magnética nuclear son coincidentes y más precisos, pero el método que se usó para determinar el peso molecular de rutina aislada de *P. pittieri* difiere enormemente con esto estudios, a pesar de ello, el resultado que se obtuvo fue de 99,59% de exactitud. Por otro lado, los análisis más sofisticados

tendrán mayor ventaja sobre los métodos indirectos en cuanto a la exactitud de los resultados.

## CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

De las hojas de *P. pittieri* con relativa abundancia en el bosque amazónico se logró aislar rutina con un rendimiento de 1,438%.

Las características fisicoquímicas como el punto de fusión, solubilidad, rotación óptica, peso molecular y cromatografía se encuentran dentro de los rangos establecidos por el estándar de referencia de la rutina en la bibliografía.

Las características espectrométricas expresadas en longitudes de onda máxima de absorción son concordantes y se encuentran dentro de los rangos establecidos por el estándar de referencia de la rutina en la bibliografía.

## **CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES**

Efectuar estudios de investigación de otras especies del género *Preslianthus* para obtener rutina y ampliar las fuentes de obtención de este compuesto activo.

Seguir realizando estudios de esta molécula en busca de nuevas actividades terapéuticas.

Efectuar estudios de investigación en otros órganos de la planta con la finalidad de aprovechar con mayor eficiencia este recurso natural de la amazonia peruana.

## CAPÍTULO VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Judd WS., Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ. Plant systematics: A phylogenetic approach hardcover. Segunda ed. USA: Sinauer Associates; 2002.
2. Soukup J. Vocabulario de los Nombres Vulgares de la Flora Peruana y Catálogo de los Géneros. Segunda Ed. Catalogo de géneros. Lima - Peru: Editorial Salesiana; 1987. 446 p.
3. Iltis HH, Cornejo X. Two new genera and three new combinations in neotropical capparaceae. Harvard Pap Bot. 2011;16(1):65–70.
4. Harborne JB. Phytochemical methods. Chapman AH, editor. London; 1973.
5. Taşkın T, Taşkın D, Cam ME, Bulut G. Phenolic compounds, biological activities and trace elements of *Capparis ovata* var. *Canescens*. Rev Biol Trop. 2020;68(2):590–600.
6. Arslan AKK, Olagan K, Paşayeva L. Neuroprotective effect of *Capparis ovata* Desf . var . *palaestina* Zoh . on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - induced neurotoxicity in SH - SY5Y cells. Bol Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromáticas. 2023;22(4):437–50.
7. Mishra SK, Singh PN, Dubey SD. Evaluation of antioxidant activities in ethanolic extract of *capparis zeylanica* linn. root. Rev Latinoam Quim. 2013;41(1):7–20.
8. Bonilla Rivera PE, Toche Tuesta A, Fernández Rebaza GA, Curioso Melo DE, Rayme Gutierrez RL, Soto Tantaraico EC, et al. Composición química y caracterización de flavonoides de extractos metanólicos de hojas de dos tipos de *Ruta chalepensis* L . Chemical composition and flavonoids characterization of the methanolic extract of leaves of two types of *Ruta Chalepensis* L . 2020;5(3):100–9.
9. Hamad MN. Isolation of rutin from *Ruta graveolens* (Rutaceae) cultivated in Iraq by precipitation and fractional solubilization. Pharm Glob [Internet]. 2012;3(4):1–4. Available from: [http://pharmacie-globale.info/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=256&Itemid=41](http://pharmacie-globale.info/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=256&Itemid=41)
10. Prasad R, Prasad SB. A review on the chemistry and biological properties of Rutin, a promising nutraceutical agent. Asian J Pharm Pharmacol.

- 2019;5(S1):1–20.
11. Ganeshpurkar A, Saluja AK. The pharmacological potential of rutin. *Saudi Pharm J.* 2017;25(2):149–64.
  12. Hosseinzadeh H, Nassiri-Asl M. Review of the protective effects of rutin on the metabolic function as an important dietary flavonoid. *J Endocrinol Invest.* 2014;37(9):783–8.
  13. Al-Dhabi NA, Arasu MV, Park CH, Park SU. An up-to-date review of rutin and its biological and pharmacological activities. *EXCLI J.* 2015;14:59–63.
  14. Chahyadi A, Elfahmi. The influence of extraction methods on rutin yield of cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz). *Saudi Pharm J.* 2020;28(11):1466–73.
  15. Shlini P, H MC, V TMI. Isolation and Purification of Rutin from *Euphorbia pulcherrima*. *Int J Pharm Sci Rev Res.* 2020;64(08):45–9.
  16. Yingyuen P, Sukrong S, Phisalaphong M. Isolation , separation and purification of rutin from Banana leaves (*Musa balbisiana*). *Ind Crop Prod* [Internet]. 2020;149:112307. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112307>
  17. Huang Y, Feng F, Jiang J, Qiao Y, Wu T, Voglmeir J, et al. Green and efficient extraction of rutin from tartary buckwheat hull by using natural deep eutectic solvents. *Food Chem* [Internet]. 2016; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.013>
  18. Li F, Ning S, Li Y, Yu Y, Shen C, Duan G. Optimisation of Infrared-assisted Extraction of Rutin from Crude Flos Sophorae Immaturus Using Response Surface Methodology and HPLC Analysis. *Phytochem Anal.* 2011;23(4).
  19. Kalinová J, Dadáková E. Varietal and variation of rutin content in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Cereal Res Comun.* 2006;34(4):1315–21.
  20. Fathiazad F, Delazar A, Amiri R, Sarker SD. Extraction of flavonoids and quantification of rutin from waste tobacco leaves. *Iran J Pharm Res.* 2006;3:223–7.
  21. Álvarez Castro E, Orellano Cambeiro F. Actividad biológica de los flavonoides (I). Acción frente al cáncer. *Offarm Farm y Soc.* 2003;22(10):130–40.
  22. Paniwnyk L, Beaufoy E, Lorimer JP, Mason TJ. The extraction of rutin from flower buds of *Sophora japonica*. *Ultrason Sonochem.* 2001;8(3):299–301.

23. Kreft S, Knapp M, Kreft I. Extraction of rutin from buckwheat (*Fagopyrum esculentum* moench) seeds and determination by capillary electrophoresis. *J Agric Food Chem.* 1999;47(11):4649–52.
24. Krewson CF, Couch JF. Isolation of Rutin from a Citrus Hybrid. *J Am Chem Soc.* 1948;70(1):257–8.
25. Cronquist AJ. *The Evolution of and Classification of flowering Plant.* Garden TNYBU, editor. New York; 1988.
26. Cornejo X, Iltis HH. *Preslianthus pittieri* (Standl.) Iltis et Cornejo. *Harvard Pap Bot.* 2011;16(70).
27. Ghica ME, Brett AMO. Electrochemical oxidation of rutin. *Electroanalysis.* 2005;17(4):313–8.
28. Gullón B, Lú-chau TA, Moreira MT, Lema JM, Eibes G. Rutin: A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability. *Trends Food Sci Technol* [Internet]. 2017;67:220–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2017.07.008>
29. Fenical W, Jensen PR, Kauffman C, Mayhead SL, Faulkner DJ, Sincich C, et al. New anticancer drugs from cultured and collected marine organisms. *Pharm Biol.* 2003;41(SUPPL.):6–14.
30. Stecher PG. *The Merck Index.* Sixth prin. Merck, editor. New York: Merck y CO, Inc, Rahway N.Y USA; 1975.
31. Serban G, Pop Iulia A, Horvath T, Bota S. The isolation and identification of rutin from pharmaceutical products. *Ecotoxicologie, Zooteh și Tehnol Ind Aliment.* 2016;15(A):109–14.
32. Jenn K, Glenn, Hartung W. *Química Médica Farmacéutica.* Primera Ed. Cia MM y, editor. España: Editorial España; 1949.
33. Hernandez-Leon A, Fernández-Guasti A, González-Trujano ME. Rutin antinociception involves opioidergic mechanism and descending modulation of ventrolateral periaqueductal grey matter in rats. *Eur J Pain (United Kingdom).* 2016;20(2):274–83.
34. Gullón B, Lú-Chau TA, Moreira MT, Lema JM, Eibes G. Rutin: A review on extraction, identification and purification methods, biological activities and approaches to enhance its bioavailability. *Trends Food Sci Technol.* 2017;67:220–35.
35. Ikan R. *Natural Products. A Laboratory guide.* Ilustrada. Press A, editor. 1991.



- 360 p.
36. Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. The systematic identification of flavonoids. Primera ed. Spring-Verlag. New York: primg-Verlag; 1970. 320 p.
  37. Alberto Marco J. Química de los productos naturales. S.A S, editor. Madrid - España; 2006. 288 p.
  38. Shukla P, Gopalkrishna B, Shukla P. Isolation of rutin from *Phyllanthus amarus*. Int J Pharm Sci Res. 2012;3(4):1198–201.
  39. Buszewski B, Kawka S, Suprynowicz Z, Wolski T. Simultaneous isolation of Rutin and Esculin from plant material and drugs using solid-phase extraction. J Pharm Biomed Anal. 1993;11(3):211–5.
  40. Shriner RL, Fuson RC, Curtin DY. Systematic identification of organic compounds. Quinta Edi. New York: Editorial Wiley N.Y; 1965.
  41. Dominguez X. Métodos de investigación Fitoquímico. Primera Ed. México: Editorial. Limusa; 1979. 212, 226 p.
  42. Stahl E. Thin layer chromatografy spring verlag. Berlin: Heidelberg. N.Y; 1969.
  43. Garcia Rengifo K, Marin Chistama JF, Jara Herrera C (asesor). Caracterizacion fisicoquímico y espectrometría ultravioleta visible de la isoflavona aislado de *Swartzia simples* y su similitud filogenética con biochanina A. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2022.
  44. Okieimen FE, Aigbodion AI. Studies in molecular weight determination of rubber seed oil alkyds. Ind Crops Prod. 1997;6(2):155–61.
  45. Vogel AI. Textbook of Practical Organic Chemistry. 5Th Editio. Furniss BS, Hannaford AJ, Smith PWG, Tatchell AR, editors. London: Longman Scientific and Technical; 1996. 1540 p.
  46. Peña C. Métodos de inferencia filogenéticos. Rev peru Biol. 2011;18(2):265–7.
  47. Cartaya O, Reynaldo I. Reseña bibliográfica flavonoides: Características químicas y aplicaciones. Cultiv Trop. 2001;22(2):5–14.
  48. Hernandez Sampieri R, Fernandez Collado C, Baptista Lucio M del P. Metodología de la investigación. Quinta Edi. Interamericana Editores SADC., editor. México: McGraw Hill; 2010. 656 p.
  49. Krewson CF, Naghski J. Some physical properties of rutin. J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc (Baltim). 1952;41(11):582–7.

50. Benítez de Rojas C, Cardozo AL, Hernández Ch. L, Lapp M, Rodríguez H, Ruiz Z. T, et al. Botánica sistemática fundamentos para su estudio. [Internet]. Primera ed. Lapp M, editor. Universidad Central de Venezuela. Maracay: Universidad Central de Venezuela; 2006. 242 p. Available from: [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_agronomia/Botanica/Botanica\\_Sistemica/GUIA\\_DE\\_BOTANICA\\_SISTEMATICA\\_I.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_agronomia/Botanica/Botanica_Sistemica/GUIA_DE_BOTANICA_SISTEMATICA_I.pdf)
51. Ramezani Z, Aghed N, Keyghobadi H. Rutin from different parts of *Capparis spinosa* growing wild in Khuzestan/Iran. *Pakistan J Biol Sci.* 2008;11(5):768–72.
52. Kianersi F, Abdollahi MR, Mirzaie-asl A, Dastan D, Rasheed F. Identification and tissue-specific expression of rutin biosynthetic pathway genes in *Capparis spinosa* elicited with salicylic acid and methyl jasmonate. *Sci Rep.* 2020;10(1):1–15.
53. Dimitrieska-Stojković E, Zdravkovski Z. Supercritical fluid extraction of quercetin and rutin from *Hyperici herba*. *J Liq Chromatogr Relat Technol.* 2003;26(15):2517–33.
54. Zhang Y, Li S fen, Wu X wen. Pressurized liquid extraction of flavonoids from *Houttuynia cordata* Thunb. *Sep Purif Technol.* 2008;58(3):305–10.
55. Maclkova P, Halouzka V, Hrbac J, Bartak P, Skopalova J. Electrochemical behavior and determination of rutin on modified carbon paste electrodes. *Sci World J.* 2012;2012.
56. Michalkiewicz A, Biesaga M, Pyrzynska K. Solid-phase extraction procedure for determination of phenolic acids and some flavonols in honey. *J Chromatogr A.* 2008;1187(1–2):18–24.
57. Yang Y, Zhang F. Ultrasound-assisted extraction of rutin and quercetin from *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb. *Ultrason Sonochem.* 2008;15(4):308–13.
58. Zhang F, Yang Y, Su. P, Guo Z. Microwave-assisted extraction of rutin and quercetin from the stalks of *Euonymus alatus* (Thunb.) sieb. *Phytochem Anal.* 2009;20(1):33–7.
59. Kalinová J, Dadáková E. varietal and year variation of rutin content in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Cereal Res Commun.* 2006;34(4):1315–21.
60. Horosanskaia E, Minh Nguyen T, Dinh Vu T, Seidel-Morgenstern A, Lorenz H. Crystallization-Based isolation of pure rutin from herbal extract of *Sophora*

- japonica* L. Org Process Res Dev. 2017;21(11):1769–78.
61. Chua SL. A review on plant-based rutin extraction methods and its pharmacological activities. J Ethnopharmacol. 2013;150(3):805–17.
  62. Valente HM. Contenido de rutina en hojas de *Eucalyptus macrorrhyncha* cultivado en la República Argentina. Dir. de Investig. Forestales.; 1961.
  63. Soni H, Malik J. Isolation , characterization and radical scavenging activities of rutin isolated from leaves of *Annona squamosa*. J Pharmacogn Phytochem. 2022;11(2):222–8.
  64. Doshi GM, Une HD. Quantification of Quercetin and rutin from *Benincasa hispida* seeds and *Carissa congesta* roots by high-performance liquid Thin Layer Chromatography and High-performance Liquid chromatography. Pharmacognosy Res. 2016;8(1):37–42.
  65. Alshaal S, Daghestani M, Karabet F. Determination of contents of rutin and quercetin isolated from syrian *Ficus carica* L . leaf extracts. J Turkish Chem Soc. 2020;7(1):197–206.
  66. Sigma-Aldrich C. Catalog handbook of fine chemical. 2020.

## ANEXOS

### ANEXO N° 1. Identificación botánica de la planta



UNAP

Centro de Investigación de  
Recursos Naturales  
Herbarium Amazonense — AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO  
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

### CONSTANCIA n.º 25-2022 AMAZ-UNAP

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

#### HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica presentada por FLOR DE LUCERO GRANDEZ VELA y SHARON ESTHEFANY VIANA LECCA bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana pertenece al proyecto de tesis de pre grado titulado "Identificación por sus Características Fisicoquímicas y Espectrometría de la Rutina Aislado de *Preslianthus pittieri* (Standl) Iltis y Cornejo"; ha sido DETERMINADA en este centro de investigación y enseñanza Herbarium Amazonense-AMAZ-CIRNA-UNAP como se indica a continuación:

N°	FAMILIA	ESPECIE	AUTOR
01	CAPPARACEAE	<i>Preslianthus pittieri</i>	(Standl.) Iltis & Cornejo

Determinador: Ing. Juan Celidonio Ruiz Macedo

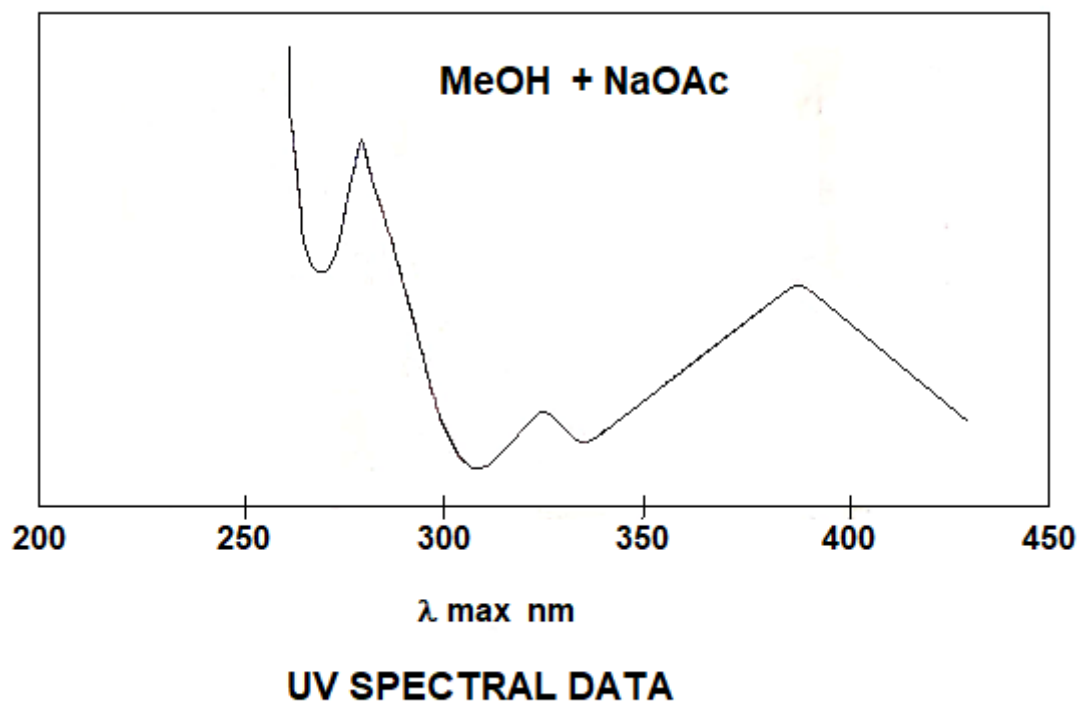
A los doce días del mes de agosto del año dos mil veintidós, se expide la presente constancia a los interesados para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,

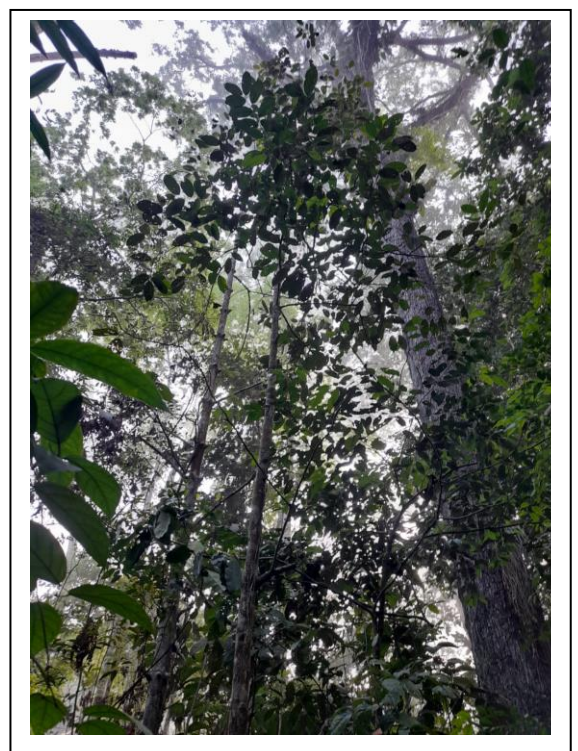
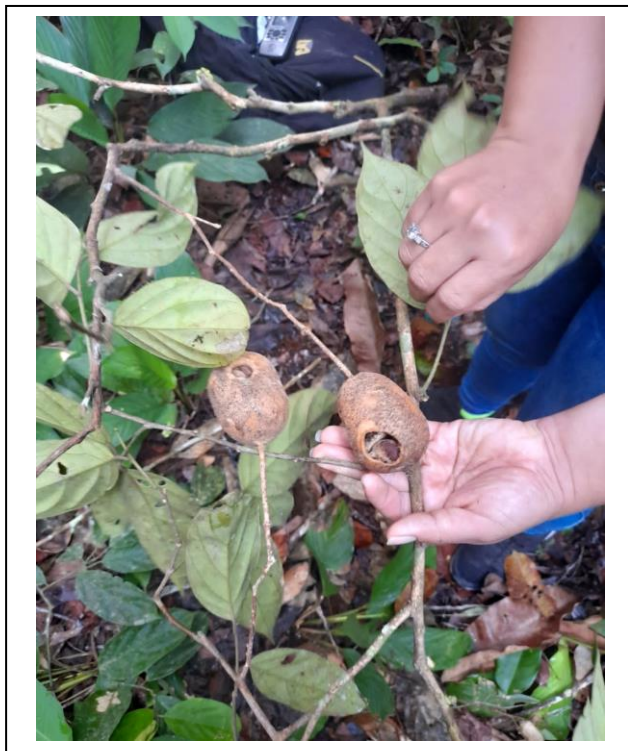
  
Richard J. Huancayo  
Coordinador del Herbarium Amazonense



**ANEXO Nº 2. Espectro de Rutina**



**ANEXO N° 3. Fotografía de la planta**



#### **ANEXO N° 4.** Cálculo de rendimiento de Rutina

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

Peso rutina: 2,6965 g

Peso de materia prima: 200 g

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

:

$$\%rendimiento = \frac{2,6965 \text{ g}}{200 \text{ g}} \cdot 100 = 1,3483\%$$

## ANEXO Nº 5. Determinación de los vales de Rf de rutina

### Cromatografía monodimensional

**A.** Sobre silicagel, solvente de corrida [acetato de etilo: butanona: ácido fórmico: agua] (50+30+10+10). Los valores de las distancias corridas por el soluto y solvente fueron las siguientes:

Distancia de corrido del soluto	5,10 cm
Distancia de corrido del solvente	17,00 cm

$$Rf = \frac{\text{Distancia de corrida del soluto}}{\text{Distancia de corrida del solvente}}$$
$$Rf = \frac{5,10}{17,00} = 0,3$$

**B.** Sobre poliamida, solvente de corrida [agua: etanol: butanona: acetilacetona] (65+15+15+5). Los valores de las distancias corridas por el soluto y solvente fueron las siguientes:

Distancia de corrido del soluto	4,95 cm
Distancia de corrido del solvente	16,50 cm

$$Rf = \frac{4,95}{16,50} = 0,3$$

### En cromatografía bidimensional

**C.** Sobre papel Whatmaenn #1, solvente de corrida el TBA (3: 1: 1). Los valores de las distancias corridas por el soluto y solvente fueron las siguientes:

Distancia de corrido del soluto	17,60 cm
Distancia de corrido del solvente	40,00 cm

$$Rf = \frac{17,60}{40,00} = 0,44$$

**D.** Sobre papel Whatmaenn #1 con un giro de 90° grados, solvente de corrida el HOAc (15 ml de ácido acético glacial + 85 ml de agua). Los valores de las distancias corridas por el soluto y solvente fueron las siguientes:

Distancia de corrido del soluto	22,40 cm
Distancia de corrido del solvente	40,00 cm

$$Rf = \frac{22,40}{40,00} = 0,56$$



## ANEXO Nº 6. Determinación del peso molecular de rutina

Punto de fusión de la mezcla D-camphor y muestra de estudio: 171,25°C

Punto de fusión del D-camphor: 177,75°C

Se halla la diferencia del punto de fusión

$$\Delta T = 177,75 - 171,25 = 6,52$$

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

$$\Delta T = 6,5$$

$$M = \frac{39,7 \cdot 0,05 \cdot 1000}{6,5 \cdot 0,5} = \frac{1985}{6,983} = 610,7692$$

$$M = 610,7692 \text{ g/mol}$$

El porcentaje de error es la relación entre el peso molecular de rutina experimental 610,7672 g/mol menos el peso molecular IUPAC 610,517 g/mol

$$\%Error = \left( \frac{\text{Peso molecular experimental} - \text{Peso molecular IUPAC}}{\text{Peso molecular experimental}} \right) \cdot 100$$
$$\%Error = \frac{610,7692 - 610,517}{610,7692} \times 100 = \frac{25,22}{610,7692} = 0,041$$

Encontramos que el margen de error es de  $\pm 0,041$  un margen de error relativamente bajo.