

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POSTGRADO

**Determinación de los compuestos fenólicos presentes
en el extracto metanólico de la pulpa del fruto
Mauritia flexuosa L. "aguaje" procedente de Tarapoto-
San Martín y su efecto sobre el nivel de estradiol en
ratas hembras jóvenes normales**

TESIS

para optar al grado académico de Magíster en Recursos Vegetales y
Terapéuticos

AUTOR

Carmen Cusco Vásquez

ASESOR

Pablo Enrique Bonilla Rivera

Lima-Perú

2009

A Dios ya que sin el nada podemos hacer

*A mis padres Luis y María por
brindarme su inmenso amor y apoyo
incondicional en cada etapa de mi vida*

*Al Dr. Pablo Enrique Bonilla
Rivera por su apoyo y orientación en el
desarrollo de este trabajo.*

*A los docentes de Universidad Nacional
Mayor de San Marcos por brindarme su
enseñanza para culminar con éxito la meta
traxada.*

Carmen Cusco Vásquez

INDICE

RESUMEN

SUMMARY

I.	Introducción	1
II.	Generalidades	3
2.1	Aspectos Botánicos de <i>Mauritia flexuosa</i> L. “Aguaje”	3
2.2	Aspectos Químicos de compuestos fenólicos	5
2.3	Menopausia	16
2.4	Estrógenos	19
III.	Parte Experimental	22
3.1	Materiales	22
3.2	Metodología	22
3.2.1	Estudio Fitoquímico	23
3.2.2	Estudio Farmacológico	24
	Determinación del nivel estrogénico en muestras de sangre de ratas, hembras Holtzmann previamente inducidas con la ingestión del extracto metanólico de <i>Mauritia flexuosa</i> L. “Aguaje”.	
IV.	Resultados	25
V.	Discusión	29
VI.	Conclusión	35
VII.	Referencias bibliográficas	36
VIII.	Anexos	39

RESUMEN

Se realizó una investigación fitoquímica y farmacológica del extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L. "Aguaje", con el objetivo de determinar compuestos fenólicos que posee el fruto de esta especie y su actividad estrogénica, la cual fue colectada en la ciudad de Tarapoto en la Región San Martín. Alrededor de esta planta se han extendido una serie de aventuras y propiedades, inclusive se le atribuye al fruto virtudes como la de poseer hormonas femeninas que hacen que tanto hombres como mujeres desarrollen características físicas femeninas pronunciadas. Estas creencias tradicionales incentivaron a que se desarrolle el presente trabajo, utilizando ensayos generales de reconocimiento, cromatografía en capa fina con sistemas de solventes diclorometano-metanol (2:1) y espectroscopia UV utilizando reactivos de desplazamiento; en la parte farmacológica se utilizaron veinticuatro ratas de raza Holtzmann, albinas hembras de dos semanas de vida y peso aproximado de 200 gr. de peso, a las cuales se le administraron por vía oral concentraciones de 25mg, 50mg, 500mg de extracto para determinar la actividad estrogénica por medio del análisis de la hormona estradiol en muestras sanguíneas de las ratas albinas inducidas. Los resultados de la marcha fitoquímica muestran que el extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L. "Aguaje" presenta en su composición abundante cantidad de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y alcaloides. Se detectaron las siguientes estructuras: 4',5-dimetoxi-7-O- glucosiflavona, 4',5,6,7-tetra -O- metoxi flavona, 4',5-di-O-metoxi-6,7-dihidroxi flavona, 4'-O-metoxi-5,7-dihidroxi-flavona, 3',4',7-trimetoxi-5-hidroxi-flavona, 4'-metoxi-5-hidro-7-O-R-flavona y 5,7-dihidroxi-4'-metoxiisoflavona. El estudio farmacológico realizado determinó que el extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L "aguaje" utilizado disminuyó el nivel hormonal de estradiol sobre los valores normales en las ratas Holtzmann (albinas hembras jóvenes, normales) tratadas produciendo efecto antiestrogénico.

Palabras clave: *Mauritia flexuosa* L., "Aguaje", compuestos fenólicos, isoflavona, menopausia, estrógenos.

SUMMARY

A phytochemical investigation and pharmacological research of the methanolic extract of *Mauritia flexuosa* L. "Aguaje", with the objective to determine the phenolic compounds and estrogenic activity of the fruit of this species, which was collected in the city of Tarapoto in San Martín, around this silver have extended a series of adventures and properties, inclusively attributed to the fruit virtues has female hormones that make both men and women develop female physical characteristics pronounced. These traditional beliefs stimulated to that the present work was developed, using general tests of recognition, chromatography in fine layer with systems of reliable dichloromethane-methanol (2:1) and UV spectroscopy using reactive of displacement; in the pharmacological part twenty-four rats, Holtzmann race, were used albinos females of two weeks of life and 200gr. approximated weight of g. of weight, to which concentrations of 25mg were administered to him by oral route, 50mg, 500mg of extract to determine the estrogenic activity by means of the analysis of the hormone estradiol in sanguineous samples of the rats induced albinos. The results of the phytochemical march show that the methanolic extract of *Mauritia flexuosa* L. "Aguaje" presents its abundant amount of phenolic compounds, flavonoids, tannins and alkaloids. UV spectroscopy resulted in the detection of the following structures: 4',5-dimethoxy-7-O-glucosiflavona, 4',5,6,7-tetra-O-methoxy flavone, 4',5-di-O-methoxy-6,7-dihydroxy-flavone, 4'-O-methoxy-5,7-dihydroxy flavone, 3',4',7-trimethoxy-5-hydroxy-flavone, 4'-metoxi-5-hidroxi-7-O-R-flavona and 5,7-dihydroxy-4'-metoxiisoflavona. The pharmacologic study determined that metanólico extract *Mauritia flexuosa* L. used, reduced the hormonal level of estradiol, on the normal values in the albinos rats dealt, producing antiestrogenic effect.

Key words: *Mauritia flexuosa* L, "Aguaje", phenolic compounds, isoflavonas, menopause, estrogens,

I. Introducción

En el conocimiento tradicional de los pueblos indígenas y comunidades campesinas, sobre plantas y animales, hay respuestas a las necesidades humanas. Estos conocimientos tradicionales se han conservado de generación en generación, constituyendo una fuente valiosa de información, para el futuro de la agricultura y la medicina, siendo imprescindible rescatar plantas olvidadas, que inclusive tienen posibilidades de curar enfermedades; que los medicamentos sintéticos no han podido resolver. La Región de San Martín presenta una abundante variedad de recursos naturales que se encuentran diseminadas por su diversidad ecológica y su especial posición geográfica; nos ofrece una de las floras más abundantes que debemos aprovechar, dentro de ella, los recursos fitoterapéuticos y el conocimiento ancestral de sus diversos usos en nuestra sociedad, que deben ser evaluados con la finalidad de conocer sus principios activos, para solucionar problemas de salud en nuestro medio y con fines de aplicación en la industria farmacéutica.¹

Es por eso que el presente trabajo se basa en la información etnobotánica recolectada de los pobladores de la Región San Martín, ya que alrededor del fruto *Mauritia flexuosa* L. "aguaje" se han extendido una serie de aventuras y propiedades, inclusive se le atribuyó al fruto virtudes como la de poseer hormonas femeninas que hacían que tanto hombres como mujeres desarrollaran características físicas femeninas pronunciadas. Pero en realidad es el soporte de la cadena alimenticia de animales y humanos, en medio de la selva por lo que los antiguos nativos yaguas, los que sobreviven lo llaman "la madre de la floresta" y el "árbol de la vida", considerándolo un símbolo de la inmortalidad.¹

Mauritia flexuosa L. "aguaje", es una especie amazónica de la selva peruana, se cultiva y explotan poblaciones naturales en los departamentos de Loreto, Ucayali, Huanuco y San Martín.^{1,2,33-34}

Estudios han demostrado una relación entre el consumo de comidas ricas en soya, y la baja frecuencia de ciertas entidades como la enfermedad cardiovascular, algunos cánceres hormonodependientes, como el cáncer de mama, endometrio, próstata y colon, la osteoporosis, sintomatología menopáusica, y alteraciones del ciclo menstrual, dada la asociación hormonal de estas enfermedades, han sido

implicados dentro de este contexto unos compuestos derivados de la soya, que poseen una débil actividad estrogénica y, que reciben el nombre de isoflavonas.³

Las isoflavonas son compuestos fenólicos con similitudes estructurales con los estrógenos naturales (17β -estradiol). Se encuentran en una gran variedad de plantas, especialmente cereales (arroz, trigo, avena, cebada), legumbres (granos de soya, garbanzos), hortalizas (alfalfa y las coles, brócoli, coliflor).^{4,5}

En el desarrollo de esta investigación se realizó el estudio fitoquímico y farmacológico de la especie *Mauritia flexuosa* L. "aguaje" para determinar los compuestos químicos que posee, teniendo como objetivo principal la identificación de compuestos fenólicos en el extracto metanólico del fruto y comprobar la actividad estrogénica, utilizando en ratas Holtzmann albinas hembras de dos semanas de vida y peso aproximado de 200 gr. de peso con lo cual se demostraría efecto deseado.

El trabajo se realizó Laboratorio de Química Orgánica del Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica; y en el Laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

II. Generalidades

2.1 . Aspectos botánicos

Clasificación sistemática

La clasificación sistemática de la planta se realizó en el Museo de historia Natural de la Universidad Nacional de San Marcos, según el sistema de clasificación de Cronquist (1988), como sigue:

División: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Arecales

Familia: Arecaceae

Genero: *Mauritia*

Especie: *Mauritia flexuosa* L.

Nombre Vulgar: Aguaje ^(Anexo 1)

Descripción botánica

El aguaje es una palmera polígama dioica, tiene una copa esférica, y en condiciones naturales puede alcanzar una altura de 35m , el tallo en plantas adultas, es coronado por hasta 30 hojas pinnadas de tamaño máximo de 8m. de longitud y hojas muertas colgando por algún tiempo debajo de la corona, dándole un aspecto peculiar a la especie. El tallo es recto, liso, cilíndrico, columnar con DAP 30-60cm. de diámetro, con cicatrices conspicuas de hojas prominentes en arreglo espiral. Se han observado generalmente, numerosos hijuelos alrededor del tallo principal, hasta en número de 20. Las raíces primarias profundizan hasta 60cm. y luego desarrollan horizontalmente hasta 40m, tienen raíces secundarias aeríferas o neumatóforos que le permiten respirar a las raíces en condiciones hidromorfias. Las hojas son compuestas, flabeladas, de 5-6m de longitud, agrupadas en número de 10-20 en la parte terminal del tallo formando la copa; la lámina tiene 80-90cm. de diámetro y se prolonga en el pecíolo.^{1,33}

Inflorescencias interfoliarias, encerradas en 2 brácteas coriáceas hasta la floración. Inflorescencia masculina en racimos largos, cilíndricos, de hasta 70 cm. de longitud y con centenares de flores. Inflorescencia femenina que conforman

racimos compactos, esféricos; flores con 68 sépalos de hasta 15-20cm. de longitud, un pistilo con un gran estigma de hasta 9cm. de longitud. ¹

El fruto es una drupa, subglobosa o elíptica, mide 5-7cm. de longitud y 4-5cm. de diámetro, el peso varía 40-85g; el epicarpio es grueso y leñoso con numerosas proyecciones espinosas, de color pardo oscuro a rojo oscuro externamente e internamente cremoso-amarillento. Mesocarpio carnosos, suave, amiláceo ligeramente duro, de consistencia fibrosa, oleaginosa, tiene un espesor de 4-6mm y constituye entre el 10-21% del fruto de espesor, sabor ligeramente dulce y aroma muy agradable; de color anaranjado o anaranjado rojizo. Endocarpio liso, es una lámina delgada de color blanco o pardo-blancuzco, duro, muy delgado, de 0,5 de espesor fuertemente adherido al endospermo homogéneo, fluido cuando joven, más tarde gelatinoso y finalmente muy duro y blanco, parecido al marfil al estado maduro, con una pequeña cavidad central. La semilla, 1-2 por fruto, es subglobosa, sólida y con albumen blanco; constituye el 40-44,5% del fruto. ^{1,34}

Es una especie nativa amazónica, probablemente originaria de las cuencas de los ríos Huallaga, Marañón y Ucayáli en el Perú. En la cuenca amazónica, tiene amplia distribución en Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Venezuela y Guyana. En la selva peruana, se cultiva y explotan poblaciones naturales en los Departamentos de Loreto, Ucayáli, Huanuco y San Martín. En Perú se calcula que hay unas 3 millones de hectáreas de aguajales. Llega hasta los 860 m.s.n.s, en San Martín, en el río Mayo (Prov. De Rioja). ²

El uso principal del fruto es en alimentación directa humana. El consumo tradicional del aguaje, es masticando directamente el mesocarpio del fruto. Las bebidas de aguaje se preparan diluyendo el mesocarpio, en agua con azúcar o sometiendo a fermentación; el mesocarpio puede deshidratarse y reconstituirse para bebidas. También se obtiene del mesocarpio harinas y aceite. ^{2,33}

La pulpa del aguaje tiene la siguiente composición química. **Tabla 1**

Tabla 1. Análisis químico de la pulpa de *Mauritia flexuosa* L "Aguaje"³³

Componentes	100 g de pulpa
Energía	283,0 Kcal.
Agua	53,6 g
Proteínas	3,0 g
Lípidos	21,1 g
Carbohidratos	18,1 g
Fibra	10,4 g
Ceniza	0,9 g
Calcio	74,0 mg
Fósforo	27,0 mg
Hierro	0,7 mg
Vitamina A (Retinol)	1062,0 mg
Tiamina	0,12 mg
Riboflavina	0,17 mg
Niacina	0,30 mg
Vitamina C	26,0 mg

[www.regionloreto.gob.pe/anazonia/libros/51/5100000.\(1993\)](http://www.regionloreto.gob.pe/anazonia/libros/51/5100000.(1993)) 3

2.2 Aspectos Químicos

Compuestos fenólicos

El elemento estructural fundamental que los caracteriza es la presencia de al menos un núcleo bencénico que contiene como mínimo un grupo hidroxílico, libre o formando parte de otra función: éter, éster, heterósido. En la naturaleza, la síntesis de un núcleo aromático la realizan únicamente vegetales y microorganismos. Los organismos animales reciben, sea por su alimentación o a través de una simbiosis, para elaborar metabolitos que les son indispensables y que poseen este elemento estructural (aminoácidos, vitaminas, pigmentos, toxinas).⁸⁻¹⁰

Proceden de dos grandes vías de la aromagénesis, la vía más frecuente es la vía shikimato, conduce a partir de osas a la formación de aminoácidos y después por desaminación de estos últimos, a ácidos cinámicos y de sus numerosos derivados: ácidos benzoicos, acetofenonas, lignanos, cumarinas. La otra vía parte del acetato y conduce a la formación de poli- β -cetoésteres de longitud variable, poliacetatos que producen por ciclación compuestos normalmente policíclicos: cromonas, isocumarinas, orcinoles, dépsidos, depsidonas, xantonas, quinonas.^{9,10}

La pluralidad estructural de los compuestos fenólicos debida a este doble origen biosintético se ve acrecentada por la posibilidad, muy frecuente, de la participación simultánea del shikimato y del acetato.^{11,12}

La gran diversidad de los compuestos fenólicos hace difícil la presentación conjunta de los métodos que permitan su extracción y aislamiento, de los procesos implicados en su biosíntesis, de sus propiedades fisicoquímicas y biológicas. Constituidos en función de su origen biosintético, siguiendo el siguiente esquema: Shikimatos y drogas que los contienen: derivados del 1-fenilpropano, y estos son fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas, lignanos, flavonoides, antocianos y taninos.^{8,10}

Dentro de los compuestos fenólicos encontramos a los flavonoides que son pigmentos casi universales en los vegetales. Casi siempre hidrosolubles, son responsables de la coloración de las flores, frutos y a veces de las hojas, asegurando así la protección de los tejidos contra los efectos nocivos de las radiaciones ultravioletas.¹¹

Los flavonoides contienen quince átomos de carbono en su núcleo básico y están arreglados bajo un sistema $C_6-C_3-C_6$, en el cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos ciclados a través de un oxígeno que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir sería llamado anillo C.⁸⁻¹⁰ **Figura 1**

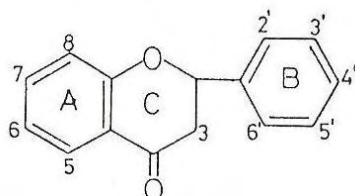


Figura 1. Estructura general de los flavonoides

Los flavonoides presentan una clasificación muy extensa, pero el objetivo de este estudio corresponde solamente a las flavonas e isoflavonas

En las flavonas el ciclo A se encuentra, en más del 90% de los casos, sustituido por dos hidroxilos fenólicos en C5 y C7. Estos hidroxilos se pueden encontrar libres o esterificados, uno de ellos puede participar en un enlace heterosídico.⁹

Figuras 2



R=H, apigenol
R=OH, luteolol

Figura 2. Flavonas

Las principales actividades biológicas de flavonoides es atribuida a los flavonoides es la de ser venoactivos, es decir ser capaces de disminuir la permeabilidad de los capilares sanguíneos y aumentar sus resistencia. Los flavonoides y las preparaciones a base de flavonoides son objeto (Francia, Alemania, España o Italia) de amplia prescripción, de frecuentes recomendación farmacéutica y de una importante automedicación en el terreno de patologías circulatorias menores. Además algunas moléculas de estos grupos, al menos en posologías elevadas, han podido mostrar una cierta eficacia clínica. Actualmente, interesa sobre todo la interacción de los flavonoides con radicales y sus posibles consecuencias en términos preventivos asimismo la actividad celular de estas moléculas y los sistemas implicados en la respuesta inmunitaria y en la inflamación, están siendo estudiadas.⁹

En cuanto a las isoflavonas es una sustancia vegetal o metabolito que induce respuestas biológicas en vertebrados y que puede modular la acción de los estrógenos endógenos, usualmente por la unión a los receptores estrogénicos. Son compuestos vegetales no esteroídicos, que presentan acción estrogénica.⁵

Las isoflavonas son polifenóles heterocíclicos no esteroideo, cuya acción esteroide radica inicialmente en su similitud estructural con los estrógenos. Por su actividad de bioestrógenos, son capaces de interactuar con receptores de

estrógenos y producir efectos agonistas y antiagonistas; así, en mujeres en edad fértil pueden producir una disminución de los estrógenos endógenos. Su actividad antiestrogénica también sirve para prevenir diferentes enfermedades de las mujeres posmenopáusicas. La genisteína actúa con efecto estrogénico y la daidzeína con efecto antiestrogénico, por lo cual, cuando se recomienda tratamiento con isoflavona, debe de tenerse en cuenta la enfermedad a tratar, así como la edad de la paciente, porque la genisteína, en edad fértil, puede actuar como antiestrógeno, por competencia con los estrógenos. La genisteína inhibe la conversión de estrona a 17- β estradiol y aumentan la síntesis hepática de la globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG), la cual modula las concentraciones séricas de esteroides.^{3,18,19} **Figura 3.**

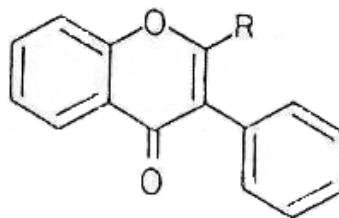


Figura 3. Isoflavona

La actividad biológica de las isoflavonas radica en su estructura isoflavonoidica lo que le proporciona actividad de fitoalexinas, es decir sustancias producidas por las plantas como respuesta a una infección por un agente patógeno, normalmente de naturaleza fúngica.⁹

El metabolismo de las isoflavonas depende de su forma química y el metabolismo propio de cada individuo. Las variaciones entre los diferentes sujetos depende de la hidrólisis por las bacterias intestinales, el tránsito intestinal, la edad del sujeto, el grupo étnico al que pertenece, drogas, pH intestinal, la dieta, presencia o no de enfermedades intestinales e inmunidad del huésped. Después de la ingestión, son hidrolizadas por glucosidasas intestinales, para la primera etapa del metabolismo de las isoflavonas se requiere de la hidrólisis bacteriana en el intestino, paso clave en la actividad biológica y biodisponibilidad de las mismas y como consecuencia sus efectos fisiológicos como constituyentes de la dieta. Las isoflavonas absorbidas en el tracto intestinal, tanto en intestino delgado y grueso, cumplen el circuito entero hepático y por lo tanto se transportan al hígado por la vena porta

donde se conjugan predominantemente con ácido glucurónico y en menor medida con ácido sulfúrico. Las isoflavonas que se encuentran en la sangre y orina se encuentran básicamente en su forma conjugada. Se afirmó anteriormente que las variaciones en la absorción y posterior utilización de las isoflavonas esta condicionado por diferentes factores, uno de los cuales es la dieta, en donde podríamos intervenir y así optimizar el resultado. Por ejemplo, las bacterias intestinales transforman la isoflavona daidzeína en equol. El equol es bioquímicamente activo, circula en sangre, es un mejor antioxidante que la daidzeína, la isoflavona de la cual deriva. La ingesta de altas concentraciones de hidratos de carbono, incrementan la fermentación intestinal obteniéndose como resultado una mayor biotransformación de la daidzeína y como consecuente un incremento de equol. Se determinó que la vida media en plasma circulante de genisteína y daidzeína es de 7.9 horas en adultos, siendo el pico máximo entre 6 a 8 hs después de la administración. Como consecuencia, para maximizar la efectiva exposición a las isoflavonas y mantener los niveles en constantes en sangre, es necesario su consumo varias veces al día, por lo menos 2 a 3 veces por día, obteniéndose mejores resultados en lugar de consumir una dosis mayor una sola vez. Son eliminados mayormente a través de la orina en cantidad proporcional a la ingesta, aunque también se encuentran en heces, bilis, leche materna, saliva y semen.^{5,12,20-23}

Las isoflavonas poseen capacidad para unirse a los receptores estrogénicos, hecho del que derivan muchas de sus acciones tisulares. Desde un punto de vista estructural, respecto a la posibilidad de unión de estos compuestos con los receptores estrogénicos, ha de tenerse en cuenta que el receptor estrogénico (RE) se liga a moléculas de distinta naturaleza, sean o no de estructura esteroide. En la capacidad de unión de cualquier ligando al RE son importantes, entre otras

Características, la presencia de un anillo aromático y de grupos hidroxilo, así como el carácter hidrofóbico de la estructura. El 17- β -estradiol contiene dos grupos hidroxilo en las posiciones 3 y 17 de un esqueleto esteroideo.^{5, 12,19} **Figura 4**

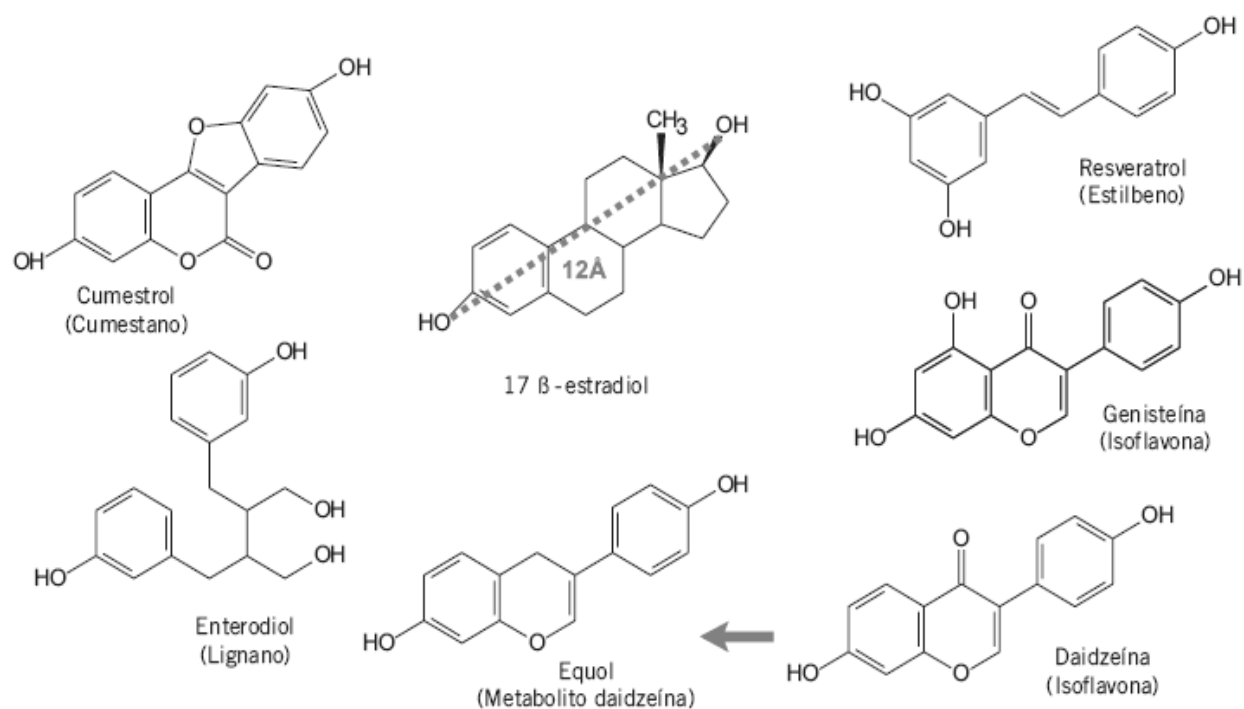


Figura 4. Isoflavonas y comparación estructural con el 17β-Estradiol

Existen notables similitudes estructurales de con el 17-β-estradiol, que se traducen en la capacidad de unión de los mismos al RE, si bien con diferente grado de afinidad según el compuesto de que se trate. La actividad estrogénica se ve negativamente afectada tanto por la metilación como por la glicosilación de los hidróxilos fenólicos. El complejo ligando-receptor que se forma resulta ser funcionalmente equivalente al formado por el 17-β estradiol, en el sentido de que es capaz de inducir actividad transcripcional. En general, presentan menor grado de afinidad por el receptor estrogénico que el estradiol, y se ligan preferencialmente al RE β: la afinidad por el RE β de las isoflavonas es del orden de 30 veces más que la que presentan con respecto al RE α. Esta diferencia de afinidad hacia ambas isoformas del receptor estrogénico, es debida probablemente a la diferente secuencia de aminoácidos de la región F del dominio de unión de ambos tipos de receptor estrogénico. Además, la actividad transcripcional es mucho más potente con respecto al RE β que al RE α ^{5,12,22}. **Figura 5**

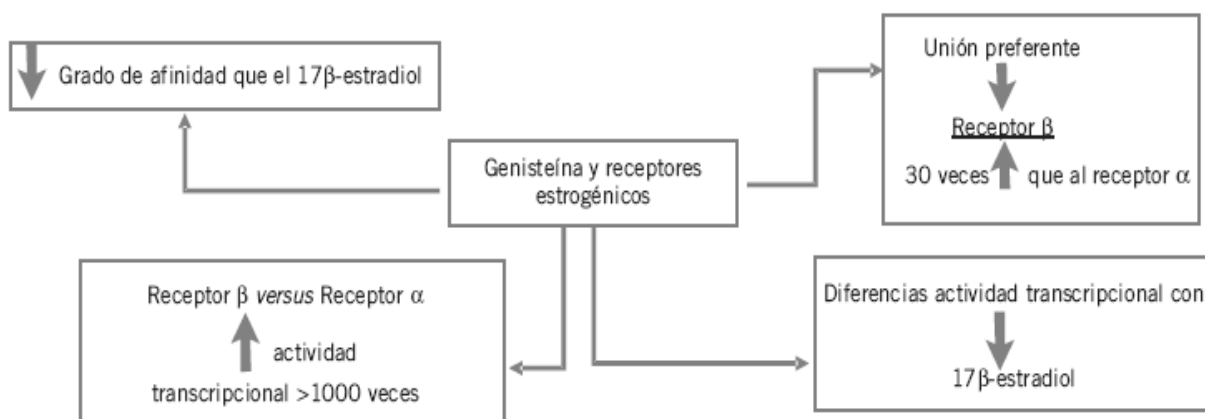


Figura 5. Interacción de las Isoflavonas con los receptores estrogénicos

Este hecho puede ser debido a la mayor capacidad de reclutamiento de factores coactivadores para el RE β que para el RE α . El estradiol, por su parte, recluta de forma no selectiva los correguladores de ambos tipos de receptor. Dada la naturaleza selectiva de sus acciones sobre los diferentes receptores estrogénicos, se podría considerar a las isoflavonas como verdaderos moduladores selectivos de dichos receptores (SERM), cuyas acciones se efectuarían básicamente en aquellos órganos y tejidos diana en los que los RE β se encuentran en cantidades relevantes, tales como el sistema nervioso central, hueso y pared vascular e, inversamente, no actuarían en aquellos órganos con expresión preferencial del RE α , como la mama y el endometrio. Aunque las isoflavonas, concretamente la genisteína, se ligan al RE β con casi la misma eficiencia que el estradiol, la concentración requerida para inducir actividad transcripcional es de 104 veces mayor para la genisteína que para el estradiol; algo similar sucede para la daidzeína, el equol o la gliciteína. Además, el tipo de actividad transcripcional inducido por las isoflavonas no es exactamente el mismo que el producido por el estradiol, lo que podría tener su explicación en el hecho de que la estructura conformacional del complejo isoflavona-receptor es diferente de la del complejo estradiol-receptor: concretamente, la hélice 12 de la superficie AF-2 se encuentra en una posición diferente según que el ligando sea la genisteína o el 17 β -estradiol. Sin embargo, esta menor actividad transcripcional de las isoflavonas queda parcialmente compensada por el hecho de que presentan una mayor facilidad de acceso a los RE que el propio estradiol, debido a que la fracción circulante libre de este último es tan sólo de un 4-5%, en tanto que las isoflavonas pueden circular

libres en más de un 50%, y además su unión a las proteínas plasmáticas es menos fuerte que la del estradiol. Por último, los niveles circulantes de isoflavona son de un orden de magnitud superiores a los del estradiol (nanogramos/mL versus picogramos/mL), hechos todos ellos que condicionan una biodisponibilidad importante de las isoflavonas..^{5,12,22}.

Las isoflavonas son capaces de inhibir diversos enzimas implicados en numerosos procesos orgánicos.^{5,12} **Figura 6**

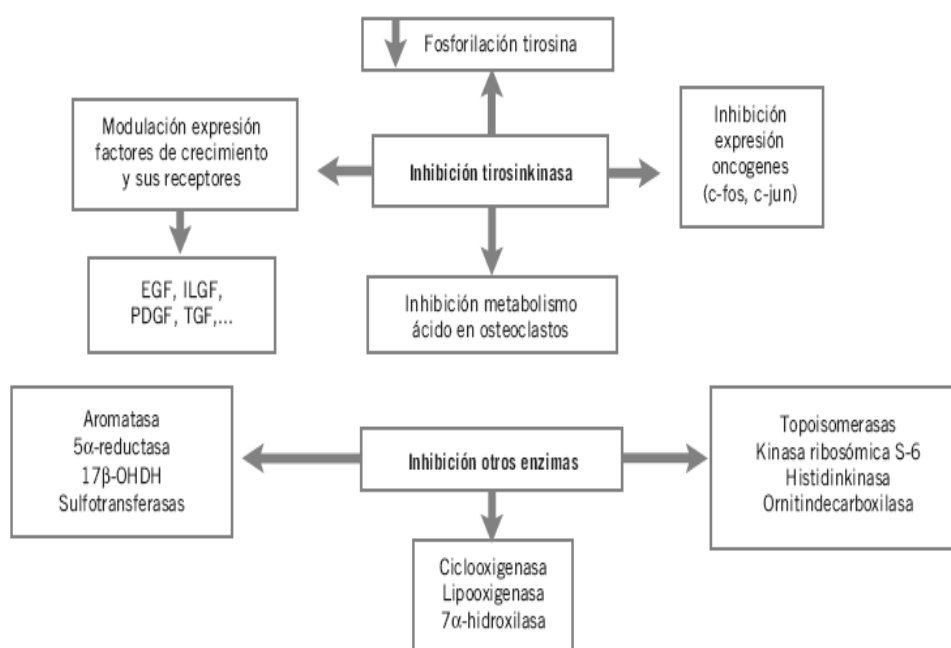


Figura 6. Mecanismos de acción de isoflavonas relacionadas con inhibición enzimática

Inhibición de tirosinkinasa

La actividad de las tirosinkinasa es inhibida por la genisteína vía interacción con el sitio de unión con el ATP. Esta familia de enzimas juega un papel fundamental en una serie de eventos relacionados entre otros con la división celular y la carcinogénesis: inhibición de la expresión de oncogenes y modulación de la expresión de diversos factores de crecimiento y sus receptores. Como resultado de la reducción del número de receptores inducido por las isoflavonas a través de la inhibición de las tirosinkinasa, se reduce la actividad de los factores de crecimiento correspondientes, con la consiguiente inhibición del crecimiento tumoral. Estos factores de crecimiento se encuentran también implicados en los procesos de angiogénesis fundamentales en el desarrollo tumoral y la aparición de

metástasis. Por otra parte, los inhibidores de la tirosinkinasa como la genisteína, antagonizan la contractilidad vascular en respuesta a un amplio rango de agentes contracturantes y reducen la resistencia en distintas arterias. Esta actuación sobre el músculo liso vascular incluye la inhibición reversible del incremento de Ca^{2+} intracelular y la regulación del efecto del Ca^{2+} en el aparato contráctil de las células de dicho músculo. Además, las tirosinkinasa actúan en los procesos de agregación plaquetaria y en el metabolismo osteoblástico, por lo que su inhibición por las isoflavonas se traduciría en efectos positivos sobre la trombogénesis y la osteoporosis menopáusica.¹²

Acción sobre enzimas implicados en el ciclo celular

Las isoflavonas son capaces de actuar sobre otras muchas enzimas, tales como las topoisomerasas I y II, que catalizan cambios topológicos en el ADN, y que son necesarias en la replicación del mismo. En este caso, las isoflavonas actúan sobre el complejo topoisomerasa-ADN induciendo la apoptosis o muerte celular programada, tal y como se ha observado en líneas celulares de cáncer de mama.¹²

Acción sobre el metabolismo y transporte de estrógenos y andrógenos

La aromatasa, enzima implicada en la formación del 17- β estradiol a partir de sus precursores androgénicos, es también inhibida por la genisteína, con la consiguiente reducción en la producción de esta hormona, lo que puede tener una especial importancia en los tumores hormono-dependientes, como el de mama. Algo parecido sucede con las familias enzimáticas de las 17- β esteroide dehidrogenasas y las sulfotransferasas, implicadas asimismo en el metabolismo de los estrógenos, así como con la 5- α reductasa, enzima convertidora de la testosterona en dihidrotestosterona e implicada en el cáncer de próstata. Las isoflavonas y lignanos también modulan la producción de globulina transportadora de hormonas sexuales, estimulando su síntesis por parte de los hepatocitos, e incrementando sus niveles plasmáticos en humanos, sobre todo en aquellos sujetos con valores previos bajos de SHBG, con la consiguiente reducción de los valores de estradiol libre circulante.¹²

Acción sobre enzimas implicados en procesos inflamatorios

Algunos lignanos e isoflavonas se comportan también como inhibidores de enzimas relacionados con los procesos inflamatorios, como la ciclooxigenasa o la

lipooxigenasa, así como de otras enzimas, como la colesterol-7 α -hidroxilasa, implicada en la formación de ácidos grasos biliares a partir del colesterol, y la α -glucosidasa, que interviene en el metabolismo de la glucosa y otros procesos. Su actuación enzimática se extiende también a la regulación de la colinacetiltransferasa, enzima implicado en el metabolismo de la acetilcolina; esta regulación se extiende, en diferentes áreas cerebrales (cortex frontal e hipocampo), a distintos factores de crecimiento: factor neurotrófico cerebral (BDNF) y factor de crecimiento nervioso (NGF).¹²

Actividad antioxidante y sobre la pared vascular

El grupo de los polifenóles, al que pertenecen las isoflavonas, presenta propiedades antioxidantes más o menos marcadas, dependientes, al menos en parte, de su interacción con las agrupaciones polares de los fosfolípidos de membrana. La isoflavona con mayor actividad en este sentido es la genisteína, conjuntamente con el equol, producto metabólico de la daidzeína, el cual ejerce su actividad antioxidante mediante la inhibición de la expresión de la NADPH oxidasa p22phox, que se traduce en un descenso en la producción de radical peroxinitrito a expensas del NO (óxido nítrico), incrementando la biodisponibilidad de este agente relajante de la musculatura lisa vascular. Este descenso en el ONOO. Determina una disminución en la oxidación de las LDL. Por otra parte se sugieren que la genisteína aumenta la actividad de distintas enzimas antioxidantes (catalasa, superóxido dismutasa y glutatión reductasa), no afectando la actividad de la glutatión transferasa (GST). Dicha actividad antioxidante, evidenciada tanto in vitro como in vivo, da lugar a un decrecimiento de las llamadas especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, como consecuencia de lo cual cabe esperar, entre otros beneficios sobre patologías producidas o agravadas por estrés oxidativo. Por otra parte, la genisteína favorece la relajación del músculo liso vascular por diversos mecanismos: bloqueo de los canales de Ca⁺⁺, modulación de la producción de NO tanto por la NOS inducible como por la NOS constitutiva, inhibición del receptor de la angiotensina II y descenso de la producción del péptido vasoconstrictor endotelina-1. Esta reducción de la endotelina-1 podría jugar además un cierto papel protector en determinados procesos neoplásicos, puesto que dicho péptido está implicado en los procesos de

crecimiento, migración, invasión y angiogénesis tumoral. Además, las isoflavonas incrementan la eficacia del hígado en lo que se refiere a la metabolización del LDL, ya que incrementan la expresión de sus receptores y la actividad de los mismos. Estas acciones, que interesan al perfil lipídico, se encuentran acompañadas por una disminución en la proliferación y migración de las células del músculo liso vascular pudiendo conferir efectos cardioprotectores en el sistema cardiovascular mediante inhibición del remodelado vascular y la formación de la neoíntima.^{12,22}

Las isoflavonas están presentes principalmente en las hojas, los frutos y las semillas de gramíneas y de leguminosas. También se encuentran en granos íntegros de cereales, en semillas bayas y nueces. Aunque las isoflavonas no son nutrientes esenciales, pueden ayudar a reducir la incidencia de varias enfermedades. Las semillas de soya tostada tienen el mayor contenido de isoflavonas: Aproximadamente 167 mg. por una ración de 3.5 onzas. El tempeh (un pastel de semillas de soya fermentadas) es el siguiente, con 60 mg., seguido por la harina de soya con 44 mg. Los productos de soya procesados como la proteína de soya y la leche de soya contienen aproximadamente 20 mg. por ración. Las mismas isoflavonas que se encuentran en la soya también están contenidas en ciertos productos de trébol rojo.^{5,23,24}

El consumo promedio diario de isoflavonas de soya es de aproximadamente 50 mg. Cuando se trata de disminuir la concentración de colesterol, es suficiente un consumo diario de entre 60 y 90 miligramos diarios de compuestos protectores (25 a 50 gramos de proteína de soya). Para la prevención de cáncer de mama, próstata y colon, la ingesta será, diariamente, de 50 a 70 miligramos (20 a 40 gramos de proteína de soya). Si el objetivo es el control de los síntomas de la menopausia, la dieta deberá incluir de 50 a 75 miligramos (20 a 45 gramos de proteína de soya). En el tratamiento de osteoporosis en mujeres posmenopáusicas serán necesarios, cada día, de 60 a 80 miligramos de isoflavonas (aproximadamente 40 gramos de proteína de soya).^{10,23,24}

Las poblaciones asiáticas ocupan el primer lugar, ya que consumen soya en su dieta diaria desde la niñez (40 a 50 mg/día; en el Japón, 200 mg/día), observándose que solo 25% de las mujeres presenta síntomas vasomotores

climáticos, con una baja incidencia de cáncer de mama, colon, próstata, enfermedades cardiovasculares, osteoporosis. En los países occidentales, su uso es menor en cantidad y tiempo, con consumo promedio de 5 mg/día.¹⁹

2.3. Menopausia

El climaterio, que incluye perimenopausia, menopausia y posmenopausia, es un período de cambios fisiológicos en el eje hipotálamo-hipófisis-ovario, con disminución progresiva del estradiol endógeno. Como consecuencia, en la etapa perimenopáusica comienzan los periodos menstruales irregulares y hay trastornos de la termorregulación, los bochornos, entre otros síntomas vasomotores. En la menopausia cesa permanentemente la actividad menstrual, debiendo transcurrir por lo menos 12 meses con amenorrea para tener un diagnóstico certero. La edad promedio de la mujer en el momento en que cesa la hemorragia menstrual es de 50 a 51 años. La amenorrea es producto de la disminución de la función folicular ovárica, que se manifiesta por deficiencia de estrógenos. La intensidad de la sintomatología se relaciona con la herencia, estilos de vida, paridad, entre otros. En la posmenopausia ocurre envejecimiento de la piel, aumento de peso, riesgo de osteoporosis y de fracturas, y de problemas cardiovasculares, como arterioesclerosis, angina pectoris, hipertensión, accidentes cerebro vasculares, enfermedad de Alzheimer, entre otros. Como se observa, el déficit estrogénico va a producir alteraciones físicas y psíquicas en la vida de la mujer, por lo que se busca tratamientos que le mejoren su calidad de vida. Se ha empleado diversas terapias hormonales con estrógenos, progestágenos y otros, para prevenir o tratar estas complicaciones. Pero, las investigaciones médicas advierten que la terapia hormonal prolongada, mayor a los 5 años, expone a las mujeres a riesgos de adquirir cáncer de endometrio, mama, ovario y al incremento de riesgos de enfermedades cardiovasculares, como infarto de miocardio y trombosis venosa. Por ello, se busca otras terapias, como la medicina alternativa, siendo los componentes más apreciados isoflavonas, sustancias que difieren significativamente entre ellas.¹⁸

La disminución del número de óvulos se inicia ya en la vida intrauterina; en el momento de la menopausia, el número de óvulos es muy escaso y, probablemente, su función es nula. El número de óvulos que desaparece como consecuencia de la

ovulación de vida fértil muy escaso, y la mayoría de los folículos y óvulos asociados se pierden por un proceso de atresia. La detención del desarrollo folicular determina un descenso de la producción del estradiol y de otras hormonas, que a su vez anulan la retroalimentación negativa sobre los centros hipotálamo-hipofisarios. Por su parte, los niveles de gonadotropinas en el plasma se elevan; la concentración del FSH aumenta de forma más precoz e intensa que la de LH. La mayor concentración de FSH comparada con LH en la mujer posmenopáusica obedece a la disminución de la secreción inhibida por el ovario, a la menor depuración plasmática de FSH por su mayor contenido de ácido siálico y posiblemente a la pérdida de retroalimentación positiva sobre la producción de LH ejercida por el estradiol. La administración intravenosa de LHRH a mujeres menopáusicas determina un aumento pronunciado de la secreción de FSH y LH, que sugiere un incremento de la actividad secretora hipotálamo-hipofisiaria que ocurre en otras formas de insuficiencia ovárica primaria. Los ovarios de la mujer posmenopáusica son de pequeño tamaño y las células residuales son principalmente del estroma. Los niveles de estrógeno y andrógenos en el plasma se reducen pero no desaparecen del todo. Antes de la menopausia, la androstendiona plasmática procede en una proporción similar de la glándula suprarrenal y del ovario, pero después de esta, la contribución ovárica cesa, por lo que los niveles plasmáticos de androstendiona desciende un 50%. No obstante, el ovario menopáusico continúa secretando testosterona, probablemente a partir de las células del estroma.²⁵

Los estrógenos circulantes de la mujer ovuladora derivan de dos fuentes. El 60% de los estrógenos producidos durante el ciclo menstrual se encuentran en forma de estradiol, procedente básicamente del ovario, y el resto en forma de estrona que se sintetiza principalmente en tejidos extraováricos a partir de la androstendiona. La síntesis extraovarica de estrógenos constituye la vía principal después de la menopausia. La producción de estrógenos por el ovario menopáusico es mínima y la ooforectomía no se acompaña de una disminución de estos niveles. Los niveles plasmáticos de estradiol, principal estrógeno secretado por el folículo, son menores que los de estrona en la mujer posmenopáusica. La tasa de formación periférica de estrona aumenta ligeramente, por lo que la producción de estrona es

algo inferior a la producción previa a la menopausia, a pesar del descenso de la androstendiona plasmática. El tejido adiposo constituye uno de los lugares fundamentales de síntesis de estrógenos fuera del ovario por lo que la producción periférica de estrógenos, en realidad, puede aumentar en las mujeres obesas posmenopáusicas, de tal modo que la tasa total de síntesis de estrógenos resulta equivalente o superior a la de la mujer premenopáusica. El estrógeno predominante es la estrona, y no el estradiol.²⁵

Los síntomas menopáusicos más frecuentes consisten en inestabilidad vasomotora "sofocos", atrofia del epitelio urogenital y de la piel, disminución del tamaño de las mamas y osteoporosis. La patología de los sofocos no se conoce bien. Existe una relación temporal estrecha entre el inicio de los sofocos y los pulsos de secreción de LH; sin embargo, los sofocos también aparecen en mujeres con ausencia de función hipofisaria y en tratamiento con análogos de LHRH, cuyos niveles de LH se encuentran ausentes o disminuidos. Las alteraciones del metabolismo de las catecolaminas, prostaglandinas, endorfinas, o neurotensinas, asociadas a la producción reducida de estrógenos influyen, sin duda, en este fenómeno. Otros síntomas que se asocian con frecuencia a los sofocos, como el nerviosismo, la ansiedad, la irritabilidad y la depresión pueden estar producidos o no por la deficiencia de estrógenos. La disminución del tamaño de los órganos del aparato reproductor femenino y de las mamas durante la menopausia es consecuencia de la deficiencia de estrógenos. El endometrio se adelgaza y se atrofia en la mayoría de los casos la mucosa vaginal y la uretra también muestran adelgazamiento y atrofia. Existe una estrecha relación entre la carencia de estrógenos y el desarrollo de la osteoporosis. La osteoporosis es una de las complicaciones más temidas del envejecimiento. Las mujeres posmenopáusicas muestran una mayor predisposición hacia osteoporosis y hacia sus complicaciones, ya que la densidad ósea de estas pacientes es menor antes de la menopausia y la pérdida consiguiente posee consecuencias más graves en este grupo. La prueba adicional de que la osteoporosis es producida por la carencia de estrógenos se basa en el desarrollo prematuro de osteoporosis en las mujeres con menopausia precoz debida a causas naturales o a castración quirúrgica.²⁵

El tratamiento de la menopausia estrogénico de la menopausia , constituye, en realidad, una sustitución farmacológica de un análogo de lo estrógenos, y no una sustitución fisiológica del estradiol. Los estrógenos utilizados en el tratamiento de sustitución son los estrógenos conjugados, los derivados de los estrógenos (dietilestilbestrol), los estrógenos sintéticos (etinilestradiol y sus derivados), el estradiol micronizado, las cremas vaginales con estrógenos y los parches dérmicos con estrógenos. Entre los tratamientos con un menor riesgo de complicaciones se encuentra, el tratamiento cíclico de estrógenos, a las dosis mínimas eficaces, durante 21 a 25 días por vía oral., la administración cíclica de estrógenos, junto con la adición de gestágenos en los últimos 10^a a 13 días del ciclo estrogénico.

El efecto más beneficioso más notorio del tratamiento estrogénico de la menopausia consiste en el alivio de la inestabilidad vasomotora (sofocos de calor) y la atrofia del epitelio urogenital y de la piel. El tratamiento estrogénico mejora estos síntomas en la mayoría de los casos, pero éste no debe de administrarse más allá de 3 o 4 años ya que suelen desaparecer por sí solos. El tratamiento estrogénico posee efecto positivo a corto plazo sobre el balance de calcio y un efecto beneficioso a largo plazo sobre la densidad ósea.²⁵

El riesgo más preocupante del tratamiento estrogénico es el carcinoma endometrial en las usuarias de estrógeno varía de 6 a 8. Este riesgo aumenta con la duración de la dosis de los estrógenos, pero disminuye en las mujeres que reciben tratamiento de combinación de estrógenos y gestágenos. El empleo de estrógenos en la menopausia se asocia a un ligero aumento de la colelitiasis.²²

2.4 Estrógenos

Los compuestos estrógenos se segregan en el ovario, la placenta, los testículos y las cápsulas suprarrenales. El principal estrógeno que secreta el ovario y el más potente de los estrógenos naturales es el estradiol. La estrona también es secretada en el ovario, aunque su principal fuente procede de la conversión extraovárica de androstendiona en los tejidos periféricos.^{25,28}

En los seres humanos se presentan varios tipos de estrógenos, siendo los más importantes la estrona, el estradiol y el estriol. Tienen estructura esteroídica de 4 anillos, todos ellos tiene un esqueleto esteroide de 18 átomos de carbonos y un anillo aromático A ; un grupo fenólico en posición C-3 y una función cetona en

C17 (estróna) , El estradiol esta en equilibrio con la estróna difiere de esta en que tiene una función alcohol en el C17 en lugar de la función cetona (estradiol). El estradiol (16-hidroxiestradiol), el estrógeno preponderante en la orina, procede de la 16-hidroxilación de la estróna y del estradiol. El estriol tiene la misma estructura que el estradiol pero con otra función alcohol en la posición 16. ^{10,28}

Figura 7,8,9

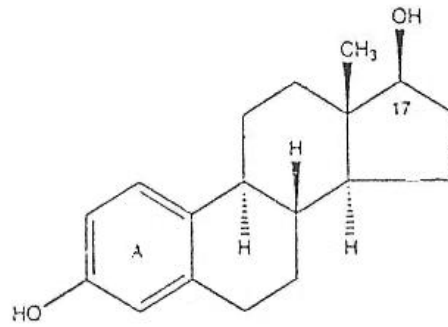


Figura 7. Estradiol

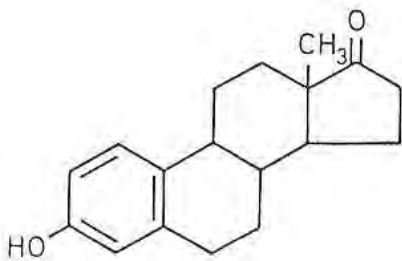


Figura 8. Estrona

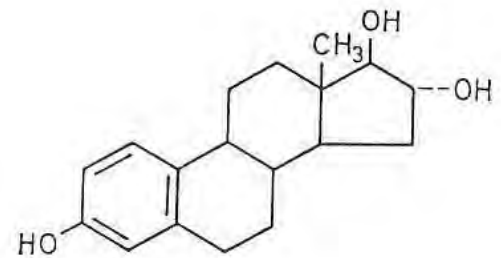


Figura 9. Estriol

El estróna y el estradiol intervienen en el desarrollo de los órganos femeninos cuando se secretan en la pubertad y , después de la pubertad favorecen la proliferación de la mucosa que reviste las trompas de Falopio, estimulan el crecimiento de las mamas, favorecen el crecimiento esquelético, provocan un aumento de los depósitos de proteínas en el organismo, producen depósitos de grasa, sobre todo en ciertas regiones (glúteos nalgas), causan una ligera retención de cloruros, sodio, y agua en el, túbulo renal y , por otra parte, incrementa la cantidad de fibras elásticas, favorecen el desarrollo del pelo y afectan a la textura de la piel, que se vuelve más tensa y lisa. ^{10,25,28}

Esta hormona, al igual que otros casos, circula por el torrente sanguíneo unido a una proteína portadora, y son inactivadas principalmente en el hígado mediante procesos de sulfoconjugación y de glucoronoconjugación. Sin embargo, los niveles plasmáticos de estrógenos pueden ser medidos con suficiente exactitud actualmente, al igual que su utilización urinaria en forma de conjugados, lo que permite inferir el comportamiento ovárico en un ciclo normal de una mujer sana. En ese caso, los niveles estrogénicos llegan a un pico en la preovulación, y es seguido de un pequeño descenso y una nueva elevación durante la aparición del cuerpo luteo. La producción diaria de estradiol y estrona oscila, según el día del ciclo, entre 0,1 y 0,5 mg. por 24 horas. Los niveles plasmáticos varían de 0 a 500 $\mu\text{g/mL}$.²⁹

III. Parte experimental

3.1. Reactivos y materiales

- Material básico de vidrio
- **Equipos**
- Balanza analítica Mettler
- Molino de cuchillas Willwy Hill St. Model N°3
- Luz UV 254nm -365nm Vole Parmer.9815-Series lamps Gwatts
- Espectrómetro UV –VIS marca: Hewlhet Packard con arreglo de diodo.
- **Reactivos**

Reactivos de solubilidad

N-hexano Q.P , acetato de etilo Q.P, cloroformo Q.P, isobutanol Q.P, N-butanol Q.P, metanol Q.P, etanol Q.P, agua destilada

Reactivos de caracterización

Reactivo Shinoda Q.P, reactivo Mayer Q.P, reactivo Nihindrina Q.P, reactivo Gelatina Q.P, reactivo Cloruro Ferrico Q.P, reactivo 2,4-dinitrofenilhidrazina Q.P, reactivo Dragendorf Q.P, reactivo Molish Q.P, reactivo Lieberman Q.P, NaOH 5%, Q.P, NaCl , Formol 80%.

- **Estudio farmacológico**

24 ratas albinas raza Holtzmann

Sexo: Hembra

Edad: 2 semanas (jóvenes)

29 gr. extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L "aguaje"

3.2 Metodología:

3.2.1 Estudio fitoquímico.

Colección, secado, molienda y extracción de los metabolitos secundarios de la especie *Mauritia flexuosa* L. "aguaje".

Los frutos de la planta se colectaron en Región San Martín ciudad Tarapoto en el mes de enero. La clasificación taxonómica fue realizada en el Museo de Historia Natural "Javier Prado" de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Se aceleró el proceso de maduración sumergiendo los frutos en baño María (60-80

°C) por espacio de tres horas y se procedió a pelarlos obteniéndose la pulpa requerida para el estudio; luego se secó en estufa de aire circulante a 40°C, se trituró en molino de cuchillas. Para la extracción de los metabolitos secundarios se agregó al material obtenido, 530 gr. de pulpa en 1,3 L de metanol, se maceró en frasco de color ámbar por 15 días con agitación diaria. Posteriormente se filtró con una gasa; el líquido filtrado fue concentrado, llevado a sequedad obteniéndose 29 gr. de extracto seco, procediéndose luego a la identificación de componentes con reactivos de caracterización.⁸

Marcha de solubilidad del extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L. “aguaje”

El extracto seco metanólico se sometió a pruebas de solubilidad en solventes de diferentes polaridades. En tubos de ensayo se colocó una pequeña porción del extracto metanólico total del fruto se le agregó 2 mL del solvente respectivo, n-hexano, acetato de etilo, cloroformo, isobutanol, n-butanol, metanol, etanol, agua destilada, se agitó y se observaron los resultados.⁸

Marcha fitoquímica del extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L. “aguaje”

Se realizaron las siguientes reacciones químicas en el extracto metanólico total:⁸

Tabla 2. Reacciones de coloración y precipitación del extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L. “aguaje”.

Reactivos	Resultados
Reacción con FeCl ₃	Compuestos fenólicos: verde a marrón: catecol, azul: piragalol.
Reacción con gelatina	Precipitado abundante indica presencia de taninos
Reacción de Shinoda	Coloración indican la presencia y tipo de flavonoides.
Reacción de Dragendorff	Precipitado o coloración rojo naranja : alcaloide
Reacción de Mayer	Precipitado blanco inmediato, indicará la presencia de alcaloides.
Reacción Lieberman	Coloración verde o azul verdoso: núcleo esteroidal

Cromatografía del extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L. “aguaje”

El extracto metanólico se desarrolló en cromatoplacas con el sistema de solventes: diclorometano-metanol (2:1), se reveló con tricloruro FeCl₃, Dragendorff, H₂SO₄ 50% observándose a la luz visible y bajo la lámpara de luz UV de 254- 366nm.^{13,}

Identificación de flavonoides en extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L. “aguaje”

Las fracciones encontradas en cromatografía fueron leídas al espectrofotómetro UV-Visible en etanol y con varios reactivos de desplazamiento químico, según Mabry et al¹⁶. Los flavonoides poseen espectros con intensas absorciones en bandas II (250 – 280 nm.) y la banda I (300 – 390 nm.)^{3,8,16}

3.2.2 Estudio Farmacológico

Determinación del nivel estrogénico en muestras de sangre de ratas albinas previamente inducidas con la ingestión del extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L. “aguaje”. Mediante el método según MARTINEZ G. , 2002³¹
Patrón de expresión del receptor de estrógeno alfa y beta en endometriosis experimental en la rata Wistar. Instituto Nacional de Perinatología. México DF. 16 N°4; Octubre- Diciembre 2002.³⁰⁻³²

Procedimiento

Se utilizaron veinticuatro ratas albinas hembras raza Holtzmann de dos semanas de vida y peso aproximado de 200 gr. de peso, las ratas albinas utilizadas para este ensayo se mantuvieron en condiciones de 45 a 50 % de humedad a una temperatura ambiental de 23°C, agua filtrada y alimento comercial. Se agruparon aleatoriamente en cuatro grupos de seis individuos cada uno, el primer grupo recibió suero fisiológico 5 mL/Kg. (grupo control) , al segundo grupo se le administró E₁ *Mauritia flexuosa* L. 25 mg/Kg. (el extracto fue diluido en 100 mL de agua); al tercer grupo se administró E₂ *Mauritia flexuosa* L 50 mg/Kg. (el extracto fue diluido en 100 mL de agua); al cuarto grupo se le administró E₃ *Mauritia flexuosa* L 500 mg /kg (el extracto fue diluido en 10 mL de agua). Se administró el extracto por vía oral una vez por día durante 30 días. Luego se procedió a extraer muestras de sangre por punción cardiaca, previo adormecimiento de las ratas en estudio con anestésico, se colocó la muestra tomada en tubos de ensayo con epinefrina y se llevaron al laboratorio de Análisis clínico del Hospital 2 de Mayo para determinación de la hormona estradiol.³⁰⁻³²

IV. Resultados

Estudio fitoquímico

Los resultados de la marcha de solubilidad del extracto metanólico total de *Mauritia flexuosa* L “aguaje” se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Solubilidad del extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L “aguaje”.

Solvente	Solubilidad	
n-hexano	++	Parcialmente soluble
Acetato de etilo	+	Poco soluble
Cloroformo	+	Poco soluble
Isobutanol	+	Poco soluble
n-butanol	+	Poco soluble
Metanol	++	Parcialmente soluble
Etanol	+++	Soluble
Agua	++	Parcialmente soluble

Simbología: Poco soluble (+) Parcialmente soluble (++) Soluble (+++)

Los resultados de la marcha fitoquímica del extracto metanólico total de *Mauritia flexuosa* L “aguaje” se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Marcha fitoquímica del extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L “aguaje”.

Reacción	Metabolitos secundarios	Resultados
Rvo. Nihindrina	Aminoácidos libres	-
Rvo. gelatina	Taninos	++
Rvo. FeCl ₃	Compuestos fenólicos	+++
Rvo. Dragendorff	Alcaloides	++
Rvo. Mayer	Alcaloides	++
Rvo. 2,4 dinitrofenilhidrazina	Compuestos carbonilo	+
Rvo. Shinoda	Flavonoides	++
Rvo. 1 α -naftol	Glucósidos	+
Rvo. Lieberam-Burchard	Esteroides , terpenoides	+
Rvo. NaOH 5%	Quinonas	+

Simbología: No detectable (-) Poco (+) Moderado (++) Abundante (+++)

Análisis cromatográfico

Del extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L “aguaje se realizó cromatografía en capa fina con mezcla de solventes Diclorometano-Metanol (2:1), del cual se obtuvieron 7 fracciones. Tabla 5.

Tabla 5. Cromatografía del extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L “aguaje”

Frac.	Rf	Luz UV λ (254 nm)	FeCl ₃	Dragendorff	H ₂ SO ₄
I	0.04	Marrón	Marrón verdoso	Marrón	Leve rosado
II	0.08	Marrón	No se observa	Marrón	Marrón
III	0.10	Marrón	No se observa	Marrón	Marrón
IV	0.13	Fluorescencia celeste	No se observa	Marrón	Marrón
V	0.20	Fluorescencia azul	No se observa	Marrón	Marrón
VI	0.25	Fluorescencia celeste	No se observa	Marrón	Marrón
VII	0.42	Azul	No se observa	Anaranjado	Marrón

Estas fracciones se purificaron y se llevaron a leer al espectrofotómetro UV, con reacciones de desplazamiento. Obteniendo los siguientes resultados:

M1:

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}} : 268, 332 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{Metox.Na}} : 268, 332 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+AlCl}_3} : 258, 332 \text{ nm};$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+AlCl}_3+\text{HCl}} : 268, 332 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+Actato}} : 268, 332 \text{ nm}$$

M2:

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}} : 273, 327 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{Metox.Na}} : 273, 327 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+AlCl}_3} : 273, 327 \text{ nm};$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+AlCl}_3+\text{HCl}} : 273, 327 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+Actato}} : 273, 327 \text{ nm}$$

M3:

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}} : 256, 282, 325 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{Metox.Na}} : 256, 292, 325 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+AlCl}_3} : 270, 282, 325 \text{ nm};$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+AlCl}_3+\text{HCl}} : 256, 282, 325 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+Actato}} : \text{descomposición}$$

M4:

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}} : 260, 320 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{Metox.Na}} : 265, 360 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+AlCl}_3} : 305, 360 \text{ nm};$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+AlCl}_3+\text{HCl}} : 305, 360 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+Actato}} : \text{descomposición}$$

M5:

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}} : 258, 325 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{Metox.Na}} : 285, 325 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+AlCl}_3} : 270, 325 \text{ nm};$$

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+AlCl}_3+\text{HCl}} : 270, 325 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+Actato}} : \text{descomposición.}$$

M6:

$$\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}} : 255, 330 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{Metox.Na}} : 270, 330 \text{ nm}; \quad \lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH+AlCl}_3} : 263, 330 \text{ nm};$$

$$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3+HCl} : 263, 330 \text{ nm}; \lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+Actato} : 255, 330 \text{ nm}$$

$$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH} ; \lambda_{m\acute{a}x}^{Metox.Na} ; \lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3} ; \lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3+HCl} ; \lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+Actato}$$

M7:

$$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH} : 258,285, 323 \text{ nm}; \lambda_{m\acute{a}x}^{Metox.Na} : 265, 292,323 \text{ nm}; \lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3} : 270, 283,360 \text{ nm}; \lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3+HCl} : 270,283, 360 \text{ nm}; \lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+Actato} : 258,285,323 \text{ nm}$$

Estudio farmacológico

El análisis de las muestras sanguíneas tomadas de ratas albinas tratadas con extracto metanólico *Mauritia flexuosa* L “aguaje” dió los siguientes valores.

Tabla 6.

Tabla 6. Valores sanguíneos de estradiol en ratas albinas hembras tratadas con extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L “aguaje”

Nº	Tratamiento	Dosis mg/Kg.	Grupo	Estradiol UI/Kg
1	Control (suero fisiológico)	5ml/Kg	0	113.3
2			0	100.7
3			0	64.9
4			0	112.3
5			0	214.6
6			0	100.8
7	Extracto 1	25mg/Kg	1	88.9
8			1	87.9
9			1	107.4
10			1	90.6
11			1	147.9
12			1	116.8
13	Extracto 2	50 mg/Kg	2	90.4
14			2	125.2
15			2	60.6
16			2	82.5
17			2	123.4
18			2	104.8
19	Extracto 3	500 mg/Kg	3	81.3
20			3	70.1
21			3	92.3
22			3	71.2
23			3	106.3
24			3	110.9

Análisis estadístico de los datos obtenidos en ratas albinas hembras que recibieron *Mauritia flexuosa* "aguaje" durante 30 días por vía oral. **Tabla 7 y figura 10.**

Tabla 7. Análisis estadístico de datos hormonales de ratas albinas hembras tratadas con extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L "aguaje"

N°	Tratamiento	Valor medio	Error estándar	95% Confidence Intervalo for Mean	
				Lower Bound	Upper Bound
6	Control (SSF 5 L/kg)	117.8	20.7	64.7	170.9
6	Extracto 1 (25 g/kg)	106.6	9.5	82.1	131.1
6	Extracto 2 (50 mg/kg)	97.8	10.2	71.6	124.1
6	Extracto 3 (500 g/kg)	88.7	701	70.4	107.0

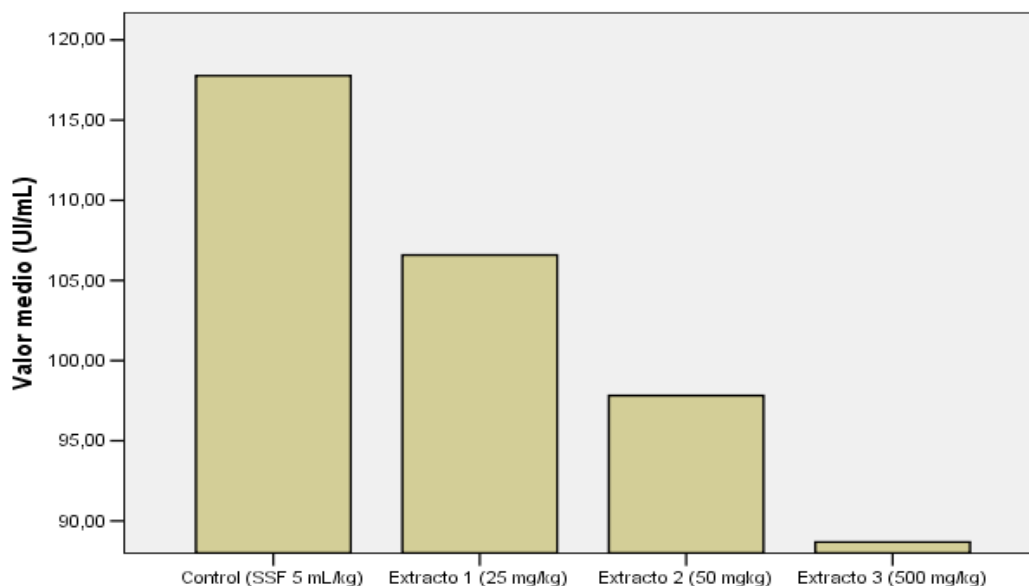


Figura 10. Representación gráfica de datos hormonales en ratas albinas hembras normales tratadas con extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L "aguaje"

Análisis de varianza de los datos obtenidos en ratas hembras que recibieron *Mauritia flexuosa* "Aguaje" durante 30 días por vía oral. **Tabla 9.**

Tabla 8. Análisis de varianza de datos hormonales de ratas albinas hembras tratadas con extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L "aguaje"

Tratamiento	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2774.4	3.0	924.8	0.9	0.451
Within Groups	20180.2	20.0	1009.0		

V. Discusión

Los resultados de los ensayos de solubilidad dan a conocer que el extracto metanólico total de *Mauritia flexuosa* L. contiene mayormente metabolitos secundarios solubles en solventes de alta polaridad como agua, etanol y metanol, lo que indicaría que los componentes del extracto metanólico estudiado son de alta polaridad y mediana polaridad. Tabla 4.

Los resultados de la marcha fitoquímica muestran que el extracto metanólico total de *Mauritia flexuosa* L. presenta en su composición abundante cantidad de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos y alcaloides, los que serían los responsables de las propiedades biológicas que la medicina tradicional le atribuye. Tabla 5.

Mediante cromatografía en capa fina, realizada al extracto metanólico del fruto de *Mauritia flexuosa* L. “aguaje” en un sistema de solventes diclorometano: metanol (2:1), se logró comprobar con seguridad la presencia de compuestos fenólicos, se detectó e identificó 7 fracciones de compuestos tipo flavonoides, denominándolas M1, M2, M3, M4, M5, M6 y M7; luego fueron leídos al espectrofotómetro UV-Visible en etanol y se verificó la estructura con los reactivos de desplazamiento químico correspondientes, según Lok et al, Mabry et al, Hesse et al(8,16,17). Al interpretar los espectros obtenidos se observó que M1, M2, M3, M4, M5 y M6 corresponden a flavonas y M7 corresponde a una isoflavona; se proponen las siguientes estructuras por correlación espectral con los reactivos de desplazamiento y por comparación con la información proporcionada por Lok et al, Mabry et al, Hesse et al(8,16,17):

M1

Según el espectro en etanol el esqueleto básico que corresponde a esta fracción, es de una flavona (Anexo 2), pues al tratarlo con metóxido de sodio no hay cambios lo que nos indicaría que el compuesto no tiene hidroxilos libres, al hacer reaccionar con tricloruro de aluminio se observa un ligero efecto ipsocrómico de 10 nm, que luego al tratarlos con HCl regresa al valor anterior, esto nos indica la presencia de azúcares en la posición 7; en la posición 5 no existe un OH libre que forme un complejo con el tricloruro de aluminio que al ser tratados con el ácido

clorhídrico se rompa y regrese a su valor original. En el anillo B no existen hidroxilos en posición orto, pues no forman complejo con el tricloruro, pero puede existir un grupo metoxilo. Al tratarlo con acetato de sodio no se observa descomposición.

M2

Según el espectro en etanol el esqueleto básico que corresponde a esta fracción es de una flavona (Anexo 2), pues al tratarlo con metóxido de sodio no hay efecto batocromico lo que nos indica que el compuesto no tiene hidroxilos libres, al hacer reaccionar con tricloruro de aluminio no se observan efectos batocrómicos y luego al tratarlos con HCl se mantienen las señales, esto nos indica que en posición 5 no existe OH libre para que forme un complejo con el tricloruro de aluminio, en tanto que en el anillo B existiría un grupo metoxilo en 4'. Al tratarlo con acetato de sodio no se observa descomposición.

M3

Según el espectro en etanol el esqueleto básico que corresponde a esta fracción es de una flavona (Anexo 2), pues al tratarlo con metóxido de sodio hay un efecto batocrómico de 10 nm lo que nos indicaría que el compuesto tiene hidroxilo libre en posición 7, al hacer reaccionar con tricloruro de aluminio se observa un ligero efecto batocrómico de 14 nm, que luego al tratarlo con HCl se regenera la señal anterior, esto nos indica presencia de hidroxilos libres en las posiciones 6 y 7 que forman un complejo temporal con el tricloruro de aluminio. Al tratarlo con acetato de sodio se observa descomposición en el espectro lo que indicaría presencia de OH libre en 7, confirma nuestra presunción.

M4

Según el espectro en etanol el esqueleto básico que corresponde a esta fracción es de una flavona (Anexo 3), pues al tratarlo con metóxido de sodio hay un efecto batocrómico de 40 nm lo que nos indicaría que el compuesto tiene hidroxilos libres, principalmente en la posición 7, al hacer reaccionar con tricloruro de aluminio se observa efecto batocrómico de 40 nm, que luego al tratarlo con HCl no regresa al valor de la señal anterior, esto nos indica presencia de hidroxilos libres en las posiciones 5 y 7 ; en la posición 5 existe un OH libre que forma un complejo con el tricloruro de aluminio, por lo que se observó el efecto

batocrómico de 40 nm, que al ser tratado con el ácido no se rompe por lo que no regresa a su valor original. Al tratarlo con acetato de sodio se observa descomposición.

M5

Según el espectro en etanol el esqueleto básico que corresponde a esta fracción, es de una flavona (Anexo 3), pues al tratarlo con metóxido de sodio hay un efecto batocrómico de 27 nm, lo que nos indicaría que el compuesto tiene hidroxilos libres, al hacer reaccionar con tricloruro de aluminio se observa un efecto batocrómico de 15 nm, que luego al tratarlo con HCl no regresa al valor anterior, esto nos indica la presencia de hidroxilo libre en las posición 5 ; en la posición 5 existe un OH libre que forma un complejo con el tricloruro de aluminio que al ser tratados con el ácido no se rompe por lo que no regresa a su valor original. Al tratarlo con acetato de sodio no se observa descomposición.

M6

Según el espectro en etanol el esqueleto básico que corresponde a esta fracción es de una flavona (Anexo 3), pues al tratarlo con metóxido de sodio hay un efecto batocrómico de 15 nm lo que nos indicaría que el compuesto tiene hidroxilos libres, en este caso en posición 7 estaría sustituido. Al hacer reaccionar con tricloruro de aluminio se observa un ligero efecto batocrómico de 7 nm., que luego al tratarlo con HCl se mantienen las señales, esto nos indica que en posición 5 existe OH libre para que forme un complejo con el tricloruro de aluminio, en tanto en 4' habría un grupo metoxilo. Al tratarlo con acetato de sodio no se observa descomposición.

M7

Según el espectro en etanol el esqueleto básico que corresponde a esta fracción es de una isoflavona (Anexo 4), pues al tratarlo con metóxido de sodio hay un efecto batocrómico de 7 nm lo que nos indicaría que el compuesto tiene hidroxilo libre en posición 7, al hacer reaccionar con tricloruro de aluminio se observa efecto batocrómico de 37 nm, que al tratarlo con HCl no hay variación en las señales, esto nos indica presencia de hidroxilos libres en las posiciones 5 y 7 en tanto que en 4' habría un grupo metoxilo, al tratarlo con acetato de sodio no se observa descomposición.

En el estudio farmacológico los hallazgos estadísticos indican que en las condiciones experimentales el extracto metanólico *Mauritia flexuosa* L. "aguaje" disminuyó los valores de estradiol en las muestras sanguíneas analizadas dando a entender que el extracto metanólico de *Mauritia flexuosa* L. "aguaje" ejerció efecto antiestrogénico en las ratas raza Holtzmann albinas tratadas. Los niveles hormonales de estradiol son inversamente proporcionales a la concentración de los extractos metanólicos de *Mauritia Flexuosa* L. "aguaje" administrados.

Los valores hormonales de estradiol que se observan en los cuadros de resultado de análisis sanguíneo y cuadros estadísticos demuestran que el extracto metanólico de *Mauritia Flexuosa* L. "aguaje" estaría produciendo cambio hormonal en las ratas raza Holtzmann albinas tratadas, la isoflavona que contiene el extracto metanólico, estaría compitiendo con el sitio activo del estradiol produciendo disminución de los valores de dicha hormona, ya que las isoflavonas presentan actividad estrogénica menor a la de las isoflavonas, teniendo en cuenta que las ratas utilizadas se encontraban en edad fértil (jóvenes) la isoflavona estaría actuando como antiestrogénico. En caso de que se hubiera tratado con animales de experimentación con deficiencia de hormonas estradiol, la isoflavona contenida en el extracto metanólico de *Mauritia Flexuosa* L. "aguaje" hubiera actuado como estrogénico presentando resultados proporcionales a la concentración del extracto.^{3,18,19}

La actividad antiestrogénica comprobada nos proporciona datos útiles para la utilización del extracto de *Mauritia Flexuosa* L. "aguaje" en cánceres hormonodependientes, ya que las isoflavonas producen inhibición de la expresión de oncogenes y modulación de la expresión de diversos factores de crecimiento y sus receptores. Como resultado de la reducción del número de receptores inducido por las isoflavonas a través de la inhibición de las tirosinquinasa, se reduce la actividad de los factores de crecimiento correspondientes, con la consiguiente inhibición del crecimiento tumoral. Estos factores de crecimiento se encuentran también implicados en los procesos de angiogénesis fundamentales en el

desarrollo tumoral y la aparición de metástasis. Además, las tirosinkininas actúan en los procesos de agregación plaquetaria y en el metabolismo osteoblástico, por lo que su inhibición por las isoflavonas se traduciría en efectos positivos sobre la trombogénesis y la osteoporosis menopáusica.¹²

Las isoflavonas son capaces de actuar sobre otras muchas enzimas, tales como las topoisomerasas I y II, que catalizan cambios topológicos en el ADN, y que son necesarias en la replicación del mismo. En este caso, las isoflavonas actúan sobre el complejo topoisomerasa-ADN induciendo la apoptosis o muerte celular programada, tal y como se ha observado en líneas celulares de cáncer de mama.¹²

La aromatasas, enzima implicada en la formación del 17- β estradiol a partir de sus precursores androgénicos, es también inhibida por la genisteína, con la consiguiente reducción en la producción de esta hormona, lo que puede tener una especial importancia en los tumores hormono-dependientes, como el de mama. Algo parecido sucede con las familias enzimáticas de las 17- β esteroide dehidrogenasas y las sulfotransferasas, implicadas asimismo en el metabolismo de los estrógenos, así como con la 5- α reductasa, enzima convertidora de la testosterona en dihidrotestosterona e implicada en el cáncer de próstata.¹²

El fruto de *Mauritia Flexuosa* L. "Aguaje" contiene 74,0 mg de calcio en 100 mg de pulpa, por lo cual se le consideraría una fuente alimenticia esencial en caso de presentarse deficiencia de calcio en el organismo, como sucede en el caso de la menopausia al producirse la osteoporosis. También contiene 26,0mg vitamina C lo cual es importante durante la menopausia, ya que se produce deterioro de los órganos por la pérdida de estrógenos, así podemos decir que se producen arrugas en la piel por pérdida de turgencia; el mantenimiento del colágeno es la primera función de la vitamina C, el colágeno que es una proteína necesaria para la formación del tejido conectivo en la piel, ligamentos y huesos. Las necesidades de vitamina C aumentan en esta etapa por la necesidad de regenerar el colágeno, y el consumo del fruto de *Mauritia Flexuosa* L. "Aguaje" brinda la cantidad necesaria de este nutriente para cubrir los requerimientos nutricionales en caso de deficiencia vitamínica. También contiene 1062,0 mg. de vitamina A en 100 mg.

de pulpa, lo cual ayudaría en la reparación de los tejidos, en la construcción de los huesos y los dientes, así como en la formación de los componentes de la sangre, refuerza las paredes de las células de las mucosas que recubren el tracto digestivo, respiratorio, riñones y las hace más resistentes a los agentes infecciosos, ejerce efectos estimulantes sobre el sistema inmunitario aumentando la actividad de anticuerpos. El calcio, vitamina C y vitamina A actúan de manera simultánea al intervenir en la reparación de tejidos y huesos de los daños que se producen debido a la disminución de estrógeno producidos durante la menopausia, es por eso que se consideraría como una alternativa nutricional el consumo de este fruto en esta etapa de la vida.³

VI. Conclusiones

1. El extracto metanólico de *Mauritia Flexuosa* L "aguaje" contiene gran cantidad de compuestos fenólicos, principalmente flavonoides, cuyas estructuras obtenidas son: 4',5-dimetoxi-7-O- glucosiflavona, 4',5,6,7-tetra -O- metoxi flavona, 4',5-di-O-metoxi-6,7-dihidroxi flavona, 4'-O-metoxi-5,7-dihidroxi-flavona, 3'4',7-trimetoxi-5-hidroxi-flavona, 4'-metoxi-5-hidro-7-O-R-flavona y 5,7-dihidroxi-4'-metoxiisoflavona..
2. En las condiciones experimentales, el extracto metanólico de *Mauritia Flexuosa* L "aguaje" disminuye los valores de estradiol en las muestras sanguíneas de las ratas de raza Holtzmann (hembras, jóvenes, normales) tratadas, siendo los resultados inversamente proporcionales a la concentración del extracto administrado ejerciendo actividad antiestrogénica.

VII. Referencias Bibliográficas

1. Certificadoras Nacionales. www.siforestal.org.pe.
2. Portal Agrario. Ministerio de Agricultura. Perú.1998. www.ming.gob.pe/rrnn/rrnn_aguaje.shtml.
3. Rueda C. Palacio S. Fitoestrógenos. Instituto Palacios y salud y Medicina de la mujer. España. 1991. www.encolombia.com/medicinal/menopausia/meno9103-fitoestrogenos.htm
4. Beltrán E. Interés terapéutico de los fitoestrógenos en ginecología. Departamento de Ginecología y Obstetricia, Universidad de Granada. Resúmenes. II Congreso de Fitoterapia – XXIII Reunión de la AEMN – II Reunión de la SEFIT .2002 www.medicina-naturista.net.
5. Castillo E. Manual de Fitoterapia. Publicado por El Sevier.España., 2007,p ,32-34,301-304.
6. Duke J. y Vasquez R. Amazonian ethnobotanical dictionary. International Standard Book-United States of America. .1994.
7. Soukup J. Vocabulario de los nombres vulgares de la flora y catalogo de los géneros. Editorial Salesiana-Lima. 1987.
8. Lock De Ugaz O. Investigación Fitoquímica. Métodos de estudios de productos naturales. Fondo Editorial PUCP. 2º Edición, Lima, 1994, p,5
9. Bruneton J. Farmacognosia. Fitoquímica de plantas medicinales Editorial ACRIBIA S.A. 2º Edición,2001,p 227-229,305-316,343-345
10. Kuklinski C. Farmacognosia .Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen vegetal. Editorial OMEGA S.A. Barcelona,2003,p,94-95,329.
11. Martínez A. Flavonoides . Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia-Medellín, Septiembre 2005.
12. Solari M. Las Isoflavonas y su relación con la enfermedad renal y otras patologías crónicas concomitantes. Buenos Aires, Marzo 2004.
13. Milanes R. Farmacognosia de la droga “Flores de majagua’ (*Hibiscus elantus Sw, familia Malvaceae*). Estandarización del extracto fluido.Huanuco 1999.

14. Trease E. Farmacognosia. Editorial Interamericana.Mc Graw-Hill. Madrid 1991.
15. Oscanoa M. Estudio Farmacobotánico de “*Desmodium molliculum*” (*manayupa*) Huancayo - Peru.2005.
16. Mabry TJ, Markham KR y Thomas Mb. The Systemic Identification of Flavonoids. Springer-Verlag. New York-Heidelberg.Berlin.1970.
17. Hesse M. Meier H. Zeeh B. Métodos espectroscópicos en química orgánica. Editorial Síntesis. S.A. Madrid.1995.
18. Jara D, Valer V. y León I. Efectos de la soya en la mucosa endometrial de mujeres posmenopáusicas. Anales de la Facultad de Medicina Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Abr.-jun. 2006, vol.67, no.2, p.101-107. ISSN 1025-5583.Disponible en la World Wide Web: <<http://www.scielo.org.pe/scielo>.
19. Alvernia S. y Palacios G S. Fitoestrógenos y la salud de la mujer. Universidad del Rosario. Endocrinología Ginecológica, Instituto Palacios. Madrid. Clínica Materno-Infantil San Luís. Bucaramanga, Colombia. Director Instituto Palacios de Salud y Medicina de la Mujer.2001. www.encolombia.com/meno6100-fitoestro.htm
20. Barriga R. Plantas útiles de la amazonía peruana: características, usos y posibilidades .Impreso en el Perú. 1994, p,70
21. Alonso J. Tratado de Fitomedicina. Bases clínicas y farmacológicas. ISIS Ediciones SRL, Buenos Aires. 1998.
22. Navarro C. Fitoterapia y ginecología. Sección patrocinada por Laboratorios Gynea. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia Universidad de Granada. 2005; 6(3):159-165.
23. ¿Sabes que son las isoflavonas. Review Borrada.29 July, 2008. <http://www.carmenvip.com>
24. Healthlibrary. Hierbas y suplementos. EBSCO CAM Medical. Ultima revisión Septiembre del 2003. www.healthlibrary.epnet.com
25. Wilson J. Harrison Principios de medicina interna.12 edición Vol. II, Editorial Interamericana Mc.Graw-Hill. Inc. Atlampa-México D.F. 1991,p,2066-2068,2080.

26. Macarulla J. Bioquímica Humana. Segunda edición. Editorial Reverte S.A. Barcelona.,991,p 435,436,443-446.
27. Villavicencio M. Bioquímica Tomo II. Segunda edición. Editorial UNMSM Lima, 1999, p 658,667-668.
28. Tausk M. Farmacología de las hormonas. Primera edición. Editorial Alambra S.A España.1975.p 71-72.
29. Mazzei E. Semiología y fisiopatología Volumen II. Tercera Edición. Editorial El Ateneo Buenos Aires, 1988,p 853-854.
30. Di Carlo G, Pacilio G, Capasso R, Di Carlo R. Effect on prolactin secretion of *Echinacea purpurea*, *Hypericum perforatum* and *Eleutherococcus senticosus*. *Phytomedicine* 12 (2005): 644–647.
31. Martinez G. Patrón de expresión del receptor de estrógeno alfa y beta en endometriosis experimental en la rata Wistar. Instituto Nacional de Perinatología. México DF. Vol 16 N°4; Octubre- Diciembre 2002.
32. Romero C. Síndrome estrogénico en vacas lecheras por consumo de alfalfa con grandes contenidos de cumestrol. Departamento de Biología de la Reproducción. Universidad Autónoma Metropolitana. México DF. Vet. Mex 28(1)1997. www.botanical_online.com
33. [www.regionloreto.gob.pe/anazonia/libros/51/5100000.\(1993\)](http://www.regionloreto.gob.pe/anazonia/libros/51/5100000.(1993))
34. [www.insitu.or.pe/webiwnsitu/aguaje.html.\(1998\)](http://www.insitu.or.pe/webiwnsitu/aguaje.html.(1998))

VIII. Anexos

ANEXO 2

M1:

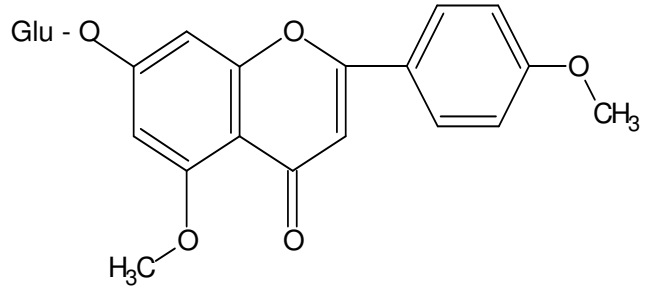
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$: 268, 332 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{Metox.Na}$: 268, 332 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3}$: 258, 332nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3+HCl}$: 268, 332 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+Actato}$: 268,332 nm



4',5- dimetoxi-7-O- glucosiflavona

M2

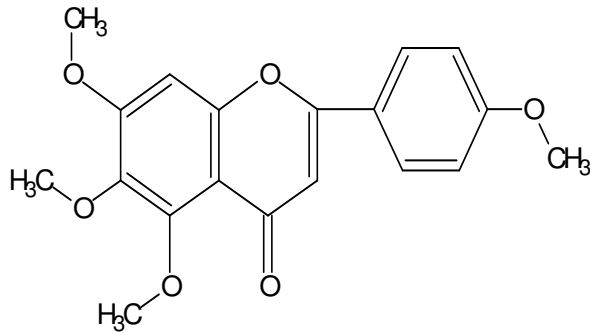
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$: 273,327 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{Metox.Na}$: 273,327 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3}$: 273,327 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3+HCl}$: 273,327 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+Actato}$: 273,327 nm



4',5,6,7-tetra -O- metoxi flavona

M3

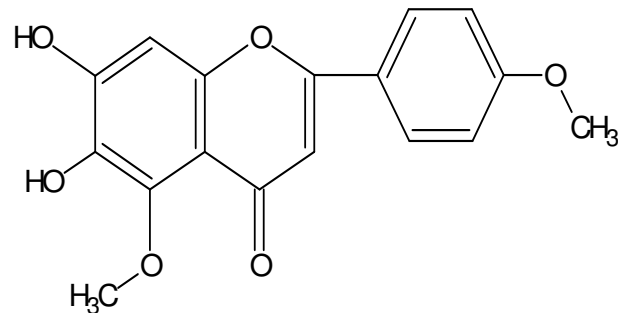
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$: 256,282,325nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{Metox.Na}$: 256,292,325nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3}$: 270,282,325 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3+HCl}$: 256, 282,325 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+Actato}$: Descomposici3n

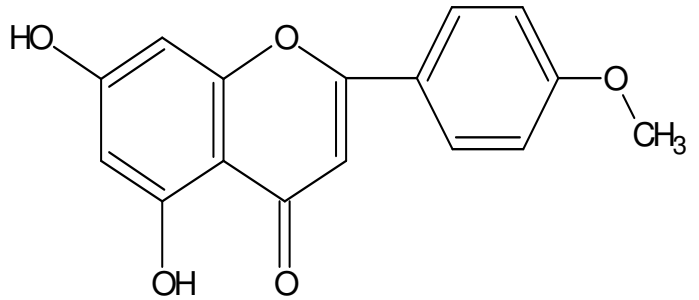


4',5-di-O-metoxi-6,7-dihidroxi flavona

ANEXO 3

M4

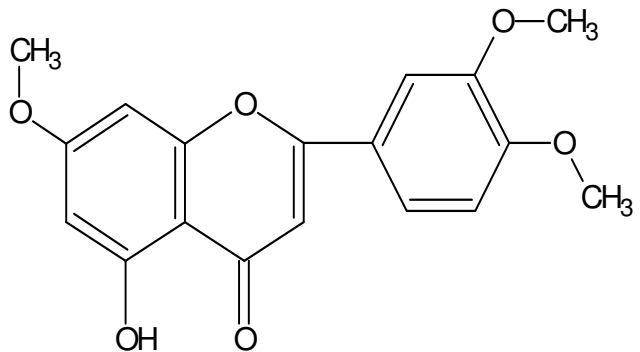
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$: 260, 320 nm
$\lambda_{m\acute{a}x}^{Metox.Na}$: 265, 360 nm
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3}$: 305, 360 nm
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3+HCl}$: 305, 360 nm
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+Actato}$: Descomposici3n



4'-O-metoxi-5,7-dihidroxi flavona

M5

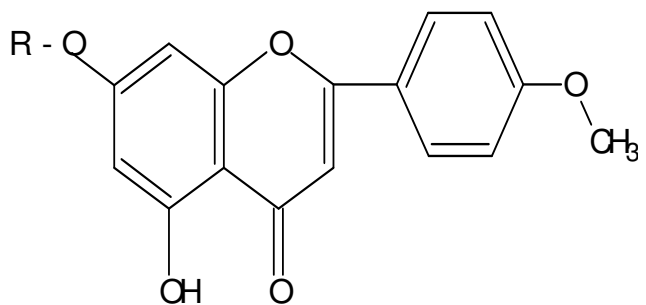
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$: 258, 325 nm
$\lambda_{m\acute{a}x}^{Metox.Na}$: 285, 325 nm
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3}$: 270, 325 nm
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3+HCl}$: 270, 325 nm
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+Actato}$: 258, 325 nm.



3',4',7-trimetoxi-5-hidroxi-flavona

M6

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$: 255, 330 nm
$\lambda_{m\acute{a}x}^{Metox.Na}$: 270, 330 nm
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3}$: 263, 330 nm
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3+HCl}$: 263, 330 nm
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+Actato}$: 255, 330 nm



4'-metoxi-5-hidroxi-7-O-R-flavona

ANEXO 4

M7:

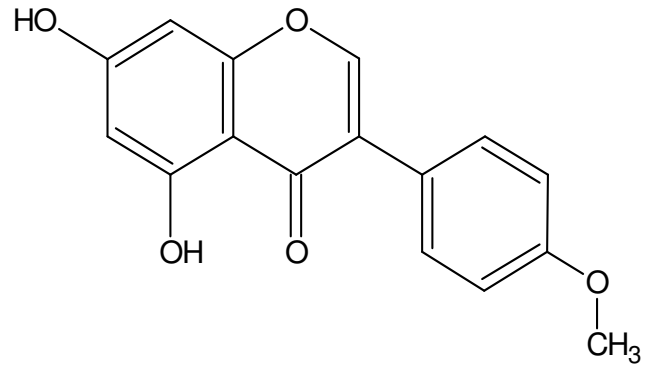
$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH}$: 258,285, 323 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{Metox.Na}$: 265, 292,323 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3}$: 270, 283,360 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+AlCl_3+HCl}$: 270,283, 360 nm

$\lambda_{m\acute{a}x}^{EtOH+Actato}$: 284, 330 nm



5,7-dihidroxi-4'-metoxi isoflavona