



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**Flavonoides: Características y algunas propiedades biológicas. Una
revisión.**

TESINA

PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

MARIA GUADALUPE MOTA CELIS

BAJO LA DIRECCIÓN DE LA DRA. MA. MARGARITA CANALES

MARTÍNEZ

LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA, EDO. DE MÉX.





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

*A DIOS POR DARMÉ PACIENCIA Y SABIDURÍA
DE TERMINAR LA LICENCIATURA*

*A MI PADRES Y EN ESPECIAL A MI MADRE POR SU APOYO
INCONDICIONAL Y CONSEJOS*

A MI HIJA JUDIT QUE ES MI LUZ EN LA VIDA PARA SEGUIR ADELANTE.

*A MIS HERMANOS POR APOYARME EN LOS MOMENTOS DIFÍCILES
DE MI VIDA..*

*AL ABUELITO “DON RAFAEL” Y SONJA POR APOYARME Y CONFIAR EN
MI*

A LOS SINODALES POR SUS VALIOSAS APORTACIONES

*UN ESPECIAL AGRADECIMIENTO A LA DRA. MARGARITA CANALES
MARTÍNEZ POR GUIARME, ACONSEJARME Y COMPARTIR SUS
CONOCIMIENTOS QUE HAN SIDO IMPRENSCINDIBLES PARA LA
REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO.*

ÍNDICE GENERAL

Resumen

Introducción

Flavonoides

Ruta metabólica de los flavonoides

Estructura química de los flavonoides

Propiedades de los flavonoides

Algunas metodologías para el estudio de los flavonoides

Actividad Biológica de los flavonoides

Conclusiones

Bibliografía

ÍNDICE DE FIGURAS

- Fig. 1. Ruta metabólica general de los metabolitos secundarios.
- Fig. 2. Ruta metabólica de Fenilpropanoides
- Fig. 3. Metabolitos secundarios y las rutas metabólicas que les dan origen.
- Fig. 4. Estructuras de algunos flavonoides
- Fig. 5. Ruta metabólica de los flavonoides
- Fig. 6. Espectro de RMN ¹H de la rutina.
- Fig. 7. Flavonoles aislados de *Artemisia abrotanum*
- Fig. 8. 7-Metoxi eriodictiol
- Fig. 9. 5,7,4'-trimetoxiflavona, aislada de *Tagetes lucida* Cav. (Pericón)
- Fig. 10. 3"-dimetil-5',6' -pirano- 2'4' -dihidroxichalcona
- Fig. 11. 2',4',6' trihidroxichalcona
- Fig. 12. 5,7- dihidroxi-3,6,8,2',4',5' hexametoxiflavona

Índice de cuadros

- Cuadro 1. Datos del espectro de absorción UV de algunos flavonoides.

Resumen

Las plantas medicinales son el principal recurso terapéutico de la medicina tradicional mexicana. El uso de las plantas medicinales es la terapéutica más antigua e importante usada por el hombre para el tratamiento y control de sus padecimientos. Las plantas han desarrollado diversas estrategias de defensa contra condiciones de estrés biótico y abiótico para defenderse del daño ocasionado por la herida y el ataque de insectos o microorganismos patógenos produciendo metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana, en contra de herbívoros o con actividad antioxidante, siendo un grupo importante los flavonoides que comprenden un conjunto muy amplio y diverso de más de 4500 compuestos. Los flavonoides pueden ser monómeros, dímeros y oligómeros complejos. También se les puede encontrar en mezcla de componentes oligoméricos coloreados en diferentes cortezas y maderas. Son estructuras del tipo C₆-C₃-C₆ con dos anillos aromáticos (bencénicos) unidos entre sí por una cadena de 3 carbonos ciclada a través de un oxígeno. Se considera que su estructura deriva de la γ -cromona (o benzo- γ -pirona) con un fenilo en posición 2. Así pues, son 2-fenil γ -cromonas. Muchos de los flavonoides poseen un carbonilo en la posición 4 y las variaciones se producen en las posiciones 1, 2 y 3 de la unidad C₃ y en el anillo B. Son estructuras hidroxiladas (OH) en el anillo aromático y, por lo tanto, son polifenólicas. Se pueden encontrar como aglicones libres o en forma de O-heterósidos o C-heterósidos, unidos generalmente a glucosa, que es el azúcar más frecuente. De los tres anillos, el anillo A se biosintetiza a través de la ruta del ácido shiquímico. Para su identificación se utilizan pruebas de color, cromatografía de papel y de capa fina, cromatografía de columna, cromatografía de alta resolución, resonancia magnética nuclear de protones, resonancia magnética nuclear de ¹³C. En todo el mundo se han hecho investigaciones acerca de las sustancias activas de las plantas debido a que podrían ser una alternativa para aliviar enfermedades virales, bacterianas y fúngicas, actividades que han sido asociadas a diversos flavonoides.

Flavonoides: Características y algunas propiedades biológicas.

Una revisión.

1. Introducción.

Las plantas medicinales son el principal recurso terapéutico de la medicina tradicional mexicana. La diversidad biológica y cultural que caracteriza a nuestro país, se funden en una variedad de conocimientos y prácticas populares que es necesario valorar, rescatar y desarrollar científicamente en beneficio de la salud (Borrego, citado en Aguilar et al., 1984). El uso de las plantas medicinales es la terapéutica más antigua e importante usada por el hombre para el tratamiento y control de sus padecimientos (Barnes et al., 2004).

Cuando el hombre tuvo que distinguir entre las plantas útiles de las que no eran, empezó el desarrollo gradual de la medicina tradicional la cual se fue transmitiendo verbalmente y de forma escrita a través de papiros, tablas de barro, pergaminos tratados de plantas, farmacopeas y banco de datos informativos entre otros (Almaguer et al., 2002; Cordero, 2002, Yesilada, 2005).

Las plantas producen diversos compuestos (metabolitos secundarios) que, en su mayoría no participan directamente en su crecimiento y desarrollo (Croteau et al., 2002). Algunos de estos, son responsables de los olores y colores característicos de los vegetales; otros proporcionan a la planta sus virtudes culinarias, medicinales o tóxicas (Trease y Evans, 1991). Muchos de estos metabolitos, se sabe que son atrayentes de polinizadores, algunos otros confieren características alelopáticas, otros protegen a las plantas contra herbívoros, de infecciones microbianas, etc. La actividad biológica de estos metabolitos secundarios, muchas veces coincide con la actividad farmacológica en los seres humanos (Croteau et al., 2002; Wink, 1999; Harbone y Tomas-Barberan, 1991; Harbone y Dey, 1989).

Las drogas vegetales se obtienen de plantas medicinales que pueden ser silvestres o cultivadas. Las plantas también pueden clasificarse según su origen en: 1.- Especies autóctonas, también denominadas endémicas: que son originarias o propias de una zona, región, país, etc. 2.- Especies alóctonas: que son propias de otras zonas, regiones o países. Dentro de las plantas alóctonas se pueden a su vez diferenciar: 2.1 Plantas aclimatadas: son plantas que proceden de zonas o lugares diferentes al considerado y se han adaptado a la zona donde crecen; pueden ser silvestres o cultivadas. 2.2. Plantas exóticas: son plantas originarias de otros países o zonas geográficas y que no se dan en la zona considerada. Determinadas plantas exóticas pueden cultivarse en condiciones especiales (Kuklinski, 2000).

Originalmente todas las plantas recolectadas eran silvestres pero actualmente las plantas cultivadas han ganado terreno debido a una serie de ventajas. El uso de plantas silvestres para la obtención de drogas vegetales tiene claramente una serie de inconvenientes: 1.- Baja producción: si la demanda de una determinada droga vegetal es elevada, con plantas silvestres se obtiene generalmente una producción insuficiente. 2.- Crecimiento irregular: no todas las plantas están en el mismo estadio de crecimiento en el momento de la recolección. 3.- Gran dispersión geográfica: la recolección de plantas silvestres no se concentra generalmente en una zona reducida sino obliga a abarcar grandes espacios. 4.- Contenido en principios activos variables: entre plantas silvestres es habitual encontrar gran variedad de contenido. 5.- Recolección cara: se precisa personal calificado (que conozca las características de la especie recolectada, se precisa desecarlas para conservarlas mejor, etc.) 6.- Confusiones de identidad entre vegetales si el recolector no es personal calificado. 7.- Riesgo de contaminación de los vegetales por diferentes sustancias como pesticidas, sustancias radiactivas, productos industriales, etc. 8.- Recolección indiscriminada de ciertas especies vegetales, lo que puede derivar en peligro de extinción de dicha especie (Kuklinski, 2000).

El uso de plantas silvestres está sin embargo recomendado, a pesar de sus evidentes inconvenientes, cuando: 1.- La población natural de una especie determinada es abundante y de fácil acceso. 2.- la recolección es rentable porque se dispone de mano de obra barata. 3.- no es posible o resulta muy

caro el cultivo de una especie determinada. 4.- la demanda de una especie concreta es muy baja y la planta silvestre cubre las necesidades con creces (Kuklinski, 2000)

La recolección de plantas silvestres precisa una planificación y un control para evitar, en cualquier caso, la recolección indiscriminada e inadecuada que impida el posterior desarrollo de la especie o que altere a otras especies (Kuklinski, 2000)

Se sabe que más de un 48% de la población mundial se trata con este tipo de terapias con base en las plantas medicinales, para el caso de América la estadística se divide en 2: para U.S.A. cerca del 58% de su población la emplea y para México se estima que alrededor del 60% de la población aún se mantiene usándola. México cuenta con una muy rica variedad de plantas medicinales, mismas que tienen una tradición de uso. Tan solo en el libro: Plantas Medicinales del Estado de Veracruz (1979), se recopilan cerca de 500 plantas medicinales de ese estado, y se da referencia a otras 8,000 que se tienen conocidas y registradas. El interés en el estudio de la herbolaria, en México, es de mucha importancia, el simple hecho de contar con una amplia variedad de hierbas medicinales, hace y crea la necesidad de investigar todas las posibilidades de empleo de las plantas en la clínica, de forma razonada, racional y con un instrumento que guíe su aplicación (Luna, 2003).

Las plantas medicinales según definición de la Organización Mundial de Salud es “toda especie vegetal en la que toda o una parte de la misma está dotada de actividad farmacológica”. La actividad biológica reside en uno o un conjunto de compuestos químicos que se encuentran en los tejidos de la planta llamados metabolitos secundarios (Muñoz et al., 2004).

Las rutas metabólicas básicas constituyen los orígenes del metabolismo secundario de las plantas, dando lugar a una vasta serie de compuestos. Aunque diversos grupos biogénicos están caracterizados por determinadas estructuras básicas, las propiedades químicas propiamente dichas de ciertos compuestos se determinan por la adquisición de grupos funcionales. Así, como los terpenos pueden presentarse como alcoholes (mentol), éteres (cineol),

cetonas, etc., poseen las mismas propiedades químicas similares a las de compuestos no terpenoides que poseen el grupo; los aldehídos, a título de ejemplo de grupo funcional, pueden ser de origen alifático, aromático, esteroide; y debido a la introducción de un sistema heterocíclico, un grupo biogénico puede poseer algunas de las propiedades químicas de otros (Trease y Evans, 1991).

Para defenderse del daño ocasionado por la herida y ataque de insectos o microorganismos patógenos, las plantas sintetizan enzimas que degradan la pared celular de los microorganismos o que tienen la capacidad de inactivar los tóxicos de origen microbiano. Así mismo y como parte de una protección química, otra estrategia de protección de las plantas es la producción de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana, en contra de herbívoros, o con actividad antioxidante. Los metabolitos secundarios son compuestos de bajo peso molecular que no solamente tienen una gran importancia ecológica porque participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, es el establecimiento de la simbiosis con otros organismos y en la atracción de insectos polinizadores y dispersores de las semillas y frutos, sino que también, una síntesis activa de metabolitos secundarios se induce cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas tales: a) consumo de herbívoros, b) ataque por microorganismos (virus, bacterias y hongos), la competencia por el espacio de suelo, la luz y los nutrientes entre las diferentes especies de plantas, la exposición a la luz solar u otros tipos de estrés abiótico (Sepúlveda, 2004).

Los compuestos de estrés poseen interés farmacéutico debido a que pueden hallarse en diversas drogas y juegan un papel muy importante en el mecanismo de defensa de la planta. Las fitoalexinas han recibido considerable atención en años recientes y pueden ser consideradas como compuestos antifúngicos, sintetizados por la planta en cantidades grandemente incrementadas tras la infección. Son ejemplos los pterocarpanos, isoflavonoides antifúngicos producidos por muchas especies de la familia Leguminosae. Otras fitoalexinas producidas en la misma familia son hidroxiflavonas, estilbenoides, benzofuranos, cromonas y furanoacetilenos (Trease y Evans 1991).

En la actualidad se conocen aproximadamente 20,000 estructuras de metabolitos secundarios que por poseer o no nitrógeno en sus estructuras químicas se pueden dividir en dos grupos principales: nitrogenados y no nitrogenados. Los metabolitos secundarios que contienen nitrógeno incluyen a los alcaloides, aminoácidos no proteicos, aminas, glucósidos, cianogénicos y glucosinolatos. Los metabolitos secundarios no nitrogenados se dividen en terpenoides, poliacetilenos, policétidos y fenilpropanoides (Sepúlveda, 2004).

Con base a la ruta de síntesis, los metabolitos secundarios generalmente se dividen en tres grandes grupos: compuestos terpénicos, compuestos fenólicos y compuestos con nitrógeno (Fig. 1 y 2).

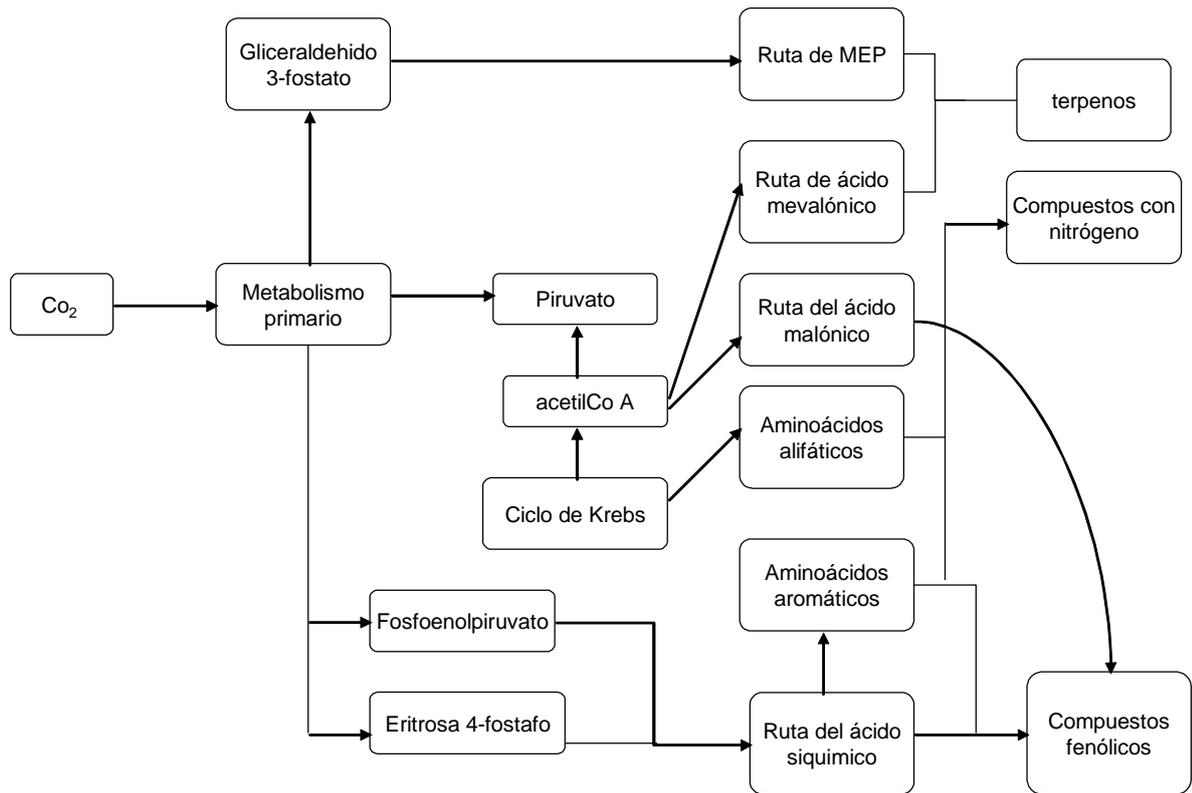


Fig. 1. Ruta metabólica general de los metabolitos secundarios.

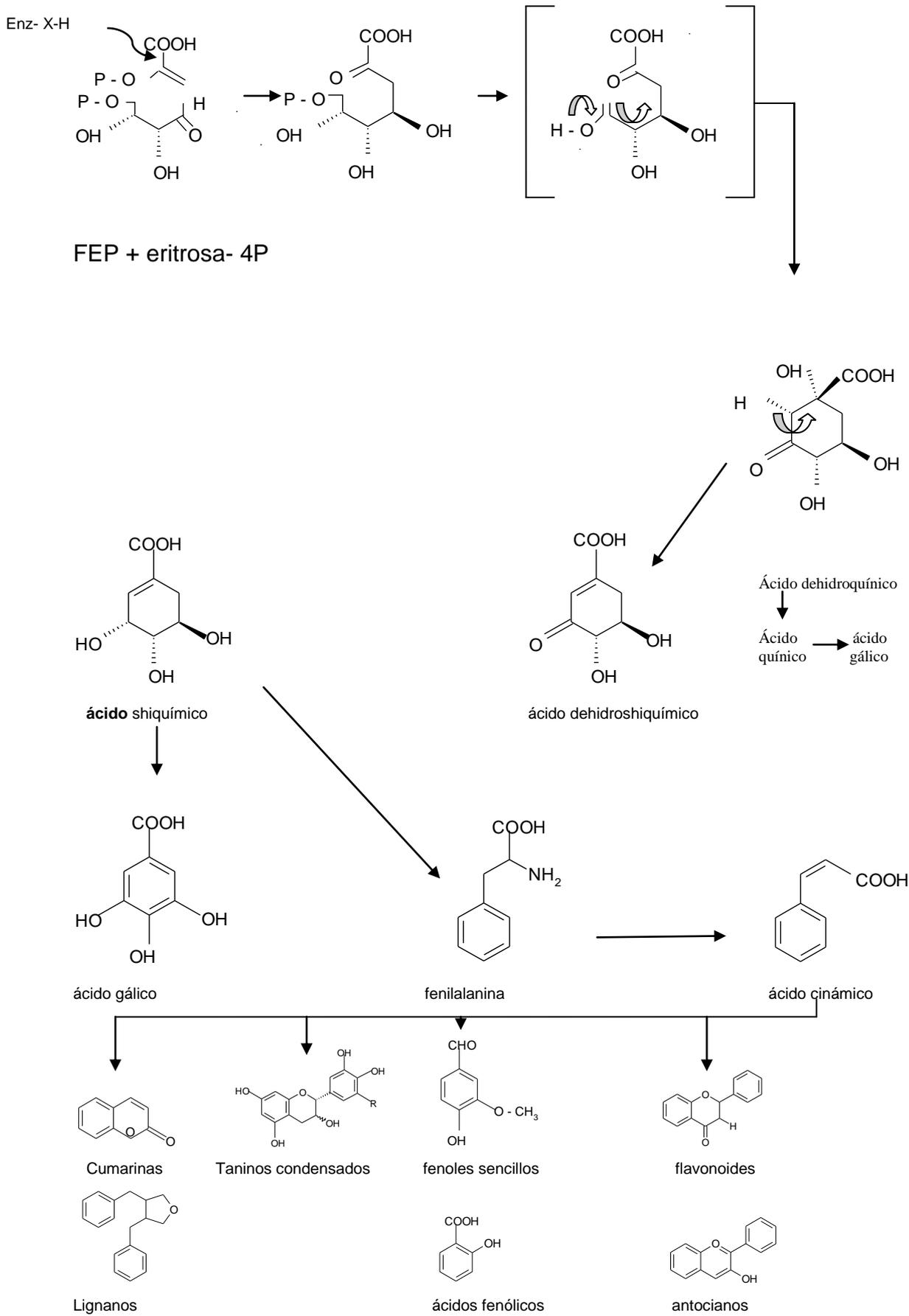


Fig. 2 Ruta metabólica de Fenilpropanoides

En la figura 1 también se puede distinguir que en las siguientes rutas: ruta del MEP (2C-metil-D-eritrol 4-fosfato), ruta del MVA (ácido mevalónico), ruta del ácido malónico y la ruta del ácido shiquímico, es igual de importante la participación de aminoácidos tanto alifáticos como aromáticos, ya que son la fuente biosintética principal de nitrógeno (Dewick, 2008).

Cada una de estas vías está relacionada de la siguiente manera con el metabolismo primario:

- La ruta del ácido shiquímico, es originada por el fosfoenolpiruvato y la eritrosa-4-fosfato, a su vez este ácido es precursor de los aminoácidos aromáticos.
- Los aminoácidos alifáticos son obtenidos a partir del ciclo de Krebs (ciclo del ácido cítrico).
- Las rutas malónica y mevalónica, a partir de la Acetil-CoA.
- La ruta MEP se origina del piruvato y del gliceraldehido-3-fosfato (Dewick, 2008).

Las relaciones existentes entre estas rutas y los grupos de metabolitos secundarios son las siguientes:

- Los compuestos terpenoides se biosintetizan por las rutas MEP o MVA.
- Los compuestos fenólicos por la ruta del ácido shiquímico, a partir los aminoácidos aromáticos o por la ruta del ácido malónico. Estas vías pueden actuar solas o combinarse de las siguientes maneras: ruta ácido shiquímico-aminoácidos aromáticos y aminoácidos aromáticos-ruta ácido malónico.
- Los compuestos de nitrógeno fundamentalmente provienen de los aminoácidos aromáticos y/o alifáticos (Dewick, 2008).

Biosíntesis aromática

La vía del ácido shiquímico. Parece ser una ruta importante para la biosíntesis de unidades C₆ – C₃ (derivados del fenilpropano) a partir de carbohidratos, de la que son ejemplos la fenilalanina y la tirosina; en plantas superiores se ha confirmado la presencia del sistema enzimático responsable de la síntesis del

ácido shiquímico. Esta vía es importante en la génesis de la elaboración de los bloques aromáticos de la lignina, así como la formación de algunos taninos, vainillina y fenilpropano, unidades de flavonas y cumarinas (Trease y Evans, 1991).

En el esquema 3 se muestra de manera más detallada las rutas metabólicas que les dan origen a los metabolitos secundarios.

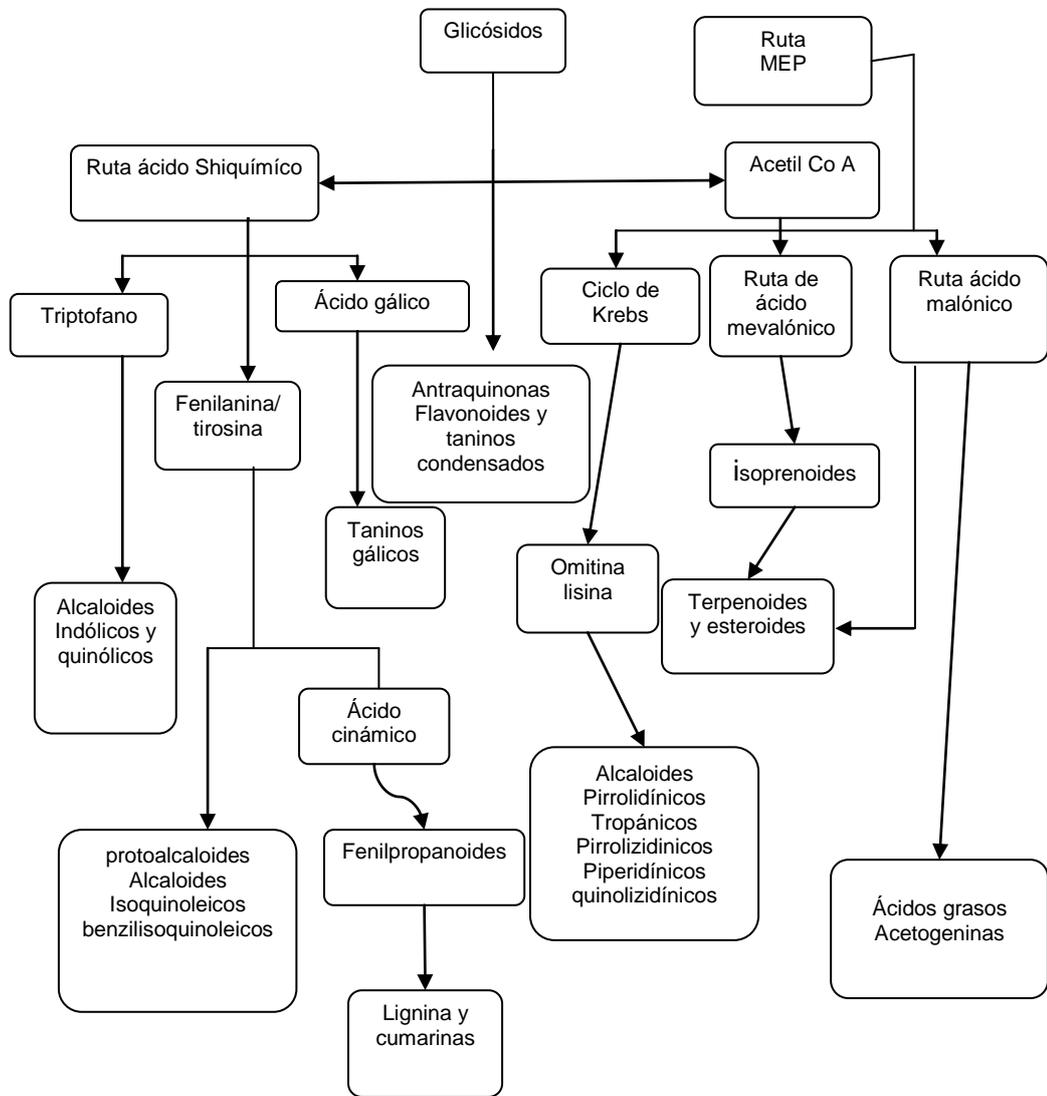


Figura 3. Metabolitos secundarios y las rutas metabólicas que les dan origen. (Modificado de Dewick, 2008).

De los tres grandes grupos de metabolitos secundarios mostrados en la figura 3, los que son el interés principal de este trabajo son los fenilpropanoides, en particular los flavonoides de los cuales se hablará a continuación

Flavonoides

Los flavonoides comprenden un grupo de compuestos polifenólicos ampliamente distribuidos en las frutas y en los vegetales, así como en el té negro, el café, la cocoa, la cerveza y el vino rojo. Pueden aparecer desde simples moléculas fenólicas hasta compuestos muy polimerizados con pesos moleculares superiores a los 30 000 Da. Existen 13 subclases de flavonoides con un total de más de 5 000 compuestos, todos presentando un esqueleto hidrocarbonado del tipo C6-C3-C6 (difencil-propano) derivado del ácido shiquímico y de 3 restos de acetato. Poseen propiedades antioxidantes antiinflamatorias, antitrombóticas, antimicrobianas, antialérgicas, antitumorales, antiasmáticas, e inhibidoras de enzimas como la transcriptasa reversa, proteína quinasa C, tirosina quinasa C (Pérez, 2003).

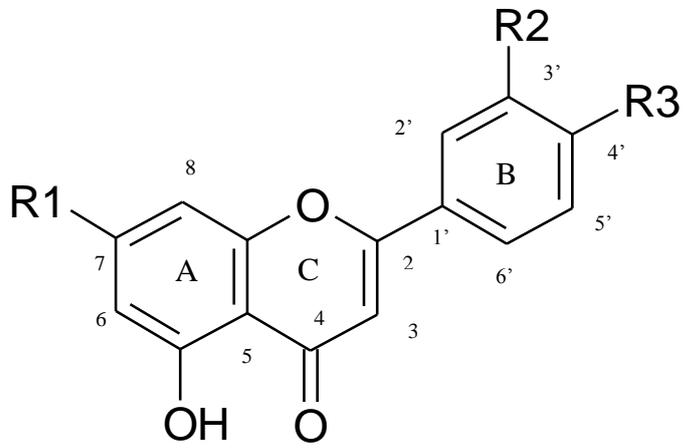
Entre sus subclases están las antocianinas (pigmentos), protoantocianidinas o taninos condensados (deterrentes alimenticios y protegen la madera) e isoflavonoides (productos de defensa y moléculas de señalización) (Croteau et al., 2002)

Los flavonoides se presentan más en tejidos de las plantas y algunas veces en las vacuolas. Los flavonoides pueden ser monómeros, dímeros y oligómeros complejos. También se les puede encontrar en mezcla de componentes oligoméricos coloreados en diferentes cortezas y maderas (Croteau et al., 2002).

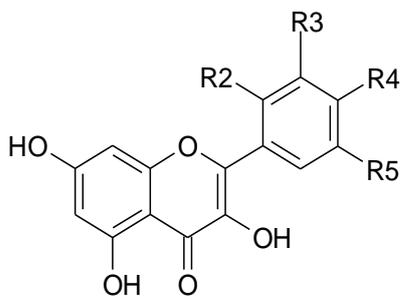
Muchas interacciones de plantas y animales están determinadas por flavonoides. Los colores de las flores y fruto los cuales funcionan en la atracción de polinizadores y dispersores de semillas, estos son el resultado de las antocianinas vacuolares como las pelargonidinas (naranja, salmón, rosa y rojo), las cianidinas (magenta y carmesí) y las delfinidinas (morado, malva y azul). Los flavonoles, flavonas, chalconas, y auronas, también contribuyen a la definición del color (Croteau et al., 2002).

El término flavonoide tomado en su más amplio sentido se aplica a estructuras diversas:

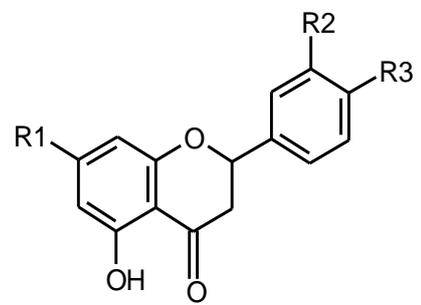
- 2- fenil cromonas: flavonas, flavonoles, flavanonas y formas dímeras (biflavonoides)
- 2- fenil cromanos (flavanos): 3-flavonol (catecoles) y 3, 4 flavandioles
- Flavilios: antocianos
- Chalconas: formas isómeras “abiertas” de las flavanonas.
- Auronas, homólogos de las flavonas con heterociclo pentagonal (2-bencilideno cumaranonas) (Bruneton, 2001) (Figura 4).



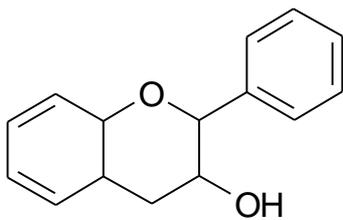
Estructura general de los flavonoides



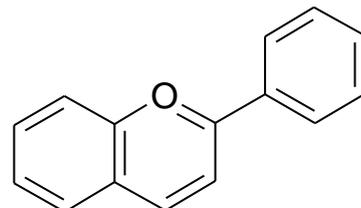
Flavonol



Flavanona

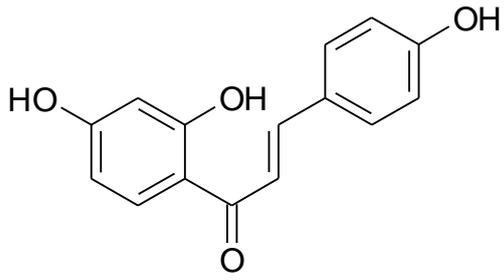


Catequina

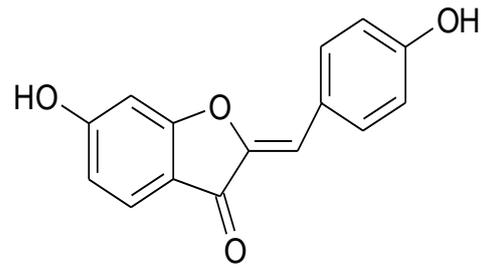


Antocianidina

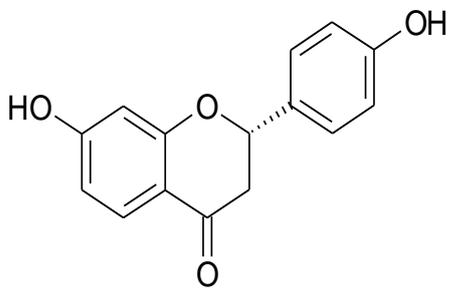
Fig. 4. Continuación...



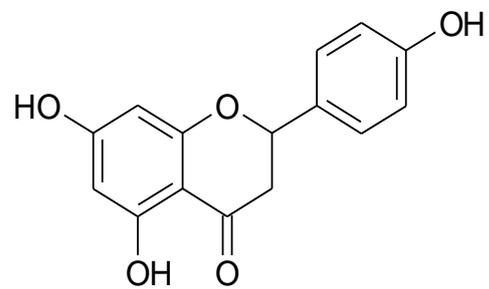
Isoliquiritigenina (chalcona)



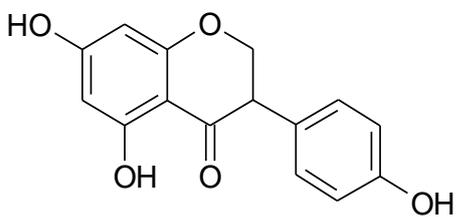
Hispidiol (aurona)



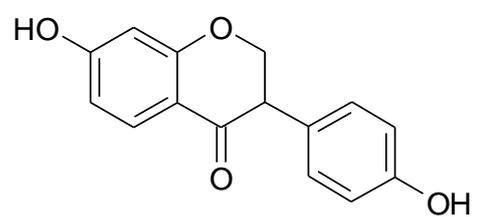
Liquiritigenina (flavanona)



Naringenina (flavanona)

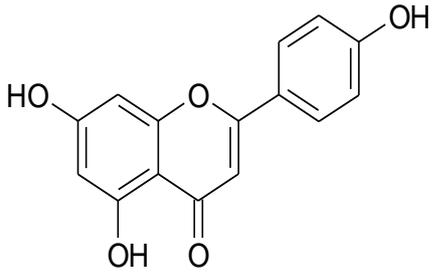


Genisteina (isoflavonoide)

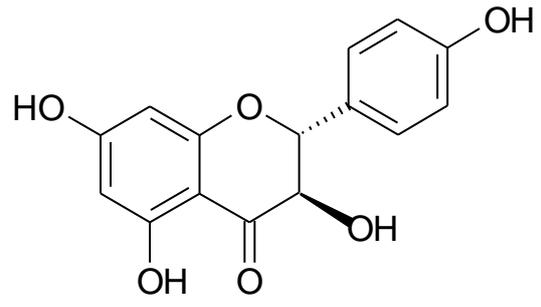


Daidzeina (isoflavonoide)

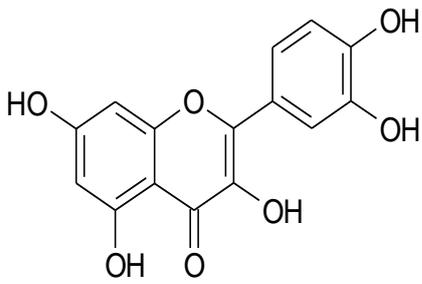
Fig. 4. Continuación....



Apigenina (flavona)



Dihidrokaempferol (dihydroflavonol)



Quercetina (flavonol)

Fig. 4. Continuación....

Ruta metabólica de los flavonoides.

El primer paso en la ruta de síntesis de los flavonoides es catalizada por la chalcona sintetasa (CHS). Tres moléculas de malonil-CoA y una de *p*-cumaril-CoA son condensadas para generar una tetrahidroxichalcona. En ciertas especies, la acción coordinada de la chalcona sintetasa (CHS) y un NADPH producen una 6-desoxichalcona (isoliquiritigenina) (Fig. 4). Ambas chalconas pueden ser convertidas entonces en auronas. Posterior a la chalcona sintetasa, el siguiente paso en la biosíntesis de muchos flavonoides es catalizado por la chalcona isomerasa (CHI), la cual cataliza el cierre de un anillo, que es un paso de isomerización, para formar las 2 S- flavanonas, naringenina y la menos común liquiritigenina (Fig. 5). Las flavanonas pueden representar el punto de ramificación más importante, porque la isomerización de estos compuestos producen isoflavonoides, fitoalexinas, introducción de un doble enlace C-2 C-3 que origina a las flavonas y flavonoles, y la hidroxilación de la posición 3 origina a los dihidroflavonoles (Croteau et al., 2002).

La síntesis de los isoflavonoides es catalizada por 2 enzimas. La primera, isoflavona sintetasa cataliza una migración de C-2 a C-3 e hidroxilación, dando como resultado a las 2-hidroxiisoflavanonas, la deshidratación de éstas, catalizada por la 2-hidroxiisoflavanona deshidratasa, origina a los isoflavonoides genisteina y daidzeina (Fig. 5) (Croteau et al., 2002).

La segunda ruta en el metabolismo general de los flavonoides involucra la deshidratación de la naringenina en las posiciones C-2/C-3, la cual origina diversas flavonas como la apigenina (Fig. 5). Esta reacción es catalizada por la flavona sintetasa, que varía dependiendo de las especies de plantas (Croteau et al., 2002).

La tercera ruta en la síntesis de los flavonoides es la 3-hidroxilación estereoespecífica de la naringenina (o sus análogos 3-hidroxilados) para producir a los dihidroflavonoles como el dihidrokaempferol (o dihidroquercetina)

(fig. 5) La enzima involucrada en esta ruta es la flavanona-3-hidroxilasa (Croteau et al., 2002).

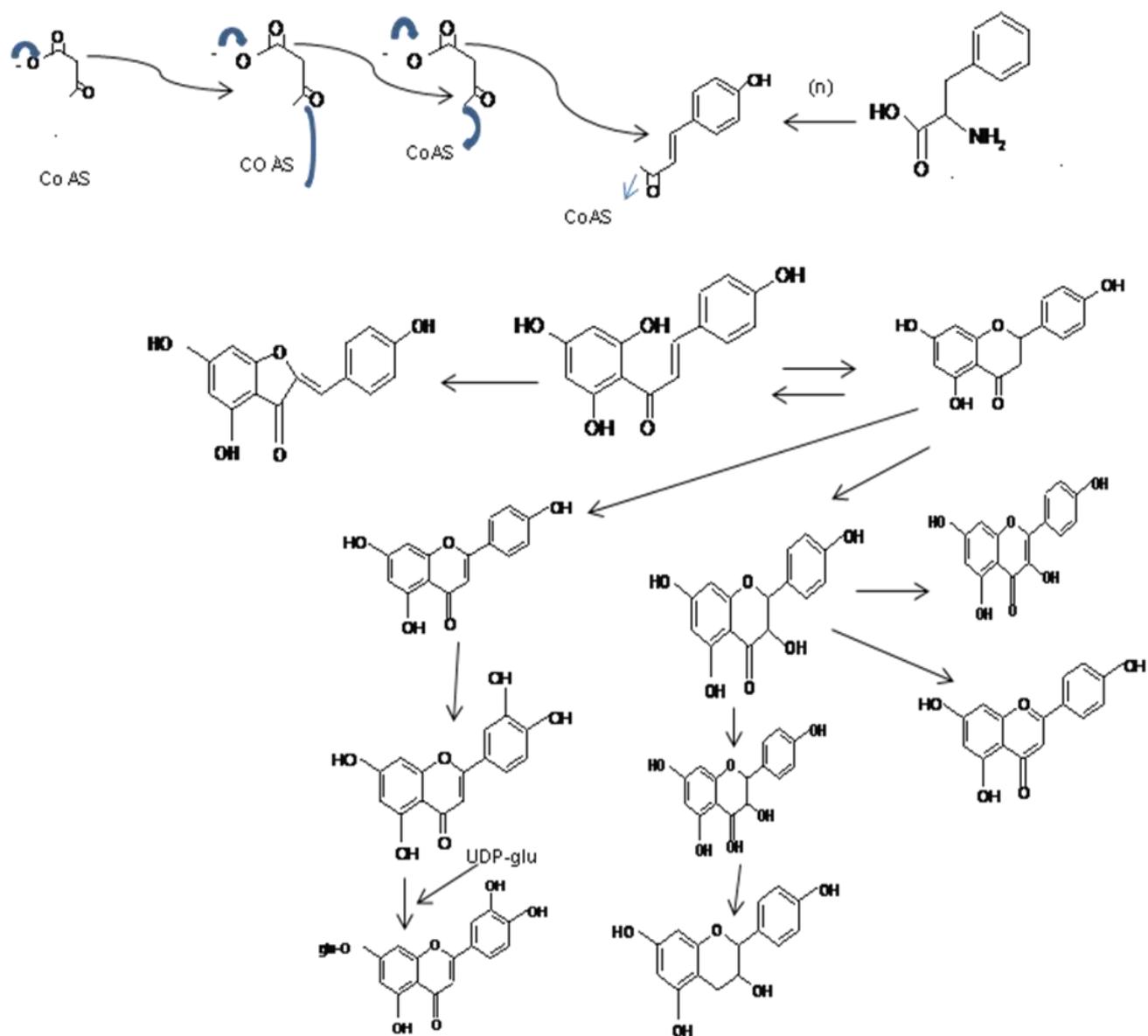


Fig. 5. Ruta metabólica de los flavonoides

Estructura química de los flavonoides

Como se mencionó anteriormente los flavonoides son estructuras del tipo C₆-C₃-C₆ con dos anillos aromáticos (bencénicos) unidos entre si por una cadena de 3 carbonos ciclada a través de un oxígeno. Se considera que su estructura deriva de la γ -cromona (o benzo- γ -pirona) con un fenilo en posición 2. Así pues, son 2-fenil γ -cromonas. Todos los flavonoides poseen un carbonilo en la posición 4 y las variaciones se producen en las posiciones 1, 2 y 3 de la unidad C₃ y en el anillo B. Son estructuras hidroxiladas (OH) en el anillo aromático y, por lo tanto, son polifenólicas. Se pueden encontrar como aglicones libres o en forma de O-heterósidos o C-heterósidos, unidos generalmente a glucosa, que es el azúcar más frecuente. De los tres anillos, el anillo A se biosintetiza a través de la ruta del ácido shiquímico (Kuklinski, 2000).

Los flavonoides se clasifican con base a sus variaciones estructurales:

a) Con doble enlace entre las posiciones 2 y 3:

Flavonas: con H en la posición 3.

Flavonoles: con OH en la posición 3

b) Sin doble enlace entre las posiciones 2 y 3:

Flavanonas: con H en la posición 3.

dihidroflavonoles: con OH en la posición 3.

Chalconas: con el anillo C abierto

Isoflavonoides: con el anillo B en la posición 3 (3-fenil y cromona) (Fig. 4) (Kuklinski, 2000).

Propiedades de los flavonoides.

La solubilidad depende de la forma en la que se encuentran: agliconas libres o heterósidos. Las agliconas son insolubles en agua, poco solubles en mezclas hidroalcohólicas y solubles en disolventes orgánicos, ya sean polares (etanol, metanol) o apolares (éter etílico, cloroformo). Los heterósidos son solubles en agua y mezclas hidroalcohólicas e insolubles en disolventes orgánicos no polares (Kuklinski, 2000).

La acidez debida a las funciones fenol, son ionizables en medio básico, lo cual permite su identificación porque tienen reacciones coloreadas con ciertos compuestos. Producen generalmente soluciones amarillas que al acidificar viran a incoloras. Los agentes quelantes de ciertos grupos funcionales de los flavonoides son capaces de formar complejos con metales como el hierro (Kuklinski, 2000).

Muchos presentan fluorescencia a la luz ultravioleta que puede modificarse en medio básico, con los agentes quelantes, etc (Kuklinski, 2000).

Son sustancias fácilmente oxidables y, por lo tanto, antioxidantes porque se oxidan con mayor rapidez que otro tipo de sustancias (Kuklinski, 2000).

Algunas Metodologías para el estudio de los flavonoides.

Detección por medio de las pruebas de color

Se dispone de 4 reactivos que reducen a los dihidroflavonoides originando productos de rojo púrpura o magenta. Estos reactivos pueden ser usados para detectar flavonoides en los extractos crudos de las plantas y para monitorear estos compuestos en las fracciones de las cromatografías (Grayer, 1989).

Acetato de sodio/anhídrido acético, ácido clorhídrico (prueba para dihidroflavonoles de Pacheco)

Un miligramo de dihidroflavonol y 10 mg de acetato de sodio son hervidos por 2 horas en una pequeña cantidad de anhídrido acético. El disolvente se evapora al vacío y el residuo se disuelve en una mínima cantidad de ácido acético al 50%., a esta mezcla se le adicionan alguna gotas de ácido clorhídrico al 20%. Después se hierve por 1 hora, es extraído en alcohol isoamílico. Desarrollando un color rojizo específico para la presencia de dihidroflavonoles (Grayer, 1989).

Zinc / ácido clorhídrico (pruebas de Pew para dihidroflavonoles)

Al extracto crudo de la planta o solución de flavonoides se le agrega polvo de zinc y 5 gotas de ácido clorhídrico 5N. Únicamente los dihidroflavonoides reaccionan dando colores como un púrpura-rojo intenso (dihidroquercetina) o rojo cereza (dihidrokaempferol). Las flavanonas, dihidrochalconas y otros flavonoides dan colores rosados o cafés con esta prueba (Grayer, 1989).

Magnesio/ ácido clorhídrico pruebas de Shinoda para flavanonas y dihidroflavonoles

En esta prueba se aplica de la misma manera el Zn/ ácido clorhídrico, pero el polvo de magnesio se usa en lugar del zinc. Esta solución desarrolla un color de rojo profundo o magenta indicando la presencia de una flavanona o dihidroflavonol. Las dihidrochalconas y otros flavonoides no reaccionan con este reactivo (Grayer, 1989).

Borohidrido/2-3 dicloro-5,6 diciano- 1,4 benzoquinona (DDQ) pruebas para dihidrochalconas.

Gentili y Horowitz (1971, citado en Grayer) modificaron la reacción del borohidrido para las flavanonas en una prueba para dihidrochalconas: aproximadamente 1 mg de chalcona en 0.5 mL de metanol es tratado con borohidrido sódico. Después de algunos minutos se le agrega a la solución una gota de ácido acético para deshacerse del exceso de borohidrido. Se le agrega 0.5 mL de DDQ seguido por 1-2 mL de ácido clorhídrico concentrado. Si se observa con este reactivo colores púrpura indica la presencia de dihidrochalconas, con frecuencia permanece estable el color por algunos días. Este reactivo puede reaccionar lentamente con las flavanonas dando colores de café a rosa, esto ocurre cuando las flavanonas en un cromatograma son rociadas con un reactivo que contiene borohidrido y DDQ (Gentili y Horowitz 1971 citado en Grayer, 1989).

Cromatografía: La cromatografía en papel y cromatografía en capa fina son especialmente adecuadas para la detección de los flavonoides en los extractos crudos de plantas o fracciones. Esto incluye las reacciones de color obtenidas con diferentes reactivos en aerosol para detectar a los flavonoides en este tipo de cromatografías (Grayer, 1989).

Cromatografía en papel.

Los solventes usados para la cromatografía en papel de flavonoides son el cloroformo, ácido acético y agua (30:15:2 o 10: 10: 1) y solución acuosa de ácido acético por ejemplo al 15% o 30%. El agua desminarilizada es un excelente solvente que separa flavonoides, todos los glicósidos corren bien con este solvente. La movilidad en el agua distingue flavonoides glicosilados de flavonas, flavonoles y chalconas. Algunos flavonoides aparecen en papel o cromatogramas de capa fina en una longitud de onda de luz ultravioleta (366nm) observando puntos oscuros o coloreados los cuales se intensifican o cambian de color con los vapores de amonio (Harborne, 1989).

Las 5-desoxiflavanonas aparecen como puntos azules en luz UV cambiando a amarillos con vapores de amonio. Mientras que los 5- desoxidihidroflavonoles

son amarillos con luz UV, cambian a azul con amonio; de la misma forma 6 – desoxidihidrochalconas en la cual el 2' –hidroxil está libre, es amarilla en UV y cambia a azul con amonio cuando 4´-hidroxil está bloqueado o continua en amarillo cuando el 4´-hidroxil está libre (dauidigenina) (Harborne, 1989).

Cromatografía en capa fina

La detección de flavonoides en cromatografías de capa fina es lo mismo que en papel. Las placas pueden ser observadas bajo luz ultravioleta con una longitud de onda de (366nm) en presencia o ausencia de vapores de amonia. Además se pueden comprar placas hechas con gel silica las cuales contienen indicador UV fluorescente. Observándose en una onda corta de luz UV de 254 nm, los flavonoides y otras sustancias fénolicas aparecen como puntos oscuros en un fondo fluorescente (Grayer, 1989)

Cromatografía de columna

Los adsorbentes más comúnmente usados para el aislamiento de las flavanonas, dihidroflavonoles y dihidrochalconas por medio de la cromatografía de columna son: sílica gel, poliamida, celulosa y Sephadex. Las fracciones obtenidas por medio de la cromatografía en columna, usando uno de estos adsorbentes, con frecuencia son recromatografiados en cromatografía en capa fina o cromatografía líquida de alta resolución. Las fracciones pueden ser monitoreadas durante el aislamiento de flavonoides usando espectroscopía UV y/o cromatografía en capa fina (Grayer, 1989).

Cromatografía líquida de alta resolución

La cromatografía líquida de alta resolución puede ser usada para la separación, determinación cuantitativa e identificación de flavonoides. La técnica es más sensible que la cromatografía en papel y en capa fina. En esta cromatografía líquida de alta resolución, es comúnmente usada la fase inversa, de tal forma que los glicósidos son eluidos antes que las agliconas, las agliconas con más grupos hidroxilo antes que las que presentan menos grupos hidroxilo en su

estructura química. Una de las columnas que se emplea con más frecuencia es la C18 (conteniendo octadeciltriclorosilano). Los solventes eluyentes incluyen mezclas de acetonitrilo o metanol con agua y pequeñas cantidades de ácidos (fórmico, acético o fosfórico).

Ejemplos de sistemas de elución isocrática son: agua-acetonitrilo (4:1;v/v), metanol-ácido acético -agua (6:1:3). Los flavonoides eluidos por cromatografía líquida de alta resolución son detectados normalmente por medios de detectores de UV colocándolos a 280 nm teniendo una máxima absorción de UV entre 270 y 290 nm. Dos detectores pueden ser usados al mismo tiempo, monitoreando la elución bajo 2 longitudes de onda simultáneas, ejemplo 254 y 280 nm. Esta doble longitud de onda UV hace fácil la detección de las señales de los flavonoides de los picos causados por impurezas (Grayer, 1989).

Reactivos en spray

Con algunos reactivos en aerosol, únicamente se muestran los puntos coloreados bajo luz UV, mientras que con otros son también visibles en la luz del día (Grayer, 1989).

Cloruro de aluminio (AlCl_3)

Las soluciones comúnmente usadas son cloruro de aluminio en etanol o metanol (1%, 2% o 5%) cualquiera de los dos puede ser rociadas en el cromatograma para posteriormente secarse al aire libre (Grayer, 1989)

Reactivo A Naturstoff. Este reactivo consiste en una solución de ácido difenil bórico ácido-2-aminoetil éster en metanol. Después de rociar, los cromatogramas son vistos en luz UV, aunque algunos flavonoides son visibles en la luz del día (Grayer 1989)

Ácido sulfanílico

Este reactivo se prepara de la siguiente manera: 4.5 g de ácido sulfanílico es disuelto en 45 ml de ácido clorhídrico al 12N. Se diluye en 500 ml de agua. Se agrega un mismo volumen de NaNO_2 al 4.5% mientras se enfría en el hielo, justo antes de rociar se le agrega el mismo volumen de NaCO_3 al 10%. Si hay presencia de flavonoides se pueden observar manchas amarillas, naranjas y café-rojizo (Grayer 1989)

Cloruro férrico (FeCl_3). Una solución de cloruro férrico al 1% o 2% en agua, metanol o etanol, es un reactivo cromogénico general en aerosol para compuestos fenólicos. Naringenina y hesperetina con el cloruro de fierro dan puntos rojo-violeta, eriodictiol y dihidroquercetina cambia azul-violeta y dihidrofisetina y dihidrorobinetina dan verde y azul marino respectivamente. (Grayer 1989)

Borohidruro de sodio/ácido clorhídrico (NaBH_4/HCl). Este reactivo es específico para la detección de las flavanonas. Una solución de NaBH_4 al 1%, por lo menos 0.1g se disuelve en agua destilada y el volumen se ajusta a 10 ml con isopropanol. La solución debe estar recién preparada, ya que el NaBH_4 puede inactivarse por el solvente. La solución es rociada en el cromatograma que posteriormente se exponen a vapores de ácido clorhídrico por 15-30 segundos. Las flavanonas son reveladas como puntos púrpura a magenta. Los dihidroflavonoles y otros flavonoides en su mayoría dan puntos café claro con este reactivo (Grayer, 1989).

Espectroscopía de absorción ultravioleta.

Como se mencionó anteriormente, los flavonoides contienen al menos un anillo aromático por lo cual absorben bajo luz UV. El primer máximo, se encuentra en un rango de 240-285 nm, esperado para el anillo A y el segundo máximo que está en un rango de 300-550 nm, para la sustitución de estructura y conjugación del anillo C. Las sustituciones simples como metil, metoxilo y grupos hidroxilo generalmente no afectan la absorbancia máxima (Rijke et al., 2006).

Por lo antes mencionado, la espectroscopía UV es utilizada en la identificación de flavanonas, dihidroflavonoles y dihidrochalconas. Para la realización de este

espectro sólo son necesarias pequeñas cantidades de las muestras (menos de 0.1 mg). El espectro UV de flavanonas, dihidroflavonoides y dihydrochalconas es muy característico, estos exhiben una absorción muy fuerte entre 270 y 295 nm y un pico pequeño o simplemente una inflexión entre 300 y 360 nm. (Grayer, 1989).

En el cuadro 1 se muestran los datos del espectro de absorción de algunos flavonoides

Cuadro 1. Datos del espectro de absorción UV de algunos flavonoides.

Flavonas	MeOH λ_{\max} (nm)
Crisina (5,7)	24 sh, 268, 313
Apigenina (5,6,7)	247sh, 274, 323
Luteolina (5,7,4')	267, 296sh, 336
Kaempferol (3,5,7,4')	266,294sh, 322sh, 367
Quercetina (3,5,7,3',4')	255, 269sh, 301sh, 370

Cuadro tomado de Grayer 1989

Espectrometría de masas.

Usando la espectrometría de masas de impacto electrónico (EI-MS) sobre cantidades muy pequeñas de muestra, los pesos moleculares y fórmulas químicas de los flavonoides pueden ser determinadas, y la información obtenida también muestra las estructuras de sustitución de los anillos A y B. Cuando los electrones impactan a los flavonoides, estos se rompen junto a un número de fragmentos de las rutas de las cadenas metabólicas. Por ejemplo, la fragmentación de flavanonas y dihidroflavonoles requieren con frecuencia procesos retro-Diels-Alder. Durante el rompimiento algunos fragmentos de los anillos A y B son formados, la combinación de los cuales es característica para las diferentes clases de flavonoides, inclusive existen tablas de los patrones de fragmentación para diferentes flavonoides (Grayer, 1989).

Mabry y Markham (1975) y Mabry y Ulubelen (1980)(citado en Grayer, 1989) han reconocido una gran cantidad de datos sobre de diversos flavonoides (Morkham, 1989). Por ejemplo el ion molecular (M^+) en flavonas aparece en

222 y para flavonoles en 238, con 16 de masa que se le suman por cada –OH, ó 30 unidades de masa por cada –OCH₃.

Resonancia magnética nuclear

1.- Espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protones

Uno de los solventes más frecuentes usados es dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d₆) en el cual ambos agliconas y glucósidos son solubles, pero los flavonoides aglicones se disuelven bien en cloroformo deuterado y acetona deuterada (Grayer, 1989).

El tetrametilsilano es el estándar interno empleado y la señal de sus protones se localizan en un rango de 0-0.13ppm. La medida integral de los signos es proporcional al número de protones presentes, por ejemplo las señales producidas por –CH₃ son tres veces más grandes que las registradas por un único protón. El acoplamiento de 2 protones ocurre cuando son protones de carbonos vecinos, cuando están ortho-relacionados cada protón aparece como un doblete en el espectro. Si un protón tienen ambos orto y meta-relacionados vecinos, estos aparecen como un doblete de dobles o cuarteto (Grayer, 1989).

En años recientes la cromatografía líquida acoplada a resonancia magnética nuclear ha atraído la atención al campo de la investigación de productos naturales por sus ventajas. (por ejemplo, alto contenido de información, diferenciación de isómeros y estructuras de sustitución) y sus desventajas, (baja sensibilidad, instrumentación cara, largo tiempo para correr las muestras). (Rijke et al., 2006).

Determinación estructural del patrón de oxigenación

En general, sólo los protones unidos al carbón producen señales entre 0 y 9 ppm. Los puntos en el espectro RMN entre 5.9 y 7.5 ppm son usualmente producidos por los protones de los anillos A y B. Los protones del anillo A en C-6 y C-8 de flavanonas y dihidroflavonoles dan señales de 5.9-6.3 ppm cuando el C-5 y C-7 están sustituidos y lo mismo aplica a los protones C-3' y C-5' en dihidrochalconas cuando su C-2', C-4' y C-6' están sustituidos. Por otro lado los protones del anillo B producen señales de 6.6 -7.5 ppm dependiendo de la presencia o ausencia de protones vecinos. Cuando el anillo B no está sustituido, hay una sola señal (7.2-7.5 ppm) para los cinco protones (Grayer, 1989). En la figura 6, se muestra el espectro de RMN 'H de la rutina.

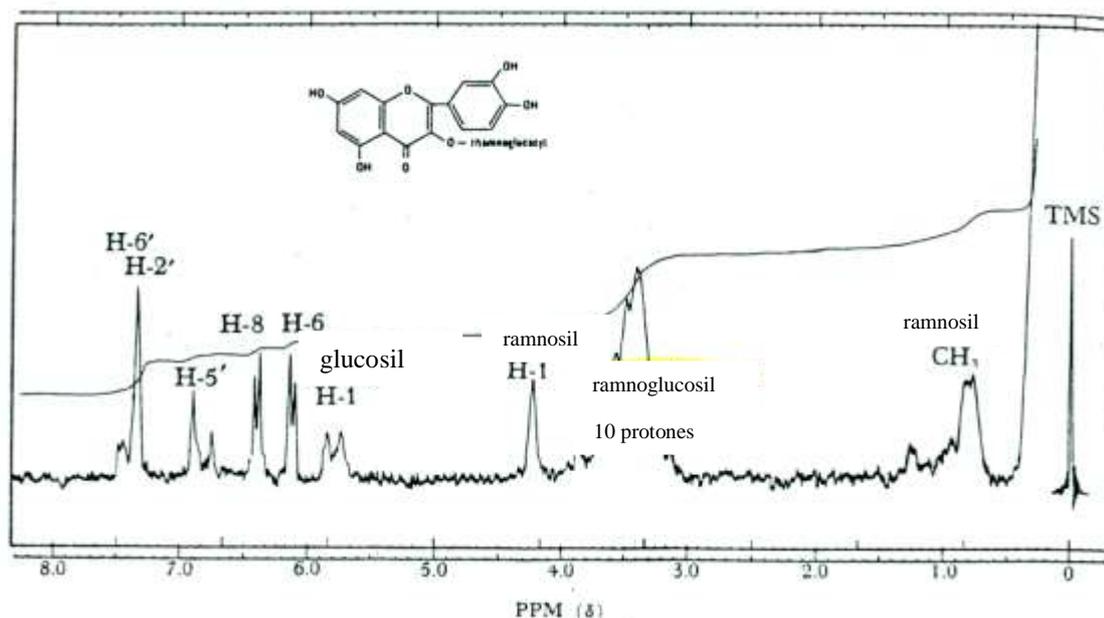


Fig. 6. Espectro de RMN¹H de la rutina.

Determinación de otros grupos funcionales

Los protones C-metilo de flavonoides producen una señal química de un cuadruplete a 2.0 ppm y en el caso de un grupo metoxilo, el tamaño de la señal se integra para 3 protones. Los grupos C-prenilo pueden ser reconocidos por la presencia de 3 señales características una en 1.6 ppm, 6H, generalmente un singulete representando a dos 2 grupos metoxilo del prenilo ; un doblete en el rango de 3.1-3.2 ppm, 2H, representando a los protones en -CH₂- ; y un triplete en el rango de 5.0-5.2 ppm, 1H, representando a los protones de la parte -C = del prenilo. Los protones metilendioxi (O -CH₃ -O) son evidentes en la señal de un cuadruplete a 5.9 ppm, 2H (Grayer, 1989).

Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear de ¹³ C.

Otra técnica usada para la elucidación de la estructura química de los flavonoides es la espectroscopía de RMN¹³C. Esta técnica da información

valiosa sobre el esqueleto de carbono (ejemplo, número de átomos de carbono y de éstos los que están oxigenados). El espectro de RMC¹³C puede ser usado para distinguir entre varias clases de flavonoides. Sin embargo la contribución más valiosa de esta técnica es proporcionar un medio relativamente fácil de identificación del enlace de azúcar de los flavonoides C-glicosilados (y de O-glicosilados), estableciendo la presencia e identificación de cualquier grupo acilo y la determinación de la posición de los diferentes enlaces (Grayer, 1989).

Un inconveniente de este método es que relativamente la muestra que se requiere para este análisis es grande preferentemente 15 mg o más. Los solventes que se usan para la espectroscopía de RMN¹³C en los flavonoides incluye DMSO, acetona, metanol y cloroformo deuterados. El tetrametilsilano es usualmente empleado como un estándar interno, y su señal se observa en 0ppm. Sin embargo las señales de RMN¹³C son producidas en un rango de 0-210 ppm (Grayer, 1989).

Pequeños cambios son producidos por carbonos alifáticos no oxigenados, por ejemplo, C- α y $-\beta$ de dihidrochalconas (29-47 ppm); se han encontrado señales de carbonos alifáticos oxigenados como los de los azúcares entre 62-83 ppm, carbonos aromáticos no oxigenados 100-135 ppm y carbonos aromáticos oxigenados entre 145 a 165 ppm. Las señales de los carbonos carbonilo generalmente ocurren entre 172-206 ppm (Grayer, 1989).

Actividad Biológica de los Flavonoides

En todo el mundo se han hecho investigaciones acerca de las sustancias activas de las plantas debido a que podría ser una alternativa para aliviar enfermedades virales, bacterianas y fúngicas, a continuación se muestra a grandes rasgos algunas investigaciones que se han realizado en diferentes partes del mundo y en México.

Las plantas medicinales son un elemento importante en los sistemas medicinales indígenas en México. La familia botánica Asteraceae tiene una enorme importancia en la medicina tradicional de los mexicanos. Hay alrededor de 361 géneros con 3021 especies reconocidas de Asteraceae en México (Villaseñor, 2003)

Como se mencionó anteriormente, los flavonoides son estructuras fenólicas que contienen un solo grupo carbonilo. Estos compuestos son sintetizados por las plantas en respuesta a la infección antimicrobiana, y su actividad sobre las bacterias probablemente se deba a su capacidad de generar complejos con proteínas extracelulares y proteínas solubles, así como una actividad sobre la pared celular muy similar a la de las quinonas. Los flavonoides lipofílicos pueden perturbar la integridad estructural de la membrana celular. Las catequinas derivados de los flavonoides, han sido estudiadas como los compuestos que generan la actividad antimicrobiana *in vitro* en el té verde, sobre *Vibrio cholerae* O1, *Streptococcus mutans* y *Shigella*, principalmente. Las catequinas tienen una actividad inactivadora sobre la toxina de *Vibrio cholerae* e inhibe las glicosil transferasas en *S. mutans*. Ratas de laboratorio que recibieron en su dieta 0.1 % de catequinas del té, redujeron en un 40% la presencia de caries inducida (Cowan, 1999).

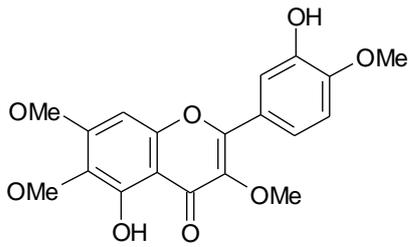
Los flavonoides también presentan efectos inhibitorios contra múltiples virus, se ha determinado la actividad de algunos flavonoides (swertifrancheside, crisina) sobre el virus de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Por otro lado, también se ha determinado la actividad de la quercetina, naringenina, hesperetina y catequinas sobre el virus sincitial respiratorio (su sigla en inglés es RSV) que

es la causa más frecuente de bronquiolitis (inflamación de la vías respiratorias inferiores) y neumonía en los bebés (Cowan, 1999).

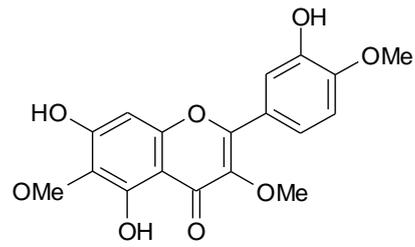
En particular se han realizado diversos estudios de diferentes especies de vegetales, las cuales sintetizan flavonoides con diferentes actividades biológicas, a continuación se comentarán algunos de estos ejemplos.

Dentro de la familia Asteraceae se encuentra el género *Achillea*, que se distribuye en regiones templadas del hemisferio norte especialmente en Europa, Asia y América. Muchas especies de este género son ricas en flavonoides. De *Achillea fragantisima* se aisló el cirsilinol, que es una flavona que causa la relajación del ileon de rata. La concentración efectiva del cirsilinol para la relajación de los segmentos del ileon fue de $5.2 \pm 0.9 \times 10^{-6}$ M (n=6). Es probable que el cirsilinol interfiera con los canales de calcio e interfiera la entrada de este ión de los compartimentos extracelulares (Heinrich et. al 1998). Otro género de la familia Asteracea es *Artemisia*, que está formado por más de 200 especies que han sido reportadas de muchas partes del mundo y son ampliamente utilizadas en la medicina tradicional como remedios por diversas culturas a lo largo del mundo por sus propiedades medicinales. Dentro de los compuestos activos de este género se encuentran los flavonoides (Heinrich et. al 1998).

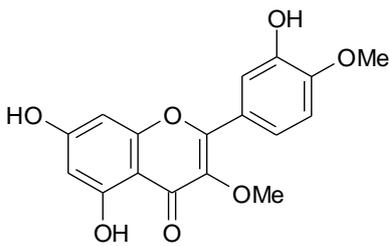
De *Artemisia abrotanum* se aislaron 4 flavonoles que mostraron actividad espasmolítica, los flavonoides fueron la casticina, centaureidina, 3,4-dimetoxi quercetina y la 3,7-dimetoxi quercetina (Fig. 7) En *A.monosperma* se determinó que el 7-metoxi-eriodictiol era el metabolito responsable de los efectos relajantes en músculo liso aislado de diferentes órganos (ileon, traquea, arteria pulmonar, vejiga urinaria y útero). Esta especie es utilizada para el tratamiento de ciertos desórdenes gastrointestinales, los cuales pueden ocasionar severas contracciones, las cuales entonces pueden ser inhibidas con la ingesta del té de *A. monosperma* (Heinrich et. al 1998).



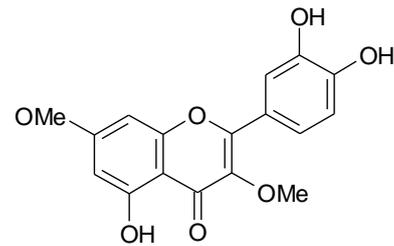
Casticina



Centaureidina



3,4-dimetoxi quercetina



3,7-dimetoxi quercetina

Fig. 7. Flavonoles aislados de *Artemisia abrotanum*

De *A. monosperma* colectada en Wadi-Al-Batin, Kuwait, se aisló el flavonoide - 7- metoxi eriodictiol (fig. 8), el cual presentó actividad sobre *Mycobacterium* sp. y *S. aureus* mostrando una concentración mínima inhibitoria de 64 a 128 µg/ml (Stavri et al., 2005)

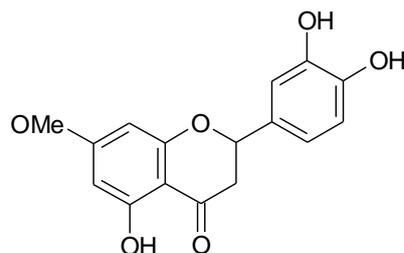


Fig. 8. 7- metoxi eriodictiol

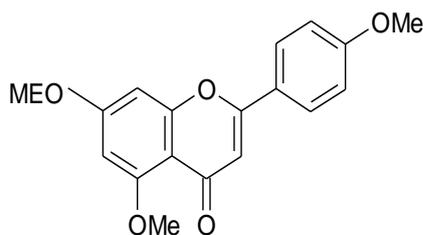
A.tridentata se usa frecuentemente como un antihelmíntico, antiséptico y analgésico, muchos de los componentes identificados en esta especie particularmente algunos flavonoides tienen notables actividades farmacológicas. Se ha determinado que los flavonoides de esta especie se pueden unir a las enzimas, las membranas celulares y formar complejos con iones de metales, participar en la transferencia de electrones en los sistemas

enzimáticos y tener una actividad antioxidante. La actividad antiinflamatoria de *A. tridentata* muy probablemente se debe a la presencia de las flavonas (luteolina, quercetina y kaempferol) (Heinrich et al., 1998).

Otro género de la familia Asteraceae es *Tagetes*. Las infusiones de las hojas de diversas especies de *Tagetes* han sido utilizadas en la medicina tradicional para aliviar padecimientos estomacales y enfermedades intestinales. Se ha determinado que varias especies de *Tagetes* poseen flavonoides con actividad antibacteriana (*Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*) (Mori et al., 1987). Estos compuestos también presentan otras actividades importantes incluyendo la inhibición de enzimas, antioxidantes, y efectos citotóxicos (Middleton y Kandaswami, 1993).

T. minuta es una especie nativa de Argentina, conocida como “suico” o “chinchilla”. Esta especie se usa en la medicina tradicional como antimicrobiana, antihelmíntica, diurética y antiespasmódica (Amat, 1983). El extracto acuoso y de acetato de etilo mostraron una actividad antibacteriana relevante sobre las cepas de *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *S. epidermidis* y *Pseudomonas aeruginosa*. El flavonoide responsable de esta actividad fue la 7-arabinosil-galactosido quercetagina.

T. lucida Cav. (Pericón) es una planta medicinal muy utilizada en México para aliviar enfermedades del tracto digestivo como la diarrea, disentería y heridas infectadas. De la parte aérea de *T. lucida* del extracto de acetato de etilo, se aisló la 5,7,4'-trimetoxiflavona (Fig. 9), la cual fue el compuesto responsable de la actividad antibacteriana sobre las cepas *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *Shigella boydii*, *Sarcina lutea*, *Vibrio cholerae* y *Candida albicans* (Hernández et al., 2006).



5,7,4'-Trimetoxiflavona

Fig. 9. 5,7,4'-trimetoxiflavona, aislada de *Tagetes lucida* Cav. (Pericón)

El género *Helychrysum* está formado por más de 500 especies, se distribuye principalmente en el sur de África. Varias especies de *Helychrysum* han sido utilizadas en la medicina tradicional en diferentes países como diuréticos, antiinflamatorios y antialérgicos. Las especies de *Helichrysum* también han sido reportadas para el alivio del dolor abdominal, quemadura de pecho, tos, enfriamientos, heridas y tratamiento para la esterilidad femenina y dolores menstruales. Los estudios químicos de la especie *H. forskahlii* han mostrado la presencia de los siguientes flavonoides: 3''-dimetil-5',6' -pirano- 2'4' -dihidroxichalcona (Fig. 10), glabranina, cardamomina, alpinetina, desmetilxanthohumol, 2',4',6'-trihidroxichalcona (Fig. 11) 3-O-metil-quercetina, pinocembrina y desmetilhelicromanochalcona. Recientemente de las partes aéreas de esta especie se aislaron y caracterizaron tres nuevos flavonoides: helicrisona A, helicrisona B, y helicrisona C. En este trabajo a pesar de haber sido aislados diversos flavonoides, únicamente se determinó la actividad antibacteriana del extracto metanólico, que mostró inhibición del crecimiento de las especies *B. subtilis*, *S. aureus* y *Mycobacterium smegmatis* (Adnan et al.,2008).

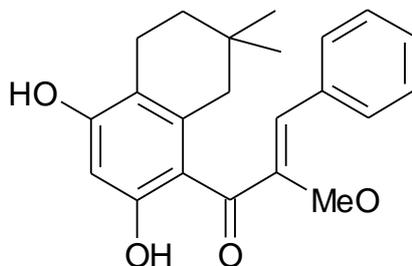


Fig. 10. 3''-dimetil-5',6' -pirano- 2'4' -dihidroxichalcona

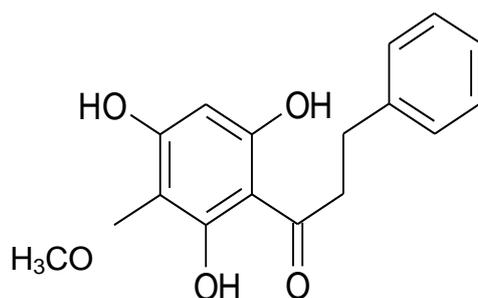


Fig 11. 2',4',6'- Trihidroxichalcona

Cirsium rivulare es otra especie de la familia Asteraceae. Es una planta con características perennes de las praderas húmedas en las partes bajas de Polonia y también en otros países de Europa central. Esta especie ha sido tradicionalmente usada en Polonia por sus propiedades anti-ansiedad. Se ha demostrado la actividad antimicótica de *Cirsium rivulare* (Grzycka et al., 1978). De esta especie se han aislado e identificaron los flavonoides tricina, apigenina, luteolina, hispidulina, linarina, apigenina, 7-glucuronido, 7-glucósido-apigenina (Nazaruk y Gudej, 2003). De esta especie se demostró la actividad bactericida del extracto metanólico de flores y hojas sobre una serie de bacterias Gram positivas y negativas. Aunado a lo anterior, del mismo extracto se demostró la inhibición del crecimiento de la levadura *C. albicans* (Nazaruk y Jakoniuk 2005).

Gymnosperma glutinosum es una Asteraceae conocida como “tatalencho”, “tezozotla”, la planta es un arbusto pegajoso que se encuentra en el valle de México, Guatemala y de Arizona a Texas. Un previo estudio mostró que *Gymnosperma glutinosum* fue reconocida por ser una de las más importantes entre las 46 especies usadas en la medicina tradicional de San Rafael Coxcatlán, Puebla. Las infusiones de las partes aéreas de esta especie son usadas para aliviar la diarrea por los habitantes de San Rafael, Coxcatlán y Zapotilán Salinas, ambos poblados del Valle de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla. Los estudios fitoquímicos de esta especie muestran la presencia de flavonoides. Canales et al. (2007) examinaron y compararon la actividad antibacteriana y antifúngica de *Gymnosperma glutinosum* de dos localidades de México: San Rafael, Coxcatlán, Puebla y Tepeji del Río Hidalgo. En dicho trabajo, se aisló la 5,7- dihidroxi-3,6,8,2',4',5' hexametoxiflavona (Fig. 12), la cual tuvo actividad antibacteriana sobre *Staphylococcus aureus*, *S. epidermis*,

Sarcina lutea, 4 cepas de *Vibrio cholerae*, *Shigella boydii*, *Salmonella typhi* y *Enterobacter aerogenes* mostrando valores de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) menores a 125µg/ml (Canales et al. 2007).

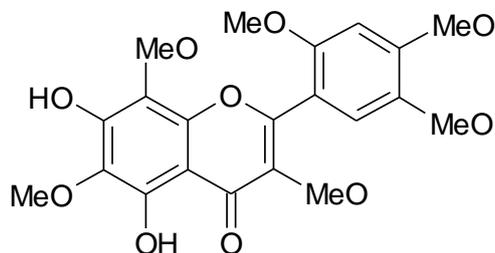


Fig. 12. 5,7- dihidroxi-3,6,8,2',4',5' hexametoxiflavona

Otra especie con importancia por su contenido de flavonoides es el orégano (*Lippia graveolens* Kunth) que tiene una gran distribución en toda la República Mexicana, la especie contiene flavonoides, sustancias relevantes en el área farmacológica principalmente por su capacidad antioxidante que contrarresta la formación de radicales libres, cuya influencia se revela en propiedades antialérgicas, antivirales o vasodilatadores, antimicrobianas, antitumorales, espasmolíticas, estrogénicas, entre otras. En el tallo de *L. graveolens*, se detectó la presencia de varios flavonoides: el flavonol kaempferol, dos flavonas metoxiladas (isokaempférido y pilosina). Estos tres compuestos no se habían descrito para el género *Lippia*. También se encontró la flavona cirsimaritina, la flavanona naringenina; un derivado de catequina y un hexósido de quercetina (González et al., 2007)

Los flavonoides poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antitrombóticas, antimicrobianas, antialérgicas, antitumorales, antiasmáticas e inhibidoras de enzimas como la transcriptasa reversa, proteína quinasa C, tirosina quinasa C, calmodulina, ordinitina decarboxilasa, hexoquinasa, aldosa reductasa, fosfolipasa C, y topoisomerasa II (Pérez 2003).

Existe un consenso de que la actividad antioxidante de los flavonoides que resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y secuestradoras de radicales libres. Por otra parte, se ha podido conocer que también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos

oxidativos como la fosfolipasa A₂ al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, la catalasa y la superóxido dismutasa. De esta forma los flavonoides interfieren en las reacciones de propagación de radicales libres y en la formación del radical en sí (Pérez 2003).

Numerosas investigaciones han evaluado la actividad antioxidante de los flavonoides frente a los radicales libres durante la peroxidación lipídica, ya sea enzimática o no enzimática. Casi todos los resultados coinciden en que los flavonoides con sustituyentes 3' y 4' en el anillo B se muestran más activos como antioxidantes y que este efecto es potenciado por la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo OH libre en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4; como sucede con la quercetina. Al mismo tiempo se evidencia que las agliconas de los flavonoides se muestran más potentes en sus acciones antilipoperoxidativas que sus correspondientes glicósidos. Por su parte las antocianidinas muestran muy buenas propiedades secuestrantes de radicales libres. Los flavonoides con un grupo pirogalólico en el anillo B exhiben una mayor actividad antioxidante que los que presentan un núcleo catecólico (Pérez 2003).

Los flavonoides inhiben también los efectos degradativos provocados por el H₂O₂. La quercetina y la catequina eliminaron la toxicidad del H₂O₂ en células V79 de hámsters, a través de un ensayo de formación de colonia en *Salmonella* TA 104 y en *E.coli* PQ37. Los flavonoides impidieron la disminución en el número de colonias provocada por H₂O₂ y O₂⁻ en estas células. Los grupos OH de las posiciones 3' y 4' en el anillo B y en un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, unido al grupo carbonilo de la posición 4 en el anillo C, son cruciales para la actividad protectora (Pérez 2003).

La inhibición sobre determinadas oxidasas representa otro de los mecanismos a través de los cuales los flavonoides ejercen sus actividades antioxidantes. Existen evidencias de que la quercetina y la rutina inhiben la NADPH del sistema de la citocromo P-450 en microsomas hepáticos. Este efecto pudiera impedir el metabolismo de una gran diversidad de xenobióticos que emplean esta vía para generar radicales libres (Kostiuk et al., 1988).

Además de secuestrar radicales, quelatar iones metálicos e inhibir oxidasas, los flavonoides pueden aumentar la disponibilidad de antioxidantes endógenos, así como la actividad de enzimas antioxidantes. Al mismo tiempo que son capaces de inhibir enzimas involucradas en la generación de especies reactivas del oxígeno (Pérez 2003).

Conclusiones

- ❖ Las plantas medicinales juegan un papel relevante dentro de la salud del ser humano y sus animales domésticos.
- ❖ Se han realizado diversas investigaciones científicas para validar el uso tradicional de las plantas medicinales.
- ❖ Los flavonoides son un grupo importante dentro de los productos naturales, ya que se han comprobado diversas actividades como antibacterianos, antimicóticos, antioxidantes, antiinflamatorios, etc.

BIBLIOGRAFÍA

Adnan. J., Al-Rehaily., Albishi. O.A., Mahmoud. M., El-olemy. M., Mossa. J.S. 2008. Flavonoids and terpenoids from *Helychrysum forskahlii*. *Phytochemistry* 69: 1745-1749

Aguilar, A. y Camacho, J. R. 1984. Uso popular de las plantas medicinales y su distribución por aparatos y sistemas. *Archivos de Investigación Médica. México suplemento.* 6:13-14.

Almaguer, G.J.A., Vargas, V.V., Ruiz, B.A. 2002. Fortalecimiento y desarrollo de la medicina tradicional. Secretaria de Salud. Dirección de Medicina Tradicional.

Amat, A.G. 1983. Pharmacological research for major taxón of Bonacrenses compositae. *Acta farm Bonaerense.* 2: 23-36.

Barnes, J., Anderson, Anderson, y Phillipson D. 2004. *Plantas Medicinales.* Pharma Editores. Barcelona, España. Pp 568

Bruneton, J. 2001. *Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia.* Editorial Acribia, España. Pp. 594

Canales, M., Hernández, T., Serrano R., Hernández, L.B., Duran, A., Ríos, V., Sigrist, S., Hernández, H.L.H., García, A.M., Angeles-López, O., Fernández-Araiza, M.A y Avila, G. 2007. Antimicrobial and General Toxicity activities of *Gymnosperma glutinosum*: comparative study. *Journal of ethnopharmacology* 110: 343-347.

Cordero, C. 2002. La industria Farmacéutica en busca de nuevos elementos: explora la biodiversidad. *Conabio.* 1-4.

Croteau, R., Kutchan, T.M., Lewis, N.G. Natural Products (Secondary metabolitos). En Buchanan. B., Grisseem, W., Jones, R. Eds. 2002. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants.* American Society of Plants Physiology. USA.1250-1318 pp.

Cowan, M.M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews* 12 (4) 564-582.

Dewick, P. 2008. Medicinal Natural Products, A biosynthetic Approach. J. Wiley. Inglaterra. 507 pp.

González, M., Soto, M., Kite, G. y Martínez, M. 2007. Actividad antioxidante de flavonoides del tallo de orégano mexicano (*Limpia graveolens* HBK Var. Berlandieri Schauer). Revista Fitotecnia Mexicana. Vol.30 (1): 43-49.

Grayer, R.J. 1989. Flavanoids. En Harborne, J.B. y Dey, P.M. Methods in Plant Biochemistry. Vol. 1 Plant Phenolics. Academic Press Limited. 552pp

Grzycka, K., Krzaczek, T., Milkowska, J., 1978. Research on the biological activity of selected species of flower plants. Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska Lublin, Sectio D 33, pp 275-283.

Harborne, J.B. y Dey, P.M. 1989. Methods in Plant Biochemistry. Vol. I Plant Phenolics. Academic Press. USA. 551 pp

Harborne, J.B. and Thomas-Barberan, F. A. 1991. Ecological chemistry and biochemistry of plant terpenoids. Oxford University Press. Nueva York. USA. 439 pp.

Heinrich. M., Robles. M., West. J.E., Ortiz. B., R. E. 1998. Ethnopharmacology of Mexican Asteraceae (Compositae). 1998. Annu.Rev. pharmacol. Toxicol 38: 539-565

Hernández. T., Canales M., Flores C., García A., Duran A. y Ávila G. 2006. Pharmaceutical biology. Vol. 44 (1) 19-22.

Kuklinski, C. 2000. Farmacognosia. Ediciones Omega, S.A., Barcelona. 515 pp

Kostiuk VA, Potapovich AI, Tereshchenko SM, Afanas'ev IB. 1988. Antioxidant activity of flavonoids in various systems of lipid peroxidation. Biokhimiia. 53: 1365-1370.

Luna M., 2003. Plantas medicinales mexicanas para tratar algunos Dolores de cabeza. Tesina. Medicina Tradicional de México y sus plantas Medicinales. Diplomado de Tlahui-Educa. México.

Middleton, E., Kandaswami, C., 1993. The impact of plant flavonoids on mammalian biology: implications for immunity, inflammation and cancer (chapter 15)

Mori, A., Nishino, C., Enoki, N., Tawata, S., 1987. Antibacterial activity and mode of action of flavonoids against *Staphylococcus aureus*. *Phytochemistry*. 26: 2231-2234.

Muñoz-Concha, D., Vogel, H., Razmili, I. 2004. Variación de compuestos químicos en hojas de poblaciones de *Drimys* spp. (Magnoliophyta: Winteraceae) en Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 77 (1), 43-50

Nazaruk. J. y Gudej. J. 2003. Flavonoid compounds from flowers of *Cirsium rivulare*. *Acta Polonise pharmaceutica drug-research* 60, 87-89.

Nazaruk. J. Y Jakoniuk. P. 2005. Flavonoid composition and antimicrobial activity of *Cirsium rivulare* (Jacq). *All. Flowers. Journal de Ethnopharmacology* 102: 208-212.

Peréz. G. 2003. Los flavonoides: antioxidants o prooxidantes. *Revista Cubana Investigaciones Biomédicas*. 22, 48-57.

Rijke, E., Out, P., Niessen. W. M.A., Ariese. F., Gooijer. C., Brinkman. U. 2006. Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography* 1112: 31-63

Siegfried. E. D., Vuuren. V. D. 2008. Antimicrobial acylphloroglucinols and dibenzoyloxy flavonoids from flowers of *Helychrysum gymnocomun*. *Phytochemistry* 69: 1745-1749.

Sepúlveda, G. 2004. *Revista mexicana de fitología*. Participación de los metabolitos Secundarios en la defensa de las plantas. 21: 355-363.

Stavri, M., Ford, J.C.H., Bucar, Franz., Streit, B., Hall, L. M., Williamson, R.T., Mathew, K.T. y Gibbons, S. 2005. Bioactive Constituents of *Artemisia monosperma*. *Phytochemistry*. 66: 233-239.

Tereschuk. M., Riera M., Castro. G., Abdala. L. 1997. Antimicrobial activity of flavonoids from leaves of *Tagetes minuta*. *Journal de Ethnopharmacology* 56: 227-232.

Trease, G.E y Evans, W. C. 1991. *Farmacognosia*. 13ª edición. Editorial interamericana, McGraw-Hill, Inc. España. Pp 901

Villaseñor, J.L., 2003. Diversidad y distribución de las Magnoliophyta de México. *Interciencia* 28, 160-167.

Wink, M. 1999. Functions of plant secondary metabolites and their exploitation in biotechnology. Sheffield Academic Press. Sheffield England. 362pp

Yesilada, E. 2005. Past and future contributions to traditional medicine in the health care system of the middle-east. *Journal of ethnopharmacology*. 100: 135-137.