



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

**Actividad antimicrobiana
de los flavonoides**

T E S I S I N A

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
CIRUJANO DENTISTA**

P R E S E N T A:

NADIA ABIGAIL VALDERRAMA ZAVALA



DIRECTOR DE TESIS:

Dra. GLORIA GUTIERREZ VENEGAS

2016

Ciudad Universitaria, Md. Mx.



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

*AGRADEZCO A MI FAMILIA POR TODO EL APOYO
BRINDADO A LO LARGO DE MI CARRERA, A MI
TUTORA LA DOCTORA GLORIA POR INSTRUIRME Y
APOYARME, ASI COMO A TODAS AQUELLAS
PERSONAS QUE AYUDARON EN MI FORMACION
GRACIAS.*

*RECONOZCO A LA UNIVERSIDAD POR
BRINDARME LAS BASES PARA MI VIDA
PROFESIONAL, A MIS PROFESORES Y A LOS
PACIENTES YA QUE SIN ELLOS NO SERIA LO
QUE SOY*

ÍNDICE:

RESUMEN	8
OBJETIVO GENERAL	9
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
INTRODUCCION	9
CAPITULO 1 GENERALIDADES DE LOS FLAVONOIDES	
1.1 Generalidades de los flavonoides.....	10
1.1.2 Estructura química de los flavonoides.....	12
1.1.3 Clasificación de los flavonoides.....	14
1.2 Distribución.....	23
1.3 Biosíntesis.....	24
1.3.1 Biosíntesis de los flavonoides paso a paso en plantas superiores.....	25
1.3.2 Interpolación de ambas vías para la síntesis de flavonoides.....	30
1.3.3 Fijación de las moléculas glucídicas a los flavonoides.....	31
1.4 Factores que afectan la biosíntesis de los flavonoides.....	32
1.4.1 Luz.....	32
1.4.2 Temperatura.....	35
1.4.3 Factores fisiológicos.....	35

1.5 Metabolismo de los flavonoides.....	36
1.6 Funciones.....	36
1.7 Farmacocinética.....	37
1.8 Acción bioquímica y farmacológica de los flavonoides.....	38
1.9 Flavonoides y su acción antibacterial.....	39

CAPITULO 2 LOS FLAVONOIDES Y SU FUNCION ANTIBACTERIAL

2.1 Los flavonoides y su función antibacterial.....	40
---	----

CAPITULO 3 EFECTO DE LOS FLAVONOIDES SOBRE BACTERIAS ESPECIFICAS

3.1 Efecto de los flavonoides sobre bacterias específicas.....	48
3.2 Inhibición de la Síntesis de Ácidos Nucleicos y Degradación de la Membrana Citoplasmática.....	50

CAPITULO 4 COLUTORIOS DENTALES

4.1 Colutorios dentales y su fórmula química comercial.....	55
4.2 Clasificación de los colutorios.....	55
Conclusiones	60
Fuentes de información	62

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS:

Tabla I.....	11
--------------	----

Clasificación de los diferentes tipos de flavonoides y ejemplos	
Tabla II.....	13.
Ubicación de los grupos OH en las flavonas	
Tabla III.....	14
Ubicación de los grupos OH en los flavonoles	
Tabla IV	
.....	15
Ubicación de los grupos OH en los antocianidinas	
Tabla V.....	16
Ubicación de los grupos OH en los flavanonas	
Tabla VI.....	36
Identificación bioquímica de Streptococcus orales	
Tabla VII.....	41
Ventajas y desventajas de la clorhexidina en los colutorios	
Tabla VIII.....	42
Ventajas y desventajas de la adición de aceites esenciales	
Figura 01.....	9
Representación del color característico de distintos cítricos dados por los flavonoides.	
Figura 02.....	9

Representación bidimensional de la estructura química de un flavonoide con numeración y especificación de cada heterociclo

Figura 03.....10

Representación tridimensional de la estructura química básica de los flavonoides C₆ C₃ C₃

Figura 04.....12

Representación bidimensional de la estructura química de los diferentes tipos de flavonoides, se destaca que todos poseen la misma estructura base de los flavonoides.

Figura 05.....12

Estructura química de las flavonas

Figura 06.....13

Estructura química de las flavonoles

Figura 07.....15

Estructura química de las antocianidinas

Figura 08.....16

Estructura química de las flavanonas

Figura 09.....21

Conjunto de reacciones para la biosíntesis del ácido shikímico a partir de fosfo enol piruvato y eritrosa 4- fosfato , a partir de la formación del ácido shikímico se derivara la fenilalanina y otros compuestos para la síntesis de flavonoides.

Figura 10.....	22
Biosíntesis de la manoil Co A, a partir de acetil-CoA y de bicarbonato, reacción que consume ATP y que está catalizada por la carboxilasa enzima que requiere biotina como cofactor.	
Figura 11.....	23
Combinación de los productos finales de ambas vías a la vía coún para la biosíntesis de los flavonoides.	
Figura 12.....	24
Formación de un o- glicósido de flavonoide Apigenina 7-O-β-D glicopiranosida.	
Figura 13.....	25
Formación de un C- glicósido de flavonoide Apigenina 7-O-β-D glicopiranosida”	
Figura 14.....	26
Representación de la luz en la fotosíntesis factor que influye en la biosíntesis de flavonoides.	
Figura 15.....	35
Cultivo de Streptococcus mutans visto bajo microscopia electrónica	
Figura 16.....	39
Cultivo de Porphyromonas gingivalis	

RESUMEN

En la actualidad la caries dental es una de las principales enfermedades de la cavidad oral a nivel mundial, al ser de tipo multifactorial es difícil de combatir, por lo que se han desarrollado un sin número de coadyuvantes para la higiene bucal entre ellos los colutorios dentales. Sin embargo, los colutorios dentales convencionales y los que están adicionados con antisépticos como la Clorhexidina al 0.12% no han logrado erradicar o contener de manera efectiva los patógenos causantes de la caries dental principalmente el *Streptococcus mutans*.

Es por esto que se han estudiado otras sustancias capaces de contribuir en la eficacia de los colutorios dentales principalmente de forma antiséptica y antimicrobiana, dentro de estas sustancias estudiadas se encuentran los flavonoides.

Los flavonoides son sustancias de origen natural que por sus atributos como antioxidantes y antimicrobianos han sido analizados por su efecto antimicrobiano en distintos tipos de bacterias de la cavidad oral.

El efecto antimicrobiano de estas moléculas se ha reportado en diferentes artículos comprobando su eficacia de manera aislada y como parte antiséptica de un colutorio dental, dando como resultado una posible ayuda para la creación de nuevas generaciones de colutorios dentales

OBJETIVO

Describir la actividad antimicrobiana de los flavonoides reportada en diversas fuentes bibliográficas.

Objetivos específicos:

- Detallar que es un flavonoide y su estructura química básica
- Clasificar cuáles son las propiedades específicas de los flavonoides
- Definir la actividad antimicrobiana de algunos flavonoides sobre patógenos orales
- Explicar la relación entre la actividad antimicrobiana de los flavonoides y su uso en los colutorios dentales

INTRODUCCIÓN

Todas las plantas, frutas y verduras poseen un color característico, este color se debe principalmente a sustancias químicas de origen natural conocidas como flavonoides.

Estas sustancias se encuentran distribuidas en la gran mayoría de plantas, flores, frutas, verduras, propóleos entre otros. Dichos compuestos denominados “flavonoides” derivan del latín “flavus” que significa amarillo, debido a que el primer flavonoide descubierto por el premio Nobel Szent-György, en 1930 poseía este color, sin embargo existen flavonoides de diferente color e incluso incoloros.

Estas sustancias además de conferirle el color característico (rojo, amarillo, azul y violeta) a las diferentes plantas y flores, también poseen otras

propiedades como efectos antioxidantes, antivirales, antimicrobianos, antimicóticos y en algunos casos anticancerígenos.

El presente trabajo se enfocará en realizar una revisión bibliográfica sobre lo anteriormente reportado relacionado a la actividad antimicrobiana de los flavonoides reportada en diferentes artículos y fuentes bibliográficas, actuando sobre diferentes cepas bacterianas, destacando los estudios realizados a microbiota de la cavidad oral principalmente patógenos de la caries dental.

Así como la relación entre los resultados reportados para la elaboración de un colutorio dental adicionado con flavonoides específicos.

CAPITULO 1 GENERALIDADES DE LOS FLAVONOIDES

1.1 GENERALIDADES DE LOS FLAVONOIDES

Las plantas, por medio del proceso de la fotosíntesis producen sustancias esenciales, como los carbohidratos, proteínas y grasas, que los investigadores han denominado **metabolitos primarios** (los cuales se encuentran en prácticamente todas las formas de vida y cumplen funciones básicas para la misma).¹

Sin embargo existen otras que no se encuentran tan distribuidas y que se hallan restringidas solo a ciertas especies, géneros o familias como son los alcaloides, las saponinas, los esteroides, los aceites esenciales, los terpenoides, entre otros a estos metabolitos se les denomina **metabolitos secundarios** dentro de este último grupo están los flavonoides.¹

Flavo proviene del latín “flavus” y significa de color entre amarillo y rojo, como el de la miel o el del oro y flavonoide, se refiere a un grupo aromático, de

pigmentos heterocíclicos que contienen oxígeno ampliamente distribuido entre las plantas, constituyendo la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul de las plantas, flores y frutas.³

Son pigmentos de origen natural que comprenden varias clases de sustancias de la misma naturaleza, entre las cuales están muchas de las que les confieren colores amarillos, naranja, rojo, violeta y azul, a muchas flores, hojas y frutos además de que también influyen en su señalización en la polimerización así como la resistencia ante agentes agresores como plagas.

1

Estas sustancias fueron bautizadas como flavonoides por el premio Nobel Szent-György, quien en 1930, aisló de la cáscara del limón una sustancia de color amarillo, la citrina la cual regula la permeabilidad de los capilares¹.

Por ello los flavonoides se denominaron en un principio vitamina P (por permeabilidad) y también vitamina C2 (porque se comprobó que algunos flavonoides tenían propiedades similares a la vitamina C) sin embargo aunque en un principio se denominaban vitaminas, esto no pudo comprobarse por lo cual dejó de ser un término aceptado a partir de 1950 , las primeras sustancias que se lograron aislar eran de color amarillo, pero posteriormente también se aislaron incoloras o con otros colores diferentes del amarillo como son el rojo, el violeta y el azul (figura 1).^{1,5}



Figura 1: Representación del color característico de distintos cítricos dados por los flavonoides (citrina entre otros).²⁵

1.1.2 ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS FLAVONOIDES

Los flavonoides son compuestos de naturaleza fenólica (compuestos polifenólicos) de bajo peso molecular, que se caracterizan por poseer un mismo elemento estructural, conocido como encadenamiento diaril-propánico, fenilcromano o benzopiránico en su estructura, tienen dos anillos bencénicos (A y B) unidos a través de una cadena de tres átomos de carbono, puesto que cada anillo bencénico tiene 6 átomos de carbono, los autores los denominan simplemente como compuestos $C_6C_3C_6$ los tres carbonos que sirven de unión entre ambos anillos pueden formar o no el tercer anillo C (Figura 2 y 3).¹⁻¹²

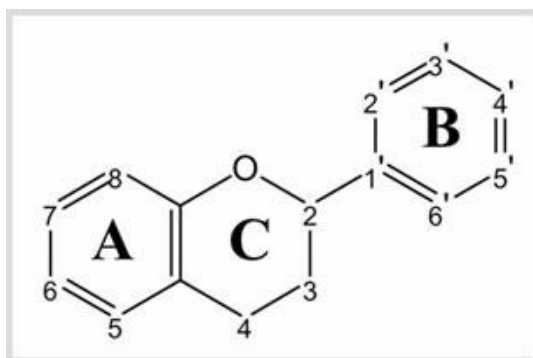


Figura 2: Representación bidimensional de la estructura química de un esqueleto base de un flavonoide con numeración en anillo A y C del 2 al 8 y en anillo B señalado con números primos.²⁶



Figura 3: Representación tridimensional de la estructura química básica de los flavonoides $C_6C_3C_6$.²⁷

Los anillos son denominados A, B y C, los átomos de carbono individuales son referidos por un sistema numérico, el cual utiliza números ordinarios para los anillos A y C se numeran del 2 al 8 y números primos para el anillo B desde el 2' al 6' ⁶.

En lo referente a la estructura de los flavonoides son necesarias tres características estructurales importantes para su función:

- a) La presencia en el anillo B de la estructura catecol u O-dihidroxil
- b) La presencia de un doble enlace en posición 2,3
- c) La presencia de grupos hidroxilo en posición 3 y 5 ,1 ,4 ^{1,6}

1.1,3 CLASIFICACIÓN DE LOS FLAVONOIDES

La estructura básica de los flavonoides $C_6C_3C_6$ permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C.¹

Por ello varios subgrupos de flavonoides son clasificados de acuerdo con la sustitución del anillo C, atendiendo a lo anteriormente expuesto los compuestos flavónicos se pueden clasificar en dos grupos, los flavonoides “propriadamente dichos” y los compuestos relacionados con ellos.^{1, 13-14}

Los flavonoides propriadamente dichos se caracterizan por poseer un núcleo fenilcromona (fenil-benzo-pirona), y dependiendo de la posición del anillo fenólico B, se subdividen en compuestos 2-fenilcromona (flavonoides) y compuestos 3- fenilcromona (isoflavonoides). A su vez, estos compuestos dan origen a las flavanonas e isoflavanonas por hidrogenación del anillo C. ¹⁴

Así mismo, la hidroxilación del carbono 3 en la serie de las 2-fenilcromonas da lugar a los flavonoles y a los flavanonoles

(2,3-dihidroflavonoles) ¹⁴. Por otro lado, entre los compuestos relacionados a los flavonoides podemos incluir a las catequinas, antocianos, chalconas, auronas y los neoflavonoides. ¹⁴

Para su clasificación es de suma importancia el estado de oxidación del anillo heterocíclico y la posición del anillo B, en función de sus características estructurales se pueden clasificar en: Flavanos, Flavonoles, Flavonas y Antocianidinas (Tabla I y Fig. 4).^{1, 14}

Tipo de flavonoide	Ejemplos
1. Flavanos	Como la catequina, con un grupo -OH en posición 3 del anillo C.
2. Flavonoles	Como la quercitina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo -OH en posición 3 del anillo C.
3. Flavonas	Como la diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3.

<p>4. Antocianidinas</p>	<p>Tienen unido el grupo -OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.</p>
<p>5.Flavanololes</p>	<p>Como por ejemplo la taxifolina que se encuentra en la corteza del pino, poseen un grupo OH en posición 3.</p>

Tabla I: clasificación de los diferentes tipos de flavonoides

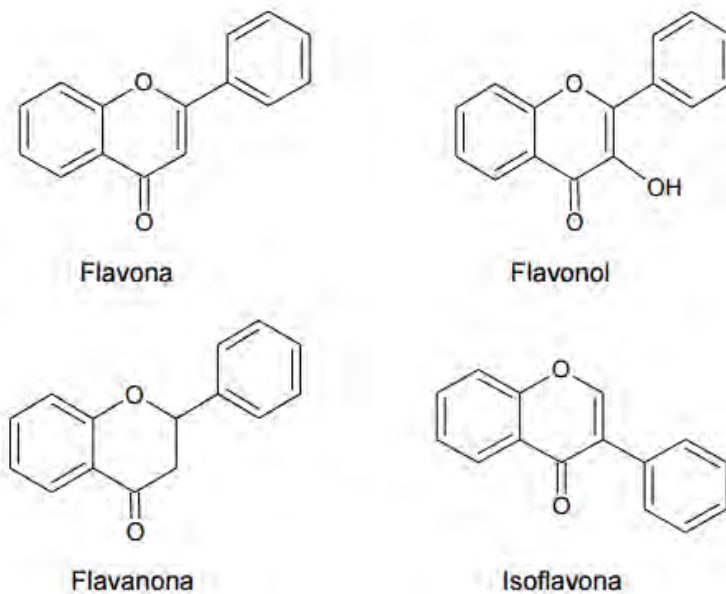


Figura 4: Representación bidimensional de la estructura química de los diferentes tipos de flavonoides.²⁸

Se destaca que todos poseen la misma estructura base $C_6C_3C_6$ sin embargo la adición de grupos OH o la oxidación en los anillos da lugar a diferentes grupos.²⁸

A continuación se muestra la estructura química de los diferentes tipos de flavonoides y su configuración OH.

A) FLAVONAS

La fórmula molecular de la flavona cuenta con tres anillos en su esqueleto en los carbonos $C_6-C_3-C_6$ presenta en su estructura tres grupos funcionales incluyendo hidroxilo, carbonilo y el doble enlace conjugado.

Son sustancias que varían de cristalinas incoloras a amarillo, solubles en agua y etanol (figura 5 y tabla II).¹

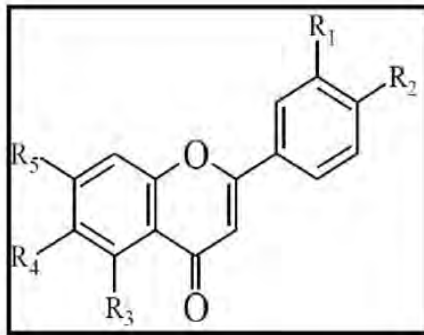


Figura 5: Estructura química de las flavonas²⁹

Tabla II: Ubicación de los grupos OH en la estructura de las flavonas:

NOMBRE	R1	R2	R3	R4	R5	FUENTE	COMENTARIO
Crisina			OH		OH	<i>Populus</i>	Se encuentran generalmente en los cítricos, pero también en los cereales, frutas, hierbas y verduras. Da el color amarillo en las flores.
Baicaleina			OH	OH	OH	<i>Scutellaria</i>	
Acacetina		OMe	OH		OH	<i>Robinia</i>	
Hispidulina		OMe	OH	OH	OH	<i>Ambrosia</i>	
Diosmetina	OH	OMe	OH		OH	<i>Diosma</i>	
Apigenina		OH	OH		OH	<i>Petroselinum</i>	
Luteolina	OH	OH	OH		OH	<i>Reseda</i>	
Crisoeriol	OH	OMe	OH		OH	<i>Eriodictyon</i>	

B) FLAVONOLES

Se caracterizan por poseer un grupo ceto en el carbono C₄ y una insaturación entre los carbonos C₂ y C₃. Poseen además un grupo hidroxilo adicional en el carbono C₃.

La biosíntesis de flavonoles es un proceso fotosintético por ello, estos compuestos se localizan principalmente en el tejido externo y aéreo de la planta (Figura 6 y tabla III).¹

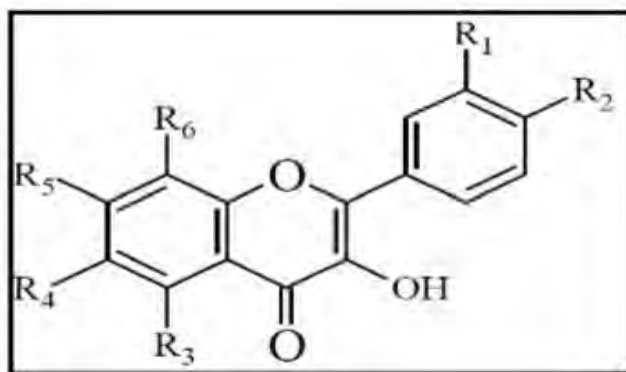


Figura 6: Estructura química básica de los flavonoles.²⁹

Tabla III: Ubicación de los grupos OH en la configuración de los flavonoles.

NOMBRE	R1	R2	R3	R4	R5	R6	FUENTE	COMENTARIO
Ramnetina	OH	OH	OH		OMe		<i>Rhamnus</i>	Están presente en diversas fuentes Siendo predominantes en vegetales Y frutas. La quercetina es el principal Representante de esta clase
Quercetagenina	OH	OH	OH	OH	OH		<i>Tagetes</i>	
Gossipetina	OMe	OH	OH		OH	OH	<i>Gossypium</i>	
Fisetina	OH	OH			OH		<i>Rhus</i>	
Galangina			OH		OH		<i>Alpinia</i>	
Fisetina	OH	OH			OH		<i>Rhus</i>	
Herbacetina		OH	OH		OH	OH	<i>Gossypium</i>	
Quercetina	OH	OH	OH		OH		<i>Quercus</i>	

C) ANTOCIANIDINAS

Son compuestos hidrosolubles, y constituyen uno de los grupos más importantes de pigmentos vegetales. Se encuentran principalmente como heterósidos con los tres anillos de su estructura conjugados. La glucosilación ocurre principalmente en la posición 3 del anillo C ó en las posiciones 5 y 7 del anillo A. También es posible la glucosilación de las posiciones 3', 4' y 5' del anillo B, aunque esta glucosilación aparece con menos frecuencia.¹

Las antocianidinas están ampliamente distribuidas en la dieta humana se pueden encontrar en ciertas variedades de cereales, en el vino tinto y en algunos vegetales, aunque aparecen mayoritariamente en las frutas.¹

Las antocianidinas tienen una gran cantidad de acciones fisiológicas, debidas principalmente a sus efectos sobre el colágeno corporal y sobre la respuesta inflamatoria y alérgica.¹

Favorecen la síntesis del colágeno y los mucopolisacáridos, componentes principales en la estructura del tejido conectivo, ofreciendo beneficios a la piel, vasos sanguíneos, articulaciones, aparato respiratorio y los intestinos (figura 7 y tabla IV).¹

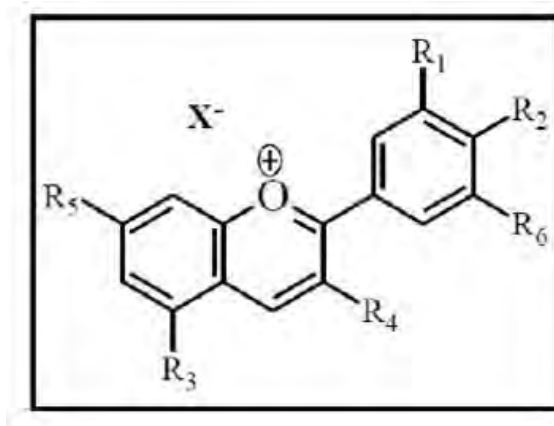


Figura 7 Estructura química básica de las antocianidinas.²⁹

Tabla IV: Ubicación de los grupo OH en la configuración química de las antocianidinas.

NOMBRE	R1	R2	R3	R4	R5	R6	FUENTE	COMENTARIO
Delfinidina	OH	OH	OH	OH	OH	OH	<i>Delphinium</i>	Se encuentran predominantemente en frutas y flores, provenientes de pigmentos florales, conforme indican sus propios nombres. Son usados como colorantes
Petunidina	OMe	OH	OH	OH	OH	OH	<i>Petunia</i>	
Malvidina	OMe	OH	OMe	OH	OH	OMe	<i>Malva</i>	
Luteolidina	OH	OH	OH		OH		<i>Reichsteineria</i>	
Apigenidina		OH	OH		OH		<i>Reichsteineria</i>	
Pelargonidina		OH	OH	OH	OH		<i>Pelargonium</i>	
Cianidina	OH	OH	OH	OH	OH		<i>Centaurea</i>	
Petunidina	OMe	OH	OH	OH	OH	OH	<i>Petunia</i>	

D) FLAVANONAS

Son análogos de las flavonas con el anillo C saturado, se glucosilan principalmente por la unión de un disacárido en el carbono C7 constituyen un grupo minoritario en los alimentos.¹

Las flavanonas aparecen a altas concentraciones en cítricos y en tomates, también se encuentran en ciertas plantas aromáticas como la menta, se localizan mayoritariamente en las partes sólidas de la fruta, en particular en el albedo (membranas que separan los segmentos de las frutas) por ello, su concentración es hasta cinco veces mayor en la fruta que en los zumos.¹

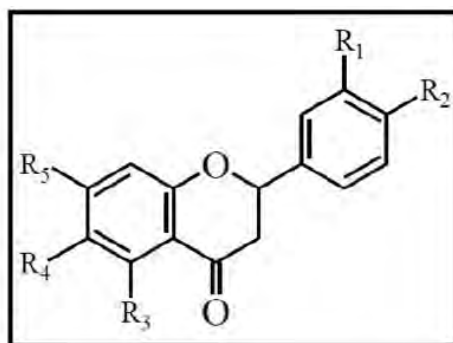


Figura 8: Estructura química básica de las flavanonas.²

Tabla V: Ubicación de los grupos OH en la configuración química de las flavanonas.

NOMBRE	R1	R2	R3	R4	R5	FUENTE	COMENTARIO
Pinocebrina			OH		OH	Pinus	Son encontradas exclusivamente en frutas cítricas
Liquiritigenina		OH			OH	Glycyrrhiza	
Naringenina		OH	OH		OH	Prunus	
Sakuratenina		OH	OH		OMe	Prunus	
Eriodictiol	OH	OH	OH		OH	Eriodictyon	
Hesperetina	OH	OMe	OH		OH	Prunus	

Se han identificado más de 5.000 flavonoides, entre los que se pueden destacar:

1.-Citroflavonoides: Quercitina, hesperidina, rutina, naranjina y limoneno. ⁶

La quercitina es un flavonoide amarillo-verdoso presente en cebollas, manzanas, brócolis, cerezas, uvas o repollo rojo (col morada). ⁶

La hesperidina se encuentra en los hollejos de las naranjas y limones. La naranjina da el sabor amargo a frutas como la naranja, limón y toronja, y el limoneno se ha aislado del limón y la lima. ⁶

2. Flavonoides de la soja o isoflavonoides: Están presentes en los alimentos con soja tales como porotos, tofu, leche, proteína vegetal texturizada, harina, los dos más conocidos son la genisteína y la daidzeina. ⁶

3. Proantocianidinas: Se localizan en las semillas de uva, vino tinto y extracto de corteza del pino marino. ⁶

4. **Antocianidinas:** Son pigmentos vegetales responsables de los colores rojo y rojo-azulado de las cerezas. ⁶

5. **Ácido eláxico:** Es un flavonoide que se encuentra en frutas como la uva y en verduras. ⁶

6. **Catequina:** El té verde y negro son buenas fuentes. ⁽⁶⁾

7. **Kaemferol:** Aparece en puerros, brócoles, rábano, endibias y remolacha roja. ^{2,3}

Sin embargo dentro de las plantas los estudios han mostrado que estas sustancias se encuentran la mayoría de las veces, ligados a moléculas de carbohidratos. ¹

A este tipo de combinación núcleo flavonoide básico más una o varias unidades de carbohidratos, se les denomina glicósidos, y cuando no tienen ligadas moléculas de carbohidratos se las denomina agliconas flavonoides. ¹

Los glucósidos pueden ser de dos clases:

1.- Con los carbohidratos ligados a través de átomos de oxígeno (enlace hemiacetal) es decir como O-glicósidos. ^{2,3}

2.- Con los carbohidratos ligados a través de enlaces C-C, es decir como C-glicósidos. De todas estas formas naturales, los O-glicósidos son los más comunes de hallar. ^{2,3}

1.2 DISTRIBUCIÓN

Los flavonoides se encuentran en frutas, verduras, semillas y flores, así como en cerveza, vino, té verde, té negro y soja, los cuales son consumidos en la dieta humana de forma habitual y también pueden utilizarse en forma de suplementos nutricionales, junto con ciertas vitaminas y minerales. ¹

Los flavonoides se encuentran también en extractos de plantas como arándano, ginkgo biloba, cardo, mariano, se ubican principalmente en las hojas y en el exterior de las plantas, apareciendo sólo rastros de ellos en las partes de la planta por encima de la superficie del suelo. ^{1,5}

Se han encontrado en las diferentes partes de las plantas, especialmente en las partes aéreas, se les encuentra en forma libre también llamados agliconas flavonoides, como glicósidos la mayoría de las veces, como sulfatos y algunas veces como dímeros y polímeros. ¹

1.3 BIOSÍNTESIS

En el reino vegetal la ruta biosintética de los flavonoides es una de las vías metabólicas más estudiadas, los caminos que llevan a su síntesis han sido caracterizados en detalle en numerosas especies vegetales. ⁶

La biosíntesis de los polifenoles (flavonoides) como producto del metabolismo secundario de las plantas tiene lugar a través de dos importantes rutas primarias: la ruta del ácido shikímico y la ruta de los poliacetatos³.

El ácido shikímico en su ruta metabólica proporciona la síntesis de los aminoácidos aromáticos (fenilalanina o tirosina), de los ácidos cinámicos y sus derivados (fenoles sencillos, ácidos fenólicos, cumarinas, derivados del fenilpropano) y la ruta de los poliacetatos proporciona las quinonas y las xantonas.³

Por otra parte la ruta del ácido shikímico es dependiente de la luz y se inicia en los plastos por condensación de dos productos típicamente fotosintéticos, la eritrosa-4-fosfato, procedente de la vía de las pentosas fosfato, y el fosfoenolpiruvato, originario de la glucólisis, tras diversas modificaciones, se obtiene el ácido shikímico, del que derivan directamente algunos fenoles. ³

La vía del ácido shikímico puede continuar con la adhesión de una segunda molécula de fosfoenolpiruvato, dando lugar a la fenilalanina, un aminoácido esencial propio del metabolismo primario de las plantas.³

La fenilalanina entra a formar parte del metabolismo secundario por acción de la enzima fenilalanina amonioliasa, que cataliza la eliminación de un grupo amonio, transformando la fenilalanina en el ácido trans-cinámico.³

Posteriormente, el ácido trans-cinámico se transforma en ácido p-cumárico por incorporación de un grupo hidroxilo a nivel del anillo aromático. La acción de una Coenzima A (CoA), la CoA-ligasa, transforma el ácido p-cumárico en p-cumaroilCoA, que es el precursor activo de la mayoría de los fenoles de origen vegetal.³

La ruta de los poliacetatos comienza a partir de una molécula inicial de acetilCoA, y a través de una serie de condensaciones se originan los poliacetatos, por reducción de los poliacetatos se forman los ácidos grasos, y por ciclación posterior se forman una gran variedad de compuestos aromáticos, como las quinonas y otros metabolitos que se generan a través de rutas mixtas.³

Las rutas mixtas combinan precursores tanto de la vía del ácido siquímico como de la ruta de los poliacetatos. Este es el caso de un importante grupo de moléculas biológicamente activas, denominadas genéricamente flavonoides.³

Biosintéticamente, los flavonoides pueden considerarse como tetracétidos de síntesis mixta, ya que utilizan el p-cumaril-CoA como molécula iniciadora, a la cual se unen tres moléculas de malonil-CoA, en una relación molar 1:3.³

El p-cumaril-CoA proviene de la ruta del siquimato-fenilpropanoide, y el malonil-CoA implica a la ruta del acetato-malonato. La vía del siquimato se utiliza para sintetizar compuestos aromáticos a partir de glúcidos, y proporciona los elementos básicos para la síntesis de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina y triptófano), así como de muchos otros compuestos aromáticos de gran importancia para los organismos productores. Esta vía solamente se lleva a cabo en plantas y microorganismos y es inducible por estrés.³

1.3.1 BIOSINTESIS DE LOS FLAVONOIDES PASO A PASO EN PLANTAS SUPERIORES

En las plantas superiores se origina en los cloroplastos

1.- A partir de fosfoenolpiruvato y eritrosa-4-fosfato. La entrada en la ruta de los fenilpropanoides se produce por la acción de la fenilalanina amino liasa, esta enzima, mediante un proceso de desaminación oxidativa, actúa sobre la L- fenilalanina dando lugar al ácido cinámico.

2.-Posteriormente, mediante la acción de la cinamato-4-hidroxilasa , el ácido cinámico es convertido al ácido p-cumárico, el cual es activado en forma de p-cumaroil-CoA gracias a la 4-cumaroilCoA-ligasa.

3.- A su vez, la ruta del acetato-malonato se inicia con la formación de malonil-CoA, a partir de acetil-CoA, mediante la acetil-CoAcarboxilasa.

3.1-Cuando la enzima que actúa es la esteril-sulfatasa (STS), el producto final de la reacción es el trans-resveratrol, liberándose cuatro moles de CO₂ por mol de resveratrol formado.

3.2-En el caso de la chalcona sintasa (CHS), se liberan 3 moléculas de CO₂ para formar naringeninachalcona o pinocembrina-chalcona (de tirosina o fenilalanina respectivamente).

4.- Después de esta reacción, la chalcona isomerasa (CHI) cicla a la naringenina o pinocembrina chalcona mediante una isomerización estereoespecífica para formar las flavanonas naringenina o pinocembrina.

5.-Tras ello, las flavanonas son modificadas por enzimas de la ruta de flavonoides para generar una amplia variedad de derivados.

Los flavonoides se sintetizan en las plantas y participan en la fase dependiente de luz de la fotosíntesis, por una ruta biosintética común, la que incorpora precursores de las rutas del shiquimato y la acetato- malonato, posteriores modificaciones ocurren en varios estados, lo que resulta en la extensión de la hidroxilación, metilación, isoprenilación, dimerización y glicosilación, produciendo O-glicósidos y C-glicósidos durante la cual catalizan el transporte de electrones. ^{1,4}

Los primeros estudios sobre la biosíntesis de los compuestos fenólicos y en particular de los flavonoides, se llevaron a cabo en organismos inferiores, más adelante se ha podido comprobar que en las plantas superiores se dan aproximadamente los mismos mecanismos de síntesis, sin embargo, su confirmación no puede realizarse con la misma precisión que en los microorganismos debido a la dificultad de incorporación de ciertos métodos analíticos.⁴

Como se mencionó anteriormente los flavonoides son metabolitos secundarios vegetales de origen biosintético mixto:

El anillo B y la cadena C₃ provienen de la ruta del ácido shikímico (figura 9). El anillo A proviene de la ruta de la malonil-CoA (figura 10).

Un tricétido se cicliza y se condensa con una molécula de ácido p-cumárico, la enolización del ciclo proveniente de la ruta de la malonilCoA da origen al anillo aromático A en las calconas y flavanonas estas a su vez son los precursores de las demás clases de flavonoides.^{1,4}

Es importante recalcar que este proceso de biosíntesis sustenta el hecho de que en la mayoría de flavonoides el anillo A es m-oxigenado, es decir como es característico de los anillos aromáticos originados por la vía de la malonilCoA y por otro lado, el anillo B proveniente de la ruta del ácido shikímico y generalmente es O-oxigenado.¹

En 1936 Robinson llegó a la conclusión de que los dos ciclos bencénicos de los flavonoides tenían diferente origen biogenético y que la molécula en C₆-C₃-C₆ resultaba de la condensación de una unidad de fenil – propano con el floroglucinol, para dar un precursor a partir del cual se formarían los diferentes tipos de flavonoides, se llegó a la conclusión de que los compuestos fenólicos se forman a partir de la glucosa por la vía del ácido shikímico.⁴

Por la vía del ácido sikimico se llega a la fenil alanina y a partir de ella se obtiene el anillo B junto con la cadena C₃.⁴

La formación del anillo A tiene lugar por caminos muy diferentes se obtiene por condensación de tres moléculas de ácido acético activado (acetil CoA) por carbonización del ácido acético activado se obtiene malonil-CoA que es la pieza clave en la síntesis del anillo A.⁴

La formación de los dos anillos bencénicos sigue con el proceso de unión de los mismos a través de la cadena C₃ dando lugar a las calconas, a partir de las calconas, por procesos de isomerización seguidos de hidroxilación, reducción y enolización se forman los diferentes flavonoides, flavonas, flavonoles, antocianos (figura 11).^{1,2,4}

La hidroxilación y metilación de los dos ciclos no está muy clara todavía. En el anillo A parece ser que la hidroxilación tendría lugar antes de la formación del anillo mientras que en el anillo B, el primer OH aparecería antes de la formación de la C₆-C₃ y los demás una vez formada la molécula.^{1,2,4}

En cuanto la metilación de los grupos hidroxilo (OH), se cree que es la metionina activada la que actúa como dadora de grupos metilo (CH₃).²

Su formación tiene lugar a partir de los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina y también de unidades de acetato por otro lado la fenilalanina y la tirosina dan lugar al ácido cinámico y al ácido parahidroxicinámico que al condensarse con unidades de acetato, originan la estructura cinamol de los flavonoides, posteriormente se forman los derivados glicosilados o sulfatados.^{1, 2,4}

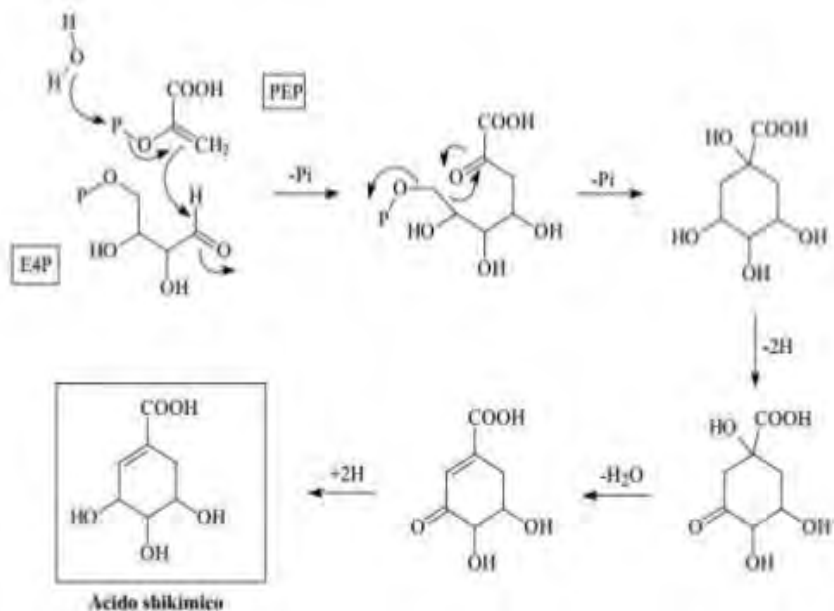


Figura 9: Ruta del ácido Shikímico conjunto de reacciones para la biosíntesis del ácido shikimico a partir de fosfoenol piruvato y eritrosa 4- fosfato, a partir de la formación del ácido shikimico se derivara la fenilalanina y otros compuestos para la síntesis de flavonoides.³⁰

La ruta de la manoil CoA tiene importancia debido a que la 4-cumaroil-CoA, (un producto central de la ruta fenil propanoide), es condensada con 3 moléculas de malonil CoA para formar naringenina-chalcona o pinocembrina chalcona (de tirosina o fenilalanina respectivamente) por la enzima CHS (chalcona sintetasa).³⁰

Después de esta reacción, la CHI (chalcona isomerasa) cicliza a la naringenina o pinocembrina chalcona mediante la isomerización estereoespecífica para formar las flavanonas naringenina o pinocembrina. Las flavanonas son ulteriormente modificadas por enzimas de la ruta flavonoide para generar una amplia diversidad de derivados (figura 10).

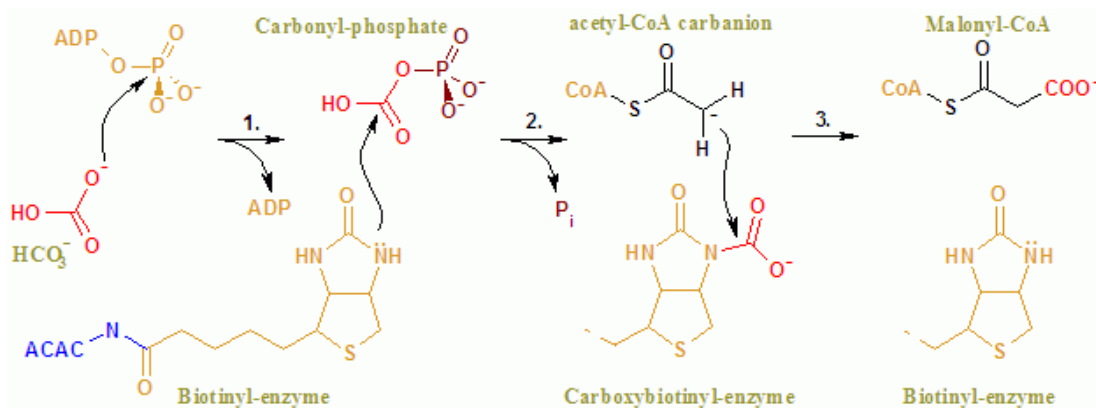


Figura 10: Ruta del manitoil CoA

Biosíntesis de la manoil co A a partir de acetil-CoA y de bicarbonato, reacción que consume ATP y que está catalizada por la acetil-CoA carboxilasa, enzima que requiere biotina como cofactor.³¹

1.3.2 INTERPOLACIÓN DE AMBAS VÍAS PARA LA SÍNTESIS DE FLAVONOIDES

Como ya se ha mencionado la ruta del ácido shikímico es de suma importancia en la síntesis de fenilalanina, que posteriormente por la fenil amonio liasa se convertirá en ácido cinámico, posteriormente a ácido p-cumárico y después a 4-cumaroil-CoA, el cual es condensada con 3 moléculas de malonil CoA para formar naringenina-chalcona o pinocembrina chalcona es aquí donde se han interpolado ambas vías biosintéticas de los flavonoides, por último se cicliza a la naringenina o pinocembrina chalcona mediante la isomerización estereoespecífica para formar las flavanonas que son modificadas por enzimas de la ruta flavonoide para generar una amplia diversidad de derivados (figura 11).

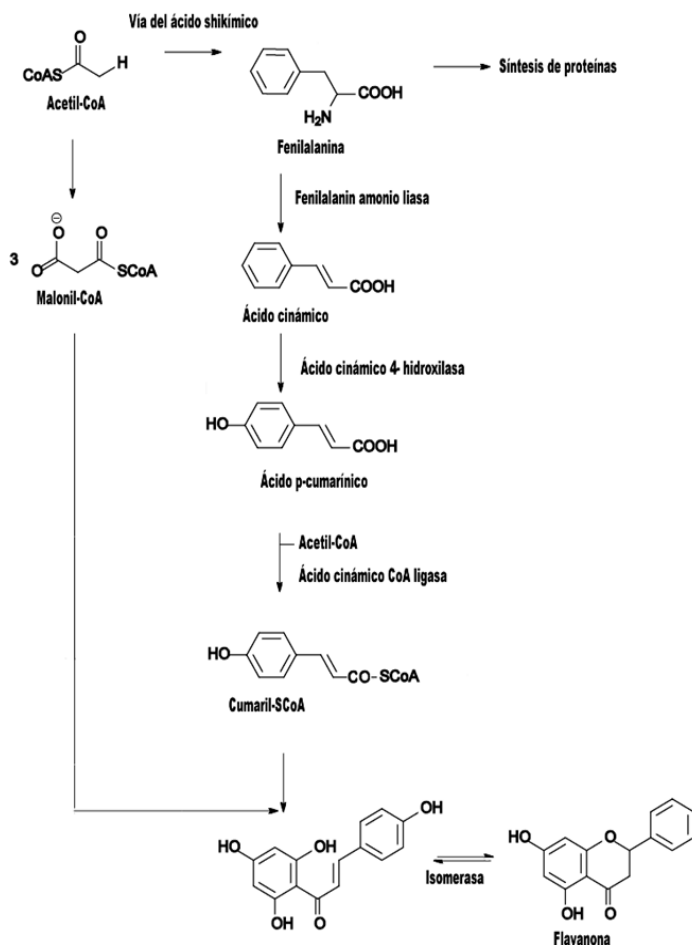


Figura 11: Combinación de los productos finales de ambas vías a la vía común para la biosíntesis de los flavonoides.³²

1.3.3 FIJACIÓN DE LAS MOLÉCULAS GLUCÍDICAS A LOS FLAVONOIDES

La estructura base de los flavonoides puede sufrir varias modificaciones como pueden ser:

Adicionar o reducir grupos hidroxilos, la metilación de grupos hidroxilos o del núcleo del flavonoide, metilación de grupos hidroxilos en posición orto, dimerización (para producir biflavonoides), formación de bisulfatos y la más

importante, glicosilación de grupos hidroxilos (para producir flavonoides O-glicósidos) o del núcleo del flavonoide (para producir flavonoides C-glicósidos).¹⁴

Los flavonoides generalmente se encuentran en las plantas como flavonoides O-glicósidos, en los cuales uno o más grupos hidroxilos del núcleo del flavonoide están unidos a azúcares.¹⁴

La glicosilación de los flavonoides trae consigo que estos sean menos reactivos y más solubles en agua.¹⁴

La fijación de las moléculas glucídicas no se sabe con seguridad si tiene lugar antes o después de la formación de la molécula del flavonoide, en el caso de los antocianos se admite que la fijación de la glucosa en el carbono 3 se puede dar antes de la formación de antocianidina confiriéndole estabilidad y que posteriormente se fijan a las demás moléculas glucídicas sin embargo en 1964 Conn aisló enzimas susceptibles de formar heterosidos a partir de aglicones.⁴

Aunque todos los grupos hidroxilos en el esqueleto flavonóico pueden glicosilarse, la hidrólisis en algunas posiciones presentan mayor probabilidad que en otras. El azúcar que generalmente está presente en los flavonoides es la glucosa, aunque también se pueden encontrar galactosa, ramnosa, xilosa, y el disacárido rutinosa.¹⁴

Los azúcares también pueden unirse al núcleo bencénico del flavonoide por enlaces carbono-carbono, con la diferencia de que el se realiza sólo a las posiciones 6 y 8 del núcleo del flavonoide y los azúcares que están presentes en estos compuestos son glucosa, galactosa, ramnosa y xilosa (figura 12 y 13).¹³⁻¹⁴

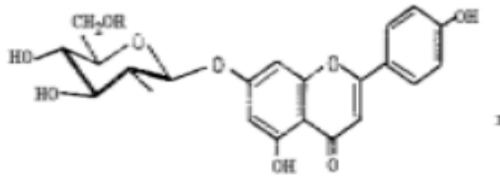


Figura 12: Formación de un o- glicósido de flavonoide Apigenina 7-O- β -D glicopiranosida.³³

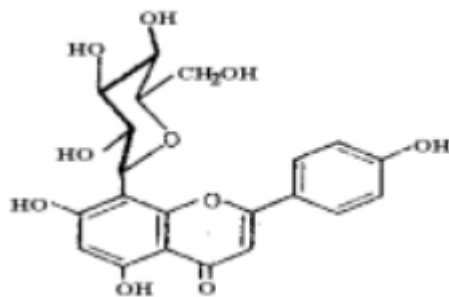


Figura 13: Formación de un C-glicósido de flavonoide Apigenina 7-O- β -D glicopiranosida.³³

1.4 FACTORES QUE ALTERAN LA SÍNTESIS DE LOS FLAVONOIDES

Existen ciertos factores ambientales y fisiológicos en relación con la biosíntesis de los flavonoides tales como la acción de la luz, la temperatura, la presencia o ausencia de ciertas sustancias en la planta que determinan un aumento o disminución del contenido de flavonoides.⁴

1.4.1 Luz

La luz es el factor más importante que influye en la síntesis de flavonoides, en 1958 Siegelman llegó a la conclusión de que la síntesis de antocianos

solo se producía cuando se mantenía a la planta bajo alternancia de periodos luminosos y oscuros y que no existía síntesis en oscuridad continua.⁴

En 1964 Shisa y Takano demostraron que los antocianos no se formaban a bajas intensidades de luz, en 1972 Stickland y Sunderland comparten la teoría de que la luz es esencial en la producción de antocianos y deducen que todas las longitudes de onda correspondientes al color azul son las que tienen mayor efecto en la síntesis de los flavonoides; Con luz azul los pigmentos se acumulan rápidamente mientras que con luz roja lo hacen con lentitud.⁴

El mecanismo de acción se da a conocer mediante estudios enzimáticos, ya que la actividad de las enzimas responsables de la conversión de la fenilalanina en los precursores del anillo B-fenil alanina amonio ligasa (PAL), cinnato hidroxilasa y p-cumarato coenzima A ligasa se ve incrementada al tratarlo con luz.⁴

Hoy se acepta que la luz no actúa en ambos caminos de la síntesis, sino que su mayor efecto esta en acelerar la conversión de la fenilalanina en cinamato para llegar al anillo B.⁴



Figura 14: Representación de la luz en la fotosíntesis factor que influye en la biosíntesis de flavonoides.³⁴

1.4.2 Temperatura

El factor temperatura influye en el sentido de provocar un aumento en la síntesis de antocianos, a medida que la temperatura va disminuyendo ya que la disminución de las temperaturas provoca un aumento de la síntesis de antocianos.⁴

Halevy en 1969 explican este fenómeno por la acción de un enzima polifenolasa cuya actividad disminuye al aumentar la temperatura disminuyendo en consecuencia la síntesis de antocianos.⁴

1.4.3 Factores fisiológicos

En el aspecto fisiológico Ribereau-Gayon vio que una movilización de reservas de la plantas con el consiguiente acumulo de glucosídos provocaba una rápida síntesis de antocianos.⁴

Rutland y Walters hablan también de la posibilidad de considerar la insuficiencia de azúcares como factor limitante en la síntesis.⁴

1.5 METABOLISMO

El metabolismo de los flavonoides es intenso y una parte importante se excretan por la orina.²

La transformación de los flavonoides tiene lugar en dos localizaciones: En primer lugar en el hígado, por medio de reacciones de biotransformación de fase I en las que se introducen o exponen grupos polares.³

En segundo lugar en el colon mediante reacciones de biotransformación de fase II, en las que los microorganismos degradan los flavonoides no absorbidos. La conjugación con el ácido glucurónico, sulfatos, o glicina, parecen tener lugar tanto para los flavonoides como para sus metabolitos

procedentes del colon, los conjugados, solubles en agua, pueden excretarse por la orina. ^{2, 3,5}

1.6 FUNCIONES

Desempeñan un papel importante en la biología vegetal; así, responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas. ⁵

Otras funciones incluyen un papel antifúngico y bactericida, confieren coloración, lo que puede contribuir a los fenómenos de polinización y tienen una importante capacidad para fijar metales como el hierro y el cobre. ⁵

Las funciones de los flavonoides en las plantas se pueden resumir en tres grupos: papel de defensa, papel de señal química y efecto sobre las enzimas. ⁵

Los flavonoides juegan un papel en la defensa de las plantas frente a agentes agresores externos. ¹

Entre estos agentes se puede mencionar la radiación UV de los rayos solares, los microorganismos tanto bacterias, como hongos e insectos y otros animales herbívoros de hecho, el metabolismo fenólico se activa en las plantas a nivel de transcripción como una respuesta a diferentes condiciones de estrés tanto biótico como abiótico. ¹

Los flavonoides actúan como señales químicas o marcadores florales que sirven para guiar a las abejas y otros insectos polinizadores hacia el néctar, facilitando indirectamente la polinización. ¹⁻²

En algunos casos indican a los insectos que la planta que los contiene es apropiada para su alimentación, comportándose como estimulador del apetito y de la masticación de determinados insectos; en otros casos indica

al insecto que la planta que los posee es un lugar apropiado para depositar sus huevos, por lo que los flavonoides actúan como estimuladores de la oviposición.¹⁻²

El papel de los flavonoides y otras sustancias fenólicas en la protección frente a los ataques por hongos puede producirse de dos formas.¹⁻²

Primero, las sustancias anti fúngicas se pueden encontrar ya presentes en los tejidos de las plantas. Este es el caso de muchos flavonoides de naturaleza lipofílica (flavonas, flavanonas e isoflavanonas polimetoxiladas y/o isopreniladas) que presentan una actividad anti fúngica muy considerable y que constituyen verdaderas barreras frente a la penetración de los hongos patógenos.¹⁻²

Otros flavonoides muestran efectos directos o indirectos sobre las enzimas de las plantas afectando su fisiología y metabolismo.²

1.7 FARMACOCINÉTICA

Los flavonoides son compuestos que no son lipofílicos y, en adición, la presencia de los grupos fenólicos tanto los conjugados sulfatados como los glicosilados, facilitan la eliminación.³

Antes de ser absorbido, un flavonoide es dividido, dando por resultado, por una parte su aglicona y por otro su glicósido; teniendo este último mayor solubilidad en agua se absorbe rápidamente, sin embargo la aglicona puede tardar hasta tres horas en ser absorbida.³

Por lo que en promedio las concentraciones pico de los flavonoides se da a las 1.75 horas, consiguen una distribución homogénea en todos los tejidos corporales, incluso logran atravesar la barrera hematoencefálica permitiendo mayor paso, por supuesto, a los flavonoides más lipofílicos (como la naranjina) y su transportación.³

Los flavonoides sufren metabolismo de primer paso y sus metabolitos, excretados por la bilis, aunque se reabsorben ya no tienen funcionalidad.³

Logrando una biodisponibilidad del 1.5% en comparación con la administración intravenosa, es intensa la transformación de los flavonoides, llevándose a cabo en dos sitios:

1) Hígado, por medio de reacciones de biotransformación de fase I, en las que se adicionan o exponen grupos polares.³

2) Colon, mediante la fase II de la biotransformación, en donde la microbiota intestinal degrada los flavonoides no absorbidos y son conjugados con glicina, ácido glucurónico y sulfatados.³

La excreción se sucede después de que se forman estos conjugados y por dos salidas:³

1.-Los no solubles en agua se excretan junto con la bilis al duodeno, 2.-Los solubles a las vías urinarias con la orina, siendo esta última la salida predominante.³

Pero al final lo que importa es la ruta por la cual se metabolizaron; pues si un flavonoide sólo es glucosídado se excretará por vía renal (como la catequina), pero si es metilado y sulfatado será excretado por la vía hepática (como la quercetina).³

1.8 ACCIÓN BIOQUÍMICA DE LOS FLAVONOIDES EN LOS SISTEMAS ANIMALES

La alta reactividad química de los flavonoides se expresa en su afinidad de enlace a polímeros biológicos e iones de metales pesados así como su habilidad para catalizar el transporte de electrones y secuestrar radicales libres.¹

Los flavonoides inhiben una numerosa variedad de enzimas entre las que se encuentran:

- Hidrolasas: β -glucoronidasa, hialuronidasa, fosfatasa alcalina, aril-sulfatasa, ATPasa (subconjunto de enzimas que son capaces de producir la hidrólisis del adenosín trifosfato (ATP) en adenosín difosfato (ADP) y un fosfato inorgánico (Pi) de las membranas lisosomal y granular
- Ligasas: DOPA decarboxilasa (inividor generalmente usado con dopamina).
- Transferasas: catecol o metiltransferasa •
- Hidroxilasas: aril hidrocarburo hidroxilasa •
- Oxidoreductasas: aldosa reductasa •
- Quinonas: hexoquinasas. ¹

Los flavonoides son capaces de suprimir la formación de radicales libres por enlace con iones de metales pesados, los cuales catalizan muchos procesos conllevando a la aparición de radicales libres. ¹

1.9 ACCIONES FARMACOLÓGICAS DE LOS FLAVONOIDES

En su relación con el hombre, estas sustancias presentan una serie de actividades farmacológicas, dependiendo de ciertas características de su molécula, entre las que se destaca su actividad sobre el sistema circulatorio, que conduce a una disminución de la fragilidad capilar y previene la formación de varicosidades mejorando la circulación periférica, lo cual es la primera manifestación en los procesos inflamatorios. ⁴

La inflamación se conoce que está acompañada por la liberación de prostaglandinas, las cuales atraen a los leucocitos al punto de invasión por quimiotaxis, provocando dolor local y después los transporta en la sangre

hacia el cerebro, por lo que se eleva la temperatura corporal por desplazamiento del balance del centro de regulación térmica. ⁴

La causa del dolor puede ser por inflamación o por una tensión nerviosa: en el primero de los casos la explicación es la misma que la anterior y en el último una razón lógica puede ser la relajación por los flavonoides de los músculos lisos, los cuales han sido encogidos por calambres a través de la acción de las prostaglandinas, que son compuestos que estimulan la concentración de los músculos de fibra lisa. ^{2,4}

CAPITULO 2 LOS FLAVONOIDES Y SU FUNCION ANTIBACTERIAL

2.1 LOS FLAVONOIDES Y SU FUNCIÓN ANTIBACTERIAL

A los flavonoides se le atribuyen muchas funciones y aplicaciones ya sea anti inflamatoria, antioxidante y antibacterial entre otras, esta última es el objetivo principal de la investigación así como su correlación con su uso terapéutico en la cavidad oral. ⁷

Las principales enfermedades de la cavidad oral están íntimamente relacionadas con microorganismos por lo cual existen una serie de medidas preventivas para un buen control de placa bacteriana y día a día se incrementan estudios relacionados con sustancias naturales por el gran beneficio de estos respecto al coste del producto y la accesibilidad, por ejemplo en un estudio realizado en 2009 se encontró que el té verde una planta nativa de Asia tiene en su contenido gran cantidad de polifenoles, los cuales tienen una gran actividad antibacteriana y anticancerígena,

igualmente combate el mal aliento (halitosis) por la reducción del hidrógeno sulfatado (H₂S).⁸⁻¹⁰

Por otro lado se ha demostrado que los taninos y el flúor que contiene el té afecta al crecimiento, adherencia y almacenamiento de polisacáridos intracelulares, así como la inhibición de la acción enzimática y la inhibición de la producción de ácido láctico.^{8,9}

El ácido tánico inhibe también la síntesis de dextranos solubles e insolubles por las cepas de *Streptococcus mutans*, los polifenoles confieren efecto inhibitorio del desarrollo de *Streptococcus mutans* y sobre hongos, llegando a establecer una clara relación entre la no proliferación de placa bacteriana con el uso de infusiones concentradas de té verde.^{8,9}

Otro estudio sobre el té verde y los flavonoides indica que los polifenoles contenidos en el té verde permiten combatir agentes patógenos como cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes, *Streptococcus mutans* y *Porphyromonas gingivalis*, esto debido a la presencia de taninos que inhiben la síntesis de dextran.^{9,10}

Este estudio demostró que con un colutorio al 10 % de concentrado de té verde (10gr/100ml) reducía en un 99 % de los casos la presencia de microorganismos en la cavidad oral ya fuera inmediatamente después del colutorio así como también a los 30 minutos después.⁹

Se obtuvo una inhibición de la producción de ácidos y de enzima glucosiltransferasa, llegando a la conclusión de que la mayoría de los polifenoles contenidos en el té verde son una clase de flavonoides comúnmente conocidos como catequinas como epicatechin, epicatequina-3-galato, epicatequina-3-gallato, epigallocatequina y epigallocatequina-3-galato, mostrando gran actividad del colutorio sobre la cavidad oral.⁹

Un estudio similar pero de *Caesalpinia spinosa* (tara) demostró que en su composición presenta flavonoides y taninos de un 30% a 60 % en sus frutos puede ayudar en concentraciones de 6.25 a 17.5 mg/ml contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus oralis*.¹¹

In vitro se comprobó que a una concentración de 75mg/ml generaba halos de inhibición bacteriana de 17.32 mm, siendo esta concentración la más efectiva contra la flora mixta salival actuando más eficientemente en bacterias Gram +, bacterias patógenas orales como *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus salivarius*.¹¹

En un artículo sobre flavonoides aislados del NOA se reportó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y determinación de actividad antimicrobiana en medio sólido con diferentes microorganismos a una concentración fija de 200 mg/ml halos de inhibición de crecimiento así como determinación de la concentración inhibitoria mínima en líquido que los flavonoides aislados de la muestra de *Tagetes* (Quercetagina-7-O-glucosido, quercetagetina-7-O-arbinosil galatosido).¹⁵

La actividad microbiana resultó similar, se observó que las bacterias Gram negativas ensayadas fueron más sensibles y se detectaron diferencias en la acción de compuestos sobre cepas mutantes de *Escherichia coli* y cepas con sistemas de reparación.¹⁵

La actividad de ambos compuestos purificados resultó ser similar frente a casi todos los organismos ensayados con la excepción de un mayor efecto de quercetagetina frente a *Pseudomonas aeruginosa* y la ausencia de actividad de quercetagetina 7-O-ar-gal frente a *Proteus vulgaris*, no se detectó actividad de ambos compuestos frente a *Zymomona*, *Lactobacillus* ni *Saccharomyces*.¹⁵

La sensibilidad que estos compuestos muestran por las cepas Gram negativas, podrían deberse al hecho que, siendo los glucósidos menos lipofilicos, no quedarían atrapados en la barrera lipídica de estos microorganismos, se conoce también que las bacterias Gram positivas poseen una capa externa de peptidoglicanos y su pared celular mientras que los microorganismos Gram negativos poseen una delgada capa de peptidoglicanos mas una membrana externa de lipopolisacáridos, este hecho determina que ambos microorganismos respondan en forma diferente a la presencia de los antibióticos.¹⁵

La actividad antibacteriana encontrada en un flavonol- 7-O-glicosilado por primera vez, hacen de la quercetagina-7-O-glu un promisorio agente antimicrobiano a tener en cuenta con buena biodisponibilidad en humanos.¹⁵

Estudios recientes sobre absorción intestinal realizados con glucósidos de flavonoides demuestran que los derivados monoglicosilados son absorbidos sin que se produzca la ruptura del enlace β -glucosídico ya que es resistente al pH estomacal y a las enzimas pancreáticas.¹⁵

En otro artículo reportado sobre propolio en regiones de Venezuela y México donde se obtuvieron 300 muestras a partir de fuentes vegetales se demostró que el propóleo tenía un potencial antimicrobiano siendo *Staphylococcus aureus* el microorganismo más sensible.¹⁶

La actividad antimicrobiana del propóleo se debían principalmente a los flavonoides como la pinonsebrina, galangina, pinovaskina y al ether bencil del ester fenil del ácido caféico que es el componente activo del propóleo que ejerce gran variedad de cambios biológicos en diversos sistemas como la respuestas inmunomoduladoras, antiinflamatorias y antibacteriales.¹⁶

El uso de los flavonoides contra infecciones bacterianas y fúngicas tiene como objetivos matar las células de los microorganismos o dificultar los efectos de difusión de las toxinas bacterianas.¹⁶

Los resultados concluyeron que las bacterias Gram positivas son más susceptibles a los flavonoides, ya que se encontró que el 50 % de las muestras inhibieron en más de 12 mm las cepas de *Staphylococcus aureus* concluyendo que el diámetro del halo de inhibición depende del contenido de flavonoides del concentrado utilizado.¹⁶

La preparación de los extractos del propóleo se realizó según la metodología descrita por Parck en cada muestra mensual recolectada la cual tenía una concentración de 15mg/ml.¹⁶

El contenido de flavonoides se evaluó con balones volumétricos de 25 ml y la realización de antibiogramas con líneas estandarizadas con bacterias de prueba en medio agar Muller – Hinton sometidas a la acción del EEP (extracto de propóleo) en discos de papel de 5 mm de diámetro teniendo uno control impregnado con alcohol al 70 % e incubadas a temperatura de 34 °C durante 24 hr, la presencia del halo de inhibición indicaba en mm si las bacterias fueron sensibles al EEP y la ausencia de halo indicaba resistencia al mismo.¹⁶

Al analizar en el artículo diferentes especies y tipos de abeja, se arrojó que la efectividad del propóleos así como su contenido de flavonoides dependía del tipo y especie de abeja significativamente así como también el mes de recolección del propóleo teniendo un mayor contenido de propóleo durante los meses de enero a marzo, esto pudiera deberse al contenido de resinas en el momento de ser recolectados.¹⁶

Sin embargo, todos los propóleos reportados inhibieron fuertemente el crecimiento antimicrobiano tanto de *Micrococcus luteus* y *Staphylococcus aureus* en halos de rango de 7.9 a 12mm.¹⁶

Los resultados de todos los EEP evaluados muestran actividad antimicrobiana variable dependiendo del tipo de abeja productora, la región, el mes de recolección, la cantidad de resinas al momento de recolección, tipo de microorganismo como factores importantes.¹⁶

En general la actividad antimicrobiana de los propóleos es atribuida al contenido de flavonoides (flavonas y flavononas) sin embargo en este artículo se mostró que la presencia de estos osciló entre el 0.20 al 0.32 lo que quizá pudiera sugerir que existen otros factores que influyen en la actividad antibacteriana de los propóleos.¹⁶

La actividad antimicrobiana de los flavonoides puede deberse en su mayoría a la concentración de ácidos aromáticos cafeicos y p-cumarico presentes en los propóleos lo cual los sugiere como refuerzo de algún tratamiento para patologías infecciosas. .¹⁶

En otro artículo, se investigó el propóleo en Perú, específicamente en la región valle de Oxapampa, el estudio estuvo enfocado en bacterias de la cavidad oral y las propiedades más importantes del propóleo en ellas así como su actividad antibacterial atribuida a los flavonoides, la investigación se enfoca en determinar la acción antibacteriana del extracto etanólico de propóleo (EEP) de Oxapampa - Perú frente a dos cepas de microorganismos presentes en la cavidad oral a saber *Staphylococcus aureus* y el *Streptococcus mutans*.¹⁷

El estudio, fue de tipo experimental *in vitro*, estuvo conformada por 16 cultivos de las cepas de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus* con propóleo extraído de la región de Oxapampa – Perú, se demostró que los

flavonoides aglicoles considerados como los principales componentes fenólicos están asociados a los efectos beneficiosos del propóleo, sin embargo, la composición de los componentes de la actividad biológica de este depende del origen de la muestra de propóleo.¹⁷

Algunos estudios han reportado que ciertos flavonoides presentan actividad biológica contra microorganismos orales y mencionaron que el propóleo inhibía *in vitro* la actividad de la formación del glucano y la glucosiltransferasa demostrando la actividad antibacteriana contra el *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*.¹⁷

La muestra del estudio estuvo conformada por cultivos de las cepas de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*, el tamaño de la muestra fue determinado en base a la prueba piloto donde se formaron cuatro grupos experimentales, utilizando el Método de Kirby-Bauer y la medición de los halos de inhibición.¹⁷

La actividad antimicrobiana fue determinada por la formación del halo inhibitorio alrededor de los discos medida mediante una regla vernier, el cual, determinó la cantidad en milímetros del diámetro del halo de inhibición y mostró que el EEP (extractos etanólicos de propóleos) al 30% tuvo una mayor actividad antimicrobiana *in vitro* que el EEP (extractos etanólicos de propóleos) al 10% frente al *Staphylococcus aureus*.¹⁷

Además, se evidenció que la actividad antibacteriana al 10% y 30%, en comparación a los controles positivos, hubo diferencia significativa ante la clorhexidina al 0,12% y ante la amoxicilina, tal vez esto se debió a que estos controles son altamente específicos para las cepas utilizadas en el estudio.¹⁷

Se evidenció una máxima acción antibacteriana a las 24 horas de incubación comparándola con las demás muestras, sin embargo, el tiempo de exposición de las bacterias al propóleo es una variable importante en la evaluación de la actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*, adicionalmente, al evaluar la acción antibacteriana del EEP a las 48 horas, esta disminuye en su capacidad para inhibir microorganismos. ¹⁷

Al 10% y 30% empleados en el presente estudio se evidencia el potencial en la estomatología sin embargo, una de las limitaciones del propóleo es su variabilidad en composición y acción como consecuencia de variaciones en la flora de la región donde es producido, pero la acción antibacteriana siempre estará presente porque es de vital importancia para las abejas, independientemente de la región donde el propóleo es producido. ¹⁷

Otra de las posibles limitaciones en el uso del EEP sería su toxicidad aunque no hay estudios que afirmen o refuten su biocompatibilidad en la Estomatología por lo antes expuesto, el presente estudio sirve como base para que posteriormente se continúe ampliando los conocimientos sobre el propóleo y su uso potencial en la prevención y tratamiento de ciertas patologías de la cavidad oral por lo tanto, la acción antibacteriana observada del EEP sugiere como importancia su uso como un complemento en el control de ciertos patógenos orales. ¹⁷

CAPITULO 3 EFECTO DE LOS FLAVONOIDES SOBRE BACTERIAS ESPECIFICAS

3.1 EFECTO DE LOS FLAVONOIDES SOBRE BACTERIAS ESPECÍFICAS

Streptococcus mutans

Streptococcus mutans es una bacteria Gram positiva, anaerobia cuyos principales hábitats son boca, faringe, etc. Tienen un papel central en la etiología de la caries dental debido a que estas pueden adherirse a la película salival en esmalte y a otras bacterias de la placa bacteriana. Por lo general, la aparición de *Sreptococcus mutans* en las cavidades de los dientes es seguido por caries después de 6 a 24 meses.¹⁸

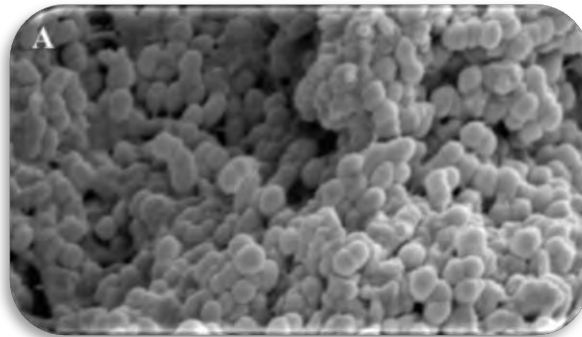


Figura 15: *Streptococcus mutans* visto bajo microscopía electrónica³⁵

El *Streptococcus mutans* presenta un nivel muy elevado de aciduria y acidogenicidad en comparación con el resto de microorganismos de la placa bacteriana; es capaz de formar polisacáridos extracelulares no solo en presencia de sacarosa sino también a partir de la fructosa y la glucosa esto le confiere además gran virulencia ya que aglutinan a las bacterias de la placa, promueven la colonización en la superficie dental y cambian las propiedades de difusión de la matriz de la placa bacteriana tabla VI.¹⁸⁻²⁰

Tabla VI Identificación bioquímica de *Streptococcus* orales

Identificación Bioquímica de Streptococcus orales*					
CEPA	Estulina	Inulinta	Manitol	Rafinosa	Sorbitol
<i>S. sanguinis</i>	-	+	-	-	-
<i>S. mutans</i>	+	+	+	+	+
<i>S. sobrinus</i>	+	+	+	+	+

Koneman, 2005

El efecto antibacteriano de los flavonoides se atribuye a la presencia de un alto contenido

de compuestos fenólicos, principalmente flavonoides y ácidos fenólicos, y a la posible interacción individual o sinérgica de cada una de las estructuras que los conforman.^{18,20}

Generalmente el mecanismo de acción antibacterial de los flavonoides para el *Streptococcus mutans* que es una bacteria Gram positiva se ha estudiado a las catequinas, las cuales actúan y dañan principalmente las membranas bacterianas, esto fue presentado mediante dos teorías en primer lugar, las catequinas pueden perturbar las bicapas lipídicas penetrando directamente e interrumpir la función de la barrera, Alternativamente las catequinas pueden causar la fusión de la membrana en un proceso que resulta en la fuga de materiales intramembranosos, este último proceso estudiado

explica por qué la baja susceptibilidad de las bacterias Gram negativas por la presencia de los lipopolisacáridos que actúan como barrera.²⁰⁻²²

3.2 INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS Y DEGRADACIÓN DE LA MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

Se ha demostrado que los flavonoides presentes en el propóleo que inhibían el ADN dependiente de la ARN polimerasa sin embargo, el mecanismo de acción del propóleo sobre estos microorganismos en aquel parecía ser muy complejo por lo que se realizaron un estudio con precursores radiactivos y encontraron que los flavonoides robinetina, miricentina y epigallocatequina, inhibieron la síntesis de ADN, mientras que para *Staphylococcus aureus* se inhibió la síntesis de ARN, aunque la síntesis de proteínas y lípidos también fueron afectadas, pero en menor grado.²⁰⁻²²

Posteriormente, Ohemeng en 1993, evidenciaron la actividad inhibitoria de la estructura de 14 flavonoides contra la ADN girasa enzima participante en la replicación del ADN^{20,21}

La ADN girasa de *Escherichia coli* fue inhibida por sólo siete de los compuestos, entre ellos quercetina, apigenina y 3, 6, 7, 3, 4 pentahidroxiflavona.^{20,21}

La actividad antibacteriana (relación estructura actividad) de algunos compuestos polifenólicos tomando como referencias Apigenina y Naringenina; Kaempferol y Quercetina con hidroxilación en los grupos 5, 7 y 4'.^{20,21}

La estructura de las flavanonas, presenta mayor actividad en la sustitución de la posición 6 u 8 con una larga cadena de grupos alifáticos tales como lavandulilo (5-metil-2-isopropenil-hex-4-enil) o geranil (trans-3,7-dimetil-2,6-

octadienil) también presentan actividad antibacteriana; 3, 5, 7-trihidroxi flavona (Galangina), acción por actividad lipofílica.^{20,21}

Para *Streptococcus mutans* *Streptococcus sobrinus* y otras especies, la sustitución de 1, 2 o 3 grupos hidroxilos en los grupos 7, 2', y 4' del 5-hidroxi flavanonas así como Isoflavonas con grupos hidroxilos en posición 5, 2' y 4', presentan actividad, sugiriendo que la hidroxilación 2' es importante para la actividad antimicrobiana. Para bacterias orales se da hidroxilación en el grupo 2' del flavonoide lo que resulta efectivo para su actividad antimicrobiana.²⁰⁻²²

Los enlaces de hidrógeno de los ácidos nucleicos con el anillo B del flavonoide, son indispensables para inhibir la síntesis de ácidos nucleicos (ADN y ARN) para *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* y *Stenotrophomonas maltophilia*; *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus dysenteriae* y *Salmonella typhimurium*

La DNA girasa fue inhibida en *Escherichia coli* por los flavonoides quercetina, apigenina y 3, 6, 7, 3', 4'-pentahidroxi flavona, la enzima se limitó a compuestos con B-hidroxilación del anillo.^{19,20,21}

Por otro lado el ácido p-cumárico, posee alta permeabilidad en la membrana bacteriana e interacciona con los pares de bases del ADN, lo que resulta en una mayor actividad antimicrobiana.^{19,20}

Ésteres de ácido ferúlico, presentaron actividad antibacteriana; utilizando un modelo de membrana de liposomas, se encontró que este compuesto perturbó la bicapa lipídica, alterando la función de barrera y en algunos casos, se redujo el espacio intraliposomal causando la fusión de membranas, y provocando fuga y agregación de material intramembranoso.^{19,20}

Se demostró que quercetina y naringenina incrementan la permeabilidad y disipan el potencial de la membrana bacteriana (fuerza motriz de protones), disminuyendo la resistencia bacteriana a los antibióticos. ¹⁹⁻²¹

Estos flavonoides también inhibieron la motilidad bacteriana, factor importante en la virulencia. Posteriormente, Takaisi-Kikuni y Schilcher 1994, encontraron que, pinocembrina, galangina y CAPE causan bacteriolisis parcial previniendo la división celular, desorganizando el citoplasma y la pared celular, y por inhibición de síntesis de proteínas y ARN polimerasa. ^{20,21}

En estudios más recientes, Cushnie y Lamb (2005b), reportaron que la galangina incrementa la pérdida de potasio en *Staphylococcus aureus*, degradando la membrana citoplasmática de las bacterias por lisis osmótica. ^{20,21}

Lou et al., encontraron que el ácido p-cumárico (10-80 µg/mL) inhibe el crecimiento bacteriano, lo cual fue correlacionado con un aumento en la permeabilidad de la membrana bacteriana e inhibición del ADN. ^{19,20,21}

Orsi et al., reportaron que los EEP tienen marcados efectos sinérgicos con algunos antibiótico por su acción sobre la pared celular, resultado que es de gran importancia en la medicina, ya que el costo de los antibióticos puede ser reducido. ^{20,21,22}

Eumkeb et al., evaluaron la actividad sinérgica de luteolina y amoxicilina contra *Escherichia coli* encontrando que existe un efecto sinérgico debido a la combinación del propóleos y amoxicilina, además, esta combinación alteró la permeabilidad de la membrana, tanto en el interior como el exterior. ^{20,21}

De acuerdo a estas investigaciones, se puede establecer que algunos de los mecanismos de acción antimicrobiana de los flavonoides y ácidos fenólicos

están estrechamente relacionados al tipo de compuesto, efecto sinérgico y a su estructura. ^{20,21}

Sin embargo, también es posible establecer que cada compuesto posee un punto de acción diferente en las bacterias. ¹⁹⁻²¹

Porphyromonas gingivalis

Porphyromonas gingivalis es una especie de bacilo Gram negativo pequeño (cocobacilos), no móvil, anaerobio estricto, asacarolítico, que forma colonias uniformes de coloración verdosas, pardas o negras debido a la hemina que almacena en la superficie celular. ²³

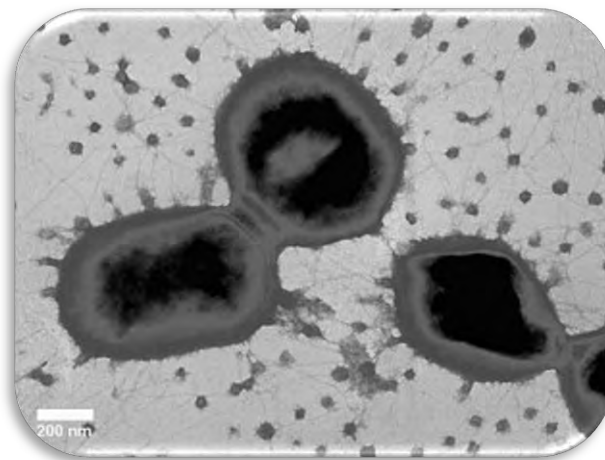


Figura 16: Cultivo de *Porphyromonas gingivalis* ³⁶

Crece en complejos carbohidratados y proteícos, los principales productos de fermentación son n-butilato, propionato, acetato, y en menor cantidad iso-valerato, iso-butilato, succinato y fenilacetato. ²³ Estos productos finales explicarían muchos de los malos olores asociados con infecciones orales. ²³

Como se mencionó anteriormente, *Porphyromona gingivalis* es un importante miembro de la microbiota periodontal, involucrado tanto en la progresión de la periodontitis, como en los procesos de destrucción de hueso y tejido.²³

También, puede producir severas infecciones extraorales, incluyendo mediastinales, de planos faciales, cerebro y abscesos pulmonares, enfermedades cardiacas, parto prematuro y bajo peso al nacer.²³

Porphyromonas gingivalis es comúnmente detectada en pacientes jóvenes con gingivitis, y pacientes adultos con periodontitis, usando métodos inmunológicos y de biología molecular (PCR).²³

Esta especie también se ha encontrado en placas supragingivales maduras, de pacientes jóvenes con o sin destrucción periodontal, sugiriendo que es un patógeno de tipo oportunista, para el cual no está claro aún, si es de origen endógeno o exógeno²³

Los fenoles, flavonas y flavonoides principalmente pinocembrina y galangina poseen la propiedad de inhibir el crecimiento in vitro de la bacteria periodontopatgena *Porphyromonas gingivalis*.^{20,21,22,23}

Siendo esta bacteria una especie anaeróbica estricta, Gram negativo, sus propias características fisiológicas podrían determinar la mayor concentración de flavonoides requerida para inhibir su crecimiento.^{22,23}

Dado que se trabajó con sólo una de las especies de periodontopatógenos más relevante, podría ser interesante, como lo demuestra este estudio, estandarizar las condiciones del ensayo para aplicarlo a otros periodontopatógenos, que en general requieren sistemas de cultivo exigentes, o incluso, a la microbiota total cultivada.^{20,21,22,23}

CAPITULO 4 COLUTORIOS DENTALES

4.1 COLUTORIOS DENTALES Y SU FÓRMULA QUÍMICA COMERCIAL

Un colutorio antiplaca es un agente químico anti-microbiano , vehiculizado en forma líquida para poder ser utilizado en la cavidad oral. Los agente químicos antimicrobianos deben ser capaces de destruir microorganismos, inhibir su reproducción o su metabolismo.²⁴

Muchos son bactericidas y algunos bacteriostáticos, se han atribuido numerosas acciones a los colutorios; Entre ellas, la de controlar la caries dental, la sensibilidad dentinaria y la halitosis.

Una de las principales indicaciones de los mismos es el control de la placa bacteriana.²⁴

4.2 CLASIFICACIÓN DE LOS COLUTORIOS

Debido a la enorme cantidad de productos expertos en la materia se reunieron en 1993 en un Workshop Europeo titulado “Control químico de la placa para la prevención de las enfermedades periodontales”, tras el cual, se definió y clasifico un gran grupo de compuestos anti placa.²⁴

Con antibióticos:

Los antibióticos son moléculas o agentes producidos por microorganismos que tienen capacidad de matar o inhibir el crecimiento de otros microorganismos, el empleo de antibióticos en el tratamiento de la

enfermedad periodontal se ha sugerido desde el mismo instante de su aparición, y prácticamente todos han sido usados o probados para tal efecto siendo algunos los que se han descartado, permaneciendo las tetraciclinas y el metronidazol como los más usados por vía local y sistémica.²⁴

A pesar de la evidencia de su eficacia contra la caries y la gingivitis, no deberían utilizarse como agentes preventivos de estas enfermedades por los riesgos que suponen (resistencias bacterianas, sobreinfecciones por *Candida*, alteraciones de la flora intestinal, entre otras.).²⁴

Con enzimas:

Moléculas con acción proteolítica con las que se pretendía conseguir inhibición bacteriana, sin embargo, esto no se ha podido demostrar en la cavidad, están carentes de estudios y hoy en día no se utilizan.²⁴

Con bisbiguanidas:

Son compuestos químicos de gran importancia que presentan un amplio espectro de acción, siendo activos frente a bacterias Gram + y Gram -, hongos y levaduras. El representante más conocido de este grupo es la clorhexidina.²⁴

La clorhexidina es el agente antimicrobiano más estudiado, capaz de mantener las superficies dentarias libres de placa al utilizarlo bajo un régimen recomendado sin embargo esta presenta un sin número de ventajas y desventajas (tabla VII).²⁴

El cual está reconocido por la ADA como agente antimicrobiano.²⁴

Tabla VII ventajas y desventajas de la clorhexidina en los colutorios dentales:

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none">• Disminuye los índices de placa entre un 50-55%• Disminuye la gingivitis en un 45%• Puede ser efectiva después del raspado y alisado radicular, la profilaxis o la cirugía periodontal, controlando la inflamación y la formación de placa subgingival.	<ul style="list-style-type: none">• Tinciones de dientes, restauraciones estéticas (composites) y lengua• Altera el sentido del gusto.• Descamación de la mucosa oral.• Favorece el depósito de cálculo supra y subgingival.• Algunas reacciones alérgicas.• Reducción neta de la flora bucal.• Aparición de resistencias si se utiliza durante largos periodos de tiempo.

Colutorios adicionados con aceites esenciales y fenoles (flavonoides):

Aceites esenciales y fenoles son agentes antisépticos, es decir, agentes capaces de inhibir el crecimiento y desarrollo de ciertos microorganismos, dentro de estos encontramos dos grupos:

- Los aceites esenciales (AAS)
- Los compuestos fenólicos, donde como ya se menciono se encuentran los flavonoides.²⁴

Aceites esenciales (AAS):

Estudiado desde los años 70 en estudios clínicos de corta duración oscilando de entre 7 y 60 días se indicaron reducciones estadísticamente significativas de los niveles de placa y gingivitis (alrededor del 35%), cuando los enjuagues se utilizaron tanto en presencia como en ausencia de procedimientos de higiene oral.²⁴

Los estudios más recientes ya siguieron las directrices de la ADA y fueron de 6 meses de duración y la reducción de la placa osciló entre un 20 y un 34% y la reducción de la gingivitis entre un 28 y un 34% cuando se realizó el enjuague dos veces al día a continuación del cepillado lo cual supone varias ventajas (tabla VIII).^{12-15,,24}

Estudios microbiológicos demuestran que no hubo aparición de oportunistas, potencial o presuntamente patógenos.²⁴

El producto oral más antiguo de esta clase es probablemente el Listerine una combinación de los aceites esenciales fenólicos, timol y eucalipto, mezclados con mentol y metilsalicilato en un vehículo hidroalcohólico al 26,9%.²⁴

Tabla VIII: Ventajas y desventajas de la adición de aceites esenciales a los colutorios dentales:

Ventajas	Desventajas
<ul style="list-style-type: none"> • Disminuye los niveles de placa alrededor de un 20 y 34 %. • Disminuye la gingivitis alrededor de un 35%. • No aparición de oportunistas, potencial o presuntamente patógenos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Sensación inicial de quemazón. • Sabor amargo, aunque a los pocos días se habitúan a ello. • Mínima tinción. • Cálculo supra gingival

Conclusiones:

Al finalizar la revisión bibliográfica podemos concluir que los flavonoides son compuestos polifenólicos presentes en gran variedad de plantas, entre las más estudiadas se encuentra el té verde el cual presenta un gran contenido de flavonoides comúnmente conocidos como catequinas (epicatequinas, epicatequina-3 galato epicatequina-3-gallato, epigallocatequina y epigallocatequina-3-galatoreducía) y polifenoles los cuales han demostrado que presentan gran actividad antimicrobiana, anticancerígena y disminución del mal aliento (halitosis) por la reducción del hidrógeno sulfatado (H_2S); la actividad antimicrobiana que presentan es atribuida principalmente a la inhibición del crecimiento, adherencia y almacenamiento de polisacáridos intracelulares, también participan en la inhibición de la acción enzimática de enzima glucosiltransferasa, e inhibición en la síntesis de dextranos solubles e insolubles en *Streptococcus mutans*, los autores indican que los polifenoles contenidos en el té verde en un 99 % de los casos disminuyen la presencia de microorganismos en la cavidad oral mostrando gran actividad contra la flora mixta salival principalmente patógenos de tipo gram + como sepa de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Streptococcus salivarius* Sin embargo algunos autores reportan actividad microbiana similar en bacterias Gram negativas como *Porphyromonas gingivalis* con la excepción de un mayor efecto de la quercetagina frente a *Pseudomonas aeruginosa* y la ausencia de actividad de quercetagina 7-O-ar-gal frente a *Proteus vulgaris*, Otra fuente de flavonoides estudiada ampliamente son los propóleos, la actividad antimicrobiana de estos se debe principalmente a los flavonoides como la pinonsembrina, galangina, pinovaskina y al éter bencil del éster fenil del ácido caféico y p-cumarico que es el componente activo del propóleo este ejerce gran variedad de cambios biológicos en diversos sistemas como la respuestas inmunomoduladoras, antiinflamatorias y antibacteriales sin embargo su

efectividad es variable dependiendo del tipo de abeja productora, la región, el mes de recolección y la cantidad de resinas al momento de recolección pero en general todos los propóleos reportados inhibieron fuertemente el crecimiento antimicrobiano tanto de *Micrococcus luteus* y *Staphylococcus aureus* demostrando que los flavonoides aglicoles considerados como los principales componentes fenólicos están asociados a los efectos beneficiosos del propóleo, Algunos estudios han reportado que el propóleo inhibía *in vitro* la formación del glucano y la glucosiltransferasa demostrando su actividad antibacteriana contra el *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* sobretodo cuando los EEP(extractos etanólicos de propóleos) estaban concentrados al 30% teniendo una mayor actividad frente al *Staphylococcus aureus*, tambien Se evidenció una máxima acción antibacteriana a las 24 horas de incubación sin embargo, el tiempo de exposición de las bacterias al propóleo es una variable importante en la evaluación de la actividad antibacteriana frente a *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*, adicionalmente, la acción antibacteriana del EEP a las 48 horas disminuye en su capacidad para inhibir microorganismos, por ello los EEP represenan una gran alternativa contra patógenos orales por lo antes expuesto, la presente revisión sirve como base para que posteriormente se continúe ampliando los conocimientos sobre el te verde y propóleo y su uso potencial en la prevención y tratamiento de ciertas patologías de la cavidad oral por lo tanto su acción antibacteriana que sugiere gran importancia como un complemento en el control de ciertos patógenos orales.

Fuentes de información:

1. Martínez Alejandro, Flavonoides, Universidad de Antioquia, Facultad de química, Medellín 2005, pg. 03-50
2. Martínez García Cesar Augusto, Identificación de flavonoides con actividad antioxidante presentes en *Alchornea Coelophyllia* (Euphorblaceae), Universidad Tecnológica de Pereira, 2014, p.p34-40
3. Escamilla Jimenez Christopher Isaac, Cuevas Elvis Yane, Flavonoides y sus acciones antioxidantes, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina, Facultad de ciencias, Marzo 2009
4. Vidal Ma. Dolores, Estudio de flavonoides en líneas de selección de *Dianthus caryophyllus*, Universidad de Barcelona, Facultad de biología, 1980, p.p 34-70
5. Martínez Flores Susana, Gonzales Gallego Guillermo, Flavonoide: propiedades y acciones antioxidantes, Universidad de León y Hospital de España, Dpto de Fisiología, 2012
6. Lemus Jesús Arturo, Colorantes orgánicos de origen natural utilizados como sensibilizadores de celdas solares, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de ciencias, Facultad de química, 2014
7. Juarez José R, Castro Americo, Chemical composition, antibacterial activity of essential oil citrus sinensis (Sweet orange) and formulation of pharmaceutical form, Rev. Universidad Mayor de San Marcos, Facultad de farmacia y bioquímica, 2009

8. Nakata Hilda Moromi , Martinez Cadillo Elba, Efecto del té verde en la formación de la placa bacteriana por *Streptococcus mutans* , Rev. científica odontología SanMarquita,2010
9. Nakata Hilda Moromi, Martinez Cadillo Elba, Gutiérrez Llave Margot, Efecto antimicrobiano in vivo de la infusión de *Camellia sinensis* sobre bacterias orales, Rev. Odontología Sanmarquita, 2007.
10. Nakata Hilda Moromi, Elba Martinez Cadillo, Donald Ramos, Antibacterianos naturales orales: Estudios en la facultad de odontología de la universidad nacional Mayor de San Marcos, Rev. Odontología Sanmarquita, 2009.
11. Huarino Acho Mariella, Ramos, Donald, Efecto antibacteriano de *Caesalpinia spinosa* (Tara) sobre flora salival mixta, Rev. Odontología Sanmarquita, 2012.
12. Varas Pacheco Daniela, Hess Susan, Análisis de flavonoides en plantas medicinales del sur de Chile con técnica HPLC, Universidad Austral de Chile,2004,pg.10-20
13. Bonkanka Tabares Celia, Evolucion farmacológica de terpenos y flavonoides de origen vegetal, Universidad de la laguna, 2006, pg.13-30
14. Cartaya Orlando ,Reynaldo Inés, Flavonoides: características químicas y aplicaciones, Rev. Cultivos tropicales Cuba,2001
15. Tereschuck Maria, Gonzales Mariela, Actividad antimicrobiana de flavonoides aislados de Tagetes NOA, Simposio Argentino , Simposio latinoamericano , 2005.
16. Manrique Antonio ,Santana Weyder, Flavonoides , actividades antibacterianas y antioxidantes de propóleos de abejas sin aguijón *Melipona*

quadrifasciata ,*Melipona compressipes* , *Tetragonisca angustula* y *Nannotrigona* sp. Brasil y Venezuela, Rev. Zootecnia Trop, 2008

17. Mayta Trovalino Frank , Sacsquispe Sonia, Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano del extracto etanólico de propóleo de Oxapampa –Perú sobre cultivos de *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*, Rev. Perú, 2010.

18.- Guerrero Hurtado Carmen, Ortiz Rubio Zoila, Bach. Luis Fernando Peralta Berrospi, Actividad antibacteriana de *Pelargonium peltatum*(L.) L'Hér. sobre *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus mitis* frente a clorhexidina, Rev. Cubana de Plantas Medicinales, Habana abr.-jun. 2013

19.- Fuertes Ruitón César, M. Roque Alcarraz Mirtha, Tristan Vidalón Maribel, Flavonoides y alcaloides de *Lupinus ballianus* c.p. smith con actividad antibacteriana y antifúngica, Universidad de Chile facultad de odontología, Santiago Chile 2011.

20.- Bata Garcia Laura Lisset , Efecto de la actividad antimicrobiana de los extractos de flor de colorín (*Erythrina americana* Miller) sobre cepas de *Escherichia coli* , *Salmonella thyphimurium*, *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*, Universidad Autónoma de Querétaro , 2014.

21.- Vargas Sánchez, Torrescano Urrutia G, Mendoza Wilson, Mecanismos involucrados en la actividad antioxidante y antibacteriana del propóleo, Universidad de Sonora, Rev Biotechnics 2011.

22.- Ramirez S. Luz , Diaz Hilda Actividad antibacteriana de extractos y fracciones del ruibarbo (*Rumex conglomeratus*), Scientia et Technica Año XIII, No 33, Mayo de 2007.

23.- Chena Bacerra Florencia , Actividad antimicrobiana de plantas de uso medicinal en la localidad de Tlalchuy, Ixhuacán de los Reyes, Veracruz, Universidad Veracruzana facultad de biología , 2009

Bibliografía de imágenes:

25.- Oyarbide Carla, Conservación de los cítricos, Rev. Alimentación y nutrición, Mayo 2014

26.- Scarbet Andres, Antioxidantes en alimentos principales fuentes y sus contenidos, portal antioxidantes.com

- 27.-Martinez Alejandro Flavonoides, Universidad de Antioquia , Medellín 2005.
- 28.-Martinez García Cesar Augusto, Identificación de flavonoides con actividad antioxidante presentes en *Alchornea coelophylla*, Universidad técnica de Pereira,2014
- 29.-Gomez Beauvoir Micaela, Flavonoides, Universidad Nacional de Trujillo , Facultad de química,2014
- 30.-Soto Velásquez Marilu Roxana , Metabolitos secundario y ruta del ácido shikímico, Universidad Nacional de Trujillo , Facultad de farmacia y bioquímica , 2015
- 31.-TM Boris, The reaction mechanism of ACAC (A,B) , 2 junio 2006
- 32.-Van Flamm, "Biosynthese der flavonoide, marzo 2005
- 33.-Cartaya O. Reynaldo, Flavonoides características químicas y aplicaciones,Rev. Cultivos tropicales vol 22, la Habana Cuba , 2008
- 34.-Sciencieforkids-wedcindario.com/plantas y luz
- 35.-Diclerse Sant Anna, Analysis of the in vitro adherence of *Streptococcus mutans and Candida albicans*,Sciflo Brasil , 2007
- 36.-Medical Press, ¿Las bacterias responsables de la enfermedad periodontal facilitan la artritis reumatoide?,2013