



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

FLAVONOIDES Y SU RELACIÓN EN ODONTOLOGÍA

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N O D E N T I S T A

P R E S E N T A:

ALMAGUER ABUNDIO RIGOBERTO

TUTORA: DRA. GLORIA GUTIÉRREZ-VENEGAS

MÉXICO, D.F.

2015



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.



ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1. Introducción..... | 7 |
| 1.2 Flavonoides..... | 7 |
| 1.3 Distribución y estado natural | 9 |
| 1.4 Propiedades Físicas | 10 |
| 1.5 Características de los flavonoides | 12 |
| 1.6 Efecto de los Flavonoides en los seres humanos | 13 |
| 1.7 Evidencias Epidemiológicas del Efecto de los flavonoides en el tratamiento de enfermedades..... | 15 |
| 1.8 Afecciones coronarias | 16 |
| 1.9 Efecto de los flavonoides como antioxidantes | 18 |
| 1.10 Efecto de los flavonoides en el tratamiento del cáncer | 19 |
| 2. Identificación de los flavonoides | 22 |
| 2.1 Biosíntesis y funciones | 23 |
| 2.2 Extracción y aislamiento | 24 |
| 3. Los flavonoides mediadores de la inflamación | 25 |
| 3.1 Efecto de los Flavonoides en sistemas enzimáticos..... | 25 |
| 3.2 Cinasas..... | 26 |
| 3.3 ATPasas..... | 30 |
| 3.4 Fosfolipasa A2..... | 32 |
| 3.5 Lipooxigenasas y ciclooxigenasa | 34 |
| 3.6 Fosfolipasa C(PLC) | 35 |
| 4 Fosfodiesterasa de nucleótidos cíclicos..... | 36 |
| 4.1 Adenilato ciclasa..... | 39 |
| 4.2 Sialidasa..... | 39 |
| 4.3 Óxido nítrico sintasa..... | 41 |
| 4.5 Los Flavonoides moduladores de las vías de señalización. | 43 |
| Flavonoides en la caries..... | 44 |
| Enfermedad Periodontal..... | 48 |
| Conclusiones..... | 55 |
| Referencias bibliográficas y hemerográficas..... | 56 |



Dedicatorias

Este trabajo se lo dedico principalmente a Dios que se que existe y mando a su Hijo Unigénito llamado Jesucristo para que todo aquel que en Él creyera no se perdiera más tenga vida eterna; por permitirme terminar la carrera y por darme la oportunidad de estar vivo

A mis padres: Pablo Luis Almaguer Castillo y Marcela Irene Abundio Fermin, que con tanto sacrificio y esfuerzo inalcanzable lograron mi educación cumpliéndome todos mis caprichos, a veces hasta el más innecesario, como de su príncipe en su propio reino.

A mis hermanos los cuales son muchos:

A Antonio De La Luz Abundio que siempre aunque no lo cree llevo la firme convicción de sus enseñanzas bíblicas de la Iglesia Pentecostés Restauración.

A mis hermanas Lola, Esperanza, Reyna, Teresa, Juana, Virginia, Socorro.

A mis hermanos Luis, Francisco[†], Maximino[†], Aurelio de Jesús y a Jose Nicolas,

A mis sobrinos que son muchos: Fernanda, Mariana, Abigail, Daniel, Berenice; Oscar, Alejandro, Gabriela; Natalia; Victoria, Karen, Luis, Erik, Rubi, Lizbeth; Armando, Marcela, Oscar, Brenda, Yesenia, Byron; Brandon, Mario, Montse; Ivan, Ivon, Neli, Brittany; Tania, Vanesa, Diego, Cintia; David, Pablo, Marcos; y Felix

A los 43 compañeros desaparecidos igualmente les dedico este trabajo en solidaridad con sus familias.



A todos los luchadores sociales, que no escatiman y dejan familia y casa por el bien común: Carlos Sinuhé Cuevas Mejía, Genaro Vázquez, Lucio Cabañas.

AGRADECIMIENTOS

A la Máxima Casa de Estudios de la Nación, que es y seguirá siendo la Universidad Nacional Autónoma de México.

A la Doctora Gloria Gutiérrez - Venegas que se entrega de manera completa al quehacer científico, gracias por brindarme su confianza, su tiempo, su aportación a este trabajo, pero sobre todo su paciencia.



| ÍNDICE DE FIGURAS | | |
|--------------------------|---|-------------|
| No. | Título | Pag. |
| 1 | Ruta del ácido shikímico en la biosíntesis del ácido corísmico. | 8 |
| 2 | Clasificación de los flavonoides. | 9 |
| 3 | Barrido del espectro de absorción de los flavonoides. | 11 |
| 4 | Reacción química catalizada por cinasas. | 27 |
| 5 | Mecanismos de transducción de señales del receptores acoplados a proteínas G, canales dependientes de nucleótidos cíclicos y péptidos natriuréticos. | 38 |
| 6 | Esquema sobre el proceso de la periodontitis, hecho por el autor de esta tesina | 50 |

| ÍNDICE DE TABLAS | | |
|-------------------------|---|-------------|
| No. | Título | Pag. |
| 1 | Correlación de los efecto de los flavonoles en el riesgo cardiaco | 15 |
| 2 | Componente de la Vía de señalización de las proteínas activadas por mitógeno | 29 |
| 3 | Localización y funciones de diferentes tipos de PLA2s. | 33 |
| 4 | Características de la isoenzimas de PDE. | 37 |
| 5 | Isoformas de óxido nítrico sintasa. | 42 |
| 6 | Flavonoides y quimiotaxis. | 44 |
| 7 | Genes diana de NFk-b | 51 |



Resumen

Los flavonoides son compuestos producto del metabolismo secundario de las plantas con el propósito de aportar las diferentes coloraciones de las plantas y que tiene gran importancia en la polinización.

Por otra parte, desde hace una centuria se han investigado y se han encontrado importantes funciones fisiológicas entre las que se encuentran sus actividades anti-oxidantes, anti-inflamatorias y contra el envejecimiento.

Debido a sus bondades, el ámbito de la odontología no puede ser una excepción por este motivo en esta tesina se realizará una revisión bibliográfica sobre los flavonoides y sus efectos en la investigación odontológica.



1. Introducción.

Para la supervivencia de las plantas existen los metabolitos primarios los cuales son los que se encargan de la producción de lípidos, proteínas y carbohidratos y a pesar de que los metabolitos secundarios no son necesarios para la supervivencia, la planta los utiliza para el transporte de sustancias, como mensajeros químicos o polinizadores. Dentro de los metabolitos secundarios encontramos a los terpenoides, alcaloides, y a los compuestos fenólicos en este grupo también están los flavonoides, los cuales no son constituyentes energéticos de la dieta humana.

El primero que los descubrió fue el premio nobel Szent-Györgyi cuando aisló la citrina de la cáscara de limón, este investigador observó que regulaba la permeabilidad y por este motivo le llamó sustancia P. Por otra parte, Mendel al hacer sus experimentos de genética caracterizó a los flavonoides, encontró que estas sustancias le dan color a las plantas y más adelante Robert Boyle en 1964 hizo una observación del efecto que tenía sobre los pigmentos de las flores el medio ácido y básico. Antes de los años cincuenta se les llamó vitamina C₂ por propiedades semejantes a la vitamina C. Actualmente se han caracterizado más de 9000 moléculas y ya no se les considera como vitaminas.

1.1 Flavonoides.

Los flavonoides son compuestos fenólicos, pigmentos, metabolitos secundarios de las plantas y tienen funciones biológicas y farmacológicas como mensajeros químicos, reguladores fisiológicos, e inhibidores del ciclo celular. En algunas plantas funcionan como taxones, además en otras impiden la fotooxidación de la luz, atraen a animales polinizadores a través del color y olor, intervienen en el transporte de la fitohormona auxina responsable del crecimiento y elongación celular.

Sintetizados por dos vías la ruta del ácido shikímico y la del ácido malónico o por las dos vías (Fig. 1). Químicamente, tienen la estructura general de un esqueleto de carbono-15, que consta de dos anillos de fenilo y el anillo heterocíclico. Se han identificado y aislado alrededor de 9000.¹

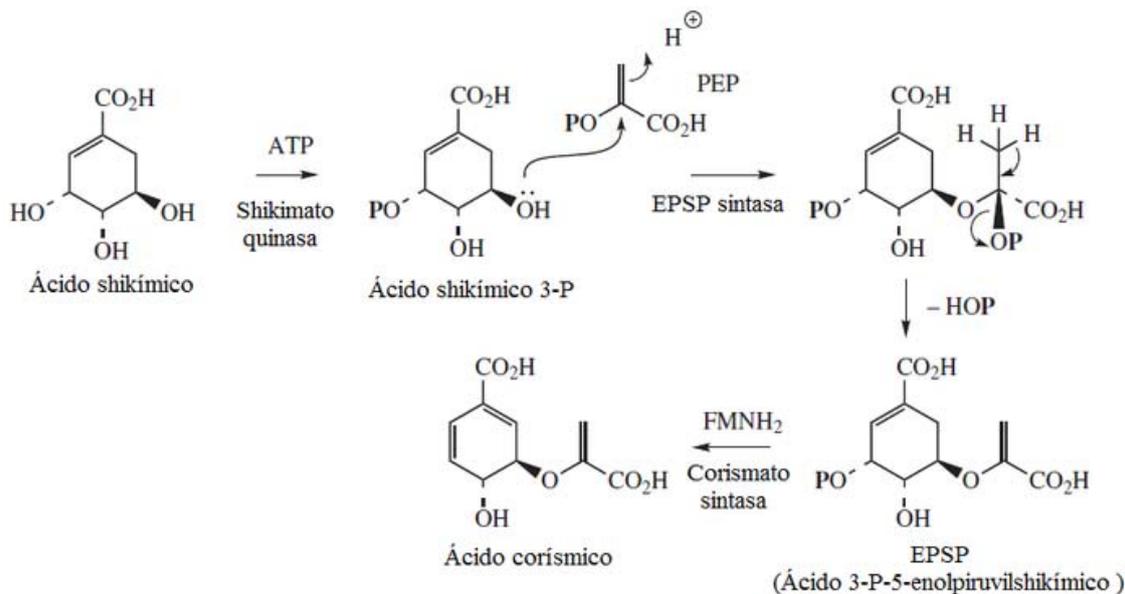


Fig.1 Ruta del ácido shikímico en la biosíntesis del ácido corísmico.

Esta ruta se llevan a cabo 3 reacciones: *Fosforilación del shikimato*, en donde se forma el ácido 3-fosfoshikímico por acción de la shikimato quinasa y ATP; *Conjugación con una molécula de fosfoenol piruvato* por acción de la 3-fosfoshikimato 1-carboxiviniltransferasa, en donde se forma el ácido 5-enolpiruvilshikímico 3-P (**EPSP**) y *Eliminación del fosfato* catalizada por la corismato sintasa. (http://es.wikipedia.org/wiki/Ruta_del_ácido_shik%C3%ADmico)

La denominación de bioflavonoides proviene del latín *flavus* que significa amarillo, este nombre se asignó debido a que primeras sustancias que se aislaron eran de ese color, aunque actualmente se sabe que hay de una gran variedad de colores incluidas violetas, azules, rojos así como incoloros. Por otra parte, son suplementos ya que el organismo humano no puede sintetizarlos.

Se pueden clasificar en las chalconas, las flavonas, los flavonoles, los flavandioles, las antocianinas, los taninos condensados y auronas. Se diferencian en el nivel de oxidación y la sustitución del anillo C, y los compuestos individuales de cada clase se diferencian en la sustitución del anillo A ó B (Fig. 2).

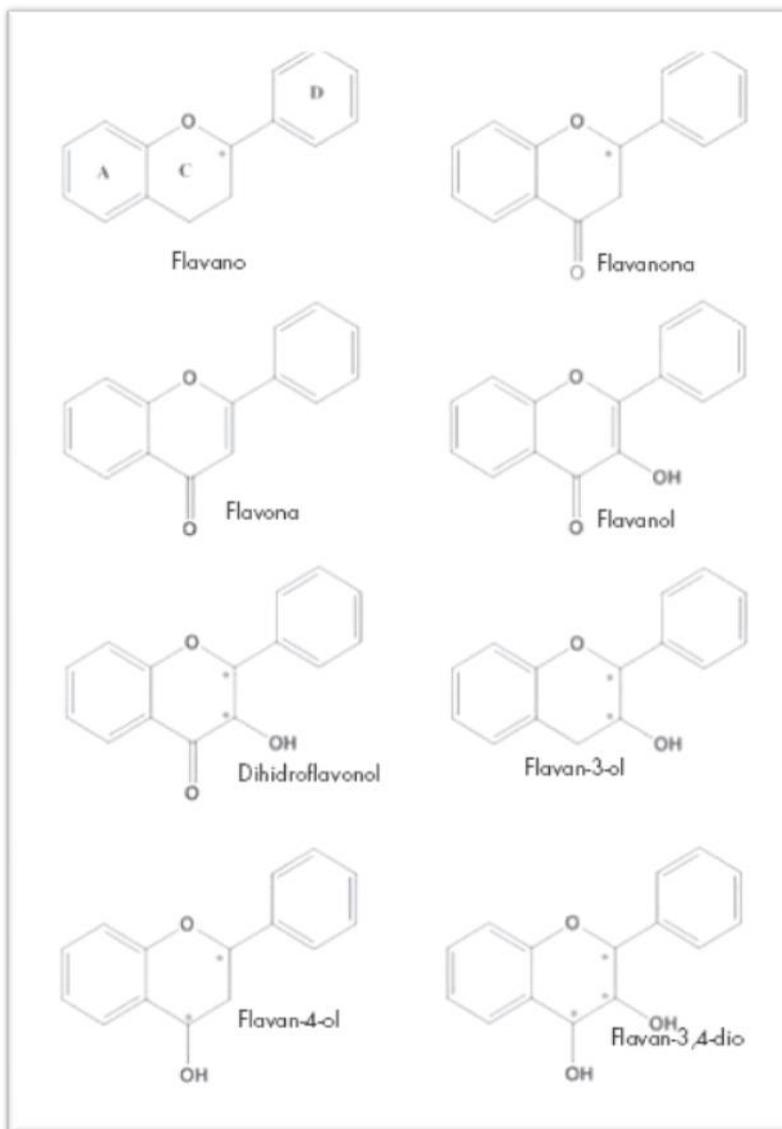


Fig 2 Clasificación de los flavonoides.

Los flavonoides se dividen inicialmente en tres clases, dependiendo del sitio de unión del anillo B con el benzopirano (A): los flavonoides 1 (2-fenilbenzopiranos), isoflavonoides 2 (3-benzopiranos) y los neoflavonoides 3 (4-benzopiranos). Los flavonoides 1 (2-fenilpiranos), a su vez, dependiendo del grado de oxidación y saturación presente en el heterociclo se dividen en los siguientes grupos: Los isoflavonoides (3-benzopiranos 2) son una clase distintiva de flavonoides, estos compuestos poseen un esqueleto, 3-fenilcromano que es derivado biogenéticamente de una migración 1,2-aril del precursor 2-fenilcromano. A pesar de su limitada distribución en el reino vegetal, los isoflavonoides son notablemente diversos en cuanto a sus variaciones estructurales, no sólo en el número y complejidad de los sustituyentes sobre el sistema básico, también en los diferentes niveles de oxidación y en la presencia de un heterociclo adicional.

1.3 Distribución y estado natural

Los flavonoides se sintetizan en todas las plantas terrestres, siendo las rutáceas, poligonáceas, asteráceas, y apiáceas las principales familias;



además en angiospermas, algas del género *Charophyta*, algunos hongos, vinos, té, cervezas, cacahuates y chocolate. Depende de la época del año, de la cosecha del almacenamiento, de la madurez de la semilla y del tipo del fruto. Muy pocas veces se encuentran varios flavonoides en una misma planta, excepto en *Lonchocarpus subglaucescens* de donde se aislaron varios tipos de flavonoides. Se sintetizan en el citoplasma y se encuentran en el núcleo de las células mesófilas y dentro de los centros de generación de ROS.² Los flavonoides del grupo de los flavonoles son los más abundantes en los alimentos.

En la planta, se localizan en las partes aéreas y en áreas más expuestas al sol, se ubican en vacuolas. Y la mayoría de los flavonoides de las plantas están en combinación con un azúcar es decir son heterósidos, o glucosilados, frecuentemente los azúcares presentes se componen de D-glucosa, D-galactosa, L-ramnosa, L-arabinosa, el ácido D-glucorónico.

Hay más flavonoides en tejidos sólidos, que en el jugo, de naranjas y toronjas, disminuye su concentración en ciertas temporadas y en otras permanece igual, en cítricos como el limón se ha visto que disminuye con la maduración.³ Por otro lado los flavonoles están presentes en una variedad de frutas y verduras, mientras que las flavonas se encuentran principalmente en los cereales y hierbas. Varios estudios clínicos han informado de que algunos flavonoides tienen la capacidad de alterar el metabolismo de fármacos en estudios realizados *in vivo*.⁴

1.4 Propiedades físicas

Estudios sobre los flavonoides por espectroscopia, han revelado que la mayoría de flavonas y flavonoles exhiben dos bandas de absorción: banda I (320 – 385 nm) representa la absorción de anillo B, mientras que la banda II (250 – 285 nm) corresponde a la absorción de anillo A. Grupos funcionales conectados al esqueleto del flavonoide pueden provocar un cambio en la



absorción de estas a partir de los 367 nm en kaempferol (3,5,7, grupos del oxhidrilo-4') a 371 nm en quercetina (3,5,7, 3', grupos del oxhidrilo-4') y 374 nm de miricetina (3,5,7, 3', 4', grupos del oxhidrilo-5') .

Mientras más sustituyentes oxigenados se encuentren en la flavona hay una tendencia a absorber a mayores longitudes de onda (Fig.3).

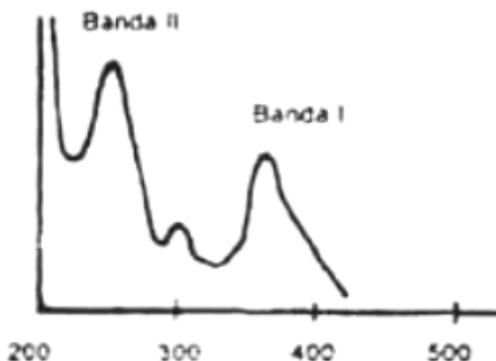


Fig. 3 Barrido del espectro de absorción de los flavonoides.

Imagen tomada de la pag.14 de: Carlota Eugenia Rodríguez Barba Tesis: DESARROLLO DE UN ESQUEMA DE EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES GLUCOSILADOS A PARTIR DE LIMÓN MEXICANO (CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE), Facultad de Química, UNAM 2004

Su masa molecular media es de 222.343 g/mol, su punto de fusión es 96-98 grados centígrados o 271°K, y su punto de ebullición es de 185 °C (458 K).

Son sólidos cristalinos de color blanco o amarillento, por ejemplo las flavonas, flavonoles y auronas, que tienen conjugaciones y toman colores que comprenden desde el amarillo muy tenue hasta el rojo. Las antocianidinas son de colores rojo intenso, morado, violeta y azul. Las flavanonas y flavanoles debido al carbono quiral C-2 presentan el fenómeno de la rotación óptica. Los glucósidos son en general sólidos amorfos, mientras que las agliconas y los altamente metoxilados son cristalinos. La enolización del ciclo proveniente de la ruta de la malonil CoA da origen al anillo aromático A en las chalconas y flavanonas.

En cuanto su solubilidad los flavonoides muestran variabilidad, los flavonoides libres son solubles en disolventes orgánicos de distintas polaridades



dependiendo de su grado de oxigenación y escasamente solubles en agua, y los flavonoides combinados con azúcares son solubles en agua caliente, alcoholes y disolventes orgánicos de alta polaridad. Cuando hay fenoles libres se disuelven en disoluciones de hidróxidos alcalinos.

Al añadirles álcalis (NaOH, KOH) a los grupos fenólicos de los flavonoides hace que se produzca una coloración amarilla y al adicionarles sales metálicas como FeCl_3 ó AlCl_3 da un color verde o un fluorescente amarillo.⁵

1.5 Características de los flavonoides

Sus características dependen del grado de hidroxilación, polimerización, conjugaciones, sustituciones y clase estructural⁶. Presentan baja solubilidad en el agua y lo que dificulta sus aplicaciones medicinales. Cuando son solubles en agua, es decir son hidrofílicos, poseen un máximo de absorción de luz a los 280 nm.

Estructura química

Son compuestos de bajo peso molecular, todos son fenilo-benzopironas con dos anillos de benceno unidos a través de un pirano.⁷ Sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA. Su esqueleto es C6-C3-C6. Se extraen con solventes como el etanol, después se hacen extracciones sucesivas con solventes de polaridad creciente como el hexano- cloroformo, acetato de etilo y butanol.

Tienen una terminación INA ó OL⁸, ejemplo eridictiol y acacetina; pero un nombre así no da mucha información de estas sustancias, entonces también se nombran por su nombre químico por ejemplo la acacetina es 5,7-dihidroxi-4'-metoxiflavona. Los glicósidos, que es un flavonoide y un carbohidrato, tienen un nombre más complejo que las agliconas. A pesar de su distribución limitada en el reino vegetal, los isoflavonoides son muy diversos en cuanto a variaciones estructurales.



Clasificación

La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada los clasifica según su esqueleto y vía metabólica en:

- **Flavonoides**, derivados de la estructura 2-fenilcromen-4-ona (2-fenil-1,4-benzopirona).
- **Isoflavonoides**, derivados de la estructura 3-fenilcromen-4-ona (3-fenil-1,4-benzopirona).
- **Neoflavonoides**, derivados de la estructura 4-fenilcumarina (4-fenil-1,2-benzopirona).w2

Otra forma es en función de sus características estructurales los flavonoides se pueden clasificar en:

1. Flavanos, como la catequina, con un grupo -OH en posición 3 del anillo C.
2. Flavonoles, representados por 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.
4. Antocianidinas, que tienen unido el grupo -OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.

1.6 Efecto de los flavonoides en los seres humanos

Los efectos en los seres humanos, desde luego hasta el momento, se sabe que son benéficos ya que se han aislado más de 9 000 moléculas y están en la dieta diaria del humano; se han estudiado en la última década, flavonoides extraídos de plantas y se ha examinado su potencial en la salud de los humanos los que están presentes en los alimentos y en diferentes bebidas que los contienen. Por ejemplo, en fibroblastos obtenidos de la piel humana



son citoprotectores, e igual en queratinocitos, células endoteliales, y ganglios sensoriales.

Al tener beneficios antioxidantes, anticancerígenos, cardiotónicos, se han empezado a investigar más de estas moléculas desde la caracterización química, bioquímica, fisiología y la fisiopatología, logrando verdaderos avances y su aplicación en farmacología, como el imatinib; junto con otras aplicaciones en ingeniería alimentaria, herbolaria, pasando por tendencias ornamentales.

Lamentablemente no todos los resultados positivos de los flavonoides se pueden extrapolar a los humanos, ya que su de forma frecuente ha sido estudiados en cuyos, en ratones y conejos. Aunque en el humano se han realizado estudios epidemiológicos sobre el consumo de alimentos ricos en algún tipo de flavonoide que contrarresta con el índice de enfermedades cardiovasculares y crónico degenerativas, como es el caso de los países mediterráneos.⁹

En los seres humanos participan inhibiendo enzimas que pueden provocar daño a células, hasta la regulación en las plaquetas evitando que no se adhiera, lo que conlleva a disminuir la formación de trombos; intervienen en las diferentes vías de señalización celular, ayudan al humano a evitar las enzimas que le producen patologías como son diferentes toxinas; las especies reactivas de oxígeno(ROS); la oxidación de LDL; en la apoptosis de células neoplásicas, entre otras cosas funciones.

Ciertamente no son nutritivos como las vitaminas, minerales, azúcares y proteínas pero son sinérgicos en la razón de prevención de enfermedades. Están implicados en la expresión de genes para el metabolismo, supervivencia, proliferación celular, en defensa ante los oxidantes y reparación del daño al ADN.



1.7 Evidencias Epidemiológicas del Efecto de los Flavonoides en el Tratamiento de Enfermedades

El valor medio de ingesta de flavonoides se estima como 23 mg/día, siendo la quercetina el predominante con un valor medio de 16 mg/día, es un valor promedio pues se tiene que tomar en cuenta la dieta de las personas, y el contenido de flavonoides en su dieta varía en cuanto a región geográfica, clima y variedad de plantas.

Hay una correlación inversa entre el consumo de flavonoides y enfermedad arterial coronal, en adultos mayores; es decir que los individuos con mayor consumo de flavonoides tienen menor incidencia de cardiopatías en adultos mayores. La quercetina es la que está implicada en la prevención de infarto, se cree que los flavonoides se quedan en los vasos y ejercer ahí su acción antiaterogénica.

Dados los niveles de consumo de grasas saturadas y colesterol en los franceses tienen menos cardiopatías en promedio, por el consumo igual de vino tinto el cual tiene quercetina, rutina, catequina, epicatequina, y otros flavonoides. Estos compuestos inhiben la oxidación catalizada por el cobre en LDL se puede decir que casi el doble que el alfa-tocoferol (Tabla I).

Tabla I Correlación de los efectos de los flavonoides en el riesgo cardiaco

| CONSUMO DE TÉ | 0 ml/d | 1-375 ml/d | > 375 ml/d |
|---------------------|--------|------------|------------|
| Infartos totales | 24 | 77 | 45 |
| Infartos no fatales | 18 | 61 | 57 |
| Infartos fatales | 6 | 16 | 8 |
| Riesgo relativo | 1 | 0,58 | 0,30 |

Tabla tomada de: Ricardo O. Russo y Dr. Mario Speranza Sánchez, Los flavonoides en la terapia cardiovascular, Rev Costarr Cardiol 2006 enero - abril, Volumen #8, Revista #1.

Un estudio realizado en Holanda, documentó y analizó la asociación entre la ingesta de té y el riesgo de aterosclerosis en la población general (3454



sujetos sanos, de ambos sexos mayores de 55 años). En ese estudio se encontró que existe una relación inversamente significativa entre la aterosclerosis severa en la aorta, cardiopatías isquémicas, y el consumo de té³¹. En otro estudio se concluyó que las catequinas, ya sea de alimentos o de té, reducen el riesgo de morir de cardiopatía isquémica, pero no de infarto cerebral.

Kristen y cols²⁹, analizaron que el consumo de té durante un año anterior a un infarto era decisivo para la mortalidad por infarto, es decir había más posibilidades de vivir después del infarto.

Varios estudios¹¹⁻¹⁴ sugieren que el consumo de 4 tazas de té ayuda en la prevención de enfermedades cardiovasculares, en sinergia con una dieta balanceada, actividad física y la eliminación de hábitos dañinos. Otro dato importante la existencia de un efecto negativo al hecho de combinar leche con flavonoides.¹⁰

1.8 Afecciones Coronarias

Inhiben enfermedades cardiovasculares: En los años cincuenta los países mediterráneos tenían menor incidencia de enfermedades gracias a su dieta rica en frutos secos, hortalizas, frutas y grasas saturadas.¹¹ Entre los carotenos y vitamina E los flavonoides poseen mejor actividad antioxidante.

La cardioprotección se da por la regulación por diferentes tipos de enzimas como la enzima óxido nítrico sintasa (iNOS) y la lactato deshidrogenasa (LDH) que son enzimas citosólicas que se encuentra predominantemente en los tejidos cardíacos. La variación en el patrón de isoenzima LDH en suero se considera como un criterio de diagnóstico definitivo para la evaluación del daño miocárdico, porque la tasa de aparición y desaparición LDH en la sangre indica el tamaño del infarto



Los mecanismos implicados en la posible acción beneficiosa de los flavonoides del té sobre el riesgo cardiovascular, pueden estar relacionados con sus propiedades antioxidantes [inhibición de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL)], e inhibición de la agregación plaquetaria, con la modulación de la función endotelial y con propiedades antihipertensivas.

La arteroesclerosis se da por la oxidación de LDL y se acumula en la *íntima* favorecida por macrófagos y el músculo liso que producen radicales libres. Ya las LDL oxidadas fungen como entes quimiotácticos para monocitos y macrófagos. Los flavonoides neutralizan al anión superóxido, el radical hidroxilo y el radical lipoperóxido previniendo la oxidación de LDL. La catequina y la quercetina funcionan como tampones, pues pueden captar directamente especies reactivas de oxígeno (ROS), como superóxido (O_2^-), agua oxigenada (H_2O_2) o ácido hipocloroso (HOCl), además quelan iones metálicos de transición (hierro y cobre), lo que evitaría la formación de ROS.

Los flavonoides como las teaflavinas cambian las propiedades quimiotácticas y adhesivas del endotelio de esta forma evita que se adhieran monocitos al endotelio evitando la formación de placas de ateroma y regulan también la expresión de las moléculas de adhesión intracelular (ICAM-1) y de moléculas de adhesión vascular (VCAM-1), lo que contribuye a evitar que se forme el ateroma.

Para impedir que se formen los trombos los flavonoides como quercetina, fisetina, kaempferol, miricetina, inhiben su agregación de las plaquetas. EGCG del té verde inhibe al ionóforo de calcio A23187, que aumenta el flujo de calcio y que hace que la plaqueta se agregue. Esto da como resultado una disminución en la producción de inositol trifosfato (IP_3) y un descenso en la actividad de la fosfolipasa A2, contribuyendo de esta manera a evitar la agregación plaquetaria. Otra forma en la que los flavonoides impiden la agregación plaquetaria es inhibiendo a las proteínas cinasas activadas por



mitógeno (MAPK).¹²

La trombosis genera una amplia variedad de enfermedades cardiovasculares y en su inicio implica la agregación y adhesión plaquetaria, se ha observado que la rutina que un flavonoide glucósido derivado de quercetina, inhibe la activación de la fosfolipasa C, con esto inhibe la activación de la proteína quinasa C y A y la formación de tromboxanos, lo que conduce a la inhibición de la fosforilación de P47 y la movilización de Ca^{2+} , así la rutina inhibe la agregación plaquetaria.¹³ En la circulación normal las plaquetas no pueden agregarse a menos que haya un vaso dañado, es ahí cuando se adhieren ininterrumpidamente, liberan componentes activos, y de esta manera se forman ateromas con el grave riesgo de un accidente cerebrovascular.

Los efectos terapéuticos de los flavonoides en la agregación plaquetaria y la presión arterial se han atribuido a la inhibición competitiva de la fosfodiesterasa de nucleótidos cíclicos (PDE).¹⁴

1.9 Efecto de los Flavonoides como Antioxidantes

Como ya mencioné en líneas anteriores entre los carotenos y vitamina E, los flavonoides presentan mayor actividad antioxidantes.¹⁵ Ya que al inhibir a la lipooxigenasa, xantina oxidasa, la NADPH oxidasa, la fosfolipasa A2, la ciclooxigenasa, la mieloperoxidasa, al ser quelantes y secuestradores de radicales libres, cumplen con su función antioxidante. Igualmente y paralelo a esto estimulan a la enzima superóxido dismutasa y a la catalasa las cuales igual tienen propiedades antioxidantes¹⁶.

La estructura O-dihidroxi en el anillo B es que le da estabilidad a la forma radical y participa en la deslocalización de los electrones, es una de las características de los flavonoides para que puedan actuar como antioxidantes. Por otro lado la doble ligadura en conjunción con la función 4-oxo del anillo C41-42 y el grupo 3-y 5-OH con función 4-oxo en los anillos A y C ejercen la



función antioxidante de los flavonoides.¹⁷ La quercetina por ejemplo es 5 veces más antioxidante con parangón con las vitaminas E y C. La vitamina C reduce la oxidación de la quercetina, y la quercetina reduce la oxidación de la vitamina E. Los flavonoides retiran aniones superóxidos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos, radicales hidroxilos.

1.10 Efecto de los Flavonoides en el Tratamiento de Cáncer

El estrés, tensiones externas y el envejecimiento hacen que las especies reactivas de oxígeno (ROS) como iones de oxígeno, radicales libres, superóxido [O_2^-] e hidroxilo [OH \cdot] y peróxidos como [peróxido de hidrógeno (H_2O_2)]. Las ROS causan daño oxidativo a las proteínas, lípidos, enzimas y moléculas de ADN, lo que provoca desorden en el crecimiento y diferenciación celular, y en la proliferación desregulada de células.¹⁸

El tratamiento de cáncer no provoca un alto índice de supervivencia, y es la segunda causa de muerte en humanos relacionada con mortandad por enfermedad. Sin embargo, se ha visto en cientos de experimentos el efecto de distintos tipos de flavonoides en la prevención de cáncer, aunque no todos los estudios se han hecho *in vivo* o comprobado su eficacia en humanos, ya la mayoría de los estudios *in vivo* se ha hecho en ratas. Por otra parte, lo que un tipo de flavonoide es capaz de lograr en ciertas patologías o tipos de cáncer no lo es en otro flavonoide.

Hay varios mecanismos de acción de los flavonoides en la iniciación y propagación de la carcinogenicidad, como modificar las influencias de las hormonas. Algunas formas son:

1. Modificación de la proteína p53 mutante y proteínas Ras e inhibición de las proteínas de choque térmico,
2. Intervienen en el ciclo celular y generan la muerte de células cancerígenas,
3. Inhibición de la cinasa de la tirosina,
4. Capacidad de unión del receptor de estrógeno,



5. Por sus propiedades redox, quelantes de metales de transición y radicales libres, estructura química,¹⁹
6. Ya sea en combinación o solos, los flavonoides pueden inhibir BCR/ABL.

Como es el caso del tratamiento del con 3 hidroxi-flavona que en combinación con mesilato de imitanib logra la apoptosis en células de la leucemia mieloide crónica (CML),²⁰ que es un tipo de cáncer que afecta a las células de la sangre o médula ósea, mediante la inhibición de BCR/ABL, una tirosina quinasa. A BCR/ABL se le han encontrado muchas mutaciones y esto hace resistencia a los fármacos.

Se ha comprobado en cáncer de próstata PC-3 ayudan a lograr la apoptosis de ése tipo de células en fases S y G2/M del ciclo celular, pero las isoflavonas previenen el cáncer de próstata²¹. En específico la fisetina, que es un flavonol presente en frutas y hortalizas, como la fresa, la manzana, caqui, uva, cebolla y pepino inhibe la proliferación celular y desarrollo de tumores.²²

Los flavonoides, son capaces de regular a la baja expresión de la proteína p53 mutante a niveles casi indetectables en líneas celulares de cáncer mamario humano. Algunos flavonoides presentan efectos en humanos para inhibir a las tirosinas quinatas como la quercetina. Las tirosinas quinatas son una familia de proteínas que desregula el crecimiento normal de las células y se encuentra cerca de la membrana.

Otra forma de intervención de los flavonoides es en las proteínas de choque térmico, que cuando se unen con p53 mutante, permiten así a las células del



tumor evitar la detección del ciclo celular; también las proteínas de choque térmico hacen que las células cancerígenas puedan vivir ante tensiones corporales. Los flavonoides impiden la producción de proteínas en varias células malignas como en las de cáncer de mama, leucemia y cáncer de colon.²³

La ácido graso sintasa (FAS) se incrementa en varios tipos de cáncer, sobretodo en etapas tempranas y en tumores avanzados, pero es inhibido en células de cáncer de próstata por el flavonol epigallocatechin-3-gallate que también impide la lipogénesis.

En células linfoides, la quercetina detiene el ciclo celular, es antineoplásica, e impide el crecimiento en células de tumor maligno *in vivo*. Estas células cancerígenas, entre las que se incluyen las de tipo gástrico (HGC-27, NUGC-2, 7-NKN y MKN-28), de leucemia P-388, de colón, de mama inhiben la transducción de señales en células cancerígenas, particularmente las de tipo ovárico. Se ha propuesto que la función de la quercetina es la interacción con el estrógeno II en sitios de unión de la proteína Erg-1 y Erg-2 (EBS).

La isoflavona genisteína daidzeína suprime el desarrollo de cáncer mamario, la flavonona hesperidina inhibe la azoxymethanol la cual induce cáncer mamario y de colón. El ácido elágico, robinetin, quercetina y miricetina han demostrado inhibir la colonización de BP-7, 8-diol-9 y 10-epoxi-2 sobre la piel del ratón.

Varios tipos de flavonoides impiden el desarrollo de las células de cáncer de pulmón, en particular rhamnohexoside kaempferol, rhamnohexoside quercetina, la rutina y quercetina-di- (rhamnohexoside) impiden el crecimiento de las células A549 de ratas a través de la detención de la fase de ciclo celular G2/M y la inducción de apoptosis. La quercetina impide el crecimiento



de células H 460 en ratas promoviendo apoptosis a través de la ruta del factor de transcripción NF- kappa B. Mientras que el kaempferol rhamnohexoside igualmente impide el crecimiento de células H460 y A 549 NSCLC, actuando en las fases S y G2/M y promoviendo su apoptosis.²⁴

2. Identificación de los Flavonoides

Los flavonoides se identifican usando espectroscopia RMN, pero su pureza y bioactividad a veces son inversas. El aparato ¹H RMN (qHNMR) es un detector cuantitativo universal que determina los niveles de pureza. Hay discrepancias con otro aparato el HPLC.

Por el método de cromatografía se pueden separar flavonoides tales como isoscutellarein y 8-hidroxiluteolina o glucósidos hipolaetina, y seis biflavonoides, entre ellos amentoflavona, hinokiflavona, cupressoflavone, y metil-biflavonas

La evaluación cuantitativa de cada compuesto se lleva a cabo utilizando curvas de regresión, mediante el uso de dos patrones auténticos. Se calculan utilizando estándares como el de rutina en un rango de concentración entre 0 y 7,3 g. Las cantidades biflavonoides se calculan en 350 nm utilizando amentoflavona como compuesto de referencia en el intervalo de 0-3,4 g.

Se utilizan aparatos como el de *HPLC-DAD*, y con un cromatógrafo líquido HP 1100L equipado con un detector DAD y gestionado por una estación de trabajo HP 9000 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA), acoplado a un espectrómetro de masas HP MSD 1100 con una interfaz API / electrospray (Agilent Technologies). Los espectros se registran en el modo de ion negativo, el establecimiento de la energía de la fragmentación entre 80 y 180 V

Las condiciones de operación del espectrómetro de masas son: temperatura del gas, 350°C; caudal de nitrógeno, 7 Lmin⁻¹; presión nebulizador, 30 psi; temperatura de cuadrupolo, 40 ° C; y la tensión capilar, 3.500 V.²⁵



2.1 Biosíntesis y Funciones

El paso crítico para la síntesis de la mayoría de los flavonoides es el flavanona, que en la ruta de los flavonoides es la en la segunda enzima la chalcona isomerasa (CHI) la cual cataliza la conversión estereo específica de una chalcona a un flavonone.²⁶

Los flavonoides son sintetizados en las plantas a partir del aminoácido fenilalanina por medio de la ruta biosintética: vía general fenilpropanoide. Esta importante vía genera gran número de compuestos que tienen en común un grupo fenilo estructural. Los metabolitos secundarios derivados de esta vía incluyen, a los flavonoides, taninos, fenoles, ácidos benzoicos, estilbenos, ésteres de cinamatos y cumarinas. Una secuencia de reacciones convierte la fenilalanina a derivados de coenzima A (CoA) y sucesivamente a ácidos cinámicos substituidos. Estos son subsecuentemente transformados a otros metabolitos.

Específicamente los flavonoides se derivan de la conjugación de p-cumaril CoA con tres moléculas de malonil-CoA para transformar naringenin chalcona, la cual es considerada precursora de todos los flavonoides. Tres moles de malonil coenzima A provenientes del metabolismo de glucosa se condensan por medio de la enzima chalcona sintetasa para formar el anillo A de la estructura básica de los flavonoides. El anillo B y el C también vienen del metabolismo de la glucosa, pero por la vía general fenilpropanoide, a través de la fenilalanina, la cual es convertida a ácido cinámico y luego a ácido cumárico.

Posteriormente el ácido cumárico convertido en p-cumaril CoA se condensa con tres moléculas de malonil CoA, en un único paso enzimático, para formar naringenin chalcona.

La naringenin chalcona se convierte rápidamente a su forma flavonona,



denominada naringenina. La naringenina sufre modificaciones enzimáticas adicionales para dar lugar a otros flavonoides: las reacciones dan lugar a los demás flavonoides son reducción, oxidación, hidroxilación, O-metilación, C-glucosilación, O-glucosilación, sulfonación, rearreglo y polimerización.²⁷

2.2 Extracción y Aislamiento

La extracción de los componentes fenólicos, incluyendo los métodos y el tipo de solvente de extracción, generalmente depende del tipo de compuesto fenólico y del disolvente, el rendimiento de la extracción de fenoles y el contenido de flavonoides es mayor dependiendo de la polaridad del disolvente. En ese sentido se utiliza metanol como disolvente polar, acetona como medianamente polar y hexano como disolvente no polar.

La extracción de los diferentes flavonoides se realiza a partir del material fresco o incluso seco, siempre y cuando no se altere su composición. El procedimiento depende de donde se quiera extraer por ejemplo si es de una cáscara de lima primero se seca, se muele, se tamiza para un determinado tamaño, (el tamaño de la partícula es importante, de 2 cm² se toma como óptimo), se añade el disolvente metanol, acetona y hexano, se homogeniza, se ozoniza 30 mn, se centrifuga a 4000 rpm durante 15mn a 4 °C, se recupera el sobrenadante y al precipitado se vuelve a centrifugar.²⁸

Si la flavona está en aceite o en ceras se obtiene mediante lavados con un disolvente apropiado, como por maceración y luego por extracción con algún disolvente dependiendo la polaridad de la flavona.²⁹

Los disolventes poco polares como cloroformo, diclorometano, éter dietílico o acetato de etilo extraen flavonoides, flavonoides metoxilados y agliconas, Disolventes con más polaridad como como el metanol, etanol, acetona, DMSO o agua extraen los glucosilados que es lo más común en extractos de plantas o también flavonoides que tienen más grupos hidroxilos. Se deben



extraer y solubilizar en disolventes polares. Por ejemplo para la manzanilla (*Matricaria recutita* L.) son un procedimiento de 1 h a $70 \pm 0.5^\circ\text{C}$, proporción de disolventes de 80:20 (metanol:agua). Los glucósidos aumentan su solubilidad en agua y soluciones alcohólicas acuosas.

3. Los Flavonoides Mediadores de la Inflamación

La inflamación es una respuesta del tejido a una lesión ya sea física, química o biológica, es protectora, que conlleva a la liberación de sustancias como bradiquinina, prostaglandina, histamina y serotonina. La IL 1 permite que se codifique la COX-2, así como la fosfolipasa A2 y el óxido nítrico sintetasa inducible. Sin la inflamación la infección se disemina por el cuerpo o llegar hasta enfermedades crónicas como la fibrosis pulmonar, aterosclerosis, artritis reumatoide o hipersensibilidad.

La enzima ciclooxigenasa es la responsable de que el ácido araquidónico se convierta en prostaglandinas mediante una reacción catalizada por la acción de la fosfolipasa A2. Los flavonoides inhiben enzimas propias de la síntesis de las prostaglandinas³⁰. Por ejemplo, la chalcona es 14 veces más potente para inhibir la COX2 que la flovona³¹, las dos son flavonoides. También flavonoides inhiben además de COX2 el sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS), y la proteína cinasa C³².

3.1 Efecto de los Flavonoides en Sistemas Enzimáticos

Los sistemas enzimáticos en general, están formados por la enzima propiamente dicha (apoenzima), el sustrato o los sustratos, un grupo proteico (o coenzimas) y sustancias activadoras. La estructura formada por la apoenzima y la coenzima se denomina (holoenzima) enzima o bioenzima, sin embargo, con cierta frecuencia se reconocen sistemas enzimáticos que no tienen grupo prostético o activadores reconocidos.



La intervención en distintas fases de las vías de señalización hace que los flavonoides tengan distintas funciones y participen en regular distintas enzimas ya sea en procesos de **hidroxilación, metoxilación, prenilación, o glicosilación**. Al eliminar radicales libres inhiben a iNOS dando un efecto antialérgico, al inhibir el metabolismo del ácido araquidónico (AA), les da la característica de antiinflamatorios y antitrombóticos.

Intervienen en la inhibición de enzimas como las cinasas, ATPasas, fosfolipasas, ciclooxigenasas, inhibiendo la producción total en procesos inflamatorios, de igual manera en las fosfodiesterasas.

Los flavonoides interactúan en varias fases de la inmunidad del organismo ante lipopolisacáridos (LPS) ó ante ácido lipoteicoico (LTA), u otros factores de virulencia que ante la acción del organismo por defenderse se destruye ó genera a nivel sistémico los signos cardinales de la inflamación y otros síntomas. Como ejemplo impide que la respuesta ante LPS el organismo produzca en fibroblastos la IL6 que quizá en el afán del organismo por destruir el patógeno destruye en hueso en el periodonto en forma de resorción.

3.2 Cinasas

Las cinasas, también llamadas kinasas debido a una traducción errónea del inglés kinases, son enzimas que modifican a sustratos mediante la fosforilación, la cual consiste en transferir un grupo fosfato desde el ATP a un sustrato específico.

Las proteínas cinasas transfieren un fosfato en posición gamma del ATP a un residuo de un aminoácido, entre los que se encuentran la serina: Ser, treonina: Tre, tirosina: Tyr e histidina: His a sus grupos hidroxilo e imidazol³³. De los residuos Ser/Tre están los modulados por Ca^{2+} de igual forma necesitan un ión metálico ya sea Mg^{2+} o el Mn^{2+} . Se puede aumentar o disminuir la actividad de una proteína, estabilizarla o marcarla para su

destrucción, localizar dentro de un compartimento celular específico, y puede iniciar o interrumpir su interacción con otras proteínas.

La fosforilación de las proteínas, la adición de un grupo de fosfato a una cadena del aminoácido, es una acción regulatoria muy importante para la transducción de señales que controlan el crecimiento y división celular, procesos que se encuentran activados en el cáncer, omitiendo las funciones de las fosfatasas y de las cinasas, reproduciéndose las células sin señales externas o factores de crecimiento.

Por la razón de que cada grupo de fosfato lleva consigo dos cargas negativas, la adición de un fosfato puede alterar la forma de la proteína. La forma alterada de una proteína es a menudo relacionada con la actividad alterada de la proteína. La habilidad de cambiar la conformación de una proteína entre dos formas diferentes permite un control regulatorio sobre la actividad de la proteína.

La fosforilación por las quinasas es un proceso reversible, y las proteínas pueden ser desfosforiladas (remoción de un grupo de fosfato) por enzimas que se conocen proteína-fosfatasa; Estos dos procesos son el “switch” de las señales celulares (Fig 5) .

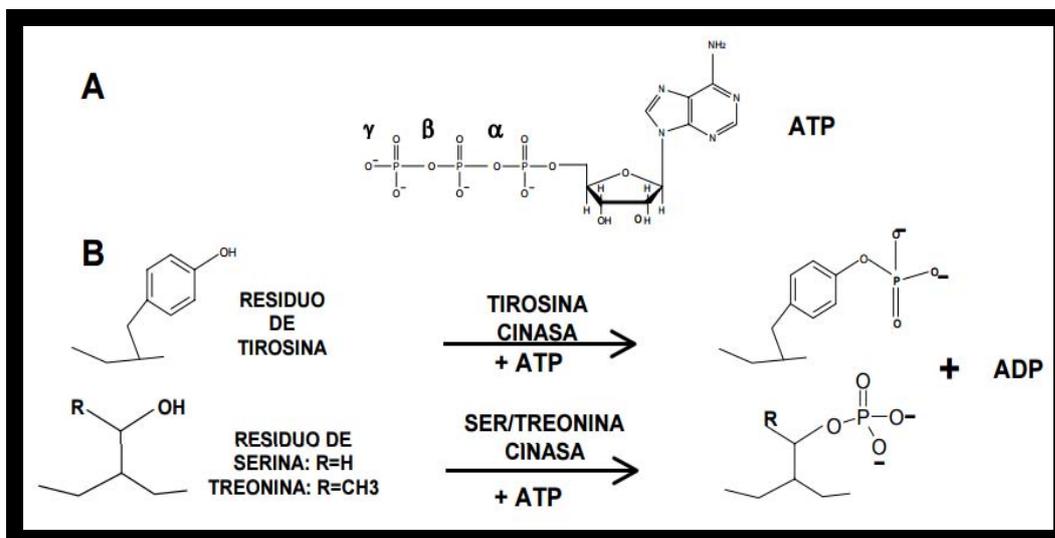


Fig. 4 Reacción química catalizada por cinasas.

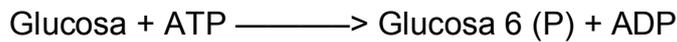


A. Estructura del ATP, B. Reacción catalizada por las proteínas cinasas, Parte del esquema de la pag. 4 de Roa Huerta M.³⁴

La clasificación es algo compleja por ejemplo de acuerdo a su sustrato:

- Glucoquinasa:

El sustrato es glucosa.



- Hexoquinasa:

El sustrato es una hexosa (esta enzima es menos específica que la glucoquinasa).



- Fosfofructoquinasa (PFK):

El sustrato es fructosa (P).



- Proteína quinasa:

El sustrato es una proteína.



- Tirosin quinasa:

El sustrato es un residuo de tirosina en una proteína.

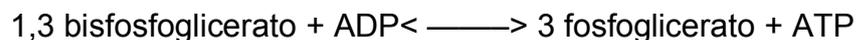
Por reacciones

---Reacción de la Piruvico quinasa:



---Reacción de la fosfogliceroquinasa:

(Esta reacción es una excepción entre las reacciones catalizadas por quinasa, ya que es reversible)



Algunas enzimas aumentan su actividad cuando son fosforiladas, mientras que en otras la actividad disminuye. Lo opuesto es válido también para la desfosforilación de enzimas: mientras que algunas enzimas aumentan su actividad cuando son desfosforiladas, en otras la actividad disminuye.



Otra clasificación es por su familia que son ocho:

- Familia AGC: abarca las cinasas enlazadas a proteínas G.
- Familia CAMKs: abarca las cinasas reguladas por calmodulina.
- Familia CMGC: abarca las cinasas dependientes de ciclinas.
- Familia CK1: abarca la caseína-cinasa.
- Familia RGC: abarca los receptores asociados a guanilato-ciclasa.
- Familia STE: abarca las MAP-cinasas.
- Familia TK (cinasa): abarca las tirosina-cinasas.
- Familia TKL: abarca las proteínas de tipo tirosina-cinasas.

La vía de las MAPK cinasas de proteína activada por mitógeno es de relevancia en el señalamiento celular, apoptosis, transcripción, traducción, síntesis de ácidos nucleicos, dinámica del citoesqueleto y sistema inmune: y su activación a nivel sistémico se relaciona a respuestas de hiperosmolaridad e hipo, agentes genotóxicos, luz ultravioleta, mediadores inflamatorios, choque de calor y estiramiento mecánico; también se relacionan con la patogénesis de cáncer, distrofia muscular, diabetes, Parkinson, desórdenes neurológicos.³⁵

Las cinasas reguladas por las señales extracelulares 1 y 2 (ERK 1/2), las cinasas de la porción amino terminal c-jun (JNKs 1,2 y 3), las p38 (α, β, γ), las ERK 7/8, las ERK 3/4, y las ERK5, son las 6 subfamilias de las MAPK en mamíferos.³⁶ (Tabla II)

Tabla II Componente de la Vía de señalización de las proteínas activadas por mitógeno

| Clasificación | Integrantes |
|---------------------------|--|
| MAPK | ERK, Fus3, Hog1, JNK, p30 |
| MAPKK | MEK1, MEK2, SEK1 (MKK α , JNKK) |
| MAPKKK | ASK1 (MKKK5), DLK (MUK), MLK3 (SPRK), PAK, TAK1, Grb2, SOS |
| Sustratos proximales | Ras, Rac, Cdc42 |
| Proteínas asociadas a GTP | Factor de crecimiento epidermal, insulina, trombina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, hormona tiroidea |
| Mitógenos | |

"Components of the MAPK Pathway" by Alizay31 - Own work. Licensed under CC BY-SA 3.0 via Wikimedia Commons



http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Components_of_the_MAPK_Pathway.png#/media/File:Components_of_the_MAPK_Pathway.png

La PKM2 es el punto control en la glicólisis, pero flavonoides como la miricetina, quercetina 3-β-D-glucósido, neoeriocitrin, (-) - galato de catequina, fisetina, (±) -taxifolin y (-) – epicatequina son potentes inhibidores y activadores por lo cual son importantes agentes anticancerígenos.³⁷

Los flavonoides extraídos de *Orostachys japonicus* (A. Berger), tienen mecanismos de acción de apoptosis en la leucemia humana induciendo en la vía de señalización de MAPK, esta planta es utilizada popularmente en países orientales.³⁸ También los flavonoides al inhibir a MAPK en las plaquetas inhiben su agregación plaquetaria, y con esto evitan trombos.³⁹

La modulación de la vía MAPK por parte de hesperidina y kaempferol impide la replicación del virus de la gripa tipo A⁴⁰, kaempferol regula principalmente a ERK y hesperidina a p38 y a JNK. Este hallazgo promete una nueva generación de fármacos antivirales.

3.3 ATPasas

La hidrólisis de ATP es producto de la acción de un conjunto de enzimas que da como resultado ADP, este proceso es llamado desfosforilación y se libera energía que se utiliza para las reacciones químicas que de otra forma no se lograrían.

Algunas de estas enzimas son proteínas integrales de membrana, es decir, son ATPasas transmembrana y mueven solutos en contra del gradiente de concentración. Ingresan a la célula moléculas necesarias para el metabolismo y llevan hacia afuera toxinas, desechos y solutos.

Se pueden clasificar en 5 subtipos, la F-ATPasas están en las mitocondrias, cloroplastos y bacterias, son productores de ATP, utilizando el gradiente



generado por la fosforilación oxidativa en mitocondrias y la fotosíntesis en cloroplastos.

La V-ATPasas se encuentran en vacuolas euciontas participando en la bomba de protones del lisosoma. A-ATPasas están en arqueas, P-ATPasas están en bacterias, hongos y transportan iones en membranas, E-ATPasas están en la superficie celular e hidrolizan ATP extracelular.

La ATP sintasa es un complejo enzimático encargado de proveer a la célula la energía necesaria para realizar todos sus procesos vitales mediante la síntesis de ATP, aunque también puede llevar a cabo la hidrólisis de éste, por lo que al complejo también se le nombra ATPasa.

ATPasa/ATP sintasa está presente en la membrana interna de las mitocondrias eucarióticas y actúa como el motor de la célula mediante la síntesis de ATP. También puede funcionar en la dirección inversa, la hidrólisis de ATP y el bombeo de protones bajo ciertas condiciones

Los flavonoides de *Scutellaria baicalensis* Georgi impiden las enfermedades neurodegenerativas en cerebros murinos modulando ATPasas, junto con el estrés oxidativo.⁴¹ El resveratrol un flavonoide que se encuentra en la vid, vino blanco, pulpa, semillas, inhibe en el cerebro e hígado de murinos a la ATPasa/sintasa. La quercetina inhibe la ATPasa bovina y porcina. Igualmente las isoflavonas genisteína, daidzeína y biochanina inhiben la ATPasa en mitocondrias de cerebro murino⁴²

Varias catequinas como la epicatequina y epigallocatequina tienen efecto inhibitorio sobre la actividad F_0F_1 -ATPasa, mientras que los ésteres de galato, incluyendo (-) galato de epigallocatequina (EGCG) y (-) galato de epicatequina (ECG) son potentes inhibidores.



3.4 Fosfolipasa A2

Las fosfolipasas A2 pertenecen al grupo de las estereasas y son enzimas que liberan ácidos grasos como el araquidónico y lipofosfolípidos, catalizando la hidrólisis de los fosfolípidos esterificados en el segundo carbono (sn-2) acilo-éster en la cadena principal de glicerol. Después por modificación por ciclooxigenasas el ácido araquidónico se modifica a través de la vía lipoxigenasa y la vía ciclooxigenasa en compuestos icosanoides que incluyen prostaglandinas y leucotrienos. Estas últimas moléculas son responsables de la inflamación y por ende del dolor en varias patologías.

Las enzimas que hidrolizan el puente sn2-éster se llaman fosfolipasas A2, pertenecen a la familia de las fosfolipasas, a la superfamilia de las lipasas y a la megafamilia de las hidrolasas.⁴³ Así mismo, forman parte de la inmunidad innata.

Tienen varias funciones biológicas como provocar la contracción de los músculos lisos en el sistema cardiovascular y el parénquima pulmonar inducen la proliferación de células, están asociadas con una variedad de afecciones inflamatorias como la artritis reumatoide, el shock endotóxico, el síndrome de distrés respiratorio y varios tipos de cáncer gastrointestinal.

En las últimas 2 décadas se han caracterizado 5 isoformas de PLA2⁴⁴:

- 1.- Secretorias de bajo peso molecular, las actúan preferencialmente sobre microvesículas emitidas por las células cuyas membranas han perdido la asimetría fosfolipídica.⁴⁵ (Tabla III)
- 2.- Citológicas de alto peso molecular
- 3.- Fosfolipasas independientes del calcio
- 4.- Acilhidrolasas que catalizan específicamente el factor activador de plaquetas (PAF)
- 5.- Fosfolipasas lisosomales



Tabla III Localización y funciones de diferentes tipos de PLA2s.

| PLA2s | Localización | Efectos fisiológicos |
|-------------------------|--|---|
| Grupo I o pancreática | Jugo pancreático, pulmón, hígado, riñón, bazo, suero | Digestión de fosfolípidos, contracción muscular lisa, proliferación celular, migración celular |
| Grupo II o inflamatoria | Fluido sinovial, plasma, pulmón, hígado, plaquetas, macrófagos, polimorfonucleares | Producción de potentes mediadores lipídicos de la inflamación, activación de linfocitos T, eliminación de bacterias, migración celular, degranulación de mastocitos |
| PLA2-8 PLA2-10 | Cerebro, testículos, intestino, corazón, placenta, hígado | ? ? |
| Insectos Serpientes | Venenos | Digestión, neurotoxicidad, miotoxicidad, efectos anticoagulantes |

Tomado del artículo: Yolanda C. Valdés Rodríguez, Miguel Bilbao Díaz, José L. León Álvarez y Francisco Merchán González, Origen e importancia de la fosfolipasa A2 de secreción, Rev Cubana Farm 2002;36(2):121-8

Aún así se encuentran varias clasificaciones ya sea de localización celular o tisular: citosólicas y secretorias, o por su dependencia al calcio: dependientes de calcio e independientes de calcio.

Se activa de alguna manera cuando interactúa con formas agregadas del sustrato, por ejemplo en micelas o en bicapas, interacciones electrostáticas e hidrófobas son sospechosos de estar involucrados en la unión de la enzima a la membrana⁴⁶. El primer paso en el mecanismo de por el cual transcurre la activación de la PLA2 son los virus, parásitos, bacterias, endotoxinas, etcétera que hacen que el factor de necrosis tumoral alfa, la interleucina 1 y 6 (IL1, IL6) y los lipopolisacáridos, provocan su activación en monocitos, macrófagos, condrocitos, osteoblastos, células endoteliales.

La quercetina es un inhibidor eficaz de PLA₂ en leucocitos de humano y conejo, la quercitina, el kaempferol 3-O-galactósido y scuetellarin igualmente inhiben la PLA2 pero en sitios sinoviales humanos, con valores de IC₅₀ que van desde 12,2 hasta 17,6 µm.⁴⁷



La inhibición de fosfolipasa A2 conduce a la disminución de icosanoides. La quercetina, el kaempferol, galantina, naringerina y otros flavonoides son antiinflamatorios por su intervención en las enzimas del ácido araquidónico,⁴⁸ pero los mecanismos por los cuales los flavonoides inhiben a la PLA2 no son muy claros.

PLA 2 tiene una unión flexible y los flavonoides interactúan en el sitio hidrofóbico cerca de la unión de la hélice N-terminal, además hacen contactos electrostáticos-hidrófilos con la enzima. La particularidad de los flavonoides es su independencia de unión y la inhibición de Ca catalítica²⁺.

3.5 Lipooxigenasas y ciclooxigenasa

Lipooxigenasa:

La araquidonato 5-lipooxigenasa ó 5-lipooxigenasa (5-LO) ó (LO), es una enzima humana, transforma a leucotrienos los ácidos grasos. Es activada por la proteína activadora de la 5-lipoxigenasa (FLAP). Del ácido araquidónico (AA) produce la serie 4 de leucotrienos proinflamatorios: LTB₄, LTC₄, LTD₄, LTE₄; del ácido eicosapentaenoico (EPA) produce la serie 5 de leucotrienos antiinflamatorios (LTB₅, LTC₅, LTD₅, LTE₅).

Ciclooxigenasa:

La Ciclooxigenasa (COX) o prostaglandina-endoperóxido sintasa, es una enzima que permite al organismo producir unas sustancias llamadas prostaglandinas a partir del ácido araquidónico. Puede actuar como peroxidasa o como dioxigenasa y es inhibida por los AINES.

La enzima COX 1, es constitutiva en plaquetas, células endoteliales, tracto gastrointestinal, microvasculatura renal, glomérulos y túbulos colectores; se encuentra dentro de la célula en el citoplasma o cerca del retículo plásmico, en la región perinuclear y en la membrana nuclear, la COX2 no es detectable en la fisiología normal solo en procesos inflamatorios, Su expresión aumenta de dos



a cuatro veces cuando se estimula, y los glucocorticoides no la inhiben; es responsable de la regulación del flujo sanguíneo renal, excreción de sodio y de la protección de la mucosa gástrica.

Con la enzima COX 2 posee una homología de más del 90%, y se expresa constitutivamente en diferentes puntos del aparato genital masculino y femenino y durante los procesos relacionados con la ovulación, la implantación ovular, la inducción del parto y la reproducción.

La COX 3 deriva del gen que codifica a la COX1, el PTGS1 (COX1), con la diferencia de que la COX-3 conserva un intrón que no es retenido en la COX-1, es la COX recientemente descubierta, se encuentra más en la corteza cerebral humana y el acetaminofen es el más selectivo hacia ella.

La eficacia de la inhibición varía enormemente; así, un único flavonoide puede inhibir una enzima a bajas concentraciones, pero puede necesitar de concentraciones 100 veces superiores para inhibir otra. La quercetina (flavonol) inhibe a la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa, siendo más potente contra la lipoxigenasa. De igual manera, Amentoflavona, una de las biflavonas y Ginkgetin (biflavona) inhiben la ciclooxigenasa comparable a la indometacina.⁴⁹

Silibina inhibe fuertemente la 5-LO de granulocitos humanos y de las células de Kupffer humanas y de ratas, pero se necesitan concentraciones de hasta 3 y 4 veces más altas que esta para lograr la mitad de la inhibición máxima en la vía de la CO en las células endoteliales y en los granulocitos humanos

El ciriliol, la gossypetina, la hypoletina y sus glicósidos, son muy efectivos inhibiendo la L, e igualmente kaempferol y quercetina⁵⁰

3.6 Fosfolipasa C (PLC)

Son un conjunto de enzimas hidrolasas intracelulares que participan en la transducción de señales, hidrolizan el enlace diester fosfórico, participan en el



metabolismo de los fosfatidilinositol bifosfato (PIP₂) y las vías calcio-dependientes de la señalización celular relacionados con lípidos, igualmente en los mecanismos que producen inositol trifosfatos (IP₃) y diacilglicerol (DAG) y que activan a la proteína cinasa C (PKC) con un total de 13 isozimas individuales que difieren una de la otra en su modo de activación, tiene seis isotipos (β , γ , δ , ϵ , ζ , η), antes de liberar fosfato libera el diacilglicerol.

La flavona (ugonin U), un flavonoide aislado de *Helminthostachys zeylanica* estimula PLC,⁵¹ pero la quercitina inhibe la producción de IP₃ inhibiendo a PLC en células musculares de las vías respiratorias, de ahí la propiedad broncorelajante de la quercetina con importancia en el tratamiento del asma alérgica y reducir la dependencia a beta agonistas de acción corta.⁵²

La rutina inhibe la activación de la fosfolipasa C, con esto inhibe formación de la proteína quinasa C y A tromboxano, lo que conduce a la inhibición de la fosforilación de P47 y la movilización de Ca²⁺, así la rutina inhibe la agregación plaquetaria,⁵³ de esta forma previene la rutina un accidente cerebrovascular por un ateroma.

4 Fosfodiesterasa de nucleótidos cíclicos

Las fosfodiesterasas (PDE) o nucleasas son enzimas hidrolasas que catalizan la ruptura de los enlaces fosfodiéster como los que se establecen en los ácidos nucleicos entre la pentosa de un nucleótido y el grupo fosfato de otro (Tabla IV).

PDE degrada AMPc a 5'-AMPc, siendo el AMPc un producto de la adenolato ciclase (AC) a partir de ATP; PDE regula de esta manera la concentración dentro de las células del AMP cíclico y del GMP cíclico (nucleótido cíclico fosfodiesterasas). Hay cinco isoenzimas. Se clasifican según el tipo de ácido nucleico y el tipo de enlace que hidrolizan y los fármacos usados como inhibidores de las fosfodiesterasas son cafeína, aminofilina, sildenafilo, etc.



Ribonucleasas del ARN; desoxirribonucleasas del ADN; Exonucleasas. Escinden el último nucleótido del extremo 5' o 3' de un polinucleótido, pueden degradar por completo un ácido nucleico lineal; Endonucleasas. Cortan los enlaces fosfodiéster situados en el interior de los polinucleótidos; Meganucleasas: modifican las proteínas y son capaces de arreglar la mutación que este perjudicándola y provocando una determinada enfermedad.

Tabla IV Características de la isoenzimas de PDE.

| Familia isoenzima | Principal distribución tisular |
|---|---|
| PDE 1: Ca ²⁺ /CaM activada | Cerebro, músculo liso, corazón, testículos |
| PDE 2: GMPc estimulada | Corteza adrenal, cerebro, corazón, endotelio |
| PDE 3: GMPc inhibida | Corazón, musculo liso, tejido adiposo, plaquetas, linfocitos T, macrófagos, células dendríticas, endotelio |
| PDE 4: AMPc específica | Epitelio bronquial, músculo liso bronquial y vascular, endotelio, linfocitos T, monocitos, eosinófilos, basófilos, neutrófilos, sistema reproductivo, piel, neuronas. |
| PDE 5: GMPc específica | Músculo liso, plaquetas, fibroblasto de pulmón, cerebelo. |
| PDE 6 (fotorreceptor): GMPc específica | Retina |
| PDE 7: AMPc específica (alta afinidad) | Músculo esquelético, células inmunitarias, cerebro |
| PDE 8: AMPc específica (alta afinidad) | Células inmunitarias, hígado, riñón, testículos, tiroides |
| PDE 9: GMPc específica (alta afinidad) | Cerebro, riñón |
| PDE 10: Especificidad dual | Cerebro, testículos |
| PDE 11: Especificidad dual | Cerebro, próstata, testículos, músculo esquelético |

Cuadro tomado del artículo de Julio Cortijo Gimeno⁵⁴

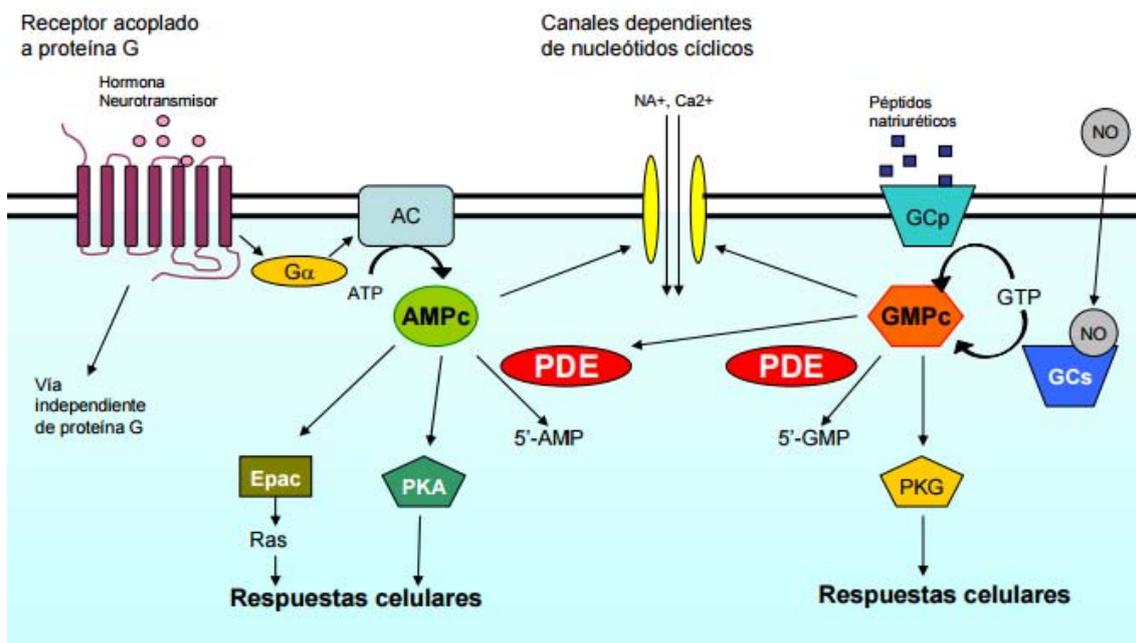


Fig. 5 Mecanismos de transducción de señales del receptores acoplados a proteínas G, canales dependientes de nucleótidos cíclicos y péptidos natriuréticos. Diagrama Elisabet Reyes Irisarri⁵⁵

En el esquema se muestra que los receptores acoplados a proteínas G, se acoplan las proteínas G que activan al efector final que es la adenilato ciclasa (AC) cuya función es la síntesis de adenosín monofosfato cíclico (AMPc) que activa a la proteína cinasa A (PKA) o a Exchange protein activated by cAMP/ proteína intercambiadora de nucleótidos de guanina activada por AMPc (Epac) y la fosfodiesterasa (PDE) produce 5'-AMP. Por otra parte, los péptidos natriuréticos activan la producción de guanilato monofosfato cíclico (CMPC) que por acción de la fosfodiesterasa (PDE) se produce 5'-GMP y la activación de la la proteína cinasa G (PKG) y la activación de respuestas celulares.

Al inhibir a PDE los flavonoides tienen efectos terapéuticos disminuyendo la agregación plaquetaria y la presión arterial, elevan los niveles de AMPc y la activación de proteína cinasa A. También al inhibir PDE inducen a hidrólisis de lípidos en el tejido adiposo y en el hígado, su estructura es estéricamente y electrostáticamente compatible con el sitio catalítico de AMPc, PDE3 y PDE4. Pueden entonces ser una elección concomitante el tratamiento de la enfermedad cardiovascular, así como las condiciones asociadas como la obesidad, esteatosis hepática y diabetes tipo 2.⁵⁶

Gnaphaliin flavonase encuentra en las hierbas y especias. *Gnaphaliin* es un constituyente de *Helichrysum italicum* (planta de curry), y tiene una preferencia para inhibir la degradación del GMPc relaja la aorta y tráquea de cuy, más que el sildenafil, en el mismo sitio de unión inhibiendo a PDE5.⁵⁷



4.1 Adenilato ciclasa

El adenilato ciclasa o llamado igualmente adenilil ciclasa (AC) Una enzima de la clase liasa que cataliza la formación de AMP cíclico y pirofosfato de ATP, se han detectado 10 isoformas, la número III es la más abundante en mamíferos y 5 son sensibles al calcio⁵⁸, al magnesio y a subunidades beta gamma de proteína G. AC es una enzima que forma parte de la cascada de señalización de la proteína G que transmite señales de exterior al interior de la membrana celular. Se enumeran con números romanos y catalizan la conversión de trifosfato de adenosina (ATP) a 3', 5'-AMP cíclico (cAMP). El principal producto del AC es el ATP⁵⁹

Los flavonoides crisina, apigenina disminuyeron la respuesta de plaquetas AMP cíclico a la prostaciclina, un efecto atribuido a la inhibición de la adenilato ciclasa. Las flavonas 7-hidroxiavona, apigenina, galangina y kaempferol fueron menos activas.⁶⁰

4.2 Sialidasa

La familia de enzimas denominadas trans-sialidasa (TS), ó neuraminidasa (NA), ó simplemente sialidasa comprende miembros en pesos moleculares en un rango de 120 a 200 KDa. Es un importante factor de virulencia al catalizar la transferencia de ácido siálico de glicoconjugados del hospedero a moléculas aceptoras en la membrana plasmática de parásitos, bacterias y envoltura vírica, por lo cual provoca infección y patogénesis. Por ejemplo esta molécula es expresada en grandes cantidades en la superficie de los tripomastigotes, las formas infectivas del parásito *T. cruzi*. Además, la TS es secretada por éstos, sugiriendo que la regulación de la expresión de esta molécula media la infección, apoptosis y desorganización de la histoarquitectura de órganos.

De igual forma otros microorganismos patógenos colonizan las distintas mucosas, tales como: *Corynebacterium diphtheriae*, *Vibrio cholerae*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus agalactiae*; y se asocian con la patogénesis de distintas enfermedades, entre las que podemos citar peritonitis,



cólera, septicemia, gastritis, enfermedad periodontal y enfermedad respiratoria. Por lo tanto, puede decirse que las sialidasas mejoran la capacidad de los microorganismos para colonizar y destruir tejidos, jugando un rol importante en la nutrición bacteriana, interacción celular y evasión de la respuesta inmune.⁶¹

Codificada en humanos como un factor de virulencia por el gen neuraminidasa NEU1, escinde terminales de ácido siálico de glicoproteínas y glicolípidos, forma el complejo heterotrimérico junto con beta-galactosidasa y la catepsina A en el lisosoma, y juega un papel fundamental en la nutrición, las interacciones celulares. Mucinas salivales y fibronectinas son ricos en ácido siálico, de igual forma en el plasma el ácido siálico es abundante y el plasma es el principal componente del fluido crevicular.

Comúnmente los ácidos siálicos están en posiciones terminales en la molécula de glicano en superficies de células eucariotas, donde juegan un papel importante en procesos biológicos como interacciones célula-célula, y pequeños reconocimientos célula-molécula, algunas bacterias como producto de su evolución utilizan esos ácidos como nutrientes, o para modificar su superficie con lipopolisacáridos, y así aparentar que son células huésped para eludir la respuesta inmune.

Sia_{Pg} (PG0352) es una alfa neuraminidasa exo funcionando como un factor de virulencia importante en la formación de biofilm y patogenicidad de *P. gingivalis*, bacteria etiológica de la periodontitis crónica, que es capaz de degradar factores de complemento C5 y C3, hábita en surcos gingivales.⁶²

Una serie de agentes sialidase antivirales se han desarrollado y están disponibles comercialmente, como zanamivir y oseltamivir para el tratamiento de la influenza. Sin embargo, el desarrollo de inhibidores de sialidasa bacteriana se ha tenido mucho menos éxito. Pero flavonoides, polifenoles naturales geranilados que muestran efectos inhibitorios significativos contra Cp-nani, una sialidasa de *Clostridium perfringens*. Esta bacteria causa diversas enfermedades gastrointestinales. La estructura cristalina del dominio catalítico



de Cp-NaNi fue inhibida por diplacone, también conocido como C o Propoline nymphaeol A, es una flavanona de geranilo, genera un complejo enzima-inhibidor estable.⁶³ Los flavonoides extraídos de *Paulownia tomentosa* tienen propiedades cinéticas notables contra la actividad de *Clostridium perfringens*, diplacone es el inhibidor más eficaz entre estos flavonoides.

Los flavonoides como, luto-narin, saponarin, Isoorientina, orientin, isovitexin, isoscoparin-7-O- [6-sinapoyl] glucósido, isoscoparin -7-O- [6-feruloyl] glucósido, isovitexin-7-O- [6-sinapoyl] glucósido, y isovitexin-7-O- [6-feruloyl] glucósido aislados de cebada inhibieron a la actividad de la sialidasa.⁶⁴ Medicamentos antivirales autorizadas contra la influenza A y B inhiben la propagación viral en el cuerpo humano de sialidasa.

Actividad de la neuraminidasa permite la liberación de los viriones mediante la escisión de ácido siálico terminal de las glicoproteínas en la superficie de la célula huésped. Kaempferol, quercitrina, isoquercitrina, hyperoside, rutina, y luteolina-7-glucósido se ha comparado la actividad de flavonoides con oseltamivir para inhibir NA en virus de la gripa y se ha confirmado la inhibición. De igual manera, la baicaleína inhibe la neuraminidasa del virus de la influenza tipo A (AHN1/H3N2).⁶⁵

4.3 Óxido nítrico sintasa

Óxido Nítrico Sintasa ó (NOS) es una enzima con tres isoformas; dos constitutivas: la endotelial (ONSe) y la neuronal (ONSn) y una inducible (ONSi, que está por lo regular cerca del apartado de Golgi) y requiere la presencia de cofactores como: flavin mononucleótido (FMN), flavin adenina dinucleótido (FAD), tetrahidrobiopterina (H4B) ó (TBH) y NADP, calmodulina (CaM), para formar óxido nítrico (NO) a partir del grupo guanidino del aminoácido semi esencial L-arginina en su conversión a L-citrulina. Esta acción puede ser inhibida por los mismos aminoácidos como la N-mono-metil-L-arginina (LNMA), la N-nitro-L-arginina metiléster (L-NAME) y otros.



Las 3 isoformas son homodímeros codificados por NOS1, NOS2 y NOS3, entre el 50 y 60% de homología en la secuencia de sus aminoácidos; se localizan en células endoteliales, macrófagos, neuronas, hepatocitos, plaquetas.

Cuando está la calmodulina (CaM) los electrones de NADPH son llevados por el FAD y por el FMN hacia el grupo hemo, la L- arginina se convierte en N-hidroxialanina y luego en NO y L-citrulina. NOS produce una mezcla de aniones superóxido (O_2^-) y óxido nítrico que reacciona con peroxinitritos ($ONCO^-$) esto provoca toxicidad. Cuando no hay TBH la NOS genera peróxido de hidrógeno (H_2O_2), superóxido y óxido nítrico, lo cual da como resultado el NO "in vivo" : nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-). Y cuando CaM no está presente el citocromo C recibe los electrones de NAPDH.⁶⁶ (Tabla V)

Tabla V Isoformas de óxido nítrico sintasa.

| Isoforma | Otro nombre | Peso molecular | Regulación | Localización |
|--------------|-------------|----------------|---|---|
| NOS tipo I | nNOS o bNOS | 155 Kda | Ca ⁺⁺ /calmodulina | Neuronas del SNC y SNP, neuroglías, islotes del páncreas |
| NOS tipo II | INOS | 125 Kda | Expresión inducida por citocinas y endotoxinas. | Macrófagos, hepatocitos, células musculares lisas, neutrófilos y otros. |
| NOS tipo III | eNOS | 135 Kda | Ca ⁺⁺ /calmodulina | Endotelio vascular, riñón, plaquetas. |

El óxido nítrico puede interactuar con diversas biomoléculas y marcadores celulares fisiológicos que provocan diferentes efectos,^{2,8} como se muestra en la siguiente tabla:

| | ÓXIDO NÍTRICO | |
|-----------------------------|--|---|
| DNA | GC-S | O_2^- |
| Citostático/citólisis | Regulación de mecanismos de transducción. Activador de NO. | Cambio de la bioactividad de NO. Daño oxidativo. |
| ENZIMAS | Hb | |
| Modulación de sus funciones | Disminuyendo la bioactividad Del NO | |

Abreviaturas: GC-S (Guanidil ciclasa soluble), O_2^- (anión superóxido), DNA (Ácido desoxirribonucleico), Hb (hemoglobina).

Cuadro tomado del artículo: Dora Ferrer Viant, Dra.Cecilia Jorge Fonseca, Ramón Enrique García Rodríguez y Pável Francisco Martínez Anglada. ÓXIDO NÍTRICO. IMPORTANCIA BIOLÓGICA Y PARTICIPACIÓN EN ALGUNAS FUNCIONES CARDIOVASCULARES Y HEMATOLÓGICAS.MEDISAN 1998;2(3):45-53⁶⁷



La flavona inhibe a NOS en su actividad enzimática en las células de cáncer de mama induciendo apoptosis, así impidiendo su proliferación. Igualmente la quercitina inhibe la actividad de INOS en células de cancer de bucal en humanos.

Acacetina es una flavona O-metilada encontrada en *Robinia pseudoacacia* (algarrobo negro), *Turnera diffusa* (damiana), *Betula pendula* (abedul), y en el helecho *Asplenium* suprime actividades transcripcionales de Stat-1 y Stat-3 mediante la inhibición de fosforilaciones en residuo tirosina (Tyr), y luego reduce expresiones de abajo objetivos iNOS y eNOS en células endoteliales de vena umbilical humana, así como cáncer de pulmón humano y células de cáncer de próstata.

Epigallocatequina-3-galato (EGCG) suprime la producción de NO y la actividad iNOS en colangiocarcinoma (CCA) y células de carcinoma mamario murino, La flavona 2-fenil-4H-1-benzopiran-4-ona en los macrófagos murinos y hepatocitos de rata, inhibe la expresión de iNOS.⁶⁸

Apigenina-7-glucósido se utiliza para tratar enfermedades respiratorias de vías superiores por que inhibe la secreción de iNos, se encuentra en *Chinesis Lobelia*, *Teucrium gnaphalodes* y té de diente de león.⁶⁹ Flavona frena la síntesis de NO mediante la inhibición de la actividad enzimática NOS.

4.5 Los Flavonoides moduladores de las vías de señalización

Los flavonoides fungen como moléculas de señal repelente o atrayente de bacterias patógenas o benéficas, ya que las vías de señalización celular tienen varias funciones como movimiento, metabolismo, diferenciación, proliferación, muerte y supervivencia; aunque no se puede generalizar su función. Por ejemplo, algunos flavonoides tales como 3', 4'-dihidroxi-4-methoxydalbergione, 4-methoxydalbergion, ceairin, y crisina, inhiben la expresión de ARNm inducida por IL-33 de genes inflamatorios. Por otra parte la baicaleína en el



cáncer gástrico reduce la vía de señalización de p38, reduciendo así los niveles de expresión de MMP 2 y 9.⁷⁰

Igualmente la naringenina es un potente inductor de la germinación, y pisatina un isoflavonoide de guisante también induce germinación interviniendo en el AMPc , disminuyendo la actividad de la fosfodiesterasa.⁷¹

Tabla VI Flavonoides y quimiotaxis.

| Flavonoide | Microorganismo | Mecanismo de acción | Referencia |
|---|--|---|-----------------------------|
| Biotina, thiamina y riboflavina | <i>Rhizobium leguminosarum</i> biovar phaseoli | Simbiosis: Fijación de nitrógeno | Streit <i>et al.</i> , 1996 |
| Naringenina, leutolina, eriodictiol y daidzeina | <i>Stenorhizobium meliloti</i> | Simbiosis: Fijación de nitrógeno | Peck <i>et al.</i> , 2006 |
| Naringenina, daidzeina, genisteina y epigenina | <i>Azorhizobium caulinodans</i> | Colonización intracelular de raíz de trigo | Jain y Gupta, 2003 |
| Naringenina y liquiritigenina | <i>Azorhizobium caulinodans</i> | Coloniza el xilema de <i>Arabidopsis thaliana</i> | Gough <i>et al.</i> , 1997 |
| Daidzeina y naringenina | <i>Herbaspirillum seropedicae</i> | promueven la colonización de a la raíz de <i>Arabidopsis thaliana</i> | |

Tabla tomada del artículo de García Jimenez⁷²

Cabe señalar que todas las interacciones planta-microorganismo o huésped-parásito implica un reconocimiento mutuo entre sustancias secretadas por la planta o el huésped y por el microorganismo, es decir, un diálogo molecular se intercambian señales. En todas las interacciones ya sean benéficas o patógenas están involucrados 2 mecanismos adherencia y quimiotaxis.

La luteolina impide la actividad de las vías de señalización celular (IGF y PI3K) importantes para el crecimiento del cáncer en las células de cáncer de colon,⁷³ por lo cual es un flavonoide preventivo. La quercetina regula la vía de señalización fostidil inositol 3 cinasa (PI3K / AKT) en ratones con linfoma de Dalton inhibiendo por lo tanto el crecimiento del linfoma.

Flavonoides en la caries

La caries es una enfermedad multifactorial en donde se desmineralizan los tejidos del diente por los ácidos de los residuos de alimentos en cavidad bucal. La destrucción química dental se da por la ingesta de azúcares, ácidos contenidos en bebidas y alimentos, también a errores en las técnicas de higiene así como pastas dentales inadecuadas, falta de cepillado dental, o a



mala técnica de cepillado , ausencia de hilo dental, y a una influencia genética; pero también a la mala o falta de praxis en la salud pública por parte de dentistas, médicos y gobiernos, aunado a entornos culturales y económicos propicios para el desarrollo de esta patología.

Aún así, se han desarrollado varias medidas preventivas a fin de controlar la insurgencia de la caries dental, medidas tales como fluoruros tópicos o sistémicos, selladores de fisuras, y enfoques dietéticos, pero no son suficientes para controlar la enfermedad, que como ya se mencionó tiene una etiología multifactorial. Además los microorganismos involucrados han desarrollado resistencia (por el mal consumo) a antibióticos.

Biofilms compuestos de especies virulentas son responsables de una amplia gama de infecciones, incluyendo los que se producen en la boca. La caries dental es una enfermedad infecciosa, que afecta a niños y adultos en todo el mundo. Esta enfermedad ubicua y es consecuencia de las interacciones entre los microorganismos y sus productos, la saliva, y carbohidratos de la dieta, lo que conduce al desarrollo de biofilms virulentas sobre superficies susceptibles de dientes.

La formación de biofilms cariogénicos es un proceso dinámico que depende de la producción de un derivado de exopolisacáridos (EPS). Bacterias orales incluyen estreptococos, lactobacilos, estafilococos, *Corynebacteria*, diversos anaerobios y levaduras.

Streptococcus mutans es el principal agente etiológico de la caries dental, y se adhiere a la superficie del diente a través de la sortasa A (srta) mediada por la proteína de la pared celular anclado-Pac. Adhesión a la superficie del diente por *S. mutans* y la formación de un biofilm son los pasos iniciales en el desarrollo de caries, por lo cual la inhibición de la actividad srta impide la adhesión de *S. mutans*, y la frecuencia de la caries dental.



Streptococcus mutans y *sacarosa* son importantes en el desarrollo de biofilms cariogénicos. La bacteria es un productor de exopolisacáridos, y es altamente acidogénica y tolerante de estrés ambiental. Sacarosa sirve como sustrato para la síntesis de EPS y la producción de ácido. Dentro del complejo microbioma oral, *S. mutans* no siempre es el organismo más abundante. Sin embargo, puede rápidamente formar biofilms cariogénicos. Cuando la sacarosa está disponible *S. mutans* sintetiza glucosiltransferasas (GTFS) que están presentes en la película (GtfC) y en las superficies bacterianas (GtfB), produce grandes cantidades de EPS *in situ* mediante la utilización de sacarosa como sustrato.

EPS formadas en superficies proporciona sitios de unión bacterianos, para la posterior colonización y la acumulación local de *S. mutans* y otros organismos en la superficie del diente. Con el tiempo, la EPS acumulado forma una matriz polimérica altamente cohesiva y protege las bacterias incrustadas

Por otra parte, la morina, que es un constituyente de flavonoides tipo flavonol, que se obtiene de muchas hierbas y frutas chinos, siendo antioxidante y anti-inflamatorio, e inhibe la actividad *Staphylococcus aureus*, interceptando en la secuencia aminoacídica entre las proteínas srta de *S. aureus* N315 (NP_375640.1) y de *S. mutans* UA159 (NP_721500.1) alcanza 29%. Además, los conservados de cisteína 184 y la histidina 120 residuos que son esenciales para la actividad de *S. aureus* también se encuentran en *S. mutans* UA159.⁷⁴

Otros flavonoides tipo isoflavonoides como el neovestitol y vestitol (NV) inhiben el desarrollo del biofilm por *S. mutans* *in vitro* e interrumpen el desarrollo de la caries dental *in vivo*, reducen significativamente la acumulación de *S. mutans* en biopelículas en las superficies de hidroxiapatita, posiblemente a la inhibición parcial de la actividad Gtf. Aplicados tópicamente NV son eficaces en la reducción de la incidencia y gravedad de la caries dental en roedores.⁷⁵ Por otro lado, las proantocianidinas (PA) bioflavonoides ampliamente disponibles en las frutas, verduras, nueces y semillas, pueden hacer una modificación de la dentina desmineralizada usándolos antes de aplica una resina y se ha encontrado que mejora la unión resina-dentina Sin



embargo, no se completa la matriz de colágeno en la parte inferior de la capa híbrida. Esto es debido a la falta de correspondencia entre la profundidad de la desmineralización de la dentina y adhesivo de resina que no tiene tanta profundidad, por lo cual no es de primera opción, además las interfaces de unión son desconocidas. PA es capaz de inhibir, no sólo la producción de ácidos orgánicos y la formación de biopelículas por las bacterias cariogénicas, sino también la progresión de la caries en las raíces artificiales al afectar el equilibrio de desmineralización y remineralización bajo las condiciones de pH.

PA es ligeramente ácido en solución y su estabilidad es influenciado por la magnitud del pH. Afecta positivamente el potencial de remineralización de la dentina desmineralizada y como pre-acondicionador depende de la concentración y el pH del acondicionador a base de PA.⁷⁶

La quercitina junto con alcaloides extraídos de *Withania somnifera* inhibe la capacidad cariogénica, inhibiendo de adhesión de *S. mutans*. *Whithania* es una planta de la familia de las solanáceas, ampliamente utilizada como un remedio para una variedad de dolencias en la India y Nepal; pero igualmente como un agente para el control para enfermedades dentales.⁷⁷

Igualmente, la antocianina y procianidina son eficaces contra *Fusobacterium nucleatum* y *S. mutans* inhibiendola formación de biopelículas. Por otra parte, kaempferol, quercetina, la quercetina 3-glucósido del extracto crudo de las partes aéreas (hojas y tallo suave) de la hierba salvaje planta *Phytolacca americana*, ya utilizada como medicina tradicional tienen propiedades anticariogénicas relevantes. La quercetina extraída de esta planta en las células bacterianas Gram positivas de *S. mutans* penetra la pared celular y la membrana citoplasmática perturbando su supervivencia e inhibe el crecimiento de *S. mutans* y *Porphiromonas gingivalis*. Por otra parte, compuestos tales como kaempferol inhiben el crecimiento de *P. gingivalis* y *Prevotella intermedia*, al mismo tiempo impide el crecimiento de *S. mutans* en un gran porcentaje.⁷⁸



Otra planta medicinal con importancia medicinal en cariólogía puede ser *Terminalia chebula* de la familia Combretaceae que se ha utilizado ampliamente en Ayurveda, Unani y en la medicina homeopática. El fruto maduro seco de *Terminalia chebula* tradicionalmente se ha utilizado en el tratamiento del asma, dolor de garganta, vómitos, hipo, diarrea, pilas de la sangría, la gota y el corazón y la enfermedad de vejiga, es una de las plantas más versátiles que tienen un amplio espectro de actividades farmacológicas y medicinales. Tiene compuestos con estructura química diversa y su extracto acuoso inhibe el crecimiento bacteriano de la placa dentobacteriana por acción de la quercitina, y otros fenoles.⁷⁹ Los flavonoides 1-methoxyficifolinol, licorisoflavan A, y 6,8-diprenylgenistein aislados de *Glycyrrhiza uralensis* (CLE) tienen efectos bactericidas sobre *S. mutans*.⁸⁰

La clorhexidina no se puede utilizar para el tratamiento y prevención de caries por el efecto indeseable de manchar el esmalte, por eso es justificado el uso de extractos inocuos para la prevención de caries. Como es el caso del extracto de *Plantago lanceolata* que se utiliza como té en Taiwan y Europa para efectos anticaries y antiinflamatorios, pues reduce la microflora de *Streptococcus* y *Lactobacillus* como *S. mutans* y *Lactobacillus casei*.⁸¹

El género *Plantago* (Plantaginaceae) comprende aproximadamente 275 especies con una distribución cosmopolita. Contiene flavonoides como kaempferol, quercitina, ramnetina, naringenina y taninos.

Enfermedad Periodontal

La periodontitis que puede cursar al inicio con gingivitis, es un proceso infeccioso-inflamatorio multimicrobiano, localizado en las encías y en el soporte del diente o lo que es propiamente dicho el periodonto: encía, cemento dentario, ligamento periodontal y hueso alveolar. El periodonto es una unidad biofuncional del sistema masticatorio.



Un hospedador susceptible influye en el inicio de la enfermedad junto con ciertas bacterias provenientes de la placa subgingival que son esenciales para el desarrollo de la misma. Estas enfermedades se han clasificado en gingivitis, limitadas a las encías y periodontitis, extendidas a tejidos más profundos. La clasificación de las enfermedades periodontales ha ido variando a lo largo de los años por el International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions⁸². La periodontitis es la causa principal de pérdida de dientes en adultos mayores a nivel mundial ⁸³, y aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus.

Las bacterias anaerobias gran-negativas más importantes y prevalentes en el área subgingival son el *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Tannerella forsythensis* (Tf) y *Fusobacterium nucleatum* la cual tiene adherencia a virus y bacterias gram positivas y negativas.

El biofilm y las bacterias que contiene están implicadas en la formación de las bolsas periodontales, la destrucción del tejido conectivo y la reabsorción el hueso alveolar. Esto se realiza por que las bacterias estimulan a las células epiteliales, fibroblastos y monocitos con su componente estructural de su membrana externa llamado lipopolisacárido (LPS) de las bacterias Gram negativas y que no se encuentra en Gram positivas, si la superficie aproximada de una bacteria oscila entre 6-9 μm^2 el LPS correspondería a las $\frac{3}{4}$ partes de la superficie bacteriana.

La molécula se compone de dos regiones principalmente, un glucolípido llamado lípido A y un heteropolisacárido conocido como el núcleo o core unidos entre sí por el azúcar ácido 2-keto-3-deoxioctanato (KDO). El lípido A se le reconoce como la fracción biológicamente activa de la molécula, se trata de un disacárido (glucosamina) unido a ácidos grasos que por lo general son ácido caproico, laúrico, mirístico, palmítico y esteárico los cuales están insertos en la membrana externa de la bacteria.⁸⁴

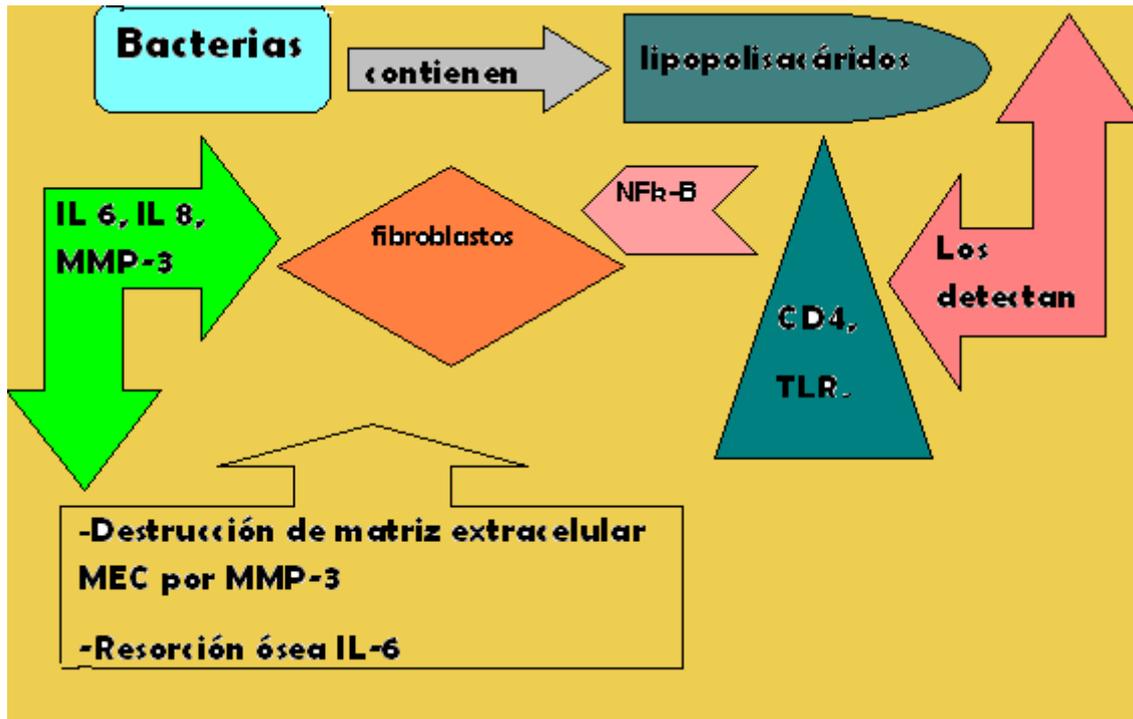


Fig. 6 Esquema sobre el proceso de la periodontitis, hecho por el autor de esta tesis

Ya en el hospedero la proteína de unión al LPS (LBP) captura el LPS y forma el complejo denominado complejo LPS-LBP para asociarlo con CD 14 proteína de monocitos, macrófagos, polimorfonucleares y células endoteliales para que lo reconozca TLR4/MD-2, TLR 4 interacciona con proteínas de dominio TIR (Receptores Toll Interleucina 1) de ahí la MyD88 y la TRIF activan a NFκ-b.

NFκ-B está en el citoplasma pero funciona en el núcleo, es una proteína dímero de la familia Rel unido a una proteína inhibidora (IκB); NFκ-B que es muy investigada desde 1986 por su importancia ante reacciones de apoptosis y de ROS, pero al mismo tiempo y paradójicamente es antiapoptótico y apoptótico por las reacciones que provocan los genes diana (ver tabla) regulados por NFκ-b en su transcripción en el núcleo. Se compone de cinco proteínas Rel A, RelB, c-Rel, P105/p50, P100/p52, 4 inhibidores IκB-alfa, IκB-beta, IκB-épsilon y Bcl-3. Y los que pueden fosforilar a las proteínas inhibidoras son IKK-alfa, IKK-beta, IKK-gama o NEMO, MAPK o p38, y la cinasa inductora de NFκ-b (NIK). Estas últimas son activadas ya sea por luz o por citocinas.



Tabla VII Genes diana de NFk-b

Citocinas/factores de crecimiento

Interleucina-1 α (IL-1 α), IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- α , linfotoxina, interferón- β , factor estimulador de colonias de granulocitos, factor estimulador de colonias de macrófagos, factor estimulador de colonias de macrófagos-granulocitos.

Receptores solubles de citocinas

Cadena α del receptor de IL-2

Proteínas de estrés

Proteína de suero amiloide A, factor de complemento B, α -1 glicoproteína acida C3 y C4, enzimas antioxidantes como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (Cat), glutatión (GSH), la cadena pesada de ferritina (FHC).

Moléculas de adhesión

Molécula de adhesión intracelular 1, molécula de adhesión celular vascular 1, selectina E.

Moléculas inmunoreguladoras

Cadena ϵ ligera de inmunoglobulinas, complejo mayor de histocompatibilidad, receptor de células T (α y β), microglobulina β_2 , cadena invariante, transportador asociado con en antígeno procesador, subunidad del proteosoma (LMP2), óxido nítrico sintetasa inducida, inhibidoras de ϵ B, p53, A20.

Cuadro tomado de la pag. 135 de Nancy P. Echeverri R, Ismelia Mockus S.⁸⁵

NFk-B regula la transcripción de genes de las IL-6 y MMP-3 (y un gran número de otros genes implicados en la inflamación y daño tisular). IL 6 en cargada de la estimulación de la resorción ósea y la IL 8 es un quimioatrayente y activador de los neutrófilos, que inducen a la creación de MMP-8.

La MMP-3 en la encía está asociada con el desarrollo de la periodontitis, y puede ser una enzima que causa la destrucción del tejido, clave en otras enfermedades inflamatorias, incluyendo la artritis. Por otra parte, los fibroblastos de la periodontitis agresiva también producen metaloproteinasas de la matriz (MMPs), incluyendo MMP-3, que degrada muchos componentes de la matriz extracelular.

Mecanismo de Acción de los flavonoides

Los flavonoides intervienen en distintas fases de la enfermedad. Diversas investigaciones señalan la baicaleína, un flavonoide del grupo de flavonas, aislado de *Scutellaria radix*, interviene en el comportamiento de *Porphyromonas gingivalis*, el cual es un patógeno asociado a la patogénesis



periodontal de adulto, interactúa con TLR 2 y 4 y de esta forma puede suprimir la inducción de metaloproteinasa-8 (MMP-8) por IL-8 en neutrófilos humanos.

La baicaleína es un inhibidor de la LOX12 Y 15, disminuye la generación de AA, promueve la apoptosis e inhibe la proliferación de células cancerosas. Protege a las células del neuroblastoma humano contra la neurotoxicidad inducida por 6-hidroxidopamina⁸⁶. La baicaleína desregula la expresión de la IL 6 en cargada de la estimulación de la resorción ósea y la IL 8 es un quimioatrayente y activador de los neutrófilos, que inducen a la creación de MMP-8, aquí suprime la inducción

Se puede sugerir que el uso de la baicaleína es adecuada en la terapia para la periodontitis. También inhibe la activación de IKK, NFκB, MAPK, p38 y JNK inducida por LPS. FACTOR KINASA 1 IRAK 1, proteína quinasa MAPK, c-Jun N-terminal quinasa (JNK), igualmente puede desregular los genes independientes y dependientes de MyD88⁸⁷. El arándano (*Vaccinium macrocarpon*) es rico en polifenoles, en particular proantocianidinas que inhiben la producción constitutiva IL-17 estimulada por IL-6 y IL-8, IL-8 promueve la inflamación al actuar como un quimioatrayente para los neutrófilos. IL-6 es producido por los fibroblastos en la encía inflamada, y su expresión se incrementa en los sitios periodontales enfermas, IL-17 puede aumentar la producción tanto de IL-6 y IL-8 por los fibroblastos gingivales humanos, la IL-17 estimula la producción de células epiteliales gingival humano de la IL-1β y factor de necrosis tumoral (TNF) -α,

Las proantocianidinas, inhiben agregación conjunta de las bacterias orales y la formación de biofilm, las lesiones periodontales se caracterizan por la infiltración de linfocitos T cooperadores, macrófagos y linfocitos B y células plasmáticas, dependiendo de la etapa de la enfermedad, la participación de dos principales subpoblaciones de células T cooperadoras (Th1 y Th2), que tienen perfiles diferentes de la secreción de citoquinas. El extracto de arándano tienen



componentes pueden regular fibroblastos respuestas inflamatorias en especial en la periodontitis agresiva.

Las proantocianidinas de arándano son los inhibidores de la ciclooxigenasa-2 inhiben NF-kB activación, Sin embargo, inhibidores de la ciclooxigenasa-2 por el gran riesgo al infarto al miocardio e insuficiencia renal se limitan su uso como agentes anti-inflamatorios, lo que sugiere que podrían ser útiles en el tratamiento de la inflamación periodontal⁸⁸.

Un tratamiento es un material que impida la adhesión de bacterias como *Porphyromonas gingivalis* y *Fusobacterium*. En ese sentido las proantocinidinas del zumo de arándano, inhiben la adherencia de ambas especies de bacterias sobre las células epiteliales y para inhibir la agregación conjunta de una manera dependiente de la dosis y NDM elimina la expresión de TNF- α por los macrófagos que fueron expuestos a *P. gingivalis* y *F. nucleatum*, sin perjudicar su viabilidad. Además, NDM aumentó la fagocitosis de *P. gingivalis*.

Los resultados indican que el uso de leche en polvo descremada puede mantener posibles modalidades de protección y/o prevención de la enfermedad periodontal. Los mecanismos subyacentes a este hallazgo tal vez pueden ser las propiedades anti-adhesivas de NDM o su potencial efecto sobre la inflamación⁸⁹. El flavonol isorhamnetina de la planta psicodélica *Tagetes lúcida* (caléndula mexicana) nativa de México y América Central, inhibe la producción de la IL-6 por los macrófagos murinos Isorhamnetina regula la expresión de la isoforma de la hemo oxigenasa (HO-1), tanto a nivel de transcripción de genes y la traducción en células estimuladas con LPS obtenido de *Prevotella intermedia*.

Mientras que la protoporfirina IX de estaño, bloqueó el efecto de inhibidor de isorhamnetina en la producción de IL-6. Isorhamnetina no pudo evitar que el LPS activara a p38, c-Jun N-terminal. Isorhamnetina no inhibió la actividad transcripcional NF-kB en el nivel de inhibidor de la degradación kappa B- α (IkB



α). Isorhamnetina suprimió a p50 de NF-kB señalización en la inhibición de la translocación nuclear y la actividad de unión al ADN y al activador de transcripción 1 de señalización (ATF).⁹⁰



Conclusiones

Los flavonoides no solo tienen propiedades en sus modalidades clásicas estudiadas en manera ya sea preventiva, en el transcurso de la enfermedad y convalecientes en la inflamación, infección, neoplasias, sepsis, cardiopatías, gastropatías; sino también características para la mejor amplitud de la memoria, tratar la depresión y la curación de ceguera.

La variedad de la utilización en que se ven incluidos a los flavonoides es por que participan en de distinta maneras y de distintas formas, ya sea como segundos mensajeros, en la traducción, transducción, en las vías de señalización, en sistemas enzimáticos tales NOS, NFk- β , MAPK, TNF, COX's, LO, proteína C y proteína G.

Quizá sea hasta que se logre determinar la dosis efectiva de los flavonoides para que el humano pueda mantener la homeostasis, evitando el daño que acarrea el estilo de vida implantado por los factores culturales y socioeconómicos. Pero aun así podemos afirmar que el esfuerzo en investigación hasta hoy día realizada no la podemos menospreciar en el ámbito odontológico y en la salud pública bucal, la cual es un filón de bonanzas para el tratamiento y prevención oportuna.

De igual manera, gracias a la combinación de flavonoides y medicamentos para el tratamiento de cáncer y otras patologías hace más efectivos los tratamientos en casos donde si no existiera esta combinación llegaríamos a la fatal conclusión de que entonces casi no hubiera esperanza.

Es decir el estudio de flavonoides abre oportunidad al humano no solo como tratamiento alternativo, o para correlacionar el efecto de tratamientos tradicionales ya sea de México, países orientales, o de la India, u otros; sino para regresarnos a una dieta más sana y equilibrada y quizá me atrevería a decir menos consumista.



Referencias

- 1 García-Tirado J, Effect of flavonoids in the prevention of lung cancer: systematic review. Med Clin (Barc). 2012 Oct 6;139(8):358-63.
- 2 Kumar S, Pandey AK. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. The Scientific World Journal, Vol 2013 [PMC, Pub Med]
- 3 Rodríguez Barba C E. Desarrollo de un esquema de extracción de flavonoides glucilados a partir de limón mexicano(*Citrus aurantifolia swingle*). [Tesis] México, UNAM: Facultad de Química 2004. Pag 12
- 4 Dayong Si , Ying Wang , Yi-Han Zhou , Yingjie Guo. Mechanism of CYP2C9 Inhibition by Flavones and Flavonolsde CYP2C9 Inhibición por flavonas y flavonoles, DMD 03 2009 Vol. 37 . 3 629-634
- 5 Bonkanka Tabares C. X. Evolución Farmacológica de Terpenos y Flavonoides de Origen Vegetal. [Tesis Doctoral] España: Universidad Laguna 2006. Pag 16
- 6 Giampieri F, Forbes-Hernandez TY, Gasparrini M, Alvarez-Suarez JM, Afrin S, Bompadre S, et al. M Strawberry as a health promotes ann evidence based . Food Funct. 2015, Mar 24
- 7 Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ Los flavonoides: propiedades y acciones. Nutr Hosp 2002, 17, 271-278
- 8 <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001.pdf>
- 9 <http://herbolaria.wikia.com/wiki/Flavonoide>
- 10 Luis, DA y Aller, R.. Papel de los flavonoides del té en la protección cardiovascular. An. Med. Interna (Madrid) 2008, vol.25, n.3 105-107.
- 11 Albert Cabrera y Mach N. Flavonoids as Chemopreventive and Therapeutic Agents Against Lung Cancer, Rev Esp Nutr Hum Diet. 2012;16(4):143-153
- 12 Luis, D.A. de y Aller, R. Papel de los flavonoides del té en la protección cardiovascular. An. Med. Interna (Madrid) 2008, vol.25, n.3 pp. 105-107 .
- 13 Joen-Rong Sheu, , George Hsiao , Po-Hsiu Chou , Ming-Yi Shen, y Duen-Suey Chou§ , Mecanismos implicados en la actividad antiplaquetaria de Rutina, un glucósido de flavonol quercetina, en plaquetas humanas,Diario de Agricultura y Química de Alimentos 2004 52 (14).



14 Peluso MR , Flavonoids attenuate cardiovascular disease, inhibit phosphodiesterase, and modulate lipid homeostasis in adipose tissue and liver., *Exp Biol Med* (Maywood). 2006 septiembre; 231 (8): 1287-1299.

15 Pérez Valera, Aislamiento e identificación de los flavonoides en el propóleo negro del Estado de Zacatecas, [Tesis] México, UNAM: Facultad de Química 2013

16 Enciso, E; Arroyo J. Efecto antiinflamatorio y antioxidante de los flavonoides de las hojas de *Jungia rugosa* Less (matico de puna) en un modelo experimental en ratas. *An. Fac. med.*, Lima, v. 72, n. 4, dic. 2011

17 Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ, Los flavonoides: propiedades y acciones. *Nutr Hosp* 2002, 17, 271-278, 2002

18 Kumar S, Pandey AK. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, Vol 2013 [PMC, Pub Med]

19 Eshwarappa RSB, Iyer S, Subaramaihha SR, Richard SA, Dhananjaya BL. Antioxidant activities of ficus glomerata (moraceae) leaf gall extracts. *Pharmacognosy Research* 2015;7(1):114-120.

20 Jung-Hyun Kim, Minjung Canción, Geun-Ho Kang, El tratamiento combinado de 3-hidroxi flavona y mesilato de imatinib aumenta la muerte celular por apoptosis de las células de la leucemia mesilato resistentes a imatinib, *Leuk Res*. 2012 septiembre; 36 (9): 1157-1164.

21 Kumar S, Pandey AK. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, Vol 2013 [PMC, Pub Med]

22 Cabrera A y Mach N, Flavonoids as Chemopreventive and Therapeutic Agents Against Lung Cancer, *Rev Esp Nutr Hum Diet*. 2012;16(4):143-153

23 Tsui, K.-C.; Chiang, T.-H.; Wang, J.-S.; Lin, L.-J.; Chao, W.-C.; Chen, B.-H.; Lu, J.-F. Flavonoids from *Gynostemma pentaphyllum* Exhibit Differential Induction of Cell Cycle Arrest in H460 and A549 Cancer Cells. *Molecules* 2014, 19, 17663-17681.

24 Leung HW, Lin CJ, Hour MJ, Yang WH, Wang MY, Lee HZ. **Kaempferol** induces apoptosis in human lung non-small carcinoma cells accompanied by an induction of antioxidant enzymes. *Food Chem Toxicol*. 2007 Oct;45(10):2005-13. Epub 2007 May 18.



25 Marzia Innocenti, Marco Michelozzi, Catia Giaccherini, Francesca Ieri, Franco Francesco Vincieri, Nadia Mulinacci, Los flavonoides y biflavonoides en la Toscana Bayas de *Juniperus communis* L.: La detección y cuantificación por HPLC / DAD / ESI / MSDiario de Agricultura y Química de Alimentos 2007 55 (16), 6596-6602, DOI: 10.1021 / jf070257h

26 Yuuki Kimura, Toshio Aoki y Shin-ichi Ayabe, Chalcone Isomerasa Isoenzimas con diferentes especificidades de sustrato hacia 6'-hidroxi y 6'-Deoxychalcones en células cultivadas de *Glycyrrhiza echinata*, una planta leguminosa Producir 5 Deoxyflavonoids Plant Cell Physiol (2001) 42 (10):1169-1173. doi: 10.1093 / pcp / pce1

27 Rodríguez Barba CE Tesis: DESARROLLO DE UN ESQUEMA DE EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES GLUCOSILADOS A PARTIR DE LIMÓN MEXICANO (*CITRUS AURANTIFOLIA SWINGLE*), Facultad de Química, UNAM 2004. Pag.12

28 Pérez-Nájera, Lugo-Cervantes, Gutiérrez-Lomelí y Del-Toro-Sánchez, EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE LA CÁSCARA DE LIMA (*Citrus limetta* Risso) Y DETERMINACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, Volumen XV, Número 3, México 2012.

29 Kristen AV, Lehrke S, Buss S, Mereles D, Steen H, Ehlermann P, Hardt S, Giannitsis E, Schreiner R, Haberkorn U, Schnabel PA, Linke RP, Röcken C, Wanker EE, Dengler TJ, Altland K, Katus HA. Green tea halts progression of cardiac transthyretinmyloidosis: an observational report. Clin Res Cardiol. 2012 Oct;101(10):805-13. Epub 2012 May 15

30 María AR.; Nieva Moreno, M I.; C. Zampini, I; Isla, M I. 2007. Actividad antiinflamatoria de flavonoides naturales y estructuralmente relacionados. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, num. Sin mes, pp. 313-314.

31 Bøhn SK, Croft KD, Burrows S, Puddey IB, Mulder TP, Fuchs D, Woodman RJ, Hodgson JM. Effects of black tea on body composition and metabolic outcomes related to cardiovascular disease risk: a randomized controlled trial. Food Funct. 2014 Jul 25;5(7):1613-20.

32 González-Gallego J., Sánchez-Campos S., Tuñón M. J. Anti-inflammatory properties of dietary flavonoids. Nutr. Hosp. [revista en la Internet]. 2007 Jun [citado 2015 Ene 31]; 22(3): 287-293. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000400002&lng=es.



33 Flores-Vieyra R, Raya-Pérez JC y M. Torres-Márquez ME. Proteínascinasas dependientes de Ca^{2+} : Características y activación; Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina UNAM, REB 24(3,4): 74-80, 2005

34 Roa Huerta M. Creación de Herramientas Moleculares Para el Estudio de las Cinasas: El Caso de la CDC2, Tesis de maestría en Ciencias Bioquímicas, Facultad de Química UNAM, Abril del 2004.

35 Saucedo García M, Gavilanes Ruiz M. Las MAP Cinasas: Elementos de Señalización en la Defensa de las Plantas Contra Patógenos; Revista de Educación Bioquímica, marzo del 2005, volumen 24, número 001, UNAM, pp 4-11.

36 García Hernández S. Activación de las vías MAP cinasas ERK 1/2 por el glutamato en las células del epitelio pigmentado por la retina; Tesis de doctorado en ciencias biomédicas, Instituto de Fisiología Celular, UNAM 2009

37 Aslan E , Guler C , Adem S . In vitro effects of some flavonoids and phenolic acids on human pyruvate kinase isoenzyme M2.. J Med Chem Enzima Inhib 2015 23 de marzo: 1-4

38 Lee WS , Yun JW , Nagappan A , Jung JH , Yi SM , Kim DH , Kim HJ , Kim G , Ryu CH , Shin SC , Hong SC , Choi YH , Jung JM . Flavonoids from *Orostachys Japonicus* A. Berger Induces Caspase-dependent Apoptosis at Least Partly through Activation of p38 MAPK Pathway in U937 Human Leukemic Cells. Asia Pac J Cancer Prev. 2015; 16 (2): 465-9.

39 Luis, D.A. de y Aller R.. Papel de los flavonoides del té en la protección cardiovascular. An. Med. Interna (Madrid) [online]. 2008, vol.25, n.3 [citado 2015-03-27], pp. 105-107 .

40 Dong W, X Wei, Zhang F, et al. Un personaje dual de flavonoides en la gripe A la replicación del virus y la propagación a través de la modulación de la inmunidad de células autónomas por MAPK vías de señalización. Scientific Reports . 2014; 4: 7237. doi: 10.1038 / srep07237.

41 Miao G, Zhao H, Guo K, et al. Mecanismos que subyacen a la atenuación de la apoptosis de neuronas corticales en el cerebro hipóxico por flavonoides de los tallos y las hojas de *Scutellaria baicalensis* Georgi. Regeneración Neural Investigación . 2014; 9 (17): 1592-1598. doi: 10.4103 / 1.673-5374,141784.

42 Zheng J, Ramírez VD. La inhibición de protones mitocondrial F₀F₁-ATPasa / ATP sintasa por fitoquímicos fenólicos. British Journal of Pharmacology . 2000; 130 (5): 1115-1123. doi: 10.1038 / sj.bjp.0703397.



43 García Morán, Andrés Gaitán, Ananías García, Dianney Clavijo, Aspectos biomédicos de las fosfolipasas A2 en la especie humana, MedUNAB; Vol 11, No 1 (2008): Med UNAB.

44 Pag 12 de Valdez Cruz Norma Adriana, Caracterización bioquímica y funcional de la fosfolipasa A2 heterodimérica Phaiodactylipina perteneciente al grupo III, Tesis doctoral, Instituto de Biotecnología UNAM, 2004

45 Yolanda C. Valdés Rodríguez, Miguel Bilbao Díaz, José L. León Álvarez y Francisco Merchán González, Origen e importancia de la fosfolipasa A2 de secreción, Rev Cubana Farm 2002;36(2):121-8

46 Feng Zhou y Klaus Schulten PROTEÍNAS Estudio molecular dinámica de la activación de la fosfolipasa A2 en una superficie de la membrana. .: Estructura, Función, y Genética, 25: 12-27, 1996.

47 Elliott Middleton Jr. Chithan Kandaswami¹, and Theoharis C. Theoharides^{1,2} The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer, Pharmacological Reviews December 1, 2000 vol. 52 no. 4 673-751

⁴⁸ Lättig J, Böhl M, Fischer P, Tischer S, Tietböhl C, Menschikowski M, Gutzeit HO, et al. , Mechanism of inhibition of human secretory phospholipase A2 by flavonoids: rationale for lead design, Journal of Computer-Aided Molecular Design, Aug;21(8):473-83.

49 HP Kim ,I. Mani ,L. Iversen ,VA Ziboh, Effects of naturally-occurring flavonoids and biflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea-pigs, Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. doi: 10.1016 / S0952-3278 (98) 90125-9

50 Della Loggia R , Ragazzi E, Tubaro A, Fassina G, Vertua R. Anti-inflammatory activity of benzopyrones that are inhibitors of cyclo- and lipoxygenase, Pharmacol Res Commun. 1988 Dec;20 Suppl 5:91-4.

51 Chen CY, Liaw CC, Chen YH, Chang WY, Chung PJ, Hwang TL. A novel immunomodulatory effect of ugonin U in human neutrophils via stimulation of phospholipase C. Free Radic Biol Med. 2014 Jul;72:222-31. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.04.018. Epub 2014 Apr 18.

52 Townsend EA, Emala CW. La quercetina se relaja de forma aguda del músculo liso bronquial y potencia la relajación inducida por β -agonista través de la inhibición de la fosfodiesterasa dual de PLC β y PDE4. American Journal of Physiology - Pulmón Fisiología Celular y Molecular . 2013; 305 (5): L396-L403. doi: 10.1152 / ajplung.00125.2013.



53 Joen-Rong Sheu, , George Hsiao , Po-Hsiu Chou , Ming-Yi Shen, y Duen-Suey Chou§ , Mecanismos implicados en la actividad antiplaquetaria de Rutina, un glucósido de flavonol quercetina, en plaquetas humanas,Diario de Agricultura y Química de Alimentos 2004 52 (14), 4414-4418,DOI: 10.1021 / jf040059f

54 Julio Cortijo Gimeno, Inhibidores de fosfodiesterasa 4: un nuevo grupo farmacológico en el tratamiento de la inflamación crónica de las vías aéreas Arch Bronconeumol. 2010;(Supl 9):3-7

55 Elisabet Reyes Irisarri, Fosfodiesterasas del AMPc y del GMPc en el cerebro: expresión en procesos neuroinflamatorios y neurodegenerativos. Barcelona 2007.

56 Peluso MR , Flavonoids attenuate cardiovascular disease, inhibit phosphodiesterase, and modulate lipid homeostasis in adipose tissue and liver., Exp Biol Med (Maywood). 2006 septiembre; 231 (8): 1287-1299.

57 Rodríguez-Ramos, F., González-Andrade, M. y Navarrete, A. (2011), Gnaphaliin A y B se relajan el músculo liso de la tráquea de cobayo y rata aorta a través de la inhibición de la fosfodiesterasa.Diario de Farmacia y Farmacología, 63: 926-935. doi: 10.1111 / j.2042-7158.2011.01275.x

58 Martínez Gonzalez Cecilia tesis: Caracterización de las isoformas de adenilato ciclasa sensibles al calcio en las células GT, Instituto de Neurobiología, Unidad Juriquilla Querétaro UNAM, 2004

59 proteopedia.org/wiki/index.php/Adenylyl_cyclase

60 Elliott Middleton Jr.Chithan Kandaswami and Theoharis C. Theoharides The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells:Implications for Inflammation, Heart Disease, and Cancer. Pharmacological ReviewsDecember 1, 2000 vol. 52 no. 4 673-751

61. Ombrelli AM ,Belmonte A, Nogueras MG, Ruiz Abad I ,Suitch EG ,Dlugovitzky DG Actividad sialidasa en mujeres con vaginosis bacteriana. MEDICINA (Buenos Aires) 2006; 66: 131-134

62 Li C, Kurniyati, Hu B, et al. Abrogation of Neuraminidase Reduces Biofilm Formation, Capsule Biosynthesis, and Virulence of Porphyromonas gingivalis, Infect Immun. 2012 Jan; 80 (1): 3-13. doi: 10.1128 / IAI.05773-11

63 Lee Y, Ryu YB, Youn SA, et al. Base estructural de sialidasa en complejo con flavonoides geranylated como inhibidores naturales potentes. Acta Crystallographica Sección D: Cristalografía biológica . 2014; 70 (Pt 5): 1357-1365. doi: 10.1107 / S1399004714002971.



64Parque MJ , Ra JE , Seo KH , Jang KC , Han SI , Lee JH , Kang YH , Nam MH , Seo WD , Identification and evaluation of flavone-glucosides isolated from barley sprouts and their inhibitory activity against bacterial neuraminidase. *Nat. Prod Commun* 2014 octubre; 9 (10): 1469-1472.

65 Ding Y , Dou J , Teng Z , J Yu , Wang T , N Lu , Wang H , Zhou C , Antiviral activity of baicalin against influenza A (H1N1/H3N2) virus in cell culture and in mice and its inhibition of neuraminidase., *Arco Virol.* 2014 Dec; 159 (12): 3269-78. doi: 10.1007 / s00705-014-2192-2. Epub 2014 31 de julio

66 Lucía Yáñez Maldonado Tesis: Papel del Óxido Nítrico en el Infarto del Miocardio Experimental Inducido por Isoproterenol, Posgrado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, UNAM, 2009.

67 Ferrer Viant D, Fonseca J, García Rodríguez RE y Martínez Anglada PF. Óxido nítrico importancia biológica y participación en algunas funciones cardiovasculares y hematológicas..*MEDISAN* 1998;2(3):45-53

68Zhu W , Yang B , Fu H , Ma L , Liu T , Chai R , Zheng Z , Zhang Q , Li G .Flavone inhibits nitric oxide synthase (NOS) activity, nitric oxide production and protein S-nitrosylation in breast cancer cells, . *Biochem Biophys Res Commun* 2015 13 de marzo; 458 (3): 590-5.

69Li KC, Ho YL, Hsieh WT, Huang SS, Chang YS, Huang GJ. La apigenina-7-glucósido Evita LPS inducido por la lesión pulmonar aguda a través de regulación a la baja de la enzima oxidativa Expresión y proteína de activación a través de la inhibición de la fosforilación de MAPK. Cho WC, ed. *Revista Internacional de Ciencias Moleculares* . 2015; 16 (1):

70Yan X , Rui X , Zhang K Baicalein inhibits the invasion of gastric cancer cells by suppressing the activity of the p38 signaling pathway. *Oncol Rep.* 2015 Feb; 33 (2): 737-43.

71 BaggaS , StraneyD. Modulation of cAMP and phosphodiesterase activity by flavonoids which induce spore germination of *Nectria haematococca* MP VI (*Fusariumsolani*), *Patología, Fisiológica y Molecular de Plantas*, Volumen 56, Número 2 , febrero de 2000, páginas 51-61

72 Galicia – Jiménez A., Sandoval Castro M.M., Rojas-Herrera ,Magaña Sevilla C . Quimiotaxis bacteriana y flavonoides: perspectivas para el uso de probióticos. *Trop. subtrop. agroecosyt* [online]. 2011, vol.14, n.3 [citado 2015-03-25], pp. 891-900

73<http://pluslib.com/salud/enfermedades-y-condiciones/cancer/planta-flavonoide-bloques-luteolina-vias-de-senalizacion-celular-en-celulas-de-c.php>



74Huang P, Hu P, Zhou SY, Li Q, Chen WM Morin inhibits sortase A and subsequent biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *Curr Microbiol.* 2014 Jan;68(1):47-52. doi: 10.1007/s00284-013-0439-x. Epub 2013 Aug 28.

75 Bueno-Silva B, Koo H, Falsetta M, Alencar S, M Ikegaki, Rosalen P. Efecto de Neovestitol-vestitol contiene propóleo rojo brasileño sobre la acumulación de biofilm in vitro el desarrollo y la caries dental en vivo . *Biofouling* . 2013; 29 (10): 10.1080 / 08927014.2013.834050.

75 Tang CF, Fang M, Liu RR, Dou Q, Chai ZG, Xiao YH, Chen JH. The role of grape seed extract in the remineralization of demineralized dentine: micromorphological and physical analyses. *Arch Oral Biol.* 2013 Dec;58(12):1769-76. doi: 10.1016/j.archoralbio.2013.09.007. Epub 2013 Oct 4.

77Pandit S, Chang KW, Jeon JG. Effects of *Withania somnifera* on the growth and virulence properties of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* at sub-MIC levels.

Anaerobe. 2013 Feb;19:1-8. doi: 10.1016/j.anaerobe.2012.10.007. Epub 2012 Nov 7.

78Jayanta Kumar Patra, Eun Sil Kim, Kyounghee Oh, Hyeon-Jeong Kim, Yangseon Kim, Efecto antibacteriano de extracto crudo y metabolitos de *Phytolacca americana* sobre los patógenos responsables de enfermedades inflamatorias periodontales y caries dental

79 Vidhya Rekha, correspondiente author1 Jayamathi, 2 Ramakrishnan, 3 Devaki Vijayalakshmi, 4 Prabu, Anti cariogenic effect of terminalia chebula, *J Clin Diagn Res.* 2014 Aug;8(8):ZC51-4.

80 Ahn S.-Ja · Parque S.-Nb · Lee YJC · Cho E.-Ja · Lim YKB · Li XMD · Choi M.-Hb · Seo Y.-Wc · Kook J.-Kb , In vitro antimicrobial activities of 1-methoxyficolinol, licorisoflavan A, and 6,8-diprenylgenistein against *Streptococcus mutans*, *Caries Res.* 2015;49(1):78-89. doi: 10.1159/000362676.

81 Gianmaria Fabrizio Ferrazzano, Tiziana Cantile, Lia Roberto, Aniello Ingenito, Maria Rosaria Catania, Emanuela Roscetto, Giuseppe Palumbo, Armando Zarrelli, Antonino Pollio, Determination of the In Vitro and In Vivo Antimicrobial Activity on Salivary Streptococci and Lactobacilli and Chemical Characterisation of the Phenolic Content of a *Plantago lanceolata* Infusion, *Biomed Res Int.* 2015; 2015: 286.817.



82 Bascones Martínez A., Figuero Ruiz E.. Las enfermedades periodontales como infecciones bacterianas. Avances en Periodoncia [revista en la Internet]. 2005 Dic [citado 2015 Mar 09]; 17(3): 147-156.

83Luo W Wang CY, Jin L. Baicalina downregulates Porphyromonas gingivalisLipopolisacárido Upregulated IL-6 e IL-8 expresión en Humano Oral queratinocitos por la regulación negativa de la señalización TLR, PLoS One. 2012;7(12):e51008.

84 Romero Hurtado, S, y Iregui, CA. El Lipopolisacárido. Revista de Medicina Veterinaria, 2010 (19), 37-45. Retrieved March 09, 2015,

85 Echeverri NP R, Mockus S, Factor Nuclear kB (NF-kB): signalosoma y su importancia en enfermedades inflamatorias y cáncer, Revista de la Facultad de Medicina, Bogotá 2008, vol.56, n.2 pp. 133-146

86 Chao-Hung Yeh^{2,a} , Kuo-Hsing Ma^{3,a} , Pei-Shan Liu⁴ , Jung-Kuei Kuo¹ , and Sheau-Huei Chueh, Baicalein decreases hydrogen peroxide-induced damage to NG108-15 cells via upregulation of Nrf2, Journal of Cellular Physiology, 2015 Jan 3. doi: 10.1002/jcp.24900.

87Luo W¹, Wang CY, Jin L.Baicalin downregulates Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide-upregulated IL-6 and IL-8 expression in human oral keratinocytes by negative regulation of TLR signaling.PLoS One. 2012;7(12):e51008. doi: 10.1371/journal.pone.0051008. Epub 2012 Dec 11.

88Tipton DA Babu JP, Dabbous MKh. Effects of cranberry components on human aggressive periodontitisgingival fibroblasts.J Periodontal Res. 2013 Aug;48(4):433-42.

89Polak D1, Naddaf R, Shapira L, Weiss El, Hour-Haddad Y. Protective potential of non dialyzable material fraction of cranberry juice on the virulence of *P. gingivalis* and *F. nucleatum* mixed infection. J Periodontol. 2013 Jul;84(7):1019-25.

90 J. Y. Jin, E. Y. Choi, HR Parque , JI Choi ,ES Choi , yKim SJ , Isorhamnetin inhibits Prevotella intermedia lipopolysaccharide-induced production of interleukin-6 in murine macrophages via anti-inflammatory heme oxygenase-1 induction and inhibition of nuclear factor-kB and signal transducer and activator of transcription 1 activation.J Periodontal Res.2013 Dec;48(6):687-95. doi: 10.1111/jre.12054. Epub 2013 Feb 27.