



Esta obra está bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-  
NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú.](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/)

Vea una copia de esta licencia en  
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN TARAPOTO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**Alimentos ricos en flavonoides y sus beneficios a la salud**

**Informe de ingeniería para optar el título Profesional de Ingeniero  
Agroindustrial**

**AUTOR:**

**Rodrigo Grey Chong Tuesta**

**ASESOR:**

**Ing. Dr. Thony Arce Saavedra**

**Tarapoto – Perú**

**2011**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN TARAPOTO**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**



**VIII Ciclo de Complementación Académica FIAI-2008**

**Alimentos ricos en flavonoides y sus beneficios a la salud**

**AUTOR:**

**Rodrigo Grey Chong Tuesta**

**Sustentado y aprobado el día 30 de junio del 2011, ante el honorable jurado:**

  
.....  
**Ing. M. Sc. Alejandro Alberto Cruz Rengifo**  
**Presidente**

  
.....  
**Ing. Nelson García Garay**  
**Secretario**

  
.....  
**Ing. Mg. Juan José Salazar Díaz**  
**Miembro**

  
.....  
**Ing. Dr. Thony Aree Saavedra**  
**Asesor**

## Declaratoria de Autenticidad

**Rodrigo Grey Chong Tuesta**, identificado con DNI N° 44151844, egresado de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, con el Informe de Ingeniería titulado: **Alimentos ricos en flavonoides y sus beneficios a la salud**.

Declaro bajo juramento que:

1. El Informe de Ingeniería presentada es de mi autoría.
2. La redacción fue realizada respetando las citas y referencias de las fuentes bibliográficas consultadas.
3. Toda la información que contiene el Informe de Ingeniería no ha sido auto plagiada;
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido alterados ni copiados, por tanto, la información de esta investigación debe considerarse como aporte a la realidad investigada.

Por lo antes mencionado, asumo bajo responsabilidad las consecuencias que deriven de mí accionar, sometiéndome a las leyes de nuestro país y normas vigentes de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto.

Tarapoto, 30 de junio del 2011.



.....  
Bach. **Rodrigo Grey Chong Tuesta**  
DNI N° 44151844



## 7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el inciso 12.2, del artículo 12º del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales - RENATI “**Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA**”.

  
.....  
Firma del Autor

---

## 8. Para ser llenado en la Oficina de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM – T.

Fecha de recepción del documento:

26/11/2019



.....  
Firma del Responsable de Repositorio  
Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso  
Abierto de la UNSM – T.

\***Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

\*\* **Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por permitirme llegar a este momento tan importante de mi formación profesional. A mi querida madre, por haberme dado la vida y por ser el pilar más importante, demostrarme siempre su cariño, apoyo incondicional sin importar nuestras diferencias de opiniones. A mi padre, que ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, quien con sus consejos me ha ayudado a guiarme para culminar mi carrera profesional. A mis hermanos que siempre han estado junto a mí brindándome su apoyo en las buenas y en las malas.

## **Agradecimientos**

Agradezco a Dios por darme la oportunidad de cumplir con una de mis metas y dame la sabiduría para poder seguir adelante en todos los objetivos propuestos en un futuro.

Gracias a mi familia en general que han sido un apoyo incondicional y por estar conmigo durante estos años.

Gracias a mi asesor Dr. Thony Arce Saavedra, por su paciencia, dedicación, motivación, criterio y aliento quien me ayudó a solucionar todos los problemas que se presentaron en el desarrollo, haciendo fácil lo difícil. Ha sido un privilegio poder contar con su guía y ayuda en este trabajo monográfico.

Gracias a los profesores de la Universidad Nacional de San Martín que tuvieron la paciencia y sabiduría para enseñarme y salir un buen profesional.

## Índice general

	Pag.
Dedicatoria.....	vi
Agradecimiento.....	vii
Índice general.....	viii
Índice de tablas.....	x
Índice de figuras.....	xii
Resumen.....	xiv
Abstract.....	xv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Antecedentes.....	1
1.2. Importancia del trabajo.....	1
1.3. Naturaleza del trabajo.....	2
1.1. Objetivos.....	2
II. INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Los alimentos funcionales.....	3
2.2. Los flavonoides.....	5
2.2.1. Definición.....	6
2.2.2. Reseña histórica.....	7
2.2.3. Origen evolutivo.....	8
2.2.4. Biosíntesis.....	9
2.2.5. Estructura química.....	13
2.2.6. Clasificación de los flavonoides.....	15
2.2.7. Distribución y estado natural de los flavonoides.....	30
2.2.8. Propiedades físicas - químicas y extracción de los flavonoides.....	30
2.2.9. Caracterización de los flavonoides.....	32

2.2.10. Metodos de análisis y valoración de los flavonoides.....	33
2.2.11. Propiedades biológicas de los flavonoides .....	38
2.2.12. Flavonoides de interés agroindustrial .....	40
2.2.13. Localización de los flavonoides en los alimentos.....	41
2.3. Alimentos ricos en flavonoides .....	42
2.4. Beneficios de los flavonoides en la salud .....	59
2.4.1. Capacidad antioxidante de los flavonoides.....	59
2.4.2. Actividad anticancerígena de los flavonoides .....	67
2.4.3. Flavonoides y enfermedad inflamatoria intestinal.....	71
2.4.4. Acción cardiovascular y sanguínea de los flavonoides .....	74
2.4.5. Los flavonoides y el hígado .....	86
2.4.6. Los flavonoides y la arterioesclerosis.....	86
2.4.7. Efecto antiinflamatoria de los flavonoides .....	87
2.4.8. Otros estudios .....	87
III. METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTOS .....	90
IV. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LA INFORMACIÓN .....	91
V. PROPUESTA DE APLICACIÓN Y/O MEJORA .....	108
CONCLUSIONES .....	113
RECOMENDACIONES.....	117
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	118
ANEXOS .....	124

## Índice de tablas

	Pag.
Tabla 1. Principales Sustancias Nutrientes de los alimentos .....	4
Tabla 2. Principales Sustancias No Nutricionales de los Alimentos .....	4
Tabla 3. Ejemplos de subclases de flavonoides .....	16
Tabla 4. Los compuestos más frecuentes de Agliconas.....	21
Tabla 5. Los compuestos más frecuentes de Flavonas.....	25
Tabla 6. Los compuestos más frecuentes de Flavonoles .....	26
Tabla 7. Los compuestos más frecuentes de antocianinas.....	27
Tabla 8. Los compuestos más frecuentes de Flavononas.....	29
Tabla 9. Desplazamientos químicos de varias clases de protones presentes en los flavonoides .....	37
Tabla 10. Flavonoides en distintos alimentos en mg por 100g o por 100 ml de muestra .....	44
Tabla 11. Flavonoides en el té verde y en el té negro.....	45
Tabla 12. Concentraciones de flavonoides (mg/100 mg de peso seco) en diferentes partes de la naranja agria y el limón.....	55
Tabla 13. Concentraciones de flavonoides (mg/100 mg de peso seco) en diferentes partes de la naranja dulce ( <i>Cytrus sinensis</i> ) y la mandarina ( <i>Cytrus nobilis</i> ).....	55
Tabla 14. Concentraciones de flavonoides (mg/100 mg de peso seco) en diferentes partes de la toronja ( <i>Cytrus paradisi</i> ).....	56
Tabla 15. Contenido de flavonoides presentes en los alimentos en estudio (mg o µg/g de alimento) .....	56
Tabla 16. Coeficiente de inhibición 50% para los alimentos.....	59
Tabla 17. Máximas inhibiciones expresadas en función al ácido ascórbico equivalente ( <i>uMM AAE</i> ).....	60

Tabla 18. Capacidad Antioxidante de Flavonoides de frutas y verduras frescas y tratadas térmicamente (uM Equivalente Trolox por gr de muestra).....	60
Tabla 19. Estudios epidemiológicos sobre el consumo de flavonoides y la mortalidad por enfermedad coronaria (EC) y el riesgo de apoplejía.....	62
Tabla 20. Efecto del consumo de vino o té en los lípidos plasmáticos y en la oxidación de las LDL en humanos .....	62
Tabla 21. Riesgo relativo de infarto según la ingesta de flavonoides Del estudio “Rotterdam” (datos tomados de Am J Clin Nutr 2002: 75; 880-886).....	63
Tabla 22. Efecto del consumo de vino o té en los lípidos plasmáticos y en la oxidación de las LDL en humanos.....	82
Tabla 23. Efecto del consumo de vino o té en los lípidos plasmáticos y en la oxidación de las LDL en humanos.....	83
Tabla 24. Riesgo relativo de infarto según la ingesta de flavonoides del estudio “Rotterdam” (datos tomados de Am J Clin Nutr 2002: 75; 880-886).....	86

## Índice de figuras

	Pag.
Figura 1. Ruta de Biosíntesis de los Flavonoides en las Plantas.....	10
Figura 2. Interconversión química del ácido shiquímico en varios derivados arómatics, incluyendo a los aminoácidos fenilalanina y tirosina .....	11
Figura 3. Conversión de la fenilalanina y tirosina en cinamaldehido y p- hidroxinamaldehido mediante la acción de la fenilalanina liasa amoniacal (PAL) y tirosina liasa amoniacal (TAL), respectivamente.....	12
Figura 4. Biosíntesis de los núcleos Chalconas, flavanona, antocianidina.....	12
Figura 5. Estructura química de los flavonoides.....	13
Figura 6. Estructura Básica de la quercetina.....	14
Figura 7. Conversión de la chalcona en flavonona .....	14
Figura 8. Estructura química de la 2-fenilcromen-4-ona (2-fenil-1,4-benzopirona), esqueleto de los flavonoides.....	17
Figura 9. Estructura química de la 3-fenilcromen-4-ona (3-fenil-1,4-benzopirona), esqueleto de los isoflavonoides. ....	17
Figura 10. Estructura química de la 4-fenilcumarina (4-fenil-1,2-benzopirona), esqueleto de los Neoflavonoides. ....	17
Figura 11. Estructura molecular de la chalcona.....	18
Figura 12. Estructura molecular de la flavona .....	18
Figura 13. Estructura molecular de la miricetina.....	19
Figura 14. Estructura molecular del kaempferol.....	19
Figura 15. Estructura molecular de la fisetina .....	19
Figura 16. Estructura básica de las Isoflavona.....	21
Figura 17. Estructura básica de las Isoflavanonas .....	22
Figura 18. Estructura básica de los Rotenoides .....	22
Figura 19. Tipos de Rotenoides (IUPAC).....	22
Figura 20. Chalconas .....	23

Figura 21. Estructura básica de las Flavonas .....	24
Figura 22. Estructura básica de los Flavonoles.....	25
Figura 23. Estructura básica de las Antocianidinas .....	27
Figura 24. Núcleo básico de las auronas.....	28
Figura 25. Estructura básica de las Flavanonas .....	28
Figura 26. Estructura molecular de la genisteína.....	30
Figura 27. Rompimientos Retro-Diels-Alder .....	37
Figura 28. Estructura química de la humulona, del xantohumol y del isoxantohumol .....	50
Figura 29. Comparación de concentración de quercetina en manzana con pulpa y sin pulpa.....	58
Figura 30. Posibles lugares de interacción de los Flavonoides con el proceso carcinogénico (indicados con asteriscos).las flechas cortas indican el efecto potenciador (flecha hacia arriba) o inhibidor (flecha hacia abajo) de la actividad. ERO: especies reactivas de oxígeno; ODC: ornitina descarboxilasa; PKC: proteína cinasa C.....	69
Figura 31. Mecanismos implicados en el efecto protector de los flavonoides sobre la oxidación de las LDL en el subendotelio vascular.....	79

## Resumen

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo de los daños producidos por sustancias o elementos oxidantes como los rayos ultravioletas, la contaminación ambiental y de sustancias nocivas presentes en los alimentos. Los flavonoides fueron descubiertos por el premio Nobel Szent-Györgyi cuando en 1930 aisló de la cáscara del limón una sustancia, la citrina que regulaba la permeabilidad de las pequeñas arterias. A partir de allí se han identificado más de 5000 flavonoides, ampliamente distribuidos en plantas, frutas y verduras y en diversas bebidas como el vino, la cerveza el té negro y el té verde. (Aherne SA y O'Brien NM, 2002).

Los flavonoides son extensamente utilizados en Botánica Sistemática, probablemente porque son fáciles de extraer e identificar debido a que son muy variables, son más útiles en determinar relaciones entre especies cercanamente emparentadas (o incluso en estudios de variación entre poblaciones de la misma especie), pero también son ocasionalmente útiles para determinar relaciones filogenéticas a niveles más altos (Bate-Smith 1968, Crawford 1978, Gornall *et al.* 1979, Harborne y Turner 1984). Finalmente, la diversidad en la estructura química de los flavonoides ha demostrado ser útil en estudios de hibridación entre especies (Alston y Turner 1963, Smith y Levin 1963, Crawford y Giannasi 1982).

Palabras clave: Flavonoides, pigmentos naturales, vegetales.

## Abstract

Flavonoids are natural pigments present in vegetables and protect the body from damage caused by substances or oxidizing elements such as ultraviolet rays, environmental pollution and harmful substances present in food. The flavonoids were discovered by the Nobel Prize Scientist György when in 1930 he isolated from the lemon peel a substance, the citrine that regulated the permeability of the small arteries. Since then, more than 5000 flavonoids have been identified, widely distributed in plants, fruits and vegetables and in various beverages such as wine, beer, black tea and green tea. (Aherne SA and O'Brien NM, 2002).

Flavonoids are widely used in Systematic Botany, probably because they are easy to extract and identify because they are very variable, they are more useful in determining relationships between closely related species (or even in studies of variation between populations of the same species), but they are also occasionally useful for determining phylogenetic relationships at higher levels (Bate-Smith 1968, Crawford 1978, Gornall et al., 1979, Harborne and Turner 1984. Finally, the diversity in the chemical structure of flavonoids has proved useful in studies of Hybridization between species (Alston and Turner 1963, Smith and Levin 1963, Crawford and Giannasi 1982).

Keywords: Flavonoids, natural pigments, vegetables.



# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Antecedentes

Hoy día el concepto de alimento está cambiando y también nuestra forma de comer y la dieta diaria debe proveer cantidades adecuadas de nutrientes esenciales para el mantenimiento de la salud óptima, ha cambiado en los últimos años. Los alimentos contienen también sustancias fisiológicamente activas que cumplen, al igual que los nutrientes esenciales, una función de beneficio y contribuyen a reducir la incidencia de ciertas enfermedades crónicas, por lo tanto, son necesarias para una vida saludable. Excepto los nutrientes reconocidos, la mayoría de las sustancias que están presentes en los alimentos permanece sin ser completamente caracterizadas por sus funciones fisiológicas. El interés de los consumidores por obtener dietas saludables, extender los años de vida, la desconfianza de los alimentos “procesados” y el aumento en el mercado de los alimentos “naturales” ha creado la revolución tecno-científica de los “alimentos funcionales”. La base de estos es eminentemente de origen vegetal o fotoquímica, aunque como excepción también están incluidos los suplementos prebióticos y probióticos. (Martínez Flores, S. Gonzàles Gallego, J. Culebras, J. M. & Tuñòn, M.<sup>a</sup> J. 2002).

Los flavonoides son extensamente utilizados en Botánica Sistemática, probablemente porque son fáciles de extraer e identificar debido a que son muy variables, son más útiles en determinar relaciones entre especies cercanamente emparentadas (o incluso en estudios de variación entre poblaciones de la misma especie), pero también son ocasionalmente útiles para determinar relaciones filogenéticas a niveles más altos. Finalmente, la diversidad en la estructura química de los flavonoides ha demostrado ser útil en estudios de hibridación entre especies. (Alston, R. E. & B. L. Turner. 1963).

Pero, para que este crecimiento sea sostenible, es muy importante desarrollar herramientas que permitan distinguir los productos que son verdaderamente efectivos como antioxidantes, es decir que son biodisponibles y cuyo mecanismo de acción farmacológico este claramente dilucidado.

## 1.2 Importancia Del Trabajo

Los flavonoides constituyen una de las subfamilias de polifenoles naturales a las que la comunidad científica ha dedicado más atención en los últimos años. Sus múltiples propiedades biológicas observadas experimentalmente y su abundancia en la dieta, junto con su presencia en numerosos remedios de la medicina tradicional, los convierten en

posibles candidatos a explicar la asociación encontrada entre el consumo de determinados productos de origen vegetal y la disminución del riesgo de presentar determinadas enfermedades crónicas.

De ahí la importancia de estudiar a las plantas y sus componentes químicos o fitoquímicos, y por ende la tendencia a mantener y conservar las especies de plantas mediante la conservación de los bosques, las selvas, los parques naturales, los estuarios marinos, los humedales, etc., y no cabe duda de que las plantas son importantes para la vida. Pero además, de producir sustancias como los carbohidratos, las proteínas y las grasas, que los investigadores han denominado metabolitos primarios, dado que se encuentran en prácticamente todas las formas de vida y cumplen funciones básicas para la misma, existen otras que no se encuentran tan distribuidas y que se hallan restringidas solo a ciertas especies, géneros o familias como son los compuestos fenólicos, los alcaloides, las saponinas esteroides, los aceites esenciales, los terpenoides, etc., a los cuales se les denomina metabolitos secundarios.

### **1.3 Naturaleza del trabajo**

La naturaleza del informe de ingeniería, se da en el sentido de que el trabajo se basa en identificar los alimentos ricos en flavonoides y el beneficio que estos compuestos proporcionan para la salud del hombre, basándonos en los reportes que se dieron en estudios de profesionales que ya estudiaron estos compuestos y demostraron que son de mucha importancia y muy beneficiosos para la salud, por lo tanto el trabajo tiene naturaleza de investigación de estudios y reportes ya realizados sobre los flavonoides.

### **1.4 Objetivos**

#### **1.4.1 Objetivo General**

Identificar y reconocer los alimentos que contengan en su composición química los compuestos flavonoides y cuáles son sus beneficios para la salud.

#### **1.4.2 Objetivos específicos**

- Identificar los alimentos ricos en flavonoides que se producen y consumen actualmente
- Conocer los beneficios para la salud de los alimentos ricos en flavonoides.

## II. INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Los alimentos funcionales

Alimento funcional es la denominación atribuida al alimento que, además de sus funciones nutricionales como fuente de energía y de sustrato para la formación de células y tejidos, posee, en su composición, una o más sustancias capaces de actuar en el sentido de modular los procesos metabólicos, mejorando las condiciones de salud, promoviendo el bienestar de las personas y previniendo el apareamiento precoz de enfermedades degenerativas, que llevan a una disminución de la longevidad. (Arce, 2009).

El término Alimentos Funcionales fue inicialmente propuesto en Japón, a mediados de 1980, principalmente en función de una población siempre creciente de ancianos y de la preocupación, tanto de la población en general como del gobierno, en la prevención de las enfermedades crónicas y degenerativas (Arce, 2009).

Una definición completa de alimento funcional sería cualquier alimento o preparado por el hombre, que contenga una o más sustancias, clasificadas como nutriente o no nutrientes, capaces de actuar en el metabolismo y en la fisiología humana, promoviendo efectos benéficos a la salud, pudiendo retardar el establecimiento de enfermedades crónicas y/o degenerativas y mejorar la calidad y expectativa de la vida de las personas. Son efectos que van además de la función meramente nutricional muy conocida, cual sea, la de suministrar energía y nutrientes esenciales en cantidades equilibradas, para la promoción del crecimiento normal y evitar desequilibrios nutricionales. (Arce, 2009).

Las principales sustancias nutrientes, macro y micro nutrientes, de los alimentos se pueden detallar en la Tabla 1.

**Tabla 1***Principales Sustancias Nutrientes de los alimentos*

Macronutrientes	Micronutrientes
Ácidos Grasos $\omega$ -3	Calcio
Proteínas, péptidos, aminoácidos, colina	Selenio
Fibra dietética	Zinc
	$\beta$ -caroteno
	Piridoxina
	Vitamina B <sub>12</sub>
	Acido Ascórbico (Vitamina C)
	$\alpha$ -tocoferol (Vitamina E)
	Colecalciferol (Vitamina D)

Fuente: Arce, 2009

De la misma forma, las principales sustancias No Nutricionales presentes en los alimentos, son presentados en el Tabla 2.

**Tabla 2***Principales Sustancias No Nutricionales de los Alimentos*

Compuestos
Organosulfurados
Fenólicos
Terpenos (limonoides)
Indólicos
Oligosacáridos

Fuente: Arce, 2009.

**Compuestos fenólicos**

Se refiere a un grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, y que ocurren frecuentemente como glicósidos, combinados con unidades de azúcar. Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua; pueden ser detectados por el intenso color verde, púrpura, azul o negro, que producen cuando se les agrega una solución acuosa o alcohólica al 1% de cloruro férrico. (Lock, 1994).

Donde los polifenoles constituyen uno de los grupos de compuestos más numerosos y ampliamente distribuidos en los vegetales, en donde cumplen una gran variedad de funciones biológicas. Estos compuestos forman parte de las dietas de animales y

humanos. Existe un gran interés en el estudio de los efectos biológicos de los polifenoles, dado que estudios epidemiológicos han demostrado asociaciones entre el consumo de comidas y bebidas ricas en polifenoles y la prevención de enfermedades. (Duran, 2003)

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas, siendo los flavonoides el grupo mejor definido entre los polifenoles de la dieta humana. (Gutiérrez, 2002).

## 2.2 Los flavonoides

Flavo proviene del latín flavus y significa de color entre amarillo y rojo, como el de la miel o el del oro; y flavonoide, se refiere a un grupo aromático, pigmentos heterocíclicos que contienen oxígeno ampliamente distribuido entre las plantas, constituyendo la mayoría de los colores amarillo, rojo y azul de las plantas y frutas.<sup>2</sup> Por ende se encuentran en abundancia en las uvas, manzanas, cebollas, cerezas, repollos; además de ser parte del árbol ginkgo biloba y la Camellia sinensis (té verde). Siendo que al consumirlos obtengamos de ellos propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorales, anticancerígenas y antioxidantes. De esta última, principalmente, radica su función en el sistema nervioso, pues se ha visto relación de protección en enfermedades neurodegenerativas.

En la actualidad, gracias a la visión ecologista que se ha dado a las nuevas generaciones de personas, existe una tendencia a mantener y conservar las especies de plantas mediante la conservación de los bosques, las selvas, los parques naturales, los estuarios marinos, los humedales, etc. Para toda persona indistintamente de su profesión u oficio, no hay duda de que las plantas son importantes para la vida. Pero además de producir sustancias como los carbohidratos, las proteínas y las grasas, que los investigadores han denominado **Metabolitos Primarios**, dado que se encuentran en prácticamente todas las formas de vida y cumplen funciones básicas para la misma, existen otras que no se encuentran tan distribuidas y que se hallan restringidas solo a ciertas especies, géneros o familias como son los alcaloides, las saponinas esteroides, los aceites esenciales, los terpenoides, etc., a los cuales se les denomina **METABOLITOS SECUNDARIOS**. Dentro de este último grupo están los **FLAVONOIDES**, unas sustancias bautizadas así porque las primeras que

se lograron aislar eran de color amarillo, pero que como más adelante veremos las hay incoloras ó con otros colores diferentes del amarillo como son el rojo, el violeta y el azul. (Martínez, 2005)

### **2.2.1 Definición**

Los flavonoides son sustancias de bajo peso molecular producidas por casi todas las plantas vasculares. En las plantas, algunos flavonoides confieren resistencia contra la fotooxidación de la luz ultravioleta del sol, intervienen en el transporte de hormonas y algunos funcionan como defensa ante los depredadores. Desde el siglo pasado es bien conocida la relación que existe entre la presencia de flavonoides en las plantas y su resistencia a las infecciones fúngicas y virales. Otra de sus importantes funciones en muchas plantas es la atracción de los insectos polinizadores por medio del color o del olor que les confieren a éstas o a sus flores asegurando así su reproducción y conservación. (Estrada Reyes R., Ubaldo Suarez D., Araujo Escalona A.G. 2012)

Los flavonoides son compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana, son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. (Martínez et al., 2002)

Los flavonoides son compuestos fenólicos que se encuentran ampliamente distribuidos en frutas y verduras y en diversas bebidas y que pertenecen al grupo de compuestos fitoquímicos que representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. (Gonzáles Gallegos, J. Culebras Fernández, J.M. Mataix Verdú, J. Tuñón Gonzáles, M.J. Sánchez Campos, S. 2001)

Todos los flavonoides son difenilpropanos y, por lo tanto, se caracterizan por tener un esqueleto de 15 carbonos que provienen biogenéticamente de tres unidades de acetato y una unidad de fenilpropano. (Gross, Eduardo G., Pomilio, Alicia B., Seldes, Alicia M. & Burton, Gerardo. 1990).

Los flavonoides son compuestos fenólicos de 15 carbonos, que se distribuyen en el reino vegetal en más de 2.000 especies de muy diversas familias. Desempeñan un papel

importante en la fisiología vegetal, dado que responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas. (Russo, 2006)

Los flavonoides son metabolitos secundarios exclusivamente de origen vegetal distribuidos en algunas plantas consideradas como alimentos funcionales, pues además de su valor nutricional, aportan un beneficio a la salud. En contraste con los metabolitos primarios que son esenciales para el crecimiento vegetativo, los flavonoides confieren a las plantas rasgos fenotípicos, que las hace atractivas para la polinización como son color de flores, sabor de frutas, aroma o bien para la resistencia y protección contra plagas, radiaciones y enfermedades. (Martínez, 2005)

Los flavonoides son la subclase de polifenoles más grande y abundante del mundo vegetal. Se distribuyen en las plantas vasculares de manera ubicua y la variedad de sus propiedades biológicas ha llamado poderosamente la atención de los investigadores, de modo que, hoy día, es el grupo de polifenoles más estudiado. (Álvarez, *et al.*, 2003)

Los flavonoides son pigmentos naturales que se encuentran distribuidos en plantas, frutas, verduras y diferentes bebidas, son sustancias que no pueden ser producidas por el organismo humano y, por ende, sólo pueden ser obtenidas a través de la alimentación, no son macronutrientes, por ello no aportan energía en forma de calorías, y son considerados antioxidantes, ya que mejoran y aumentan la actividad metabólica. (Lock, 1994).

### **2.2.2 Reseña histórica**

Probablemente la primera vez que la ciencia describió a los flavonoides fue cuando Robert Boyle en 1664 hizo una primera descripción de los efectos de los pigmentos de las flores en medio ácido y en medio básico. (Winkel, 2001)

El primer flavonoide fue identificado en 1930 por el premio Nobel de Fisiología y Medicina Szent-Györgyi, quien aisló de la cáscara de limón una sustancia, la citrina, que probó regular la permeabilidad de los capilares al ser consumida, quien les denominó como "vitamina P". (Winkel, 2001)

Los flavonoides se denominaron al principio vitamina P (por permeabilidad) y también vitamina C<sub>2</sub>, porque algunos tenían propiedades similares a la vitamina C. El hecho de

que los flavonoides fueran vitaminas no pudo ser confirmado, y ambas denominaciones se abandonaron alrededor de 1950. (Singleton, 2002)

El Dr. Szent-Gyorgi descubrió que los flavonoides favorecen la función de la vitamina C, mejorando su absorción y protegiéndola de la oxidación. Los flavonoides comprenden varias clases de sustancias naturales, entre las cuales están muchas de las que les confieren colores, amarillo, naranja, rojo, violeta y azul, a muchas flores, hojas y frutos, especialmente. Cuando está observando una rosa roja, además de disfrutar la gracia artística de su diseño, está disfrutando de su color, ese color es debido a los flavonoides; cuando observe una fresa jugosa, una uva roja ó morada, una flor amarilla, usted está observando ni más ni menos a sustancias flavonoides. Esos colores que disfruta nuestro cerebro al percibirlos son en su gran mayoría debidos a los flavonoides. Entonces, usted ahora puede comprender que esas aparentemente desconocidas sustancias han estado presentes en buena parte de su vida, y también en buena parte de la historia de la humanidad. (Martínez, 2005).

En todas partes de la historia de la humanidad los flavonoides han sido testigos y actores de muchas desgracias, momentos heroicos, alegrías, etc. Al leer a los antiguos filósofos, poetas y escritores, se pone de manifiesto que en el enamoramiento de la mujer siempre han participado las flores de agradable aroma y de hermosos colores, esto quiere decir sin más preámbulos que no ha existido mujer alguna sobre la tierra que no haya sucumbido ante la presencia de los flavonoides de unas bonitas rosas rojas, un ramo de violetas o un ensamiento. No hay nada que más agrade a una mujer que las flores, parece ser que ellas tienen una percepción cerebral más desarrollada que nosotros hacia este tipo de sustancias. (Martínez, 2005).

### **2.2.3 Origen evolutivo**

Los flavonoides aparecieron por primera vez en los ancestros de las embriofitas, que comprende al grupo monofilético de todas las plantas terrestres (musgos, helechos, gimnospermas y angiospermas). Se cree que fueron una de las adaptaciones clave para la transición a la vida terrestre desde el alga verde ancestral, debido a su capacidad de absorber la radiación ultravioleta, mucho más intensa en la atmósfera que en el agua.

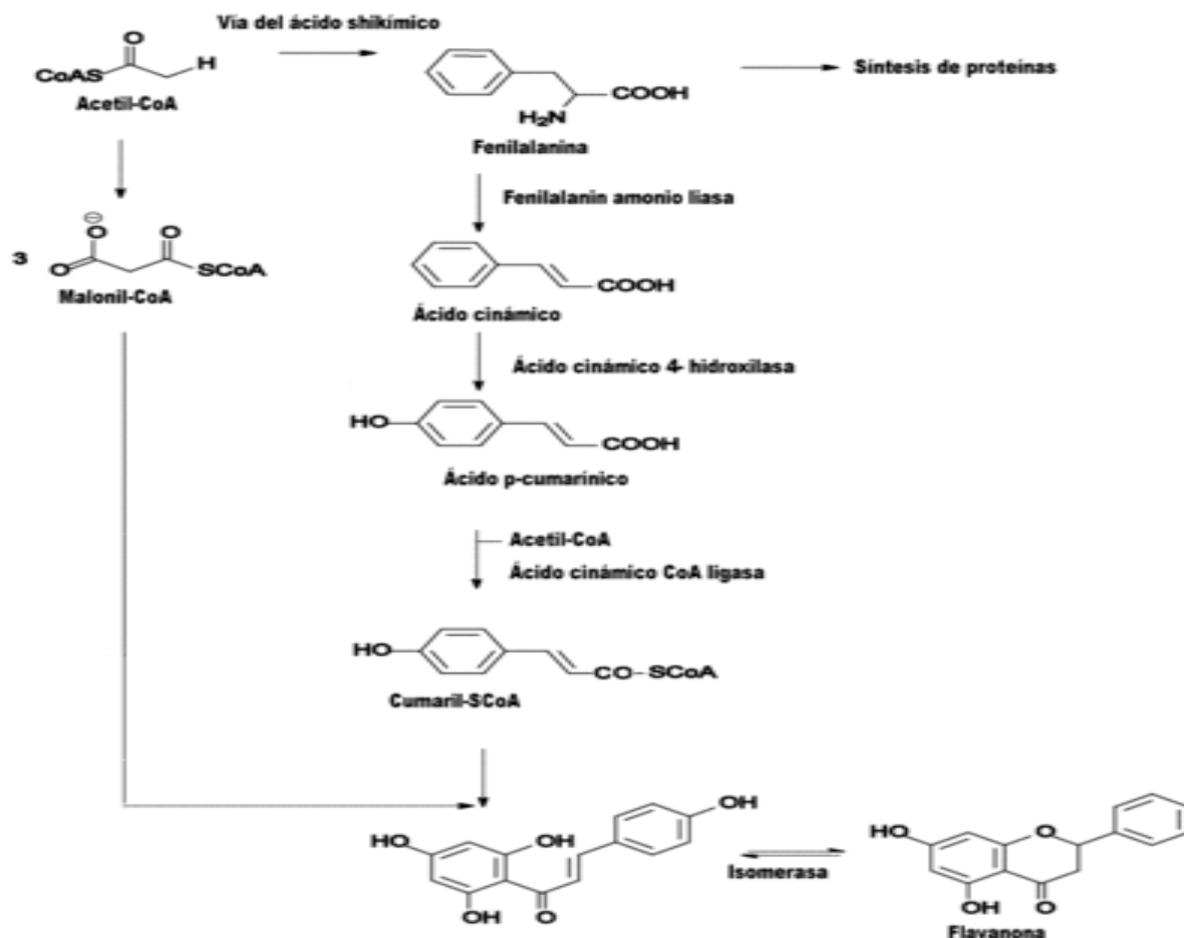
Las enzimas de la biosíntesis de los flavonoides aparentemente derivaron de enzimas del metabolismo primario de las plantas, que tenían genes duplicados, lo que habrá permitido la adaptación de algunas esas enzimas a otras funciones específicas. La vía biosintética de los flavonoides se ha conservado enormemente en el transcurso de la evolución de las plantas, pero ha habido considerable divergencia tanto en los roles que fueron cumpliendo sus productos finales, como en los mecanismos que regulan su expresión. (Cambell, Judd W. S., Kellogg, C. S., Stevens, E.A. 2002).

#### **2.2.4 Biosíntesis**

La vía del ácido shikímico se inicia en los plastos por condensación de dos productos fotosintéticos, la eritrosa 4-P con el fosfoenolpiruvato (PEP), y por diversas modificaciones se obtiene el ácido shikímico, del cual derivan directamente algunos fenoles en los vegetales. Pero la vía del ácido shikímico normalmente prosigue, y la incorporación de una segunda molécula de PEP conduce a la formación de fenilalanina.

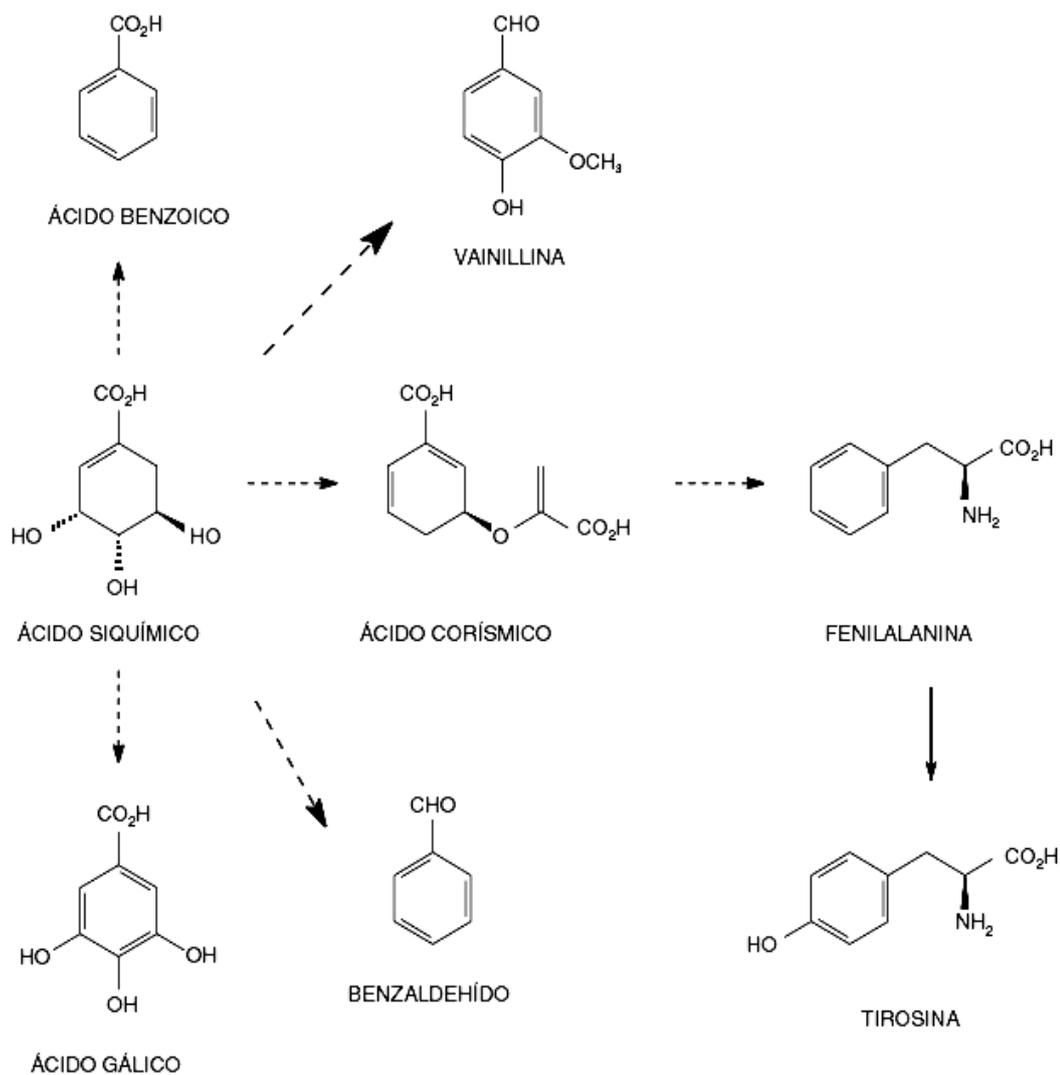
La vía biosintética de los flavonoides comienza cuando la fenilalanina, por acción de la enzima fenilalanina amonioliasa (PAL) se transforma en ácido cinámico, que luego es transformado en ácido p-cumarínico por incorporación de un grupo hidroxilo a nivel de anillo aromático, y la acción de una CoA ligasa lo transforma en cumaril-SCoA, el precursor de la mayoría de los fenoles de origen vegetal, entre los que se encuentran los flavonoides (Figura 1). (Palazón J., Cusido R.M. & Morales C. 2002).

Jeandet, Suowen Xu, Samira Shirooie. (2018), mencionan que las plantas, los hongos y los microorganismos están equipados con maquinaria de biosíntesis para producir miles de metabolitos secundarios, estos compuestos tienen funciones importantes en la naturaleza como defensa contra depredadores o competidores, así como otros significados ecológicos, la utilización completa de estos compuestos para alimentos, medicinas y otros propósitos requiere una comprensión profunda de sus estructuras y las distintas vías bioquímicas de su producción en sistemas celulares, específicamente, se abordan los avances recientes en las rutas biosintéticas de ácido shikímico y acetato de la producción de flavonoides desde el punto de vista de la ingeniería metabólica, desde la expresión de los genes hasta los múltiples principios de regulación, también hace mención de ejemplos específicos de plantas y microorganismos como fuentes de compuestos a base de flavonoides con énfasis particular en aplicaciones terapéuticas.



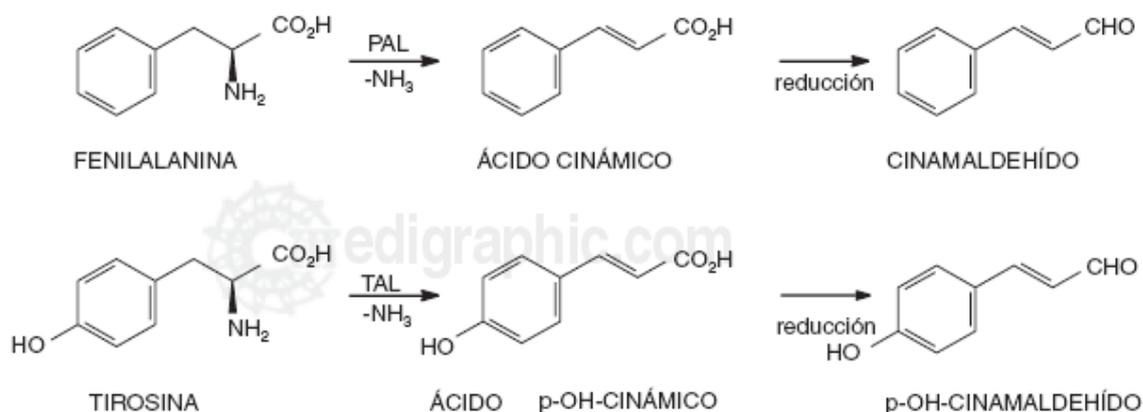
*Figura 1.* Ruta de Biosíntesis de los Flavonoides en las Plantas. (Fuente: Palazón et al., 2002)

Los flavonoides se biosintetizan en las plantas y participan en la fase luminosa de la fotosíntesis, en donde catalizan el transporte de electrones. Los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina provienen de la ruta del ácido shiquímico (Figura 2).



**Figura 2.** Interconversión química del ácido shiquímico en varios derivados aromáticos, incluyendo a los aminoácidos fenilalanina y tirosina. (Fuente: Tenorio Lopez, F. A., Del Valle Mondragón, L, Pastelín Hernández, Gustavo. 2006).

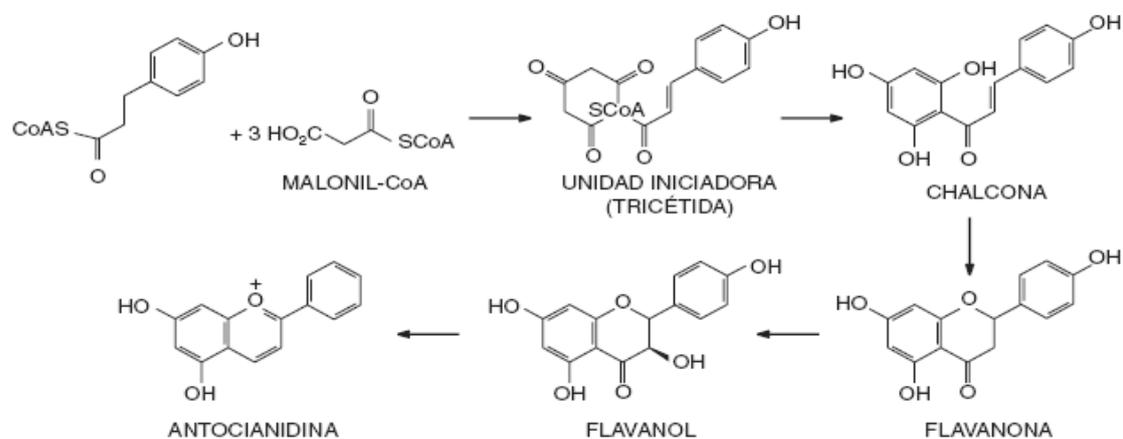
Mediante la acción de las liasas amoniacales de fenilalanina (PAL) y tirosina (TAL), estos aminoácidos pueden interconvertirse en los ácidos cinámico y p-hidroxicinámico, respectivamente, los cuales, mediante una reducción, pueden convertirse en cinamaldehído y p-hidroxicinamaldehído (Figura 3)



**Figura 3.** Conversión de la fenilalanina y tirosina en cinamaldehído y p-hidroxinamaldehído mediante la acción de la fenilalanina liasa amoniacal (PAL) y tirosina liasa amoniacal (TAL), respectivamente. (Fuente: Tenorio *et al.*, 2006)

Así, el ácido cinámico (o el ácido p-hidroxicinámico, o bien, derivados de ácidos fenólicos tales como los ácidos cafeico, ferúlico y clorogénico, los cuales son considerados derivados del ácido cinámico) se condensan con las unidades de acetato, y mediante un rearrreglo de Fries, forman la porción cinamoil de los flavonoides, los cuales generan el núcleo estructural básico de los flavonoides.

Para generar el núcleo de las chalconas y flavanonas, tiene lugar una condensación catalizada por álcali entre una molécula de o-hidroxiacetofenona con un derivado del benzaldehído. Para la formación del núcleo de las 2-hidroxiflavanonas y flavonas, ocurre la misma reacción de condensación, sólo que, en esta ocasión, participan la o-hidroxiacetofenona y un derivado de ácido benzoico (cloruros de acilo o anhídridos) (Figura 4). (Tenorio *et al.*, 2006).



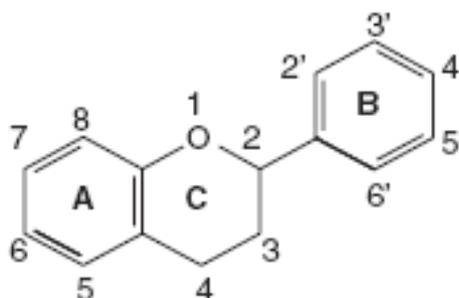
**Figura 4.** Biosíntesis de los núcleos Chalconas, flavanona, antocianidina. (Fuente: Tenorio *et al.*, 2006).

### 2.2.4.1 Regulación de la biosíntesis

- ✓ La vía del ácido shikímico es dependiente de la luz.
- ✓ La acción de la fenilalanina amonioliasa, que inicia la vía biosintética de los flavonoides, es fundamental para la vida de las plantas y por ello está estrictamente regulada. Entre otros factores, la fenilalanina amonioliasa es activada por la luz, y depende además de la concentración de diferentes hormonas vegetales. La actividad de la fenilalanina amonioliasa suele aumentar cuando a los vegetales se les somete a situaciones de estrés, como puede ser la falta de agua ("estrés hídrico"), infecciones fúngicas o bacterianas, radiaciones UV, y el frío (por esto último las plantas sometidas a bajas temperaturas suelen presentar coloraciones rojizas en tallos y hojas, y cuando los inviernos son muy fríos, las flores desarrollan colores muy intensos en la primavera siguiente).
- ✓ Hay isozimas dedicadas a la producción de flavonoides diferentes en respuesta a señales ambientales diferentes. (Palazón *et al.*, 2002)

### 2.2.5 Estructura química

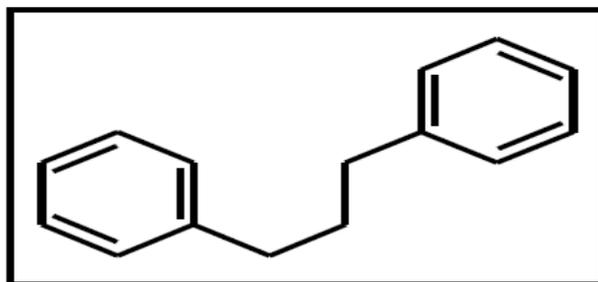
Todos los flavonoides son difenilpropanos y, por lo tanto, se caracterizan por tener un esqueleto de 15 carbonos que provienen biogenéticamente de tres unidades de acetato ( $C_6$ ) y una unidad de fenilpropano ( $C_6-C_3$ ), por ello su esqueleto se representa  $C_6-C_3-C_6$ , (Figura N° 05). (Gross, E. G., Pomilio, A. B., Seldes, A. M. & Burton, G. 1990).



**Figura 5.** Estructura química de los flavonoides (Fuente: Gross *et al.*, 1990)

Puede observarse que de manera general son moléculas que tienen dos anillos bencénicos (ó aromáticos, para los químicos orgánicos) unidos a través de una cadena de tres átomos de carbono, puesto que cada anillo bencénico tiene 6 átomos de carbono, los autores los

denominan simplemente como compuestos  $C_6C_3C_6$ . La Figura N° 06 muestra la estructura química de uno de los flavonoides más comunes: La quercetina.

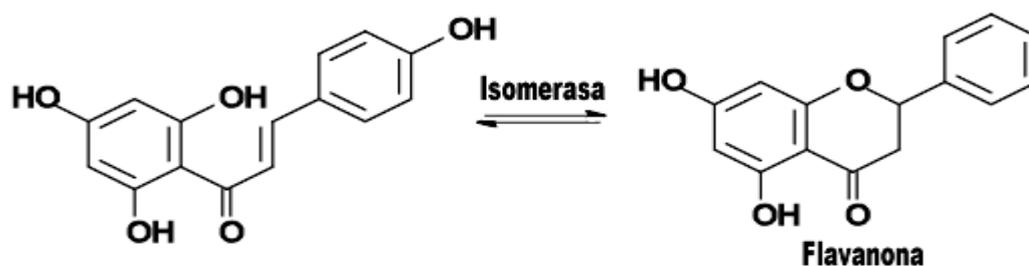


**Figura 6.** Estructura Básica de la quercetina (Fuente Gross *et al.*, 1990)

Químicamente, los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos ( $C_6-C_3-C_6$ ), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'. Esta estructura básica permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C. (Russo, 2006)

La estructura general de los flavonoides comprende un anillo A, derivado de la cadena policetídica, un anillo B, derivado del ácido shikímico, tres átomos de carbono que unen los anillos A y B, correspondientes a la parte alquílica del fenilpropano. De manera general, los flavonoides, son moléculas que tienen dos anillos bencénicos (ó aromáticos, para los químicos orgánicos) unidos a través de una cadena de tres átomos de carbono, puesto que cada anillo bencénico tiene 6 átomos de carbono, los autores los denominan simplemente como compuestos  $C_6-C_3-C_6$ .

La estructura base de los flavonoides (Figura N° 07) tiene el esqueleto de una chalcona, y por la acción de la enzima isomerasa la convierte en una flavanona.



**Figura 7.** Conversión de la chalcona en flavanona (Fuente: Russo, 2006)

### 2.2.6 Clasificación de los flavonoides

De forma coloquial se tiende a generalizar cuando se habla de "los flavonoides" y sus beneficios en la salud, sin embargo, esta familia se caracteriza por su diversidad estructural de tal manera que se han identificado más de 6000 de estos metabolitos secundarios cuyas propiedades biológicas dependen en gran medida de su estructura particular, es decir del tipo de sustituyentes, grupos funcionales, grado de oxidación, formas diméricas, poliméricas, formas glicosidadas o libres, entre otras. El término flavonoide es generalmente utilizado para describir una amplia gama de productos naturales con un sistema C6-C3-C6 (anillos A, C y B) o más específicamente con una funcionalidad fenilbenzopirano, benzo- $\gamma$ -pirona o cromano, consistente en un anillo fenólico y un anillo pirano y son clasificados de acuerdo a su sustitución. 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 biogénicamente 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. (Estrada et al. 2012)

En función de sus características estructurales los flavonoides se pueden clasificar en: (Russo, 2006).

- **Flavanos**, como la catequina, con un grupo -OH en posición 3 del anillo C.
- **Flavonoles**, representados por la quercitina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo -OH en posición 3 del anillo C.
- **Flavonas**, como la diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3.
- **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.

En función de sus sustituyentes químicos los flavonoides se clasifican en: Tenorio, et al, (2006).

- Flavanoles,
- Antocianidinas
- Flavonas, flavanonas y chalconas (Cuadro N° 03)

**Tabla 3**

Ejemplos de subclases de flavonoides.

<b>Clases</b>	<b>Flavonoides</b>
<b>Antocianidinas</b>	(+)-cataquina Cianidina Pelargonidina
<b>Flavonas</b>	Apigenina Diosmina Luteolina
<b>Flavanonas</b>	Naringenina Naringina Hesperetina Hesperidina
<b>Chalconas</b>	Floretina Floridzina
<b>Flavanoles</b>	Quercetina Kaempferol Miricetina Fisetina Morina

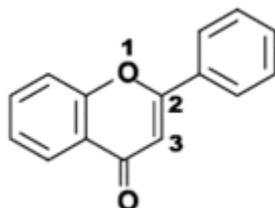
Fuente: Tenorio *et al.*, 2006

Los flavonoides en función de sus características estructurales se pueden clasificar en:

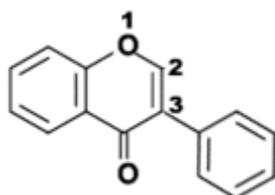
1. **Flavanos**, como la catequina, con un grupo -OH en posición 3 del anillo C.
2. **Flavonoles**, representados por la quercitina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo -OH en posición 3 del anillo C.
3. **Flavonas**, como la diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del 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. (Martínez *et al.*, 2002)

De acuerdo con la nomenclatura de la **Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC)** pueden clasificarse, según su esqueleto y vía metabólica, en:

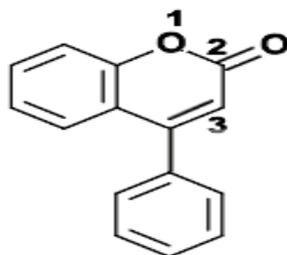
- **Flavonoides**, derivados de la estructura 2-fenilcromen-4-ona (2-fenil-1,4-benzopirona).
- **Isoflavonoides**, derivados de la estructura 3-fenilcromen-4-ona (3-fenil-1,4-benzopirona).
- **Neoflavonoides**, derivados de la estructura 4-fenilcumarina (4-fenil-1,2-benzopirona).



**Figura 8.** Estructura química de la 2-fenilcromen-4-ona (2-fenil-1,4-benzopirona), esqueleto de los flavonoides (Fuente: Martínez *et al.*, 2002)



**Figura 9.** Estructura química de la 3-fenilcromen-4-ona (3-fenil-1,4-benzopirona), esqueleto de los isoflavonoides (Fuente: Martínez *et al.*, 2002)

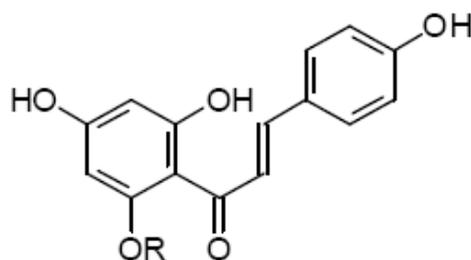


**Figura 10.** Estructura química de la 4-fenilcumarina (4-fenil-1,2-benzopirona), esqueleto de los Neoflavonoides (Fuente: Martínez *et al.*, 2002)

## A) Flavonoides

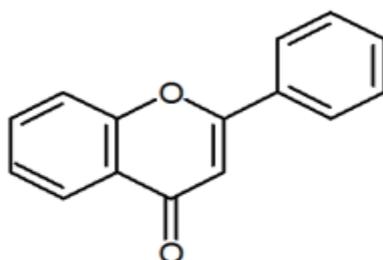
Dentro de los **flavonoides**, se reconocen 6 y quizás 7 clases principales, según los grupos funcionales que posean: **las chalconas, las flavonas, los flavonoles, los flavandioles, las antocianinas, los taninos condensados**, y algunos autores consideran también a las auronas, que otros integran a las chalconas. También hay otros derivados de los flavonoides que poseen modificaciones tales que no entran dentro de ninguna de estas clases principales.

1. Las **chalconas** están implicadas en la estimulación de la polinización gracias a que inducen el desarrollo de colores en el espectro de lo visible y en el UV que atraen a insectos (mariposas y abejas).



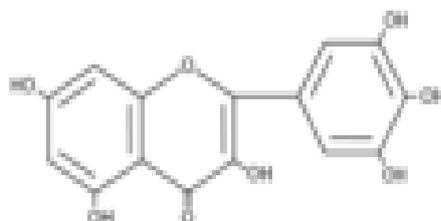
**Figura 11.** Estructura molecular de la chalcona (Fuente: Martínez *et al.*, 2002)

2. Las **flavonas** son amarillas y pueden estar en algunas flores, como en la primula, dándoles un color amarillo a sus pétalos, o en frutos, como en la piel de las uvas, son las responsables del color amarillento de los vinos blancos. Hay tres flavonas importantes: la tricetina, presente en el polen de algunas mirtáceas, y también en las podocarpáceas (*Podocarpus* spp.); apigenina, presente en muchas plantas como la camomila, (*Matricaria recutita*) o el espino blanco (*Crataegus laevigata*), da un color marrón marfileño a las flores si se presenta sola; y luteolina, de color amarillo, que incluso sirve para teñir lana y otros tejidos, para lo cual se ha empleado la Retama de los tintoreros (*Genista tinctoria*).

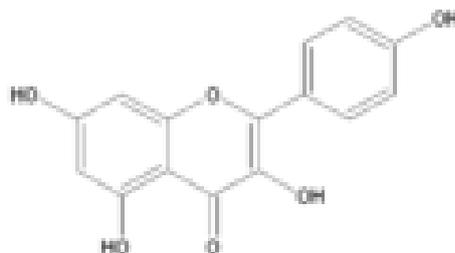


**Figura 12.** Estructura molecular de la flavona (Fuente: Martínez *et al.*, 2002)

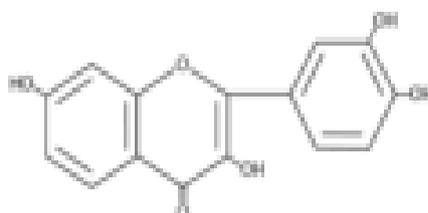
3. Los **flavonoles** suelen ser incoloros o amarillos y se encuentran en las hojas y en muchas flores. Los más importantes son tres: quercetina, es el flavonol amarillo del polen de muchas fagáceas (*Quercus sp.*); miricetina, presente en la uva; y kaempferol, está presente en las inflorescencias y las protege de la luz ultravioleta. La fisetina es un flavonol que se extrae de la planta del género *Amphipterygium*.



**Figura 13.** Estructura molecular de la miricetina (Fuente: Martínez *et al.*, 2002)



**Figura 14.** Estructura molecular del kaempferol (Fuente: Martínez *et al.*, 2002)



**Figura 15.** Estructura molecular de la fisetina (Fuente: Martínez *et al.*, 2002)

4. Hay tres **flavandioles** característicos: leucocianidina, presente en algunas plantas, como en el plátano, o en el muérdago criollo (*Ligaria cuneifolia*); leucopelargonidina, presente como tal en cierta concentración en la alfalfa de secano (*Medicago truncatula*); y leucodelfinidina, que es activa en el castaño de indias (*Aesculus hippocastanum*).

5. Las **antocianinas**, son los pigmentos hidrosolubles presentes en el líquido vacuolar de las células responsables de la mayoría de las coloraciones rojas, azules y violetas de las flores y hojas.

6. Los **taninos condensados** son macromoléculas constituidas por unidades de flavonoides llamadas antocianidina. Los taninos están muy ampliamente distribuidos en las plantas como en el té, donde contribuyen al sabor astringente.

7. Las **auronas** son responsables de la coloración de algunas plantas. A pesar de que se ha sugerido que estos compuestos están relacionados estrechamente con las chalconas, hay pocos indicios acerca de sus vías biosintéticas.

8. Las **flavanonas** son precursores de otros flavonoides más complejos, pero se encuentran como tales en altas concentraciones en los cítricos. Las más importantes son naringenina, presente en el zumo de naranja, limón o pomelo, dándole un sabor amargo; liquiritigenina, presente en el regaliz; y eriodictiol, se presenta en el guisante actuando como quimioatrayente para interactuar con agrobacterias.

9. Los **dihidroflavonoles** son los precursores directos de flavandioles y flavonoles, pero también tienen cierta actividad como tales en algunas plantas. Hay tres importantes: dihidromiricetina, presente en las partes aéreas de los brezos (*Erica* spp.), dihidroquercetina, en las uvas blancas o en la zarzaparrilla (*Smilax aristolochiaefolia*); y dihidrokaempferol. (Fuente: IUPAC).

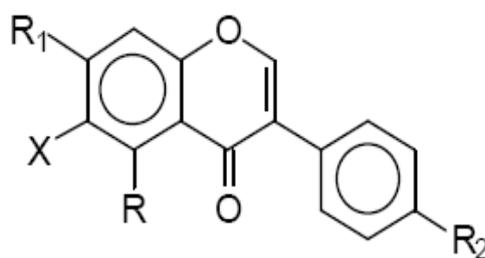
## **B) Isoflavonoides y neoflavonoides**

Los isoflavonoides están distribuidos en pocas familias, principalmente en las Leguminosas. Estructuralmente se los puede dividir en varias clases, correspondientes éstas a los flavonoides respectivos: isoflavonas, isoflavonoles, etc.

El esqueleto de los flavonoides puede sufrir modificaciones, convirtiéndose entonces en el esqueleto de los isoflavonoides o el de los neoflavonoides que por lo tanto también son derivados de los flavonoides.

Los isoflavonoides se forman por migración de un anillo bencénico de la posición 2 a 3 del anillo central. El grupo integra más de 230 estructuras, y los dos más conocidos son la genisteína y la daidzeina. Su función es defender a las plantas del ataque de patógenos. Algunas isoflavonas lipófilas, están dotadas de propiedades estrogénicas.

- **Isoflavonas.** De los isoflavonoides son las más abundantes. La O-glicosidación es más frecuente que la C-glicosidación.



**Figura 16.** Estructura básica de las Isoflavonas (Fuente: Martínez, 2005)

**Tabla 4**

*Los compuestos más frecuentes de Agliconas*

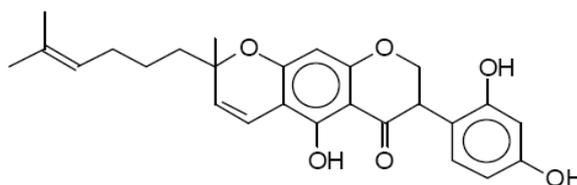
Nombre Trivial	X	R	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
Daizdeína	H	OH	OH	H
Formononetina	H	OH	OMe	H
Genisteína	OH	OH	OH	H
Biochaniba-A	OH	OH	OMe	H
Wighteona	OH	OH	OH	Me <sub>2</sub> C=CH-CH <sub>2</sub>

Fuente: Martínez, 2005

Las alquilaciones pueden presentarse sobre C<sub>2</sub>, tal es el caso de la 7-hidroxi-2-metilisoflavona que se encuentra en la raíz de regaliz (*Glycyrrhiza glabra*).

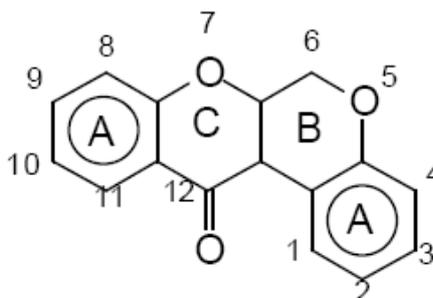
Las isoflavonas de la soja son uno de los fitoquímicos más estudiados en la actualidad por su efecto fitoestrogénico. Los compuestos activos conocidos incluyen la genisteína y la daidzeína. En los casos en los cuales el cuerpo no produce suficiente estrógeno, como en las mujeres menopáusicas y postmenopáusicas, el aporte fitoestrogénico, por medio de las isoflavonas de la soja, nos aporta una actividad estrogénica de sólo 1/1000 de la actividad del estrógeno. Por lo tanto, puede servir como un aporte suave sin los efectos secundarios consabidos de la terapia hormonal sustitutiva (habitualmente utilizada para evitar la pérdida de masa ósea). Además, está débil actividad fitoestrogénica permite a las isoflavonas unirse a los receptores de estrógeno, evitando la acción nociva de niveles elevados de estrógenos al competir por sus receptores (esto es particularmente útil en los casos en los que se sabe que la causa de la enfermedad es un hiperestrogenismo).

- **Isoflavanonas.** Son mucho más escasas que las anteriores y contienen generalmente una o más unidades de prenilo. Como ejemplo podemos mencionar al lespedeol presente en *Neurautanenia amboensis*, que está presente en el vegetal junto al 4-isoflavanol correspondiente ambanol.



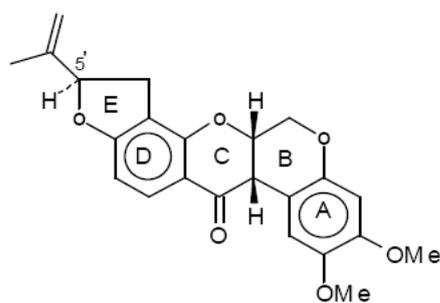
**Figura 17.** Estructura básica de las Isoflavanonas (Fuente: Martínez, 2005)

- **Rotenoides.** Son una clase de isoflavonoides que contienen un anillo heterocíclico adicional en su estructura. Se encuentran preferencialmente en las Leguminosas.



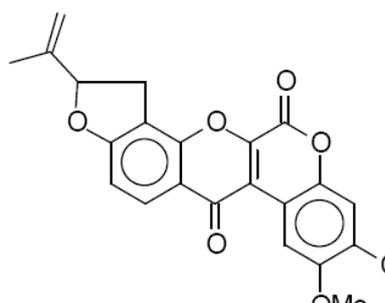
**Figura 18.** Estructura básica de los Rotenoides ((Fuente: Martínez, 2005)

La *Derris elliptica* (Leguminosa) rica en rotenona, es utilizada como veneno temporal en las aguas del río Amazonas para facilitar la pesca.



Rotenona (rotenoide)

*Derris negrensis*, *D. elliptica*



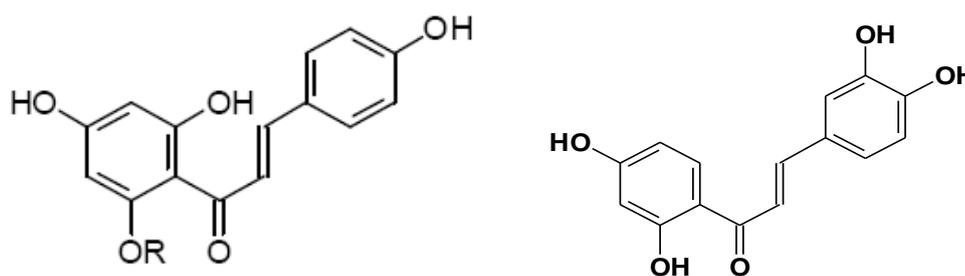
Rotenonona (deshidrorotenoide)

*Neurautanenia amboensis*

**Figura 19.** Tipos de Rotenoides (Fuente: IUPAC)

Para un estudio sistemático los más de aproximadamente, 4000 flavonoides naturales se han clasificado en Varias clases de acuerdo con las variantes estructurales que presenta la cadena central C<sub>3</sub>. De acuerdo con esto los flavonoides se clasifican en varios grupos: **Chalconas, flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, auronas, isoflavonoides, pterocarpanos, rotenoides**, etc. (Martínez, 2005)

1. Las **chalconas** están implicadas en la estimulación de la polinización gracias a que inducen el desarrollo de colores en el espectro de lo visible y en el UV que atraen a insectos (mariposas y abejas) Las *chalconas* se encuentran solamente en algunas familias botánicas. Estructuralmente son isómeros de las flavanonas por apertura del núcleo central o piranósico. Son pigmentos amarillos que pueden encontrarse en plantas como el sauce (isosalipurpósido), regaliz (isoliquiritósido e isoliquiritigenósido) y en las hojas de olivo (olivina).



*Figura 20.* Chalconas (Fuente: Martínez, 2005)

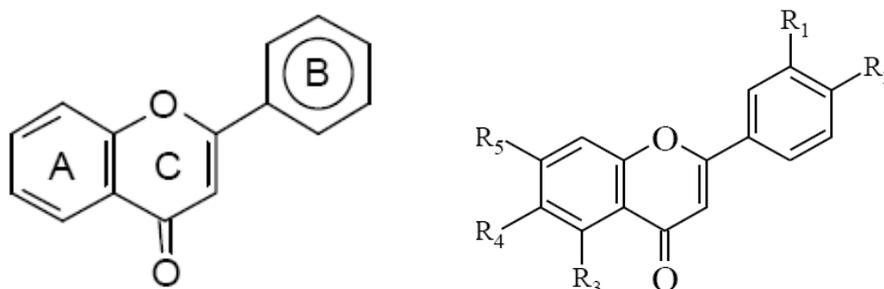
Cabe mencionar el glucósido de la floretina: florizina, ampliamente distribuido en la corteza de los frutos de varias Rosáceas. Produce la “diabetes de la floretina” que se caracteriza por un aumento de la glucosuria, es decir la excreción urinaria de glucosa, causada por interferencia en la reabsorción de la glucosa por los túbulos renales.

Las chalconas están implicadas en la estimulación de la polinización gracias a que inducen el desarrollo de colores en el espectro de lo visible y en el UV que atraen a insectos (mariposas y abejas). Las chalconas pueden tener importantes aplicaciones en medicina.

2. Las **flavonas** son amarillas y pueden estar en algunas flores, como en la prímula, dándoles un color amarillo a sus pétalos, o en frutos, como en la piel de las uvas, son las

responsables del color amarillento de los vinos blancos. Hay tres flavonas importantes: la **trictetina**, presente en el polen de algunas mirtáceas, y también en las podocarpáceas (*Podocarpus* spp.); **apigenina**, presente en muchas plantas como la camomila, (*Matricaria recutita*) o el espino blanco (*Crataegus laevigata*), da un color marrón marfileño a las flores si se presenta sola; y **luteolina**, de color amarillo, que incluso sirve para teñir lana y otros tejidos, para lo cual se ha empleado la Retama de los tintoreros (*Genista tinctoria*). Conjuntamente con los flavonoles son los flavonoides naturales más abundantes. Se han aislado tanto libres como glicósidos.

Conjuntamente con las flavonas son los flavonoides naturales más abundantes. Se han aislado tanto libres como glicósidos.



*Figura 21.* Estructura básica de las Flavonas (Fuente: Martínez, 2005)

Hay tres flavonas importantes: la trictetina, (Cuadro N° 05), presente en el polen de algunas mirtáceas, y también en las podocarpáceas (*Podocarpus* spp.); apigenina, presente en muchas plantas como la camomila, (*Matricaria recutita*) o el espino blanco (*Crataegus laevigata*), da un color marrón marfileño a las flores si se presenta sola; y luteolina, de color amarillo, que incluso sirve para teñir lana y otros tejidos, para lo cual se ha empleado la Retama de los tintoreros (*Genista tinctoria*). La apigenina que se encuentra en la alfalfa y en la manzanilla.

Las flavonas son amarillas y pueden estar en algunas flores, como en la primula, dándoles un color amarillo a sus pétalos, o en frutos, como en la piel de las uvas, son las responsables del color amarillento de los vinos blancos.

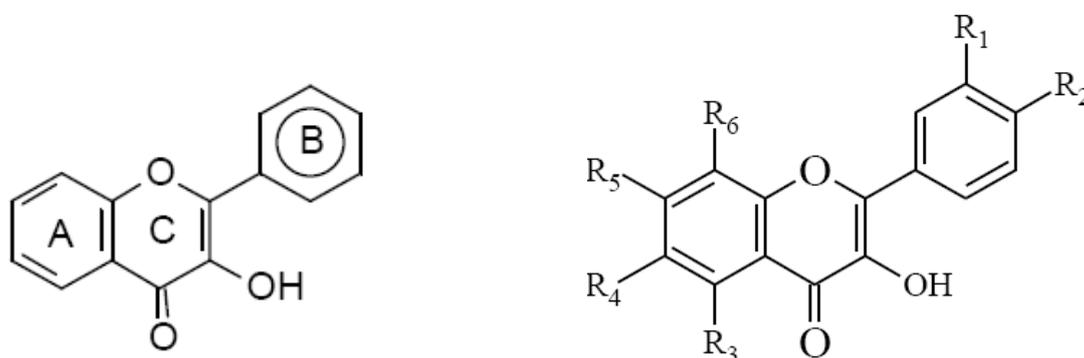
**Tabla 5***Los compuestos más frecuentes de Flavonas*

Nombre Trivial	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	Fuente
Crisina	-	-	OH	-	OH	<i>Populus</i>
Baicaleína	-	-	OH	OH	OH	<i>Scutellaria</i>
Apigenina	-	OH	OH	-	OH	<i>Petroselinum</i>
Acacetina	-	OMe	OH	-	OH	<i>Robinia</i>
Escutelareína	-	OH	OH	OH	OH	<i>Scutellaria</i>
Hispidulina	-	OMe	OH	OH	OH	<i>Ambrosia</i>
Luteolina	OH	OH	OH	-	OH	<i>Reseda</i>
Crisoeriol	OMe	OH	OH	-	OH	<i>Eriodictyon</i>
Diosmetina	OH	OMe	OH	-	OH	<i>Diosma</i>

Fuente: Martínez, 2005

3. Los **flavonoles** suelen ser incoloros o amarillos y se encuentran en las hojas y en muchas flores. Los más importantes son tres: quercetina, es el flavonol amarillo del polen de muchas fagáceas (*Quercus* sp.); miricetina, presente en la uva; y kaempferol, está presente en las inflorescencias y las protege de la luz ultravioleta. La fisetina es un flavonol que se extrae de la planta del género *Amphipterygium*.

Conjuntamente con las flavonas son los flavonoides naturales más abundantes. Se han aislado tanto libres como glicósidos.

**Figura 22.** Estructura básica de los Flavonoles (Fuente: Martínez, 2005)

**Tabla 6***Los compuestos más frecuentes de Flavonoles*

Nombre Trivial	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	Fuente
Galangina	-	-	OH	-	OH	-	<i>Alpinia</i>
Fisetina	OH	OH	-	-	OH	-	<i>Rhus</i>
<b>Kaempferol</b>	-	OH	OH	-	OH	-	<i>Delphinium</i>
Herbacetina	-	OH	OH	-	OH	OH	<i>Gossypium</i>
Quercetina	OH	OH	OH	-	OH	-	<i>Quercus</i>
Ramnetina	OH	OH	OH	-	OMe	-	<i>Rhamnus</i>
Quercetagetina	OH	OH	OH	OH	OH	-	<i>Tagetes</i>
Gossipetina	OMe	OH	OH	-	OH	OH	<i>Gossypium</i>
Isorramnetina	OH	OMe	OH	-	OH	-	<i>Cheiranthus</i>

Fuente: Martínez, 2005

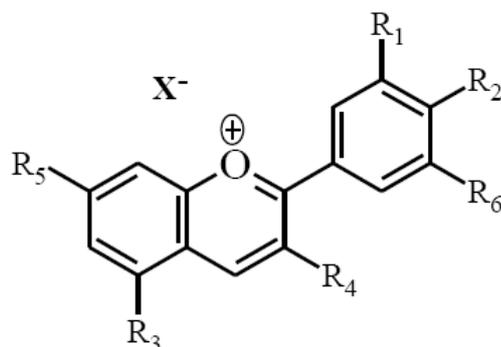
Los flavonoles suelen ser incoloros o amarillos y se encuentran en las hojas y flores. Los más importantes son tres: quercetina, es el flavonol amarillo del polen de muchas fagáceas (*Quercus sp.*); miricetina, presente en la uva; y camferol, está presente en las inflorescencias y las protege de la luz ultravioleta. La fisetina es un flavonol que se extrae de la planta del género *Amphipterygium*.

Las fuentes alimenticias principales de los flavonoles son, entre otras, el té negro, las cebollas, las manzanas, la pimienta negra —que contiene cerca de 4 g/kg de quercitina—, y bebidas alcohólicas como vino y cerveza.

4. Los **flavandioles**, hay tres característicos: leucocianidina, presente en algunas plantas, como en el plátano, o en el muérdago criollo (*Ligaria cuneifolia*); leucopelargonidina, presente como tal en cierta concentración en la alfalfa de secano (*Medicago truncatula*); y leucodelfinidina, que es activa en el castaño de indias (*Aesculus hippocastanum*).

5. Las **antocianinas**, son los pigmentos hidrosolubles presentes en el líquido vacuolar de las células responsables de la mayoría de las coloraciones rojas, azules y violetas de las flores y hojas. Las antocianinas se encuentran como sales principalmente en las flores, frutos y tejidos, son los pigmentos hidrosolubles presentes en el líquido vacuolar de las células responsables de la mayoría de las coloraciones rojas, azules y violetas de las flores y hojas. Desde el punto de vista químico, las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides y son glicósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico.

Son glicósidos de polihidroxiavilío, en los cuales la unión glicosídica está principalmente en C<sub>3</sub>.



**Figura 23.** Estructura básica de las Antocianidinas (Fuente: Martínez, 2005)

**Tabla 7**

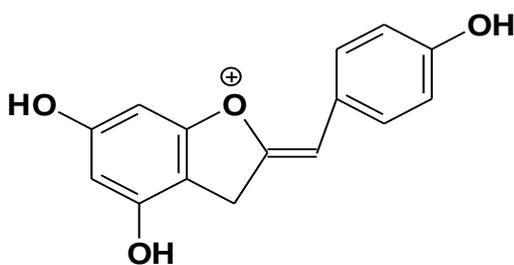
*Los compuestos más frecuentes de antocianinas*

Nombre Trivial	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>6</sub>	Fuente	
Apigenidina	-	OH	OH	-	OH	-	<i>Reichsteineria</i>
Luteolinidina	OH	OH	OH	-	OH	-	<i>Reichsteineria</i>
Pelargonisina	-	OH	OH	OH	OH	-	<i>Pelargonium</i>
Cianidina	OH	OH	OH	OH	OH	-	<i>Centaurea</i>
Peonidina	OMe	OH	OH	OH	OH	-	<i>Paeonia</i>
Delfinidina	OH	OH	OH	OH	OH	OH	<i>Delphinium</i>
Petunidina	OMe	OH	OH	OH	OH	OH	<i>Petunia</i>
Malvidina	OMe	OH	OMe	OH	OH	OH	<i>Malva</i>

Fuente: Martínez, 2005

6. Los **taninos condensados** son macromoléculas constituidas por unidades de flavonoides llamadas antocianidina. Los taninos están muy ampliamente distribuidos en las plantas como en el té, donde contribuyen al sabor astringente.

7. Las **auronas** son responsables de la coloración de algunas plantas. A pesar de que se ha sugerido que estos compuestos están relacionados estrechamente con las chalconas, hay pocos indicios acerca de sus vías biosintéticas. Las *auronas* son responsables de la coloración de algunas plantas. A pesar de que se ha sugerido que estos compuestos están relacionados estrechamente con las chalconas, hay pocos indicios acerca de sus vías biosintéticas.

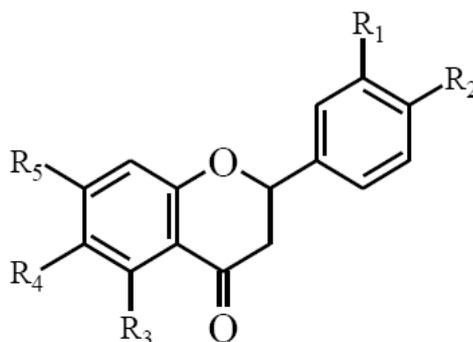


**Figura 24.** Núcleo básico de las auronas (Fuente: Martínez, 2005)

8. Las **flavanonas** son precursores de otros flavonoides más complejos, pero se encuentran como tales en altas concentraciones en los cítricos. Las más importantes son naringenina, presente en el zumo de naranja, limón o pomelo, dándole un sabor amargo; liquiritigenina, presente en el regaliz; y eriodictiol, se presenta en el guisante actuando como quimioatrayente para interactuar con agrobacterias.

Las flavanonas son precursores de otros flavonoides más complejos, pero se encuentran como tales en altas concentraciones en los cítricos. Las más importantes son naringenina, presente en el zumo de naranja, limón o pomelo, dándole un sabor amargo; liquiritigenina, presente en el regaliz; y eriodictiol, se presenta en el guisante actuando como quimioatrayente para interactuar con agrobacterias.

La saturación del anillo heterocíclico crea en la molécula al menos dos centros quirales C<sub>2</sub> y C<sub>3</sub> y un tercero C<sub>4</sub> en el caso de los flavanodoles. Las flavanonas de origen natural presentan casi siempre la configuración 2S, que dispone el anillo B ecuatorial. Pueden presentarse como O- y C-glicósidos (hesperidina y aervanona), también pueden tener O- y C-metilaciones o alquilaciones superiores (prenilaciones). Las agliconas más representativas son hesperetina y naringenina.



**Figura 25.** Estructura básica de las Flavanonas (Fuente: Martínez, 2005)

**Tabla 8***Los compuestos más frecuentes de Flavononas*

Nombre Trivial	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	Fuente
Pinocembrina	-	-	OH	-	OH	<i>Pinus</i>
Liquiritigenina	-	OH	-	-	OH	<i>Glycyrrhiza</i>
Naringenina	-	OH	OH	-	OH	<i>Prunus</i>
Sakuranetina	-	OH	OH	-	OMe	<i>Prunus</i>
Eriodictiol	OH	OH	OH	-	OH	<i>Eriodictyon</i>
Hesperetina	OH	OMe	OH	-	OH	<i>Prunus</i>

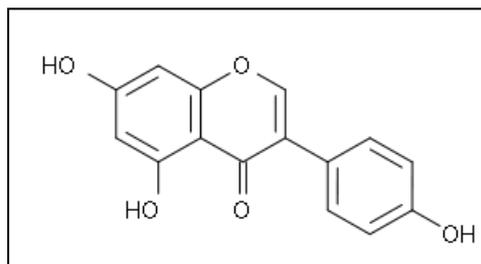
Fuente: Martínez, 2005

La Hesperidina, flavanona será particularmente activa en la prevención de enfermedades cardíacas. Se encuentra en las frutas cítricas, como limones, naranjas, mandarinas y pomelos.

9. Los **dihidroflavonoles** son los precursores directos de flavandioles y flavonoles, pero también tienen cierta actividad como tales en algunas plantas. Hay tres importantes: dihidromiricetina, presente en las partes aéreas de los brezos (*Erica* spp.), dihidroquercetina, en las uvas blancas o en la zarzaparrilla (*Smilax aristolochiaefolia*); y dihidrokaempferol. (Martínez, 2005)

La mayoría de flavonoides poseen nombres triviales con la terminación INA u OL. Estos nombres les han sido asignados por los investigadores que los han ido descubriendo uno a uno en la naturaleza. Por ejemplo, la acetina se identificó por primera vez en una planta del género *Acacia* y se clasifica como una flavona. La quercetina es un flavonol identificado inicialmente en una planta del género *Quercus*. La naringenina es una flavanona aislada inicialmente en la naranja. El eriodictiol es una flavanona y se aisló inicialmente en una planta del género *Eriodictyon*. Sin embargo, esta clase de nombres no es muy útil cuando se requiere información sistemática de estas sustancias, por lo cual los químicos han convenido llamarlos con nombres que representen su estructura química. Así por ejemplo la acetina corresponde a la 5,7-dihidroxi-4'-metoxiflavona; la quercetina al 5,7,3',4'- tetrahidroxiflavonol; la naringenina a la 5,7,4'-trihidroxiflavanona, etc.

Se ha visto también que dos isoflavonoides encontradas en exudados de soja, la daidzeína y la genisteína son inductores de los genes de la nodulación de varias cepas de *Bradyrhizobium japonicum*.



**Figura 26.** Estructura molecular de la genisteína (Fuente: Martínez, 2005)

### 2.2.7 Distribucion y estado natural de los flavonoides

Los flavonoides se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas verdes (especialmente las angiospermas), y sólo algunos pocos se han detectado en hongos y algas. Se han encontrado en las diferentes partes de las plantas, especialmente en las partes aéreas; y se les encuentra en forma libre (también llamados agliconas flavonoides), como glicósidos (la mayoría de las veces), como sulfatos y algunas veces como dímeros y polímeros. Los glicósidos pueden ser de dos clases: con los carbohidratos ligados a través de átomos de oxígeno (enlace hemiacetal) es decir como O-glicósidos; o con los carbohidratos ligados a través de enlaces C-C, es decir como C-glicósidos. De todas estas formas naturales, los O-glicósidos son los más comunes de hallar. Las antocianinas por su parte se encuentran como sales principalmente en flores, frutos y tejidos con coloraciones que van del rojo hasta el violeta y el azul. Muy pocas veces se encuentran varias clases de flavonoides en un mismo tejido vegetal, sin embargo, de las raíces de *Lonchocarpus subglauscescens* (leguminosas) se aislaron varias flavonas, flavonoles, isoflavonas, rotenoides, chalconas y flavanoles. (Martínez, 2005)

### 2.2.8 Propiedades físicas - químicas y extracción de los flavonoides

Las propiedades físicas y químicas dependen de la clase de flavonoide considerado y su forma (libre, glicósido ó sulfato). Por ejemplo, las flavonas, flavonoles y auronas, debido al sistema conjugado son compuestos sólidos con 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<sub>2</sub> presentan el fenómeno de rotación óptica. Los glicósidos son en general sólidos amorfos, mientras que las agliconas y los altamente metoxilados son cristalinos.

La solubilidad de los flavonoides depende de la forma en que se encuentren, número y clase de sustituyentes presente. Los glicósidos, las antocianidinas y los sulfatos son solubles en agua y alcohol. Las agliconas flavonoides altamente hidroxiladas son solubles en alcohol (etanol, metanol y n-butanol), mientras que las poco hidroxiladas en solventes como éter etílico, acetato de etilo y acetona. Las agliconas flavonoides altamente metoxiladas son solubles en solventes menos polares como éter de petróleo y el cloroformo. (Martínez, 2005)

Los flavonoides son sustancias sólidas cristalizadas de color blanco o amarillento. Sus heterósidos son solubles en agua caliente, alcohol y disolventes orgánicos polares, siendo insolubles en los apolares. Sin embargo, cuando están en estado libre, son poco solubles en agua, pero son solubles en disolventes orgánicos más o menos oxigenados, dependiendo de su polaridad. Por otro lado, son sustancias fácilmente oxidables y, por tanto, tienen efecto antioxidante, ya que se oxidan más rápidamente que otro tipo de sustancias.

En los vegetales, por la actividad biológica de los flavonoides, intervienen en los fenómenos de oxidación-reducción, protegen a otros pigmentos de la luz y de la radiación UV, presentan actividad fungicida y contra parásitos agresores, ayudan en la polinización, ya que por sus colores atraen a los insectos junto con los aceites esenciales.

Los flavonoides lipofilos de los tejidos superficiales de hojas (o de frondes) se pueden extraer directamente con disolventes de polaridad media (dodlorometano); seguidamente habrá que separar las ceras y grasas que se extraen simultáneamente (se pueden lavar en principio con hexano pero la selectividad de este disolvente no es absoluta).

Los heterosidos pueden extraerse, normalmente en caliente, con acetona o alcoholes (etanol, metanol) a los que se adiciona agua (20 a 50 % según que la droga sea fresca o seca). Se puede seguidamente realizar una evaporación a vacío y, cuando el medio contenga solo agua, proceder a una serie de extracciones líquido – líquido con disolventes no misibles con el agua: con éter de petróleo que elimina clorofila y lípidos; con dietileter que extrae las geninas libres; con acetato de etilo que arrastra la mayoría de los heterosidos. Los azúcares libres permanecen en la fase acuosa junto con, en caso de fracaso, los heterosidos más polares.

La separación y purificación de los diferentes flavonoides se fundan las técnicas cromatograficas habituales (sobre poliamida, celulosa, etc). Al igual que para la mayoría de los demás metabolitos secundarios de los vegetales, la CLAR constituye en estos últimos años el método de elección en el arsenal de ls técnicas de aislamiento de heterosidos flavonicos (fases reversas C<sub>8</sub> o C<sub>18</sub> con disolventes de tipo agua [o acetonitrilo, o THF] + metanol + acido acético)

### 2.2.9 Caracterización de los flavonoides

Aunque numerosas reacciones coloreadas permiten caracterizar geninas y heterosidos en extractos brutos, el estudio preliminar de estos extractos se realiza clásicamente mediante CCF (aunque no se haya abandonado todavía la cromatografía en papel). El estudio de los cromatogramas se puede realizar:

- Directamente: normalmente las chalconas y las auronas pueden detectarse al visible sobre los cromatogramas. En presencia de vapores de amoniaco las manchas pasan a naranja y rojo;
- Por examen a la luz ultravioleta antes y despues de revelar con tricloruro de Aluminio, antes y después de la exposición a vapores de amoniaco: la naturaleza y los cambios de fluorescencia proporcionan datos utiles sobre el tipo de flavonoides presente;
- Después de pulverización con una disolución al 1 % del ester del 2-aminoetanol y el acido difenilborico, seguido de un examen a la luz ultravioleta y después al visible. Puede mejorarse la sensibilidad pulverizando además con una disolución metanolica al 5% de polietilenglicol 400 (= macrogol 400);
- Después de pulverización con cloruro ferrico, anisaldehido, acido sulfanilico diazotado o con otros reactivos generales de fenoles;
- Por la utilización de reacciones o propiedades mas o menos especificas; - reacción – llamada de la cianidina – con polvo de magnesio en medio clorhídrico (flavanonas y dihidroflavonoles) o zinc en el mismo medio (flavonoides *stricto sensu*), - reacción de las dihidrochalconas, después de poner en contacto bromohidruro sódico con la 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona.

## 2.2.10 Metodos de análisis y valoración de los flavonoides

### ➤ Extracción y aislamiento

Los flavonoides en general se extraen de muestras secas y molidas. La muestra se desengrasa inicialmente con éter de petróleo ó n-hexano, y el marco se extrae con etanol puro o del 70%. Este último es recomendado para garantizar la extracción de los más polares. El extracto obtenido se evapora con calentamiento no superior a los 50°C y se le hacen particiones sucesivas con éter etílico, acetato de etilo y n-butanol. Los flavonoides apolares quedan en la fase etérea, los medianamente polares en la fase acetato de etilo y los más polares en el n-butanol. Cada una de estas tres fracciones se puede analizar por cromatografía en capa fina (CCF) y HPLC en fase reversa. Para el análisis por CCF de las agliconas se pueden utilizar mezclas n-hexano/acetato de etilo y cloroformo/acetato de etilo en diferentes proporciones, por ejemplo, la mezcla cloroformo/acetato de etilo 60:40 utilizada por Wagner y col. para el análisis de drogas vegetales. Para el análisis de glicósidos flavonoides Wagner y col. utilizan una mezcla acetato de etilo/ácido fórmico/ácido acético/agua 100:11:11:27.

Para el análisis por HPLC de los glicósidos pueden utilizarse columnas RP-18, detectando a 254 nm y eluyendo con mezclas ácido acético al 2% acuoso/acetonitrilo en diferentes proporciones. El ácido acético previene la formación de picos asimétricos en el cromatograma. Para el análisis cuantitativo HPLC de las agliconas también se usan columnas RP-18, detección a 254 nm y elución con mezclas de acetonitrilo/agua con ácido acético al 1%<sup>6,7</sup>. Para el caso de flavonas metoxiladas y glicósidos de flavanonas en plantas del género Citrus se puede consultar el trabajo de Mouly y col.

Las antocianinas se pueden extraer de tejidos frescos (p. ej. pétalos) por maceración con un solvente ácido como por ejemplo la mezcla metanol-ácido acético-agua (MAW) (11:1:5) ó la mezcla MFW, es decir metanol/ácido fórmico/agua por ejemplo 10:1:9. El extracto obtenido se concentra y se somete a cromatografía en papel unidimensional eluyendo con la mezcla t-BuOH:AcOH:H<sub>2</sub>O (3:1:1). En estas condiciones las antocianinas presentan R<sub>f</sub> bajo y se pueden separar de otros tipos de flavonoides como los glicósidos de flavonoles los cuales presentan un R<sub>f</sub> alto. Una vez eluido del papel el extracto con las antocianinas se puede purificar a través de un cartucho RP-8 eluyendo con AcOH al 7% acuoso y con AcOH al 7% metanólico. También se pueden analizar por

cromatografía en capa fina con placas de celulosa y eluyendo con la mezcla HCl conc./ácido fórmico/agua 19.0/39.6/41.49.

Las antocianinas se pueden separar a escala analítica por HPLC [(columna RP-18, 25 cm de long., 5 nm); eluente: una mezcla 1:1 de A (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 1.5% acuoso) y B (H<sub>2</sub>O:MeCN:AcOH:H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 107:50:40:3) a un flujo de 0.8 ml/min; detectando a 352 y 530 nm]. A nivel preparativo puede usarse una columna RP-18 de 25 cm de long., los mismos solventes citados arriba, pero en una proporción 43:57 respectivamente, a un flujo de 2 ml/min y detectando a 440 nm. Luego, las antocianinas se eluyen con AcOH al 8% metanólico, se concentran a sequedad y se liofilizan para obtener los compuestos puros para su caracterización química. Existen métodos para estabilizar las antocianinas en micelias. (Martínez, 2005)

## ➤ **Métodos de identificación**

### **a. Ensayos de coloración**

Los flavonoides se pueden reconocer experimentalmente mediante diferentes ensayos de coloración. A continuación, se describen un ensayo general de reconocimiento como es el ensayo de Shinoda, y otros ensayos más específicos para varias clases de flavonoides.

- ✓ **Ensayo de Shinoda:** Los flavonoides con el núcleo benzopirona (p. ej. flavonas, flavonoles, flavanonas, etc.) producen coloraciones rojizas cuando a sus disoluciones acuosas o alcohólicas se les adiciona magnesio seguido de HCl concentrado. Aunque no se conoce el mecanismo de esta prueba, es muy utilizada para reconocer esta clase de compuestos.
- ✓ **Ensayo con Zn/HCl:** Al remplazar el Mg por el Zn en el procedimiento del ensayo de Shinoda, solamente los dihidroflavonoles (o flavononoles) producen coloraciones rojo-violeta. Las flavanonas y flavanoles no producen color o producen coloraciones rosadas débiles.
- ✓ **Ensayo de Pacheco:** El sólido flavonoide se calienta sobre una llama con unos pocos cristales de AcONa y 0.1 ml de anhídrido acético. Luego con 0.1 ml de HCl conc. Los dihidroflavonoles producen un color rojo característico. Las flavonas, chalconas, auronas, flavonoles y flavanonas dan una respuesta negativa.

- ✓ **Ensayo del estroncio-amoniaco:** Este ensayo se utiliza para distinguir entre flavonas y flavonoles-3-O-sustituídos 5,6- dihidroxilados y 5-hidroxil-6-metoxilados<sup>14</sup>.
- ✓ **Reconocimiento de antocianinas:** Las antocianinas se comportan como indicadores ácido-base debido al proceso:

A pH ácido presentan coloraciones rojas, violetas y moradas; mientras que a pH alcalino presentan coloraciones verdes y azules.

Con esta prueba se pueden diferenciar entre las antocianinas y las betacianinas (pigmentos nitrogenados de colores rojos y violeta de plantas del orden Centrosperma, como p. ej. Los pigmentos de la remolacha *Beta vulgaris*, Fam. quenopodiáceas y también presentes en otras plantas como la *Phytolacca americana*, Fam. Fitolacáceas.

#### **b. Espectroscopía ultravioleta-vivisible**

Los espectros UV de los flavonoides en metanol presentan bandas características debidas a los sistemas conjugados de los anillos aromáticos. Las flavonas y flavonoles muestran dos bandas definidas: La banda I, de mayor longitud de onda en el rango 300-390 nm asociada con la funcionalidad cinamoilo, y la banda II, entre 250-280 nm debida al anillo aromático. La posición de la banda I depende del tipo de flavonoide: las flavonas la muestran en 310-350 nm, los flavonoles 3-O-sustituídos en 330- 360 nm, y los flavonoles en 350-385 nm.

La presencia de hidroxilos fenólicos en diferentes posiciones de la molécula puede establecerse estudiando el comportamiento del espectro UV metanólico al añadirle los denominados reactivos de desplazamiento: metóxido de sodio (NaOMe), acetato de sodio (NaOAc), cloruro de aluminio (AlCl<sub>3</sub>) con y sin HCl, y ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>).

El NaOMe es una base fuerte que ioniza los hidroxilos fenólicos presentes en la molécula y particularmente permite reconocer la existencia de grupos hidroxilo en 3 y 4'. Las flavonas 4'-hidroxiladas y los flavonoles 3-O-sustituídos presentan desplazamiento batocrómico de 45-65 nm para la banda I al añadir NaOMe, y la intensidad de la banda no decrece. Los flavonoles (ó 3-hidroxi-flavonas) sin hidroxilo en 4', también presentan el mismo desplazamiento batocrómico de 45-65 nm, pero la intensidad de la banda se ve disminuida.

En los flavonoles 3,4'-dihidroxiados, orto-dihidroxiados y diorto-trihidroxiados, el espectro se descompone en pocos minutos luego de añadir el NaOMe. La aparición de una banda alrededor de 330 nm (banda III) es característica de flavonas 7-hidroxiadas. El NaOAc es una base más débil que el NaOMe, y ioniza solo los hidroxilos fenólicos más ácidos: 3, 4' y 7. La ionización del hidroxilo en 7 afecta la banda II y por lo tanto el NaOAc es un reactivo útil para determinar la presencia de dicho hidroxilo. Si al añadir el NaOAc se observa un desplazamiento batocrómico de 5-20 nm en la banda II se trata de una flavona o flavonol 7-hidroxiado. Las flavanonas 5-hidroxiadas presentan un desplazamiento batocrómico de 35 nm. Los flavonoles (sin 5-OH) presentan un desplazamiento batocrómico de 60 nm. Sin embargo, Heinz y col. han reportado que se debe tener precaución en la obtención del espectro con NaOAc. (Martínez, 2005)

### **c. Espectrometría de resonancia magnética nuclear**

El espectro de RMN-1H de los flavonoides permite reconocer características estructurales importantes. Un resumen de los tipos de protones más comúnmente hallados se presenta en la tabla 09.

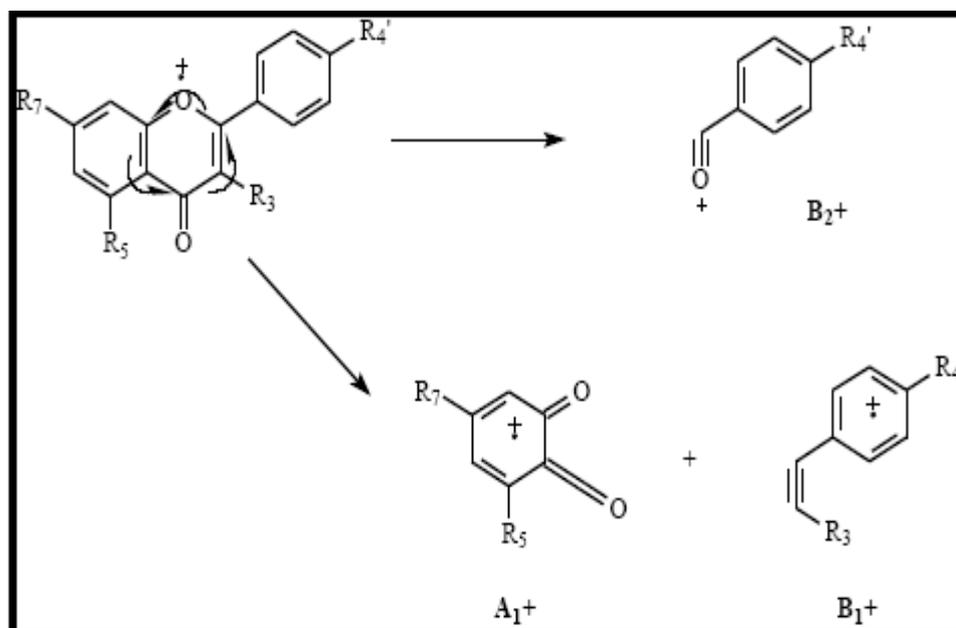
### **d. Espectrometría de masas**

Las agliconas flavonoides presentan fragmentos característicos en su espectro de masas de impacto electrónico IE40. Por ejemplo, las flavonas y flavonoles presentan generalmente los fragmentos  $M^{+}$ ,  $[M-H]^{+}$ , y  $[M-CO]^{+}$ . uno o varios de los fragmentos  $A1^{+}$ ,  $[A1+H]^{+}$ ,  $B1^{+}$ . y  $B2^{+}$  los que se originan por rompimientos Retro-Diels-Alder, (Figura 27).

**Tabla 9***Desplazamientos químicos de varias clases de protones presentes en los flavonoides*

$\delta$ (ppm)	Tipos de protones
0.0	Tetrametilsilano
0.0-0.5	Trimetilsililo
1.0-1.2	Metilo de la ramnosa (doblete ancho)
1.7	Metilos del grupo isopentenilo
1.9-2.0	Metilos de acetatos alifáticos (de azúcares)
2.2-2.4	Metilos de acetatos aromáticos
2.7-3.1	H-3 de flavanonas (multiplete)
3.0-4.8	Protones de azúcares
3.5	Metileno del grupo isopentenilo
3.7-4.1	Metoxilos aromáticos
4.1-4.6	Protones 2 y 3 de isoflavanonas
4.2-6.0	Protón 1 de azúcares, protón 2 de flavanonoles y flavanonas (doble doblete)
5.4	Protón 2 de flavanonoles y flavanonas (dd)
5.9-6.0	Metiléndioxi
6.0-6.8	Protones 3, 6 y 8 de flavonas
6.8-8.0	Protones aromáticos del anillo B
7.5-8.0	Protón 2 de isoflavanonas
8.9	Protón 4 de antocianinas
12.0-14.0	Protón del hidroxilo 5

Fuente: Martínez, 2005

**Figura 27.** Rompimientos Retro-Diels-Alder (Fuente: Martínez, 2005)

### **e. Difractometría de rayos-X**

La asignación de la estereoquímica y la determinación de la estructura espacial de algunos flavonoides se han realizado mediante los estudios de los espectros de Difracción de Rayos-X.

### **f. Espectroscopia infrarrojo**

Aunque el espectro infrarrojo de los flavonoides no se usa mucho actualmente, a manera de ilustración se presentan a continuación los espectros infrarrojos de la quercetina y la flavanona:

### **g. Hidrólisis**

Los O-glicósidos flavonoides se pueden hidrolizar en presencia de ácidos para liberar los carbohidratos ligados y la correspondiente aglicona flavonoide. En general se utiliza HCl 2N: metanol 1:1 refluendo durante 1 hora. Los O-glucurónidos flavonoides requieren condiciones más fuertes para su hidrólisis y ésta se realiza con HCl 2N refluendo a 100°C durante 2 horas. (Martínez, 2005)

## **2.2.11 Propiedades biológicas de los flavonoides**

La principal actividad atribuida a los flavonoides es la de ser venoactivos, es decir, ser capaces de disminuir la permeabilidad de los capilares sanguíneos y aumentar su resistencia. En animal, pueden reducir la sintomatología de una hipovitaminosis C experimental. Esta propiedad le ha valido, durante un tiempo, el nombre de vitamina P. al no ser vitaminas, se habla de factores vitamínicos P o, mejor aún, de factores P. Estos términos, ambiguos, tienden a no utilizarse, en la actualidad, a estos productos naturales y a sus derivados que los diccionarios especializados incluyen bajo la denominación general de vasculoprotectores y venotonicos, se les denomina venotropos.

Numerosas propiedades, comprobadas in vitro, pueden explicar la actividad de los flavonoides. Inicialmente, se ha postulado que actúan sobre la reducción del ácido dehidroascorbico vía glutatión sobre el que se comportan como donantes de hidrogeno. Cuanto más reductor sea el flavonoide mayor será la cantidad producida de ácido

ascórbico. En la actualidad se opina más globalmente que estos fenoles captan los radicales formados en diversas circunstancias:

- Anoxia, que bloquea el flujo de electrones las citocromo oxidasas dando lugar a la producción de radical superóxido ( $O_2^-$ ). El radical superóxido reacciona con protones dismutándose en dióxigeno y en peróxido de hidrógeno;
- Inflamación que se produce, entre otras causas, por la formación de aniones superóxido ( $O_2^-$ ) inducida por la NADPH-oxidasa presente en la membrana de los leucocitos activados, pero también por dismutación de peróxido de hidrógeno que en presencia de iones ferrosos da lugar al radical hidroxilo que es muy activo y otras especies muy reactivas (HOCL, cloramidas, etc.). estas especies, normalmente presentes a lo largo del fenómeno de la fagocitosis pueden, por exocitosis, liberarse al medio exterior y provocar importantes desgastes bioquímicos;
- Autooxidación lipídica. Generalmente inducida por un radical hidroxilo (o por  $NO\cdot$ ) que arranca un hidrógeno a la cadena lateral de un ácido graso, formando un radical carbonato ( $R\cdot$ ). este último reacciona con oxígeno para formar peróxidos cíclicos y radicales hidroperóxidos ( $ROO\cdot$ ) que propagan esta reacción en cadena. Se forman igualmente radicales alcoxílicos lipófilos ( $RO\cdot$ ).

Por regla general los flavonoides son in vitro inhibidores enzimáticos:

- Inhibición de la histidina descarboxilasa por el quercetecol o la naringenina;
- Inhibición de la elastasa
- Inhibición de la hialuronidasa, por las flavonas y sobre todo por los proantocianidoles, lo que permite conservar la integridad de la sustancia fundamental de la pared vascular;
- Inhibición no específica de la catecol-O-metiltransferasa, lo que aumenta la cantidad de catecolaminas disponibles y provoca por tanto un aumento de la resistencia vascular;
- Inhibición de la fosfodiesterasa del AMPc que explicaría, entre otras cosas y pro parte, su actividad antiagregante plaquetaria;
- Inhibición de la aldosa reductasa – de la que se sabe que se encuentra implicada en la patogenia de la catarata – por el quercitrósido así como por las metoxiflavonas ;
- Inhibición in vitro de la protein-kinasa sobre todo por la luteolina;

- Numerosos flavonoides-cirsiriol, hipolaetina, etc.-son potentes inhibidores de la 5-lipoxigenasa y por tanto de la producción de los leucotrienos mediadores de la inflamación de las manifestaciones alérgicas. Algunos flavonoides (luteolol, apigenol, crisina, etc.) inhiben la ciclooxigenasa y la agregación plaquetaria. Estas propiedades demostradas in vitro podrían explicar, en parte, las actividades antiinflamatorias y antialérgicas habitualmente atribuidas a diversas drogas conocidas por su contenido en flavonoides.

Raramente los flavonoides pueden estimular una actividad enzimática, esto sucede con la prolina hidroxilasa. Este estímulo favorece el establecimiento de puentes entre las fibras de colágeno, aumentando así su solidez y estabilidad y oponiéndose a su desnaturalización. Esta actividad a nivel del colágeno la realizan sobre todo los oligómeros flavanólicos (proantocianidoles). Se pueden también observar que el anión radical superóxido parece estar implicado en la proteólisis no enzimática del colágeno y que in vitro, los antocianósidos inhiben este proceso degradativo. (Valencia. 1995)

### **2.2.12 Flavonoides de interés agroindustrial**

Los flavonoides que tienen mayor interés farmacológico están dentro del grupo de las flavonas, flavonoles y flavanonas y sus correspondientes heterósidos y los antocianósidos. Muchos de ellos presentan actividad sobre el sistema vascular como factores vitamínicos P (aumento de la permeabilidad y disminución de la resistencia de los capilares sanguíneos) como por ejemplo el rutósido o los citroflavonoides, llamados así por haber sido aislados en especies pertenecientes al género Citrus.

Dentro de este grupo de flavonoides es necesario mencionar especialmente el grupo de los antocianósidos, pigmentos de los vegetales responsables de sus coloraciones rojas, azules y violetas. Su estructura química corresponde a compuestos heterosídicos cuya genina (antocianidol) deriva del “catión flavilio” (2-fenilbenzopirilio). Desde el punto de vista medicinal tienen interés por sus efectos farmacológicos, principalmente sobre el territorio vascular capilar y venoso, y por su poder de pigmentación que junto a su baja toxicidad les hacen ser de utilidad como colorantes naturales en la industria farmacéutica y alimentaria, aunque se alteren con facilidad variando su color. (Martínez, 2005)

Los antocianósidos son pigmentos de color rojo, localizados principalmente en el hollejo, y una parte muy pequeña en la pulpa de la uva. También están presentes en las hojas al final del ciclo vegetativo. Se distinguen en la uva y en el vino en cinco moléculas definidas, **cianidina, petunidina, peonidina, delphinidina y malvidina**. El color de los pigmentos depende de la estructura molecular como del medio ambiente.

En cuanto a los isoflavonoides en la actualidad están adquiriendo una gran importancia pues algunos han mostrado un interesante efecto estrógeno débil pero relativamente selectivo sobre los receptores  $\beta$ -estrogénicos lo que les hace ser de utilidad en el tratamiento de la sintomatología asociada al climaterio además de actuar como inhibidores de tirosinacinas y por tanto capaces de reducir la proliferación celular. Es el caso de la genisteína (5,7,4'-trihidroxi-isoflavona) y daidzeína (7,4'-dihidroxi-isoflavona) en la soya.

Las antocianinas son los flavonoides más conocidos, pues son los pigmentos hidrosolubles que dan el color característico a muchas flores y partes de plantas. Forman glicósidos, al unirse la antocianidina (aglicón) al azúcar, dando colores característicos:

- Pelargonidina - rojo naranja
- Cianidina - rojo púrpura
- Delphinidina - azul púrpura
- Paeonidina - rojo rosado
- Petunidina - púrpura

### **2.2.13 Localización de los flavonoides en los alimentos**

Los flavonoides se ubican principalmente en las hojas y en el exterior de las plantas, apareciendo sólo rastros de ellos en las partes de la planta por encima de la superficie del suelo. Una excepción son los tubérculos de cebolla, que contienen una gran cantidad de quercitina 4'-D-glucósidos. Al ser parte fundamental de la biología vegetal, los flavonoides responden a la luz controlando los niveles de las auxinas (hormonas vegetales) reguladoras del crecimiento; intervienen en la diferenciación de las plantas y potencian la polinización al conferir coloración. (Escamila Jiménez, C. I, Cuevas Martínez, Y. & Guevara Fonseca, J. 2009).

### 2.3 Alimentos ricos en flavonoides

Los flavonoides se encuentran en productos que son consumidos en la dieta humana de forma habitual tales como frutas, verduras y semillas, así como en bebidas como té verde, té negro, cerveza y vino, así como en forma de suplementos nutricionales, junto con ciertas vitaminas y minerales.

El hombre los consume cotidianamente en la dieta ya que están presentes de forma abundante en los vegetales, las frutas rojas como las moras, fresas, zarzamoras (*Vaccinium* spp.); frutas cítricas (*Citrus* spp.), el chocolate (*Theobroma cacao*), las nueces, las bebidas derivadas de la uva (*Vitis vinifera*) como el vino tinto, los té verde y negro (*Camelia sinensis*), así como en otros alimentos. También están presentes en plantas medicinales aromáticas pertenecientes a la familia Lamiaceae. (Estrada Reyes r. et al. 2012)

Se han identificado más de 5.000 flavonoides, entre los que se pueden destacar, y se encuentran en diferentes alimentos:

1. **Citroflavonoides:** quercitina, hesperidina, rutina, naranjina y limoneno. La quercitina es un flavonoide amarillo-verdoso presente en cebollas, manzanas, brócoli, cerezas, uvas o repollo rojo. La hesperidina se encuentra en los hollejos de las naranjas y limones. La naranjina da el sabor amargo a frutas como la naranja, limón y toronja, y el limoneno se ha aislado del limón y la lima.
2. **Flavonoides de la soya o isoflavonoides:** están presentes en los alimentos con soya tales como frijoles, leche, harina y proteína vegetal texturizada. Los dos más conocidos son la genisteína y la daidzeina.
3. **Proantocianidinas:** se localizan en las semillas de uva y vino tinto
4. **Antocianidinas:** son pigmentos vegetales responsables de los colores rojo y rojo-azulado de las cerezas.
5. **Ácido elágico:** se encuentra en frutas como la uva y en verduras.
6. **Catequina:** en té verde y negro.

7. **Kaempferol:** aparece en puerros, brócoli, rábano y remolacha. (Russo, 2006)

En tanto Martínez, (2005), menciona algunos flavonoides que se encuentran en distintos alimentos, y en distintas proporciones, el cual se puede apreciar en la Tabla 10.

➤ **El té verde y té negro**

Tanto el té negro como el té verde contienen cantidades comparables de flavonoides; sin embargo, éstos se diferencian en su estructura química (Anexos: 21, 22, 23). Mientras que las variedades de té verde contienen una mayor cantidad de flavonoides simples llamados catequinas, la oxidación aplicada a las hojas para obtener el té negro convierte estos simples flavonoides en variedades mucho más complejas tales como las teflavinas y las terubiginas. El Cuadro N° 10 muestra los valores promedio de los diferentes flavonoides presentes tanto en el té verde como en el té negro. Sin embargo, estos valores varían dependiendo de la variedad de las hojas, de las condiciones medio ambientales durante su crecimiento, de su manufactura, del tamaño de las partículas después de su molienda y del método de preparación de la infusión.

El té que se obtiene de las hojas de *Camellia sinensis* contienen un 75-80% de agua. La infusión de las hojas frescas extrae un 60% de producto soluble. El 40% de producto insoluble corresponde a sustancias tales como el almidón, la clorofila, resinas, etc

El té contiene varios tipos de polifenoles, pero los más abundantes son los flavonoides. Los principales flavonoides del té pertenecen a un tipo de sustancias conocidas genéricamente como catequinas. También contiene taninos, responsables de la astringencia y del sabor amargo. Parece ser que el contenido en polifenoles está en relación directa con la edad de las hojas, cuanto más joven o tierna sea la hoja mayor es el contenido en polifenoles. Hay que destacar el papel antioxidante que ejercen las catequinas, base de casi todas las propiedades saludables del té: previene enfermedades cardiovasculares, reduce el riesgo de cáncer, retrasa el envejecimiento, etc. (De Luis, 2002).

**Tabla 10***Flavonoides en distintos alimentos en mg por 100g o por 100 ml de muestra*

Alimentos	Antocianinas	Flavanoles	Proantocianidinas	Flavonas	Flavonoles	Flavanonas
Zarzamora	98 - 211	13 - 19	6 - 47		0 - 2	
Arandanos	67 - 183	1	88 - 261		2 - 16	
Uva Roja	25 - 92	2	44 - 76		3 - 4	
Frambuesas	10 - 84	9	5 - 59		1	
Fresas	15 - 75		97 - 183		1 - 4	
Vino Tinto	1 - 35	1 - 55	24 - 70	0	2 - 30	
Ciruela	2 - 25	1 - 6	106 - 334	0	1 - 2	
Lombarda	25	0		0 - 1	0 - 1	
Cebolla	13 - 25			0	4 - 100	
Naranja Sanguina	3 - 10					10 - 22
Te Verde		24 - 216		0 - 1	3 - 9	
Te Negro		5 - 158	4	0	1 - 7	
Chocolate Negro		43 - 63	90 - 322			
Manzana Royal	1 - 4	2 - 12	89 - 148	0	2 - 6	
Albaricoque		10 - 25	8 - 13	0	2 - 5	
Perejil				24 - 634	8 - 10	
TOMILLO				56	0	
Apio Verde				23		
Apio				0 - 15	4	
Oregano				2 - 7	0	
Pimienta Verde				5	13 - 21	
Zumo De Limon				0	0 - 2	2 - 175
Zumo De Pomelo				0	0	10 - 104
Zumo De Naranja				0 - 1	0	5 - 47
Pomelo					1	55
Naranja						42 - 53
Cebolla Amarilla					3 - 120	
Col Rizada					30 - 60	
Puerro					3 - 22	
Brocoli					4 - 13	

Fuente: Martínez, 2005

**Tabla 11***Flavonoides en el té verde y en el té negro.*

Flavonoides	Té verde (promedio/ 100g)	Té negro (promedio/ 100g)
Catequinas	14.2g	4.0g
Teflavinas	-	0.94
Flavonol glicósidos	0.64	0.47
Flavona C glicósidos	0.086	0.051
<b>POLIFENOLES TOTALES</b>	<b>16.0</b>	<b>15.6</b>

Fuente: De Luis, 2002

El té (obtenido a partir de las hojas de la especie *Camellia sinensis*) es una de las bebidas más antiguas, y es la segunda más consumida por detrás del agua. Aunque existen muchas variedades, es el té verde el que contiene mayor cantidad de derivados polifenólicos gracias a su método de fabricación: las hojas no son sometidas a un proceso de fermentación, por lo que contienen mayor cantidad de antioxidantes. De los polifenoles totales del té, el 59,9% lo constituyen las catequinas. Las catequinas (flavanoles) tienen dos núcleos fenólicos (A y B) que están unidos por tres átomos de carbono que forman parte, junto con un átomo de oxígeno, del anillo C. Los carbonos 2 y 3 del anillo C son asimétricos y según la posición espacial de los sustituyentes del C3, las catequinas pueden ser enantiómeros (+) o (-). Se han definido ocho catequinas diferentes, siendo las mayoritarias el (-)-galato de epigalocatequina (EGCG) y (+)-galocatequina (GC), que representan el 51,8% de las ocho catequinas.

La composición del té puede variar según la especie, el medio de cultivo, la estación del año y edad de la planta. Por ejemplo, en el té verde las catequinas representan un 80-90% de los flavonoides, mientras que en el té negro esta proporción es de 20-30%. En general, las hojas más jóvenes tienen menos catequinas. La forma de preparar la infusión también influye, ya que temperaturas elevadas producen una disminución de la concentración de catequinas, por lo que es preferible dejar enfriar el agua antes de introducir las hojas del té. Las catequinas del té verde son solubles en agua, por lo que el grado de extracción de éstas depende del tiempo de contacto de las hojas con el agua. En cuanto a la biodisponibilidad de las catequinas, diversos estudios señalan que la leche que en

ocasiones es añadida al té, contrarresta los efectos saludables de las catequinas, probablemente porque la caseína de la leche que las catequiza, sin embargo, los resultados son contradictorios. El té verde contiene varias sustancias polifenólicas que tienen efectos benéficos, incluyendo la protección contra enfermedades del corazón. Además, se ha demostrado que disminuye los niveles de colesterol, por ejemplo, en una investigación realizada en Japón, donde se consume habitualmente. Diferentes preparaciones y extractos de té verde han mostrado inhibición de la formación y el crecimiento de tumores en animales de laboratorio. La evidencia de este efecto protector ha sido obtenida para el caso de cánceres del tracto digestivo y de seno. Sin embargo, se encontró que cuando se consume algún tipo de bebida alcohólica se disminuye el efecto protector. (Martínez, 2005).

Guerrero Rodas L. E. & Llantoy Calero R. P. (2018), mencionan que los flavonoides (catequinas) del té verde se caracterizan por la ausencia de un doble enlace en la posición 2 y 3 en el anillo C, lo que da lugar a la formación de un carbono asimétrico y la presencia de hidroxilo en el carbono 3. Los flavonoides del té verde se agrupan en catequinas compuestos hidrosolubles sin color, que imparten amargor y astringencia a las infusiones; las catequinas más abundantes del té verde son: (-)-epigallocatequina galato (EGCG), (-)-epigallocatequina (EGC), (-)-epicatequina galato (ECG) y (-)-epicatequina (EC). Las catequinas del té verde representan un 80 al 90% del total de flavonoides y los flavonoles (kaempferol, quercetina y glicósidos de mirecetina) menos del 10%, la EGCG representa un 50% de las catequinas totales y es la que más efecto presenta. La composición del té verde varía según la especie, edad de las hojas, clima, prácticas hortícolas, etc; por ejemplo, las hojas más jóvenes del té verde contienen menor cantidad de EGCG, EGC, EC y CT que las más viejas, pero contienen mayor cantidad de cafeína; en cuanto a la temperatura también influye en su composición, por ejemplo, temperaturas mayores de 98°C se produce una pérdida de un 10-15% de catequinas, en cambio si el agua previamente hervida se deja enfriar la pérdida es mínima.

### ➤ **Las uvas y el vino**

El vino tiene un alto contenido en compuestos polifenólicos, (Anexo 17), aproximadamente se conocen unos 500, la mayoría de los cuales provienen de la uva y del proceso fermentativo. En la uva estas moléculas se localizan en la piel, especialmente

en las células epidérmicas, y en las pepitas. Su cantidad y tipo depende principalmente de la variedad de la vid, del clima, del terreno y de las prácticas de cultivo. (Russo, 2006)

Los compuestos fenólicos de las uvas y el vino, presentan una amplia diversidad de estructuras químicas. Simplificando su clasificación, es posible señalar que existen dos grupos generales de compuestos: los no flavonoides y los flavonoides. Dentro de los primeros, caracterizados por presentar solo un anillo de 6 carbonos (C6), los más importantes corresponden a los ácidos benzoicos (C6-C1) y a los ácidos cinámicos (C6-C3). La importancia de los primeros desde un punto de vista enológico, radica en su relación con el gusto amargo de los vinos. En el caso de los segundos, resultan importantes por su relación con el pardeamiento, en especial de los vinos blancos y en menor medida por su participación en el gusto amargo.

El grupo más importante de compuestos fenólicos presentes en el vino corresponde a los compuestos flavonoides, caracterizados por presentar dos anillos de 6 carbonos unidos por un heterociclo central de 3 carbonos (C6-C3-C6). En este grupo se distinguen los flavonoles (como la quercetina, miricetina y el kaempferol y sus glicósidos) presentes en los hollejos, siendo importantes por participar en el color amarillo de los vinos blancos y por sus efectos antioxidantes benéficos para la salud.

Los flavanoles o taninos condensados, presentan como base a la (+)-catequina y la (-)-epicatequina. La unión de estos compuestos da origen a los taninos de la uva (taninos condensados) ubicados en semillas y hollejos, que presentan una relación inversa en cuanto a amargor y astringencia a medida que aumentan de tamaño (es decir, aumenta el número de unidades de (+)-catequina o (-)-epicatequina en su estructura), disminuyendo el amargor en los taninos de mayor tamaño, pero aumentando su astringencia, hasta alcanzar un tamaño en que no son solubles, no pueden reaccionar con las proteínas de la saliva precipitándolas y por tanto dejan de producir la sensación de astringencia.

Finalmente, están los antocianos que dan el color rojo a las uvas tintas, presentes en los hollejos, existiendo 5 antocianinas en la especie *Vitis vinífera* L., siendo la más importante en todos los cultivares, la malvidina-3-glucósido.

Durante la maduración de las bayas tintas se aprecia en los hollejos un aumento en el contenido de antocianinas, un aumento en el tamaño de los taninos de los hollejos y una disminución por oxidación de los taninos en las semillas.

Respecto al vino tinto, a medida que transcurre el tiempo, es posible apreciar la aparición de nuevos pigmentos originados por la unión de las antocianinas a taninos y otros compuestos resultantes de la fermentación alcohólica (piruvato, vinil guayacol, vinil fenol). Estos nuevos pigmentos más estables que las originales antocianinas, pueden presentar una coloración púrpura o bien anaranjada (más frecuente), que poco a poco contribuye a la modificación del color del vino en el tiempo. En cuanto a los taninos en el vino, ellos presentan cambios por precipitación, por ruptura de aquellos de mayor tamaño, formación de otros de tamaño medio (polimerización), lo que modificará las propiedades sensoriales de astringencia y amargor. Estas reacciones, asociadas frecuentemente a un medio oxidativo, se ven favorecidas en el caso de la formación de nuevos pigmentos y polimerización de taninos, por la presencia de etanal (acetaldehído) el cual sirve de puente entre las moléculas (uniones Tanino-Antociano y Tanino-Tanino), y que se forma por la oxidación del etanol durante la guarda en barricas o cuando el vino se somete a tratamientos como la micro-oxigenación. (Peña, 2004)

La concentración de compuestos polifenólicos del vino varía entre 1,80 y 1,06 g/L, con un promedio de 2,57 g para el vino tinto y entre 0,16 y 0,30 g/L para el blanco. Como el contenido total de fenoles de alimentos y bebidas se correlaciona muy fuertemente con su actividad antioxidantes, por su composición en polifenoles y en términos del poder antioxidante, un vaso de vino tinto (150 mL) equivale a 12 de vino blanco, o a 2 tazas de té, 4 manzanas, 5 porciones de cebolla, 3 ½ vasos de cerveza, a 7 de jugo de naranjas o 20 de manzanas.

Sin embargo, la concentración y variedad de los compuestos fenólicos en el vino depende de numerosos factores: clima y terreno, una cosecha temprana o tardía, los diferentes procedimientos del procesado de la uva y del tiempo de fermentación del mosto. Los compuestos fenólicos del vino incluyen, entre otros, a los ácidos fenólicos (cumárico, cinámico, cafeico, gentísico, ferúlico y vanílico) y flavonoides (catequinas, quercitina y resveratrol), los que son sintetizados por una vía metabólica común a partir de la fenilalanina. Todos provienen de las uvas moradas, particularmente de su piel, que los

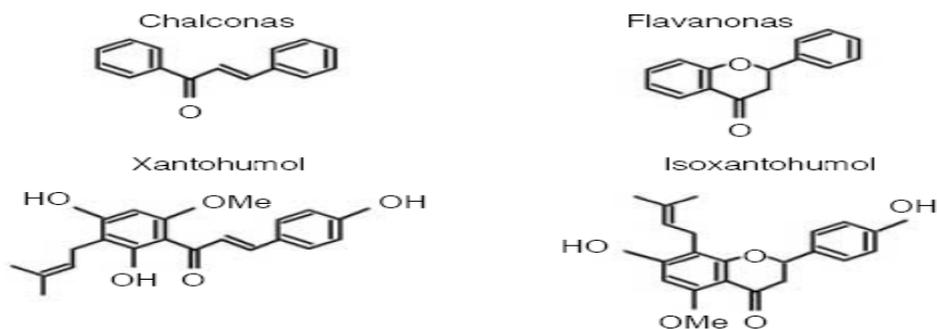
producen como una forma de protección contra las relativamente altas temperaturas a que están expuestas.

El resultado del fraccionamiento de los distintos componentes fenólicos de un vino tinto tipo Cabernet Sauvignon y su posterior análisis por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) encontró 3 fracciones: la de polifenoles neutros (catequinas, epicatequinas, procianidinas, rutina y quercitina), la de polifenoles ácidos (ácido gálico, cafeico y cumárico), y en la fracción acuosa residual las antocianinas. La fracción de polifenoles hidrosolubles de otro representó el 71 % de sus compuestos fenólicos y fue la más importante en cuanto a su capacidad antioxidantes, ya que representó el 65 % de ella, sin embargo, la fracción de polifenoles neutros fue la de mayor actividad antioxidante por unidad de concentración de polifenoles, pues a pesar de constituir solo el 7,9 % de los fenoles del vino, representó el 11 % de ella. (Gutiérrez, 2002).

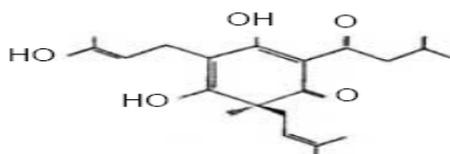
### ➤ **La cerveza**

La cerveza, (Anexos 16,18) contiene importantes cantidades de flavonoides entre los que destacan los polihidroflavanos (catequina y epicatequina), los antocianógenos (leucocianidina o leucopelargonidina) y los flavonoles (grupo de las quercitinas). Recientemente se han estudiado los isoflavonoides en muestras de cerveza embotelladas, encontrándose que cuatro de ellos totalizan hasta 29 nmol/l, lo que supone cantidades muy significativas de polifenoles biológicamente activos. (González *et al.*, 2001)

Las glándulas de lupulina de las inflorescencias del lúpulo secretan ácidos amargos, humulonas y lupulonas, y prenilflavonoides. El principal flavonoide presente en los extractos de la flor del lúpulo es el xantohumol, que tiene una estructura de tipo chalcona y está prenilado. El xantohumol está también presente en la cerveza, aunque el isoxantohumol es el prenilflavonoide más abundante en todos los tipos de cerveza evaluados. El isoxantohumol es un flavonoide de tipo flavanona y está prenilado, se produce durante el proceso de fabricación de la cerveza por la isomerización de xantohumol. La cerveza representa uno de los productos de la dieta más importantes en cuanto al contenido de prenilflavonoides en términos cuantitativos. (Duran, 2003)



B) Estructura química de la humulona.



**Figura 28.** Estructura química de la humulona, del xantohumulol y del isoxantohumulol (Fuente: Duran, 2003).

### ➤ La cebolla

La presencia de flavonoides en cebollas convierte este alimento en un importante agente conservador natural (Anexo 13). La cebolla es uno de los alimentos más utilizados en la cocina y con más posibilidades: puede consumirse cruda, cocida, caramelizada, rallada o en trozos. Pero sus aplicaciones no son sólo culinarias. Desde el punto de vista nutricional, destacan sus propiedades diuréticas y depurativas. Además, es un remedio para las afecciones respiratorias como la tos, el catarro o la bronquitis y es un efectivo desinfectante. Consumirla cruda protege el organismo de posibles infecciones. Es digestiva, anticancerígena, afrodisíaca y bactericida. Por si fuera poco, también goza de unas excelentes propiedades antimicrobianas que la hacen una candidata perfecta para usar como conservante natural.

Los vegetales, las semillas y frutas son alimentos ricos en flavonoides, compuestos fenólicos que destacan por sus efectos beneficiosos, como la acción antioxidante, antiinflamatoria, antiviral o antialérgica. La cebolla es uno de los alimentos ricos en flavonoides y, por tanto, goza de las propiedades antioxidantes y antimicrobianas descritas. Estas particularidades permiten que pueda utilizarse en la tecnología de los alimentos como agente conservador natural, sobre todo la cebolla amarilla, una excelente fuente de flavonoides y con un importante poder antioxidante, según un estudio llevado a

cabo por el Departamento de Nutrición y Bromatología de la Universidad de Barcelona (UB) y el Departamento de Ingeniería Agroalimentaria y Biotecnología de la UPC. Una acción conservante es sinónimo de una mayor vida útil de los alimentos. Los conservantes pueden ser naturales o artificiales. Ambos realizan la misma función, pero se tiende a utilizar cada vez más los primeros.

La oxidación de los lípidos es uno de los principales problemas de los alimentos. Es un fenómeno químico que causa una importante pérdida en la calidad y seguridad. El uso de la cebolla retrasa esta oxidación y evita el crecimiento de patógenos. Para la investigación, los expertos han realizado un análisis de las diferentes variedades de cebolla y han determinado que los compuestos fenólicos que contienen son capaces de inhibir el crecimiento de los microorganismos patógenos. El estudio ha sido efectivo contra el desarrollo de bacterias como "Bacillus cereus", "Staphylococcus aureus", "Micrococcus luteus" o "Listeria monocytogenes", cuatro de los patógenos más habituales en el deterioro de los alimentos.

La oxidación lipídica causa una importante pérdida en la calidad y seguridad de los alimentos. Se ha analizado la variedad de cebolla blanca Fuentes de Ebro, una cebolla suave, tierna y dulce, que se caracteriza por un tallo grueso, forma redonda en la raíz y alargada en la parte del cuello. Esta cebolla goza de Denominación de Origen y la distinción (C) de Calidad Alimentaria, que identifica los productos de cualidades gastronómicas y nutricionales especiales. Otra variedad estudiada fue la Calçot de Valls, una cebolla de color blanco y desarrollada bajo tierra, de manera que la parte enterrada es muy tierna y de un dulzor extremo. También se ha analizado la variedad de cebolla amarilla Grano de Oro, una de las más cultivadas y consumidas en el mundo, que se distingue por tener un tamaño más grande y un color amarillo.

### ➤ **El cacao y el chocolate**

Los extractos de cacao son reconocidos como una rica fuente de polifenoles, flavonoides y alcaloides (Anexos 11,14). Mas aún, efectos contra bacterias y hongos han sido evidenciados en extractos crudos o parcialmente purificados de cacao. Los más altos niveles de alcaloides se han encontrado en las semillas. Teobromina es el principal alcaloide encontrado. Pero, más interesante parece ser la Teofilina porque, se encontró,

que es un potente estimulante cardiovascular y del sistema nervioso central, con propiedades diuréticas y relajantes de los músculos bronquiales. Recientemente, esta droga fue probada efectivamente en la prevención y tratamiento de la apnea en infantes prematuros.

Parece que la mejor estrategia para encontrar nuevos antivirales con baja citotoxicidad, es estudiando los productos naturales de nuestro medio ambiente. Recientemente, un extracto alcalino de la concha del cacao fue examinado por su posible actividad anti-VIH. Se ha demostrado que este extracto inhibe efectos citopatogénicos de VIH en cultivos celulares. La actividad anti-VIH fue atribuida a la interferencia con la absorción viral, más que a la inhibición de la replicación viral después de la adsorción. Se encontró que este extracto, inhibe muy fuerte la replicación de VIH y la formación de sincicios entre las células VIH-infectadas y las células no infectadas de la línea linfoblastoide T, Molt-4. Sin embargo, el estudio de la actividad antiviral de extractos de cacao no se ha realizado en profundidad, y sus ingredientes activos permanecen sin ser investigados. No obstante, se sabe que el extracto de concha de cacao es una mezcla de flavonoides condensados y/o polimerizados, tales como, catequina, antocianidina, leucoantocianidina etc. Así podemos asumir, que algunos principios activos antivirales pueden estar relacionados con los flavonoides del cacao.

Los flavonoides son un grupo de compuestos polifénolicos que se encuentran en frutas, vegetales, té, vino rojo y chocolate, entre las comidas comunes, el cacao y el chocolate son los que poseen la mayor concentración de flavonoides, Por ejemplo, más del 10% del peso del polvo de cocoa es flavonoides. Recientemente, el cacao y el chocolate han sido reconocidos como fuentes significativas de fitoquímicos con efectos sobre la salud, el cacao y el chocolate son algunas de las fuentes de mayor concentración de los flavonoides prociandinos, como el catequina y epicatequina, el chocolate y el cacao son únicos en el tipo de flavonoides que contienen.

Los flavonoides presentes en el cacao y el chocolate son principalmente el catequina y la epicatequina, que existen en polimeros largos, ellos (cacao y chocolate) contienen entre 2, 3 ó hasta 10 cadenas vinculadas de catequina o epicatequina; lo cual es bastante peculiar pues los alimentos ricos en flavonoides tienden a tener más catequina o epicatequina vinculado en unidades de 10s ó 30s; pero no 50s ó 60s. Es también curioso la química de los flavonoides del cacao, los cuales son oligómeros – R.

Las características estructurales del catequina y el epicatequina representan la base molecular para dos cosas:

- a. Sus propiedades donativas de hidrógeno (radical – scavenging)
- b. Sus propiedades antioxidantes (metal – chelating)

Como en el común de las plantas, factores genéticos y agronómicos pueden influir marcadamente en el contenido de fitoquímicos disponibles al momento de la cosecha. La manipulación post cosecha también juega un rol crítico, porque el cacao pasa por algunos pasos de fermentación, el cual somete a los flavonoides del cacao al calor y condiciones ácidas. (Roy, H. Lundy, S. Brantley, P. 2002).

### ➤ **La soja**

Los fitoestrógenos son compuestos químicos no esteroideos, que se encuentran en los vegetales, pero son similares a los estrógenos humanos, y con acción similar (efecto estrogénico) u opuesta (efecto antiestrogénico) a éstos, estos compuestos son principalmente flavonoides. Los mejor conocidos son las isoflavonas que se encuentran habitualmente en la soja y en el trébol rojo. El lignano también es un fitoestrogeno importante, aunque no es un flavonoide.

Aunque hay muchos cereales y plantas que contienen fitoestrógenos, como los lignanos (en las semillas de lino, cereales integrales, legumbres), los cumestanos (en la alfalfa, lentejas, frijoles), los indoles (en las verduras de la familia de la col), las más estudiadas son las isoflavonas (los flavonoides de la soja, trébol rojo, te verde y negro, uva) ya que son las más parecidas a los estrógenos producidos por nuestro organismo. La soja destaca en especial por su alto contenido en isoflavonas (100gr de soja contiene 300mg de isoflavonas). En 1923, describe productos derivados de las plantas con actividad estrogénica, entre los cuales están las isoflavonas de soja. Las isoflavonas son sustancias diferentes a los esteroides endógenos humanos con capacidad de unirse a los receptores estrogénicos. Sus más importantes son genisteína y daiceína.

Como hemos visto al inicio, las isoflavonas (muy abundantes en la soja) son un tipo de flavonoides con características fitoestrogénicas, es decir, de actuar como los estrógenos. Muchos estudios avalan las capacidades antioxidantes y anticancerígenas de los

flavonoides, aunque lo que a nosotros nos interesa en este momento es si las isoflavonas, como flavonoides que son, también comparten estas capacidades, tal como algunos estudios sugieren y otros desmienten. (Allué, 2001)

La soya, (Anexo 24), contiene un tipo de flavonoides denominados como isoflavonas. Estas a su vez se las refiere como fitoestrógenos, debido a que tienen propiedades estrogénicas y antiestrogénicas. Cuando los niveles circulantes de estrógenos son altos, como en el caso de las mujeres premenopáusicas, estos compuestos pueden ligar receptores estrogénicos y bloquear la acción de la hormona. En cambio, cuando los niveles de estrógenos son bajos, como en el caso de las mujeres post-menopáusicas los fitoestrógenos actúan estrogénicamente. Los compuestos fitoestrogénicos de la soya incluyen la genisteína y la daidzeína. Las evidencias obtenidas a partir de experimentos de biología celular y molecular, experimentos con animales, y ensayos clínicos con humanos, sugieren que los fitoestrógenos pueden ayudar a prevenir enfermedades cardiovasculares, cáncer, osteoporosis y síntomas de la menopausia. (Martínez, 2005)

#### ➤ **Los cítricos**

Las frutas cítricas son una fuente clave de flavonoides, por lo que promueven estudios para obtenerlos y sus posibles usos. Los flavonoides ejercen múltiples efectos beneficiosos sobre la salud humana, como la reducción del riesgo de diferentes tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares, además, la actividad antioxidante de estos compuestos es muy apreciada por las industrias farmacéutica y alimentaria. (Ledesma Escobar, C., Prieto Capote F., Luque de Castro M. 2019)

Las flavanonas, flavonas y flavonoles son los flavonoides presentes en los cítricos. Aunque las flavonas y los flavonoles se han encontrado en bajas concentraciones en comparación con los flavononas han mostrado ser potentes antioxidantes, secuestradores de radicales libres o agentes que contribuyen a la acción anticancerígena y cardioprotectora entre otras. Las flavononas son responsables de los sabores amargos en los cítricos, (Anexo 07, 19) siendo la naringina y la neohesperidina los componentes mayoritarios. Además, ciertos glicosidos flavanonicos amargos o insípidos pueden transformarse por la apertura del anillo en chalcona que por hidrogenación posterior se transforma en dihidrochalcona compuesto edulcorante igual o superior a la sacarina. (Moreno *et al.*, 2004)

La naringina es el flavonoide mayoritario en la toronja, mientras la hesperidina lo es en la naranja. La rutina, hesperidina y diosmina son abundantes en el limón y las dos últimas lo son en la mandarina, los cuales se detallan en las Tablas 12, 13 y 14. (García Mesa, M. Armenteros Herrera, D. M. Mahía Vilas, M. Coma Alfonso, C. Hernández Carretero, J. Díaz Batista, A. & Fernández Montequini, J. 2002).

**Tabla 12**

*Concentraciones de flavonoides (mg/100 mg de peso seco) en diferentes partes de la naranja agria y el limón*

flavonoides	Naranja agria			Limón		
	Hoja	Fruta	jugo	Hoja	Fruta	jugo
<b>Rutina</b>	< 10	< 10	< 10	591,3	22,7	< 10
<b>Hesperidina</b>	< 10	19,6	< 10	< 10	358,0	384,0
<b>Narinjina</b>	< 10	377,0	< 10	< 10	< 10	< 10
<b>Diosmina</b>	38,8	< 10	< 10	204,0	73,2	< 10

Fuente: García *et al.*, 2002

**Tabla 13**

*Concentraciones de flavonoides (mg/100 mg de peso seco) en diferentes partes de la naranja dulce (Cytrus sinensis) y la mandarina (Cytrus nobilis)*

Flavonoides	Naranja dulce			Mandarina		
	Hoja	Fruto	Jugo	Hoja	Jugo	Fruta
<b>Rutina</b>	215,1	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
<b>Hesperidina</b>	498,6	698,0	< 10	1543,0	1199,0	612,0
<b>Narinjina</b>	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
<b>Diosmina</b>	163,2	< 10	< 10	131,0	< 10	< 10

FUENTE: García *et al.*, 2002

**Tabla 14**

*Concentraciones de flavonoides (mg/100 mg de peso seco) en diferentes partes de la toronja (Citrus paradisi)*

<b>Flavonoide</b>	<b>Hoja</b>	<b>Fruto</b>	<b>Jugo</b>
<b>Rutina</b>	< 10	< 10	< 10
<b>Hesperidina</b>	< 10	< 10	< 10
<b>Narinjina</b>	402,2	1459,0	13,98
<b>Diosmina</b>	< 10	< 10	< 10

Fuente: García et al., 2002

Cueva Vidal, M. A., & Rodríguez Solano, K. P. (2018), realizaron una cuantificación de flavonoides totales en el mezocarpo de la Citrus medica (L.) cidra, donde la concentración de flavonoides totales presentes del fruto determinado fue 1127,897 mg expresados en quercetina/100 g de muestra. La concentración de vitamina C presente en el zumo del fruto de Citrus medica (L.) “cidra”, mediante cromatografía de alta eficacia “HPLC” reportado fue 242,959 mg ác.ascórbico/100 gr de fruto. Los flavonoides son considerados compuestos polares, éstos son moderadamente solubles en solventes polares como: acetona, butanol, etanol, metanol, agua. El uso del solvente adecuado influye en la extracción y concentración ya que depende de su polaridad. En el estudio se utilizó metanol como solvente, mientras en nuestra investigación etanol 96° GL, a esto se debe la diferencia en las concentraciones reportadas (tabla 15).

**Tabla 15**

*Cuantificación de Flavonoides totales del mesocarpo del fruto Citrus media (L) cidra.*

<b>Solvente</b>	<b>Lectura</b>	<b>Abs. (nm)</b>	<b>Cc(ug/ml)</b>	<b>Mg quercetina /100 gr de muestra</b>	<b>X(mg quercetina /100 gr muestra)</b>	<b>D.E.</b>
<b>Etanol</b>	<b>M-1</b>	1,2098	53,3396	1128,880		
<b>96° GL</b>	<b>M-2</b>	1,2077	53,2452	1126,883	1127,897	0,999
	<b>M-3</b>	1,2088	53,2946	1127,929		

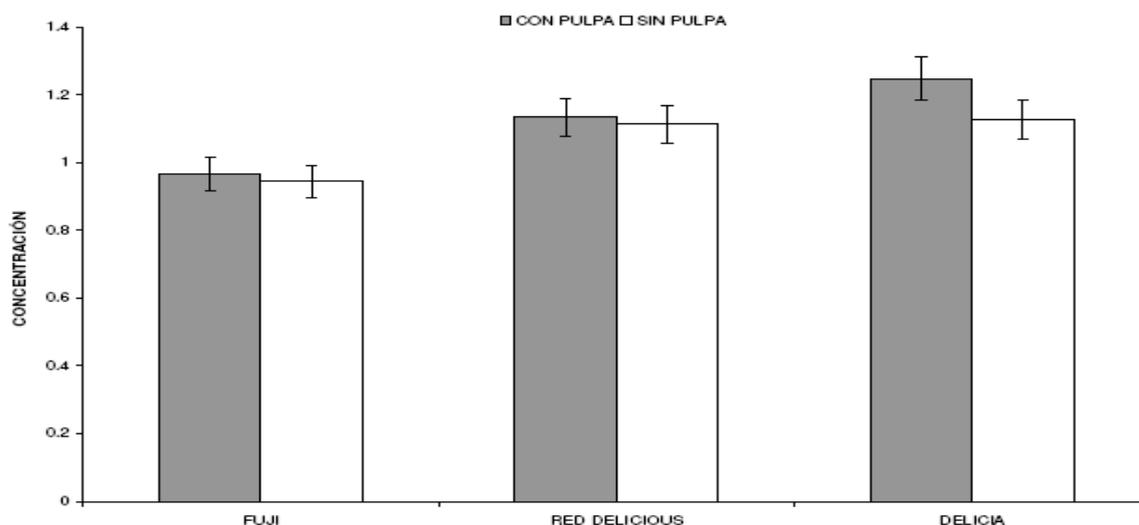
Fuente: Cueva Vidal, M. A et al. (2018)

## ➤ **La manzana**

La manzana (Anexo 09), es una de las frutas más completas que podemos incluir en nuestra dieta. Gran parte de ella es agua, pero también aporta azúcares como la fructosa y otros de rápida asimilación en nuestro cuerpo, vitamina E o tocoferol y una pequeña cantidad de vitamina C. Igualmente nos aporta fibra (incluyendo un tipo de esta llamado pectina) y minerales como el potasio. La vitamina E, al igual que la vitamina C, tiene acción antioxidante y participa en procesos sanguíneos y en la fertilidad. El potasio es un mineral importante para una actividad normal del músculo y para el sistema nervioso.

La piel de la manzana posee sustancias con propiedades sumamente importantes para la salud. Es por eso que se recomienda consumirlas con cáscara para obtener así todos sus beneficios. Estos nutrientes son específicamente los polifenoles (quercitina y flavonoides); fitoquímicos o sustancias con efectos antioxidantes, es decir, que previenen el desarrollo de ciertas enfermedades y algunos tipos de cáncer.

En un estudio realizado por Navarro Cruz A. R., Vera López O., Muñoz Bedolla R., Melgoza Palma N., Lazcano Hernández M., Gómez Crisóstomo M. R., Romero Vázquez M. donde el objetivo fue realizar la evaluación del contenido de quercetina de tres variedades de manzana (Fuji, Red Delicious y Delicia), que también menciona que las fuentes alimenticias principales de los flavonoles son, entre otras, el té negro, las cebollas, las manzanas, la pimienta negra —que contiene cerca de 4 g/kg de quercetina, y bebidas alcohólicas como vino y cerveza, y por medio del método de Espectrofotometría de luz visible. Se realizó la identificación de los flavonoides presentes en las diferentes muestras por medio de la reacción de Shinoda, y se determinó que la mayor concentración de flavonoides (contenido total de quercetina) se encuentra en la cáscara de la manzana mientras que la concentración en pulpa de manzana es mínima. En cuanto a las concentraciones de quercetina en las manzanas, la manzana Fuji presentó 0.29-1.65 mg/g, la Red Delicious 0.39-1.21 mg/g y la variedad Delicia 0.32-1.31 mg/g. De acuerdo con los datos anteriores, el contenido de quercetina puede considerarse igual en las diferentes variedades analizadas. Los cuales están representados en la figura 29. (Navarro Cruz, A. R., Vera López, O., Muñoz Belloda, R., Melgoza Palma, N., Lazcano Hernández, M., Gómez Crisostomo, M. R., Romero Vásquez, M. 2010).



**Figura 29.** Comparación de concentración de quercetina en manzana con pulpa y sin pulpa (Fuente: Navarro *et al.*, 2010)

➤ **El tumbo, el sachaculantro, la sachapapa morada, el aguaymanto, la pituca, el huacatay, el olluco y el sachatomate**

En un estudio realizado por Zavaleta, (2004), donde se determinó el contenido de flavonoides como son rutina, morina y quercetina, en alimentos, como son el tumbo (Anexo 15), *Pasiflora quadrangularis* L, el sachaculantro (Anexo 10, 12) *Eryngium foetidum* L, la sachapapa morada *Dioscorea trifida*. L, la pituca (Anexo 25) *Colocasia esculenta* L. Schott, el huacatay; *Tagetes terniflora* H.B.K; el aguaymanto; *Physalis pubescens* var *pubescens* L, el olluco; *Ullucus tuberosus* Caldas, el sachatomate; *Cyphomandra betacea* Cavo Sendt, utilizando la cromatografía líquida de alta performance (HPLC); (Cromatógrafo HPLC Merck Hitachi modelo Lachrom 7000), cuantificando los flavonoides: morina, rutina y quercetina.

Dando como resultado que, el flavonoide rutina se presentó con mayor concentración en el huacatay (1,80 mg/g), en el sachaculantro (288,7 ug/g) y en el olluco (142,22 ug/g), el sachatomate, el aguaymanto, la pituca y la sachapapa morada tuvieron concentraciones menores. La quercetina se presentó en gran cantidad en el huacatay (2,996 mg/g) y en menor cantidad en el sachaculantro (113,8 ug/g), tumbo, sachatomate y pituca mostraron cantidades menores. La morina sólo se presentó en huacatay (3,21 mg/g) y en el sachaculantro (0,093 mg/g), tal como podemos observar en la tabla 16.

**Tabla 16***Contenido de flavonoides presentes en los alimentos en estudio (mg o µg/g de alimento)*

ALIMENTO	RUTINA	MORINA	QUERCETINA
Huacatay (mg/g)	1,80	3,21	2,99
Olluco (µg/g)	142,20	ND	ND
Sachatomate (µg/g)	16,35	ND	0,19
Sachapapa morada (µg/g)	0,18	ND	ND
Pituca (µg/g)	0,15	ND	0,23
Sachaculantro (mg/g)	0,29	0,093	0,11
Aguaymanto (µg/g)	5,93	ND	ND
Tumbo (µg/g)	ND	ND	6,02

ND no detectado

Fuente: Geleijnse, J. M., Hollman, Peter CH. 2008.

## 2.4 Beneficios de los flavonoides en la salud

### 2.4.1 Capacidad antioxidante de los flavonoides

La variedad estructural de los flavonoides está relacionada con las diversas actividades biológicas que poseen los flavonoides, de entre las cuales destaca, tal vez por ser una de las más estudiadas, sus propiedades antiinflamatorias. Desde 1948 se describieron las propiedades antiinflamatorias de la hesperidina, la naringenina y la nobiletina, presentes en la fracción soluble en agua de casi todas las especies de Citrus; a partir de entonces son muchos los estudios in vivo e in vitro que describen las propiedades antiinflamatorias de los flavonoides y sus mecanismos. Además de sus propiedades antiinflamatorias se ha descrito una variedad de efectos producidos por estos metabolitos.

**Tabla 17***Efectos farmacológicos de algunos flavonoides*

Efectos	Flavonoide	Referencias
Antineoplásico	quercetina, kaemferol, fisetina	19,21
Cardiotónicos	3-metil-quercetina	22,23
Disminuyen la fragilidad capilar	rutina, quercetina, naringenina	19,24
Antitrombóticas	tangeretina, hesperidina, rutina	23,25
Disminución del colesterol	liquiritigenina	26
Protección y regeneración hepática	silimarina, apigenina	24,27,28
Antiulcéricos	Kaemferol, quercetina	29,30
Antimicrobianos	quercetina, baicalina	
Antibacterial	crisina, rutina	31,32
Antiviral	crisoeriol	33,34
Antifúngica	cloroflavonina, apigenina	
Antiinflamatorios	hesperidina, luteolina, quercetina	35,36
Analgésico	hesperidina	37,38
Anticancerígeno	quercetina	20,39,40

Fuente: Estrada, et al. 2012.

Históricamente las acciones biológicas de los flavonoides se han atribuido a sus propiedades antioxidantes; debidas principalmente al potencial quelante que les confiere su estructura química, de tal manera que la actividad antioxidante puede deberse a sus capacidades reductoras o por influenciar el estado de oxidación, reducción (redox) intracelular. Este potencial antioxidante ha sido asociado con la reducción del riesgo de ciertas enfermedades crónicas, la prevención de algunas enfermedades cardiovasculares y de algunas clases de cáncer. Sin embargo, también se ha especulado que su clásica actividad antioxidante donadora de hidrógenos no puede explicar la bioactividad de los flavonoides en los sistemas vivos. Es en este contexto en el que los efectos antioxidantes de algunos flavonoides pueden ser importantes para ayudar a recuperar la homeostasis de óxido-reducción en las patologías degenerativas y los trastornos asociados al envejecimiento, como la enfermedad de Alzheimer, la demencia senil y las fallas en los procesos cognitivos como la memoria y el aprendizaje, que se caracterizan por presentar un alto estrés oxidativo celular. Muchas investigaciones han descrito la participación de la nobiletina en los mecanismos relacionados con la memoria y el aprendizaje, demostraron que la nobiletina posee un mecanismo único de acción neurotrófica, es decir favorece el desarrollo, crecimiento y funcionamiento neuronal, revirtió la pérdida de memoria inducida por la proteína  $\beta$ -amiloide y mejoró la memoria olfativa de ratas bulbectomizadas. Esto se logró gracias a que interactúa selectivamente con dos proteínas cinasas: la proteína cinasa activada por mitógeno (MAPK) (la cual está asociada al crecimiento celular) y por la proteína fijadora del elemento de reconocimiento del AMPc (CREB) (una proteína de transcripción génica) cuya activación favorece el crecimiento de nuevas conexiones sinápticas proporcionando un estado estable de la memoria a largo plazo. (Estrada et al. 2012).

**Tabla 18**

*Efectos de algunos flavonoides sobre el Sistema Nervioso Central*

Flavonoide	Ejemplo
Ansiolíticos	$\delta$ -metilapigenina, wogonina, luteolina, $\delta$ -bromoflavanona
Antiepilépticos o anticonvulsivos	rutina, gossipina
Sedantes o inductores del sueño	hesperidina, spinosina
Antinociceptivos	miricetrina
Mejoran la memoria, el aprendizaje y el funcionamiento cognitivo	rutina, nobiletina, quercetina, linarina
Antidepresivos	quercetina, apigenina
Moduladores de la función neural	nobiletina, hesperidina
Anti-neuroinflamatorios	wogonina, luteolina, epicatequina, flavona
Neuroprotectores	linarina, rutina

Fuente: Estrada et al. 2012.

Las propiedades antioxidantes de un compuesto son consideradas a priori como favorables para la prevención de la oncogénesis. Las especies reactivas de oxígeno (ERO) están envueltas en las distintas etapas del proceso cancerígeno, ya que:

- Pueden oxidar directamente el ADN o activar mutágenos.
- Los promotores tumorales estimulan su producción.
- La inflamación, proceso en el que se generan ERO, está muy relacionada con la carcinogénesis.

Sin embargo, debe tenerse en cuenta la dualidad de la cuestión: compuestos con una actividad protectora frente a la oxidación en unas moléculas, como los lípidos, pueden provocar un daño oxidante en otras, como proteínas o ácidos nucleicos. (Álvarez *et al.*, 2003).

Zavaleta, (2004), también realizó un estudio sobre la capacidad antioxidante de los flavonoides encontrados en los alimentos, el tumbo, *Pasiflora quadrangularis* L, el sachaculantro *Eryngium foetidum* L, la sachapapa morada *Dioscorea trifida* L, la pituca *Colocasia esculenta* L. Schott, el huacatay; *Tagetes terniflora* H.B.K; el aguaymanto; *Physalis pubescens* var *pubescens* L, el olluco; *Ullucus tuberosus* Caldas, el sachatomate; *Cyphomandra betacea* Cavo Sendt, donde se evaluó la actividad antioxidante con el método propuesto por YOKOZAWA *et al.* 29, mencionado por Zavaleta, (2004), frente a una solución 1 mM de DPPH en etanol al 95 %. Las reacciones fueron usando 50 L de la muestra confrontada con 950 L del radical DPPH a 100 M. Se monitoreó durante 30 minutos a intervalos de 5 minutos, a 515 nm.

En las Tablas 19 y 20, se muestra los resultados del coeficiente de inhibición de las muestras en estudio, los modelos para el cálculo del parámetro IC<sub>50</sub> y las máximas inhibiciones expresadas en función a la equivalencia con ácido ascórbico.

**Tabla 19***Coefficiente de inhibición 50% para los alimentos*

<b>ALIMENTOS</b>	<b>IC 50 (mg/mL) *</b>	<b>MODELO</b>	<b>R2</b>
Huacatay	9,4470,97 (a)	$y = 85,328e-0,0566x$	0,9761
Olluco	147,2971,01 (e)	$y = 0,0004x^2 - 0,3396x + 91,342$	0,9852
Sachatomate	140,0971,60 (e)	$y = -0,2329x + 82,627$	0,9964
Sachapapa morada	109,2771,02 (d)	$y = 0,0011x^2 - 0,508x + 92,37$	0,9406
Pituca	95,5370,62 (c)	$y = 89,549e-0,0061x$	0,9701
Sachaculantro	213,8670,51(f)	$y = 90,997e-0,0028x$	0,9695
Aguaymanto	41,1771,08 (b)	$y = 96,614e-0,016x$	0,9880
Tumbo	101,1070,88 (d)	$y = 98,435e-0,0067x$	0,9892

\* Valores representan el promedio  $\pm$  SD, n = 3. Letras unidas (a-e), a las columnas representan la diferencia significativa a  $p < 0,05$ , según la prueba de Tukey.

Fuente: Zavaleta, 2004

**Tabla 20**

*Máximas inhibiciones expresadas en función al ácido ascórbico equivalente (uMM AAE)*

<b>ALIMENTOS</b>	<b>CONC. (mg/mL)</b>	<b>PORCENTAJE %</b>		
		<b>ABS máx.</b>	<b>INHIBICIÓN</b>	<b>(<math>\mu</math>M AAE) *</b>
Huacatay	60	0,160	84,76	33,90
Olluco	60	0,760	27,62	10,91
Sachatomate	60	0,740	29,56	11,69
Sachapapa morada	60	0,640	39,05	15,51
Pituca	60	0,650	38,10	15,12
Sachaculantro	60	0,800	23,81	9,38
Aguaymanto	60	0,420	60,00	23,94
Tumbo	60	0,690	34,29	13,59

\* Valores expresados en (M ácido ascórbico equivalente) se utilizó la curva patrón de ácido ascórbico del (Instituto de Investigación Bioquímica y Nutrición, 2004)  $Y = 2,4855X - 0,5052$ ,  $R^2 = 99,67$ . Las lecturas fueron tomadas a los 30 minutos de monitoreo.

Fuente: Zavaleta, 2004

La capacidad para secuestrar los radicales DPPH está en función al contenido del principio activo presente en cada una de las plantas en estudio. La reducción de la concentración del DPPH está indicada como el decremento de la absorbancia en el tiempo

Para evaluar la capacidad antioxidante se determinó el coeficiente de inhibición al 50% del radical libre DPPH (1,1 difenil-picrilhidrazilo) siendo el huacatay el producto más potente en este aspecto (9,44 mg/mL) seguido del aguaymanto (41 mg/mL), la pituca (95,53 mg/mL), el tumbo (101,1mg/mL), la sachapapa morada (109,27 mg/mL), el sachatomate (140mg/mL), el olluco (147,29 mg/mL) y el sachaculantro (213,86 mg/mL).

Se comprobó que los alimentos estudiados presentan evidente capacidad antioxidante y que contienen la gran mayoría de los compuestos fenólicos estudiados. (Zavaleta, 2004)

Un estudio realizado por Agostini *et al.*, (2004), donde determinaron la capacidad antioxidante de los flavonoides en manzanas rojas con y sin cascara, fresas, tomates, frutillas y cebollas frescas y tratadas térmicamente: calor húmedo (hervidor y vapor), seco (horno) y alta frecuencia (microondas). Donde realizaron la medición en un espectrofotómetro de fluorescencia y el análisis estadístico a través de la Varianza y Prueba de Duncan. Las manzanas frescas con y sin cáscara no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras, siendo los valores 0.259 y 0.267 uM Equivalente Trolox respectivamente, tabla 18, observándose una disminución de esta actividad en las tratadas térmicamente, sobre todo por la aplicación del calor seco (horno): 0.072 uM Equivalente Trolox en la manzana pelada y 0.128 uM Equivalente Trolox, con cáscara. Los flavonoides presentaron mayor actividad antioxidante en estado fresco, disminuyendo al ser sometidos a los distintos tipos de calor (cocción). Donde los resultados se pueden observar en la tabla 21.

**Tabla 21**

*Capacidad Antioxidante de Flavonoides de frutas y verduras frescas y tratadas térmicamente (uM Equivalente Trolox por gr de muestra)*

Frutas Verduras	Tratamientos				
	Fresco	Hervido	Vapor	Microondas	Horno
<b>Manzanas</b>					
<b>Con Cascara</b>	0.259±0.006 <sup>*A</sup>	0.237±0.007 <sup>ab</sup>	0.223±0.006 <sup>b</sup>	0.172±0.008 <sup>c</sup>	0.128±0.003 <sup>d</sup>
<b>Sin Cascara</b>	0.267±0.004 <sup>a</sup>	0.247±0.005 <sup>ab</sup>	0.242±0.003 <sup>ab</sup>	0.212±0.008 <sup>b</sup>	0.072±0.003 <sup>c</sup>
<b>Frutillas</b>	0.278±0.006 <sup>f</sup>	0.226±0.005 <sup>g</sup>	0.228±0.002 <sup>g</sup>	0.138±0.004 <sup>h</sup>	0.077±0.005 <sup>i</sup>
<b>Tomates</b>	0.165±0.008 <sup>j</sup>	0.154±0.004 <sup>j</sup>	0.141±0.008 <sup>jk</sup>	0.126±0.004 <sup>k</sup>	0.048±0.007 <sup>l</sup>
<b>Cebollas</b>	0.223±0.005 <sup>m</sup>	0.146±0.007 <sup>n</sup>	0.151±0.007 <sup>n</sup>	0.198±0.005 <sup>m</sup>	0.158±0.007 <sup>u</sup>

\*X±D.E. p≤0.01 Las letras iguales indican que no se presentan diferencias significativas. (Fuente: Agostini *et al.*, 2004)

Se encontró que las frutas y verduras frescas presentaron mayor capacidad antioxidante que las tratadas térmicamente, siendo la frutilla o fresa la que mayor valor obtuvo con respecto a las demás muestras frescas. El pelado de las manzanas rojas horneadas influyo sobre su actividad. (Agostini *et al.*, 2004)

El creciente interés en los flavonoides se debe a su amplia actividad farmacológica, por lo que se han descrito efectos protectores en diversas condiciones patológicas incluyendo las cardiopatías. Su acción antioxidante es la más conocida de los flavonoides, sobre la cual Bors et al. Mencionado por Russo, (2006), hizo una amplia revisión y enumeró los siguientes criterios químicos para establecer la capacidad antioxidante de los mismos:

- Presencia de estructura O-dihidroxi en el anillo B, figura 10; que confiere una mayor estabilidad a la forma radical y participa en la deslocalización de los electrones.
- Doble ligadura, en conjunción con la función 4-oxo del anillo.
- Grupos 3- y 5-OH con función 4-oxo en los anillos A y C, figura 10, necesarios para ejercer el máximo potencial antioxidante.

De acuerdo con estos criterios, el flavonoide quercetina, tiene una función antioxidante muy efectiva. Su capacidad antioxidante medida como Trolox es de 4,7 uM, la cual es 5 veces mayor a la demostrada por las vitaminas E y C y tiene una hidrosolubilidad similar a la de la vitamina E. También se ha observado que la función antioxidante de la quercetina muestra efectos sinérgicos con la vitamina C, porque el ácido ascórbico reduce la oxidación de la quercitina, de manera tal que combinado con ella permite al flavonoide mantener sus funciones antioxidantes durante más tiempo. Por otra parte, la quercitina protege de la oxidación a la vitamina E, con lo cual también presenta efectos sinergizantes. (Russo, 2006)

#### **2.4.1.1 Mecanismos antioxidantes de los flavonoides**

Desde el punto de vista químico, un antioxidante es un compuesto químico que previene la oxidación de otra especie química. Bajo una consideración biológica, un antioxidante puede definirse como aquella sustancia que cuando se encuentra presente a concentraciones mucho menores que las de un sustrato oxidable, disminuye o inhibe significativamente la oxidación de dicho sustrato, por lo que los antioxidantes desempeñan un papel fundamental en la protección de estructuras celulares que pudiesen ser dañadas en reacciones que involucren radicales libres, pues éstos atacan a los ácidos grasos saturados en las biomembranas, causando así peroxidación de lípidos, disminución en la permeabilidad membranal así como daño a proteínas membranales, procesos todos implicados en el desarrollo de cáncer, enfermedades cardiovasculares, cataratas, declive

del estado inmune y disfunción cerebral. El consumo de infusiones de té negro y verde, lima mexicana, productos derivados del cacao, cítricos, manzana, cereza, jitomate, cebolla, entre otros, son una fuente excelente de flavonoles, los cuales además de ser capaces de estabilizar o desactivar a los radicales libres antes de que ejerzan un daño a un órgano blanco, al parecer también son capaces de regular la síntesis de glutatión, importante antioxidante celular endógeno. (Tenorio *et al.*, 2006)

La actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelatantes de hierro y secuestradoras de radicales libres, además de la inhibición de las oxidasas: lipooxigenasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa y la xantina oxidasa; evitando así la formación de especies reactivas de oxígeno y de hidroxiperóxidos orgánicos. Aunado a esto, se ha visto que también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2; al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, como la catalasa y la superóxido dismutasa.

Con respecto a su estructura, los flavonoides con sustituyentes dihidroxílicos en posiciones 3' y 4' en el anillo B se muestran más activos como antioxidantes y es potenciado este efecto por la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo OH libre en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4. Además, las agliconas se muestran más potentes en sus acciones antilipoperoxidativas que sus correspondientes glicósidos.

Conforme a lo anterior mencionado, la quercetina es el flavonoide que reúne los requisitos para ejercer una efectiva función antioxidante, pues ésta es cinco veces mayor que la de las vitaminas C y E, además de poseer una hidrosolubilidad similar a esta última.

Existe efecto sinérgico con las vitaminas aludidas. Pues el ácido ascórbico reduce la oxidación de la quercetina, de manera tal que combinado con ella permite al flavonoide mantener sus funciones durante más tiempo. Por su parte la quercetina protege de la oxidación a la vitamina E.

Los flavonoides retiran oxígeno reactivo, especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilos, hidroperóxidos y peróxidos lipídicos. Bloqueando la acción deletérea

de estas sustancias sobre las células. Donde se ha corroborado la protección antioxidante de los flavonoides en: queratinocitos, fibroblastos dérmicos, ganglios sensoriales, endotelio, tejido nervioso y en lipoproteínas de baja densidad. (Escamila *et al.*, 2009)

El creciente interés en los flavonoides se debe a la apreciación de su amplia actividad farmacológica. Pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas, y ADN; quelar iones metálicos transitorios, tales como  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ , catalizar el transporte de electrones, y depurar radicales libres. Debido a este hecho se han descrito efectos protectores en patologías tales como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones víricas, úlcera estomacal y duodenal, e inflamaciones. Otras actividades que merecen ser destacadas son sus acciones antivirales y antialérgicas, así como sus propiedades antitrombóticas y antiinflamatorias.

Los criterios químicos para establecer la capacidad antioxidante de los flavonoides, son:

- Presencia de estructura O-dihidroxi en el anillo B; que confiere una mayor estabilidad a la forma radical y participa en la deslocalización de los electrones.
- Doble ligadura, en conjunción con la función 4-oxo del anillo C.
- Grupos 3- y 5-OH con función 4-oxo en los anillos A y C necesarios para ejercer el máximo potencial antioxidante.

Siguiendo estos criterios, el flavonoide quercitina es el que mejor reúne los requisitos para ejercer una efectiva función antioxidante. Su capacidad antioxidante medida como Trolox es de 4,7 mM, lo que resulta 5 veces mayor al demostrado por las vitaminas E y C y tiene una hidrosolubilidad similar a la de la vitamina E.

La función antioxidante de la quercitina muestra efectos sinérgicos con la vitamina C. El ácido ascórbico reduce la oxidación de la quercitina, de manera tal que combinado con ella permite al flavonoide mantener sus funciones antioxidantes durante más tiempo. Por otra parte, la quercitina protege de la oxidación a la vitamina E, con lo cual también presenta efectos sinergizantes. Así, se ha demostrado que el flavonoide inhibe la fotooxidación de la vitamina E en la membrana celular de las células sanguíneas en presencia de hematoporfirina como fotosensibilizador.

Además, flavonoides como la quercitina y el kaempferol son importantes para el control de las concentraciones intracelulares de glutatión. Actuando a nivel del gen de regulación, son capaces de aumentar el nivel en un 50%, induciendo el sistema antioxidante celular y contribuyendo así a la prevención de enfermedades. En estudios epidemiológicos se ha demostrado que con el consumo incrementado de frutas y vegetales se experimenta una reducción del 50% en el riesgo de cánceres digestivos y de las vías respiratorias. Así, la genistéina bloquea el desarrollo de tumores al prevenir la formación de nuevos vasos impidiendo con ello la llegada del oxígeno y nutrientes a las células neotumorales. También modula la reacción de los estrógenos ligándose a sus receptores con lo que disminuye el riesgo de cáncer de mama (Martínez *et al.*, 2002).

#### **2.4.2 Actividad anticancerígena de los flavonoides**

Los flavonoides y otros fenólicos se implican en un papel preventivo del desarrollo del cáncer (actividad antipromotora, efecto anti-invasivo e inhibición de enzimas como la proteína tirosina kinasa), trombosis (inhibición de la agregación plaquetaria, influencia sobre el metabolismo del ácido araquidónico con niveles reducidos de tromboxano y niveles incrementados de prostaciclina) y enfermedades del corazón.

Un número creciente de sustancias naturales se han identificado como moduladoras del proceso de carcinogénesis; entre ellas se encuentran los flavonoides que han demostrado poseer efectos antimutagénicos y anticarcinogénicos. Diversos datos experimentales han demostrado la acción antiproliferativa y anticarcinogénica, así como el papel de agente quimiopreventivo de los flavonoides.

Entre los numerosos fenómenos que tienen lugar durante el proceso carcinogénico y que ofrecen opción para la modulación mediante factores externos, se encuentran la formación de metabolitos carcinógenos, que se forman por la acción de enzimas citosólicas y microsómicas. Estas enzimas controlan este paso crítico en el proceso carcinógeno. Estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que los flavonoides pueden modular su actividad. En experimentos *in vitro* se ha confirmado el papel protector de la quercitina, la cual ejerce efectos de inhibición frente a células cancerígenas en humanos: en colon, glándula mamaria y ovario, en región gastrointestinal y en la leucemia.

Una posible explicación a estos efectos anticancerígenos podría derivarse del incremento que algunos flavonoides producen en las concentraciones intracelulares de glutatión a través de la regulación de la expresión de la enzima limitante en su síntesis. Asimismo, en lo que respecta a la prevención del cáncer de mama, podría deberse a su potente capacidad de inhibir la actividad de la aromatasa evitando de esta forma la conversión de andrógenos en estrógenos.

Los flavonoides presentan características que los han hecho atractivos para la investigación anticancerígena. Interfieren *in vitro* y por distintos mecanismos en el proceso oncogénico, lo que los hace posibles agentes de utilidad en las primeras fases del cáncer o en la inhibición de las etapas posteriores de progresión o invasión. Se han realizado algunos estudios epidemiológicos teniendo en cuenta el aporte en flavonoides de la dieta, y se ha revisado la relación entre el uso dietético de verduras y frutas - fuentes importantes de flavonoides - y el cáncer, pero, en general, no se han podido obtener conclusiones definitivas sobre la relación entre el consumo de flavonoides y la incidencia del cáncer.

El modelo más extendido de carcinogénesis - elaborado a partir de estudios experimentales en animales - se divide en cuatro etapas (iniciación, promoción, progresión e invasión) que se esquematizan en la figura 35. Los inhibidores tumorales pueden interferir en cualquiera de los pasos de este proceso o en varios de ellos. En particular, los flavonoides pueden emplear diferentes y variados mecanismos para interferir en las cuatro etapas de la carcinogénesis, como se muestra en la figura 35, que se describen en la mayoría de las revisiones sobre el tema y que resumimos a continuación. (Álvarez *et al.*, 2003)

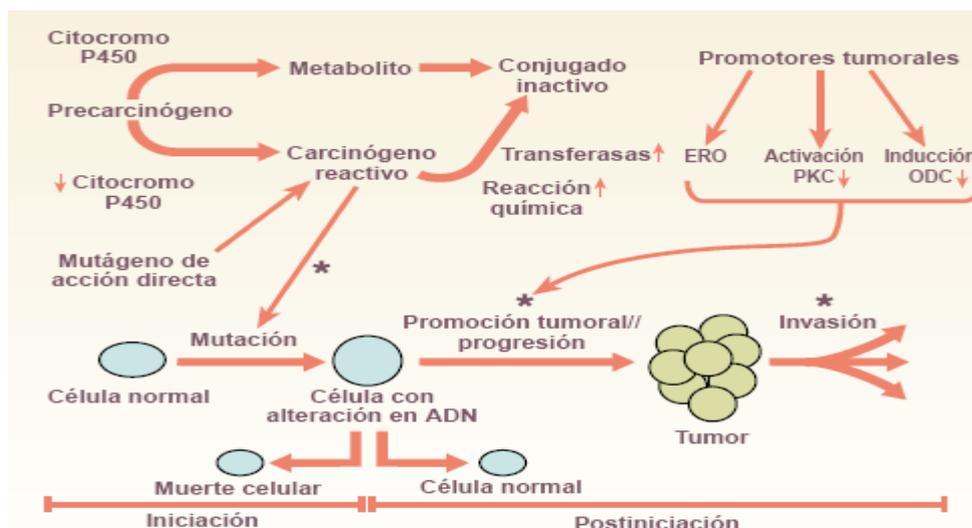
#### **2.4.2.1 Mecanismos anticancerígenos de los flavonoides**

##### **2.4.2.1.1 Actividad antiiniciadora**

Algunos flavonoides inhiben el paso del agente precursor a mutágeno durante la elaboración de los alimentos, mientras que otros simplemente dificultan la absorción del promotor tumoral en el tubo digestivo. Sin embargo, muchos de los efectos anticancerígenos de los flavonoides podrían ser el resultado de la modulación de las

enzimas metabólicas hepáticas. Las enzimas del citocromo P450 - enzimas metabólicas de fase I - constituyen la primera línea de acción frente a moléculas exógenas y, en ocasiones, provocan la activación de diferentes agentes carcinógenos.

Por tanto, la inhibición, la activación o la inducción de estas enzimas pueden modificar dramáticamente el metabolismo de algunos mutágenos. Esto puede deberse a factores genéticos, medioambientales, o dietéticos, lo que explicaría las diferencias de riesgo frente al cáncer observadas entre individuos. Por otro lado, los carcinógenos pueden ser desactivados mediante glucuronidación y sulfatación, de modo que se aumente su solubilidad y se facilite su eliminación. De ello se deduce que la potenciación de la actividad o la inducción de las enzimas responsables de esta acción - sistemas de transferasas de fase II - es un mecanismo primordial de quimioprevención. (Álvarez *et al.*, 2003)



**Figura 30.** Posibles lugares de interacción de los Flavonoides con el proceso carcinogénico (indicados con asteriscos). las flechas cortas indican el efecto potenciador (flecha hacia arriba) o inhibitor (flecha hacia abajo) de la actividad. ERO: especies reactivas de oxígeno; ODC: ornitina descarboxilasa; PKC: proteína cinasa C. (Fuente: Álvarez *et al.*, 2003)

Los flavonoides pueden intervenir en la metabolización de los agentes mutagénicos, o de sus precursores, por una doble vía. Por un lado, pueden inducir la síntesis de enzimas metabólicas, tanto de fase I como de fase II, por lo que son considerados, en general, inductores bifuncionales. Por otro lado, pueden interferir en la actividad enzimática directamente. El sistema más extensamente estudiado ha sido el del citocromo P450 y, de entre sus isoenzimas, la 1A es de la que más información se tiene, ya que la acción sobre las otras isoenzimas es menos evidente. Sobre las enzimas de fase II también algunos

flavonoides tienen acción inhibitoria. Sin embargo, determinadas geninas se comportan como inductores de este último tipo de proteínas.

Pese a estas consideraciones, el papel de los flavonoides en la prevención de la cancerización no se puede predecir a partir de estos datos, debido a que la acción in vivo puede ser muy diferente. De hecho, muchos de los compuestos activos in vitro resultan inactivos in vivo, mientras que otros, en principio menos prometedores, resultan inductores de la expresión de enzimas de fase II y algunas isoenzimas del citocromo P450.

El patrón de actividad de los flavonoides sobre las enzimas metabólicas parece variar en función del tejido estudiado e incluso en función de la vía de administración de los polifenoles. Mientras que in vitro las catequinas del té inhiben las P450 monooxigenasas, in vivo, tanto el té negro como el verde inducen en la rata algunas de las isoenzimas del sistema P450, enzimas de fase II y de tipo antioxidante.

Además, el té puede interferir en procesos de las fases de promoción y proliferación celular, contrarrestando la inhibición de las comunicaciones intercelulares o modificando el metabolismo del ácido araquidónico. Por su parte, las propiedades anticancerígenas de los flavonoides procedentes de plantas del género citrus se centran presumiblemente en la capacidad de inducir las enzimas detoxificantes de fase II hepáticas, aunque también pueden participar otros mecanismos, puesto que en algún caso se ha observado inhibición de la metástasis tumoral. (Álvarez *et al.*, 2003)

#### **2.4.2.1.2 Inhibición de la proliferación**

Los procesos neoplásicos, en sus fases de promoción y progresión, se caracterizan por alteraciones en la regulación de la proliferación y de la diferenciación celular. Algunos flavonoides tienen acción sobre estas etapas en muy diferentes tipos celulares, lo que puede conducir al uso de estos compuestos como agentes citostáticos en las últimas etapas de la carcinogénesis más que como elementos preventivos de las primeras fases. (Álvarez *et al.*, 2003).

### **2.4.2.1.3 Inhibición de la fase invasiva**

Durante la metástasis, la angiogénesis formación de nuevos vasos sanguíneos se incrementa para asegurar la supervivencia del tumor. Fotsis et al, mencionado por Álvarez *et al.*, (2003), demostraron que la genisteína y otros flavonoides procedentes de la soja dietética inhibían esta desregulación.

Las células mastocíticas secretan agentes de neovascularización y su migración es estimulada por péptidos derivados de tumores, por lo que pueden estar involucrados en el crecimiento tumoral y en la metástasis. La conocida acción inhibidora de muchos flavonoides en la activación y proliferación de los mastocitos puede explicar también parte de los efectos anticancerígenos de estos polifenoles.

La genisteína inhibe la inducción estimulada por el factor de necrosis tumoral de moléculas de adhesión celular derivadas del endotelio vascular. El papel de éstas y otras moléculas de la matriz extracelular es importantísimo en la unión de células invasivas y no invasivas y, por tanto, pueden participar en la metástasis de tumores malignos. Podrían ser varios los flavonoides que inhiben la invasión de células cancerígenas por bloqueo de estas moléculas de adhesión. (Álvarez *et al.*, 2003).

### **2.4.3 Flavonoides y enfermedad inflamatoria intestinal**

La denominación Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) engloba fundamentalmente a dos entidades patológicas: la enfermedad de Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU). Ambas se caracterizan por una inflamación crónica del intestino, con períodos de exacerbación seguidos de intervalos más o menos prolongados de remisión de los síntomas. La EC es una enfermedad que puede afectar a cualquier segmento del tubo digestivo, si bien las zonas más comúnmente afectadas son el íleon terminal y el colon proximal. Se caracteriza por un daño inflamatorio que se extiende a través de toda la pared intestinal, lo que predispone a la aparición de perforaciones, estenosis y fístulas con órganos adyacentes. Por el contrario, la CU es una enfermedad específica del colon que afecta generalmente a la porción distal y se extiende progresivamente en dirección proximal.

La inflamación en este caso se circunscribe a la mucosa y submucosa. Aunque la etiología de la enfermedad no se conoce con exactitud, está establecido que antígenos presentes en el lumen originan una respuesta inmune exagerada, la cual no es controlada de forma conveniente por los mecanismos encargados de desactivarla una vez que ha ejercido su cometido. Aunque estas enfermedades inflamatorias crónicas han sido objeto de intenso estudio por parte de la comunidad científica en los últimos años, su terapia sigue siendo insatisfactoria, asociándose con una elevada incidencia de reacciones adversas. Por este motivo, existe en la actualidad un gran interés en el desarrollo de nuevos agentes aplicables en el tratamiento de la EII que combinen eficacia con pocos efectos adversos, con la consiguiente mejora en la calidad de vida del enfermo. Éste puede ser el caso de los flavonoides, compuestos que además de estar dotados de una baja toxicidad, presentan unas características idóneas para ser considerados como compuestos antiinflamatorios aplicables en la EII:

- a) inhiben distintas enzimas cuya expresión y/o actividad se encuentran incrementadas en los procesos inflamatorios.
- b) disminuyen la actividad de diversas células del sistema inmune, tal y como se ha podido comprobar en distintos ensayos *in Vitro*.
- c) son compuestos que presentan propiedades antioxidantes y/o antirradicalarias *in Vitro*; habiéndose incluso demostrado para algunos de ellos la capacidad de incrementar el contenido intestinal de glutatión cuando se administran a ratas normales por vía oral, protegiendo el intestino del daño de tipo lipoperoxidativo que puede generarse cuando existe una superproducción de radicales libres. (Ballester *et al.*, 2006)

#### **2.4.3.1 Mecanismos implicados en la actividad antiinflamatoria intestinal**

Se ha propuesto la participación de distintos mecanismos en la actividad antiinflamatoria intestinal de los flavonoides:

##### **➤ Propiedades antioxidantes y/o antirradicalarias**

Todos los flavonoides estudiados mejoran el estado de estrés oxidativo asociado al proceso inflamatorio intestinal inducido experimentalmente, ya que o bien reducen la

depleción de glutathion o disminuyen el contenido colónico de malonildialdehído (MDA), dos de los marcadores bioquímicos indicativos del grado de peroxidación lipídica en el tejido intestinal. Este efecto puede considerarse de gran interés, dado que los radicales libres, incluyendo los derivados del oxígeno y los del nitrógeno, desempeñan un papel importante en la etiopatogénesis de la EII en humanos. (Ballester, Camuesco D., Gálvez J, Sánchez De Medina F., Zarzuelo A. 2006)

➤ **Inhibición de la producción de citocinas proinflamatorias**

Esta actuación se deriva fundamentalmente de los resultados obtenidos con ensayos *in vitro*. En este sentido, Manthey y col. Mencionado por Ballester *et al.*, (2006), revisaron la capacidad de distintos flavonoides presentes en los cítricos de inhibir la expresión de la citocina TNF- $\alpha$  en monocitos humanos, como distintas polimetoxiflavonas, el kaempferol, la apigenina y la quercetina, siendo la más potente la heptametoxiflavona, la cual era capaz de inhibir la producción de IL-10 pero no la de IL-1 $\beta$ , IL-6 o IL-8. Estos autores formularon la hipótesis de que, entre otros mecanismos, la capacidad manifestada por estos flavonoides de inhibir la actividad fosfodiesterasa podía estar relacionada con la inhibición en la producción de citocinas. Ballester *et al.*, (2006), menciona que Xagorari y col. describieron que los flavonoides luteolina, 7-glucósido de luteolina, la quercetina y la genisteína inhibían la liberación de TNF- $\alpha$  y de IL-6 en células RAW 267.4 estimuladas con LPS, mientras que el eriodictiol y la hesperetina sólo inhibían la producción de TNF- $\alpha$ . Estos mismos autores concluyeron que el compuesto más potente fue la luteolina, y que en su acción estaba involucrada su capacidad de inhibir la fosforilación de residuos de tirosina en proteínas, la expresión génica mediada por el factor de transcripción NF $\kappa$ B y la subsiguiente producción de citocinas proinflamatorias. (Ballester *et al.*, 2006)

➤ **Preservación de la función absortiva colónica**

La función absortiva colónica se encuentra profundamente alterada en la inflamación intestinal, de forma que su restauración puede contribuir, conjuntamente con las acciones comentadas anteriormente, a los efectos beneficiosos manifestados por los flavonoides en los modelos de colitis experimental. De hecho, se ha propuesto que una alteración de la permeabilidad intestinal puede ser un factor desencadenante del proceso inflamatorio intestinal, ya que un epitelio fácilmente permeable puede permitir la entrada

en la lamina propia de antígenos bacterianos o procedentes de la dieta que no sean convenientemente anulados por el sistema inmune de la mucosa intestinal, pudiendo desencadenar una respuesta inflamatoria descontrolada. Se ha podido comprobar que la absorción colónica de fluidos *in vivo* se encuentra profundamente comprometida en diferentes modelos experimentales de inflamación intestinal, siendo una de las funciones que más tarda en recuperarse como consecuencia del proceso inflamatorio. Se ha descrito que se encuentra incluso alterada cuando la recuperación histológica es prácticamente completa. De los distintos flavonoides estudiados, la quercitrina, la rutina, la hesperidina y la morina han demostrado su capacidad de promover la mejora de la funcionalidad absorbente colónica en los animales colíticos. No obstante, únicamente la quercitrina fue capaz de restaurar completamente el transporte hidroelectrolítico colónico, lo que se tradujo en una reducción de la incidencia de diarrea, uno de los síntomas que caracterizan la inflamación intestinal, en comparación con el correspondiente grupo control (sin tratamiento con el flavonoide). (Ballester *et al.*, 2006)

En resumen, las múltiples propiedades que presentan los flavonoides sobre la respuesta inflamatoria permiten que puedan ser considerados para el diseño de nuevos fármacos útiles en el tratamiento de la enfermedad crónica del intestino, o incluso para su asociación con los que actualmente se utilizan. (Ballester *et al.*, 2006).

#### **2.4.4 Acción cardiovascular y sanguínea de los flavonoides**

Morand C. (2014), menciona que existen estudios epidemiológicos donde han encontrado una correlación inversa entre la ingesta de flavonoides en la dieta y la reducción de la mortalidad por cardiopatía coronaria y la incidencia de accidente cerebrovascular de los cuales hay varios mecanismos que se han sugerido para explicar estos efectos protectores.

- Efectos antiaterogénicos. Los flavonoides junto con otros antioxidantes constituyen dos líneas de defensa para proteger las células contra lesiones debido a la oxidación de LDL: Primero a nivel de LDL, al inhibir la oxidación de LDL debido a su actividad de captador de radicales libres, y segundo a nivel celular, protegiendo Células directamente, es decir, aumentando su resistencia contra el efecto citotóxico de las LDL oxidadas. Además,

estudios recientes indican que los flavonoides pueden prevenir la expresión de moléculas de adhesión y quimioatrayentes.

- Efectos antiagregantes. Los flavonoides previenen la agregación plaquetaria inducida por varios estímulos proagregantes, aunque se requieren dosis relativamente altas. La inhibición de las fosfodiesterasas plaquetarias, la inhibición del metabolismo del ácido araquidónico y los efectos antioxidantes se han sugerido como posibles mecanismos de acción.

- Efectos directos sobre el músculo liso vascular. Los efectos vasodilatadores de los flavonoides in vitro son principalmente independientes del endotelio. El principal mecanismo de acción parece estar relacionado con sus efectos inhibitorios sobre las proteínas quinasas. Sin embargo, algunos flavonoides pueden producir respuestas contráctiles dependientes del endotelio debido al aumento de la producción de Tromboxano (TXA<sub>2</sub>).

- Efectos antihipertensivos. Hay poca información disponible sobre los efectos de los flavonoides en la presión arterial. Sin embargo, recientemente, se ha demostrado que la administración oral crónica de quercetina ejerce potentes efectos antihipertensivos.

También menciona que según datos clínicos y epidemiológicos recientes que explican el interés en la ingesta de flavonoides en alimentos para prevenir el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2. Los flavonoides son un gran grupo de compuestos bioactivos de plantas, abundantes en nuestros alimentos y que pueden ejercer efectos en la salud del cuerpo, en particular con respecto a los puntos finales cardiometabólicos. La evidencia de los estudios y los ensayos aleatorios a corto plazo sugieren efectos beneficiosos de las fuentes alimenticias de flavan-3-ols (té y cacao), antocianinas (bayas) y flavanonas (cítricos) sobre la salud cardiovascular. Estos hallazgos deben confirmarse en ensayos aleatorios a largo plazo, y la evaluación de compuestos puros será importante para establecer qué flavonoides y dosis específicos son efectivos. La evidencia más sólida existe de un efecto beneficioso del cacao rico en flavan-3-ol en la función endotelial y la sensibilidad a la insulina, y del flavan-3ols de té verde en el colesterol LDL. Con respecto a las antocianinas y flavanonas, aún se necesitan más datos clínicos para apoyar la asociación entre su nivel de consumo y la menor incidencia de enfermedades cardiometabólicas informadas en estudios de cohortes. (Morand C. 2014).

Mulvihill E. E., Huff M. W. (2010), menciona que una mayor ingesta de flavonoides de frutas y verduras se asocia con un menor riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares. Los mecanismos que explican esta observación siguen sin estar claros, pero la evidencia actual sugiere que los flavonoides pueden ejercer sus efectos a través de la mejora de los factores de riesgo cardiovascular, una gran cantidad de estudios han reportado el impacto del consumo de alimentos ricos en flavonoides en biomarcadores de riesgo de enfermedad cardiovascular en voluntarios sanos o individuos en riesgo. La mayoría de los estudios se han centrado en el cacao, la soja y el té verde y negro.

Álvarez *et al.*, (II), (2003), explica que en los últimos años los flavonoides han cobrado gran importancia para la investigación biomédica se debe, en gran medida, a las interesantes propiedades mostradas por esta familia de compuestos frente a enfermedades crónicas tan comunes y dañinas como las cardiovasculares. Las actividades biológicas descritas para estos compuestos, tanto aislados como presentes en bebidas, vegetales o fruta, les hacen compuestos de interés en el campo cardiovascular por su efecto frente al daño oxidante de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) y protector del endotelio vascular. Pueden desempeñar además un papel importante en la regulación de la agregación plaquetaria y de la contractilidad del músculo liso vascular.

#### **2.4.4.1 Efectos vasculares**

Existen varios flavonoides con acción relajante sobre el músculo liso vascular, descrita en experimentos *in vitro* sobre arterias aisladas de animales de experimentación. La acción vasodilatadora es mayormente independiente del endotelio, aunque para algunos compuestos sí depende de éste.

#### **Relajación dependiente del endotelio**

El endotelio desempeña un papel crucial en la regulación del flujo sanguíneo y del tono vascular. Además, en muchas patologías, tales como la hipertensión, la diabetes o la aterosclerosis, la relajación vascular dependiente de esta unidad tisular se encuentra mermada. Algunos polifenoles, extractos y zumos relacionados con el vino, o éste mismo, tienen efecto vasodilatador dependiente del endotelio *in vitro*. Aunque el mecanismo que origina este comportamiento está lejos de estar claro, se ha sugerido que la potenciación

de la ruta del óxido nítrico, por estimulación de la síntesis de éste o por reducción de su degradación, puede ser una de las formas de actuación. (Álvarez *et al.*, (II), 2003)

### **Relajación independiente del endotelio**

Los trabajos publicados sobre la acción relajante vascular de los flavonoides se centran en algún compuesto en concreto o en un grupo reducido de ellos. Álvarez *et al.*, (II), (2003), menciona que se merece destacar los trabajos de Duarte *et al.* y Herrera *et al.* A partir de estos estudios podemos extraer algunas conclusiones sobre la relación estructura/actividad del efecto relajante de los flavonoides y los posibles mecanismos farmacológicos implicados. Las isoflavonas y las flavonas parecen ser igualmente activas, mientras que la presencia de un grupo carbonilo en la posición 4 y un doble enlace C2-C3 parecen ser requisitos indispensables para el efecto vasodilatador. Por otro lado, el patrón de hidroxilación del anillo B puede determinar en gran medida la potencia de la acción, ya que, la ausencia o la metilación del hidroxilo en la posición 3' reduce la eficacia relajante; la conformación catecólica de una doble hidroxilación en el anillo B favorece la acción vasodilatadora, y la presencia de tres hidroxilos en posiciones contiguas de cualquier anillo del flavonoide se asocia a una potenciación, a bajas concentraciones, de la vasoconstricción inducida por cualquier agonista empleado.

Los mecanismos que pueden explicar estos efectos son varios y engloban la acción sobre la proteína cinasa C (PKC) y otras cinasas, la entrada de calcio en la célula y la actividad fosfodiesterasa (PDE). Los canales de potasio de la membrana no parecen intervenir en la respuesta vasodilatadora de los flavonoides. La actividad de determinadas cinasas está relacionada con la función contráctil de las células musculares y los flavonoides pueden modificar el funcionamiento de estas enzimas. Tanto los requerimientos estructurales para la inhibición como la potencia de esta inhibición, se correlacionan bastante bien con los requerimientos y la potencia de la acción vasodilatadora. Los flavonoles y flavonas son los inhibidores más activos. Las chalconas se comportan como inhibidores más débiles y las flavanonas son generalmente inactivas. Sin embargo, no disponemos de información sobre los efectos de los flavonoides en las diversas isoenzimas de la PKC presentes en el tejido vascular. La cinasa, de la cadena ligera de miosina, es otra enzima esencial en el desarrollo de la contracción en el músculo liso. El kaempferol, un flavonol muy similar a la quercetina, resulta ser un inhibidor relativamente específico de la actividad de esta proteína purificada a partir de la aorta bovina. Al menos parte del efecto vasodilatador de

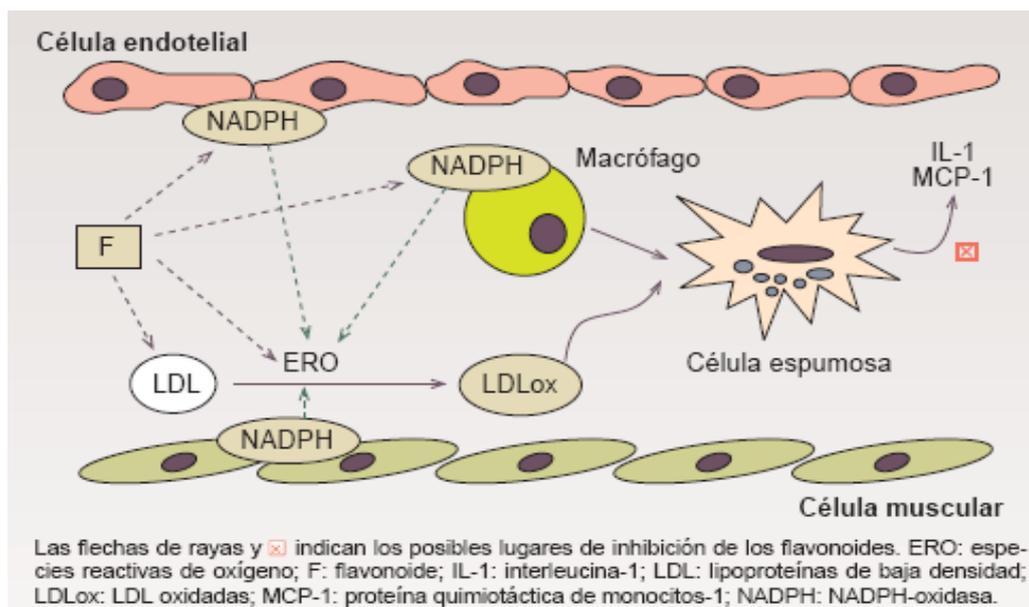
los flavonoides se puede atribuir al bloqueo de los canales de calcio activados por voltaje. La inhibición de la respuesta a la liberación del calcio intracelular que se observa con algunos flavonoides puede deberse a la disminución de la sensibilidad a este ion como resultado de la inhibición de la PKC más que al vaciamiento de los depósitos intracelulares. (Álvarez, Orallo (II), 2003)

#### **2.4.4.2 Efectos vasoconstrictores**

En oposición a lo dicho anteriormente, determinadas moléculas de estructura flavonoide tienen una acción bifásica sobre los vasos sanguíneos: vasoconstrictora a las concentraciones activas más bajas y vasodilatadora a concentraciones mayores. Es el caso de aquellos compuestos con una triple sustitución hidroxílica en posiciones contiguas de los anillos A o B, como la baicaleína y la miricetina. Estas moléculas potencian *in vitro* la acción de agentes vasoconstrictores como las catecolaminas y el efecto es máximo con ésteres de forbol. Álvarez *et al.*, (II), (2003), menciona que, Berger *et al* comprobaron que el efecto es postináptico e independiente de la ruta del ácido araquidónico, de la metabolización o recaptación de catecolaminas e incluso de las propias catecolaminas, ya que agonistas de receptores adrenérgicos  $\alpha$  no catecolamínicos, así como agonistas de otros receptores diferentes, ven aumentada su respuesta en la misma medida. Se trata, por tanto, de una potenciación no específica del efecto contráctil. En trabajos posteriores se determinó que la actividad vasoconstrictora, a bajas concentraciones, de la baicaleína y la miricetina depende del endotelio, y que puede deberse a la inhibición de la producción y/o de la liberación del óxido nítrico o a la estimulación de la liberación de tromboxano A<sub>2</sub>, respectivamente. (Álvarez *et al.*, (II), 2003)

#### **2.4.4.3 Efecto antiaterosclerótico**

Un incremento de las LDL circulantes, y en especial de las LDL oxidadas, se considera uno de los factores de riesgo de la enfermedad coronaria. Los mecanismos que probablemente tienen lugar se engloban en la denominada «hipótesis oxidativa de la aterogénesis», según la cual, el ateroma lo forman células espumosas, originadas en el subendotelio vascular a partir de macrófagos que han captado de manera descontrolada LDL, previamente oxidadas. Estas lipoproteínas resultan citotóxicas para el endotelio y son, además, quimiotácticas para los macrófagos y los monocitos y promueven la presencia de éstos en la lámina íntima de los vasos sanguíneos (fig. N° 31).



**Figura 31.** Mecanismos implicados en el efecto protector de los flavonoides sobre la oxidación de las LDL en el subendotelio vascular. (Fuente: Álvarez *et al.*, (II), 2003)

Algunos flavonoides tienen la capacidad de inhibir, en el rango micromolar, la oxidación de las LDL y su captación por los macrófagos. Los mecanismos que pueden explicar esta actividad se pueden agrupar en torno a dos ideas. Por un lado, se encontrarían todas aquellas acciones implicadas en la reducción de la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO). En este apartado se incluyen la capacidad para inhibir enzimas estratégicas celulares —NADPH-oxidasa, xantina oxidasa, 1,5-lipoxigenasa, citocromo P450 y mieloperoxidasa— y el secuestro de iones metálicos libres como el  $\text{Fe}^{2+}$  y el  $\text{Cu}^{2+}$  en el medio extracelular. Por otro lado, se agruparían las acciones que favorecen el funcionamiento de las defensas antioxidantes endógenas, es decir, la protección y regeneración de moléculas como el  $\alpha$ -tocoferol y los carotenoides —embebidos en los tejidos y en las mismas lipoproteínas— y el mantenimiento y la potenciación de la actividad de enzimas como la paraoxonasa sérica. En muchos casos, uno solo de estos mecanismos no puede explicar el efecto global, lo que quiere decir que no son incompatibles entre ellos. (Álvarez *et al.*, (II), 2003)

De esta forma, los flavonoides procedentes de la dieta pueden estar implicados en la prevención de la aterosclerosis. Ésta, es una posible vía por la que estos compuestos pueden prevenir el daño vascular, especialmente de las arterias coronarias y cerebrales, lo que les haría agentes beneficiosos frente a la coronariopatía o la apoplejía. Así, las propiedades antioxidantes manifestadas por los flavonoides pueden explicar, al menos

parcialmente, los efectos beneficiosos de los extractos de *G. biloba* L. en las neuronas cerebrales. Lo mismo ocurre con las catequinas del té, que pueden prevenir el daño oxidante de las células endoteliales vasculares, lo que sugiere que puedan desempeñar un papel destacado en el mantenimiento de lado, en ratones deficientes en apolipoproteína E, un modelo animal para el estudio de la aterosclerosis, se demostró el efecto beneficioso de flavonoides como la quercetina, la catequina y la glabridina y de productos de la dieta que los contienen como el vino tinto, el extracto de jengibre y el zumo de granada. (Álvarez *et al.*, (II), 2003).

#### **2.4.4.4 Insuficiencia venolinfática**

Los flavonoides son la familia más importante de fármacos flebotrópicos. Sus propiedades venoprotectoras y venotónicas han resultado de utilidad clínica en el tratamiento de la insuficiencia venosa. En el tratamiento de esta fisiopatología destaca Daflon 500 mg (Servier Laboratories, Francia), conocido en la fase experimental como S-5682. Se trata de una fracción flavónica micronizada, compuesta por una mezcla de diosmina (90%) y hesperidina (10%), que se ha convertido en uno de los medicamentos de elección en el tratamiento de la insuficiencia crónica venosa dado que actúa contra la enfermedad a todos los niveles: venas, linfa y microcirculación. Presenta además una muy baja incidencia de efectos adversos que, de producirse, no obligan a interrumpir la terapia. El mecanismo de acción de esta formulación puede servir como ejemplo de las posibilidades de los flavonoides en este campo. El S-5682 facilita la contractilidad de la pared venosa, lo que activa el flujo de retorno y reduce la hipertensión venosa. Mejora el drenaje linfático porque aumenta la frecuencia e intensidad de las contracciones de estos conductos y, por tanto, aumenta la funcionalidad de los capilares linfáticos. Esta acción puede explicar su efecto beneficioso sobre el edema perivascular, a lo que también contribuye la actividad antihialuronidasa y de inhibición de la lisina oxidasa e hidrolasas lisosomales de algunos flavonoides. (Álvarez *et al.*, (II), 2003)

#### **2.4.4.5 Efecto sobre la función plaquetaria**

Otra de las propiedades que los flavonoides han mostrado es la de inhibir la agregación plaquetaria. Gryglewski *et al.*, mencionado por Álvarez *et al.*, (II), (2003), estudiaron el mecanismo de esta acción antitrombótica. Concluyen en su trabajo, que

debe haber una unión selectiva de la molécula flavónica a la pared de las plaquetas que forman un trombo. Probablemente, desde allí y por sus propiedades neutralizadoras de radicales son capaces de dispersar el trombo y preservar las células endoteliales del daño oxidante, de forma que puedan sintetizar prostaciclina y óxido nítrico normalmente, aparte de las propiedades antioxidantes pueden estar implicados otros efectos, como el bloqueo de la ruta del ácido araquidónico por inhibición de la ciclooxigenasa y/o la lipoxigenasa o el impedimento de la formación de tromboxano y el antagonismo sobre su receptor. Por otra parte, uno de los más potentes mecanismos por el que los flavonoides podrían inhibir la agregación plaquetaria es mediando el incremento de las concentraciones celulares de AMPc, bien por la estimulación de la adenilciclase, bien por la inhibición de las PDE de AMPc. Se ha sugerido que la acción antiagregante desempeña un papel importante en los efectos protectores de los flavonoides frente a las enfermedades isquémicas. Sin embargo, la acción sobre los trombocitos humanos de la quercetina, el flavonoide más abundante de la dieta, está escasamente estudiada. La suplementación dietética con quercetina no conlleva la inhibición, ni de la agregación, ni de la liberación de tromboxano, lo que sugiere que o bien los efectos protectores observados con este flavonol no se deben a una acción antiagregante o bien ésta es producida por otros factores de la dieta. (Álvarez *et al.*, (II), 2003).

#### **2.4.4.6 Efectos cardíacos**

Sobre el tejido miocárdico, las flavonas mejoran la recuperación postisquémica de la capacidad contráctil del ventrículo izquierdo y parecen facilitar el consumo de oxígeno por un mecanismo en el que parece intervenir el sistema citocromo P450. La flavona puede actuar como un efector alostérico que mejore la actividad catalítica y, consecuentemente, disminuya la producción de ERO. Se ha analizado el efecto de determinados flavonoides en preparaciones cardíacas aisladas y se ha comprobado una acción cronotrópica positiva. Se ha descrito un efecto antiarrítmico para diversas flavonas y una disminución del área de isquemia en modelos de isquemia miocárdica y arritmia. En estos experimentos los heterósidos se mostraron más activos que sus correspondientes geninas. Se ha revisado la relación entre los flavonoides y la enfermedad coronaria., debido al perfil lipoproteico que muestran, el descenso en la agregación plaquetaria y la reducción de la oxidación de las LDL, estos compuestos pueden contribuir a prevenir el

inicio de la enfermedad coronaria. Los resultados de los estudios epidemiológicos se resumen en la Tabla 22.

**Tabla 22**

*Estudios epidemiológicos sobre el consumo de flavonoides y la mortalidad por enfermedad coronaria (EC) y el riesgo de apoplejía*

Estudio	Edad	Número y sexo	Seguimiento	Resultado	Riesgo relativo*
Zutphen	65-84	805 #	5 años	EC	0,32 <sup>b</sup>
Finlandia	30-69	5.133 #+!	20 años	EC	0,73 ; 0,67 #
Sanitarios Estados Unidos	40-75	34.789 #	6 años	EC	1,08
Caerphilly	49-59	1.900 #	14 años	EC	1,6 <sup>b</sup>
Zutphen	50-69	552 #	15 años	Apoplejía	0,27 <sup>b</sup>
Iowa	—	34.492 !	10 años	EC	0,62 <sup>b</sup>
				Apoplejía	0,83
Seven countries	40-59	12.763 !	25 años	EC	r = -0,50

\*Riesgo relativo del grupo de mayor frente al de menor consumo de flavonoides.  
<sup>b</sup>Estadísticamente significativo.

Fuente: Álvarez *et al.*, (II), (2003)

Aparece una correlación inversa en el Zutphen Elderly Study entre el consumo de flavonoides y la mortalidad por enfermedad coronaria en ancianos y, aunque de manera más débil, con la incidencia del infarto de miocardio. En la misma población también se estableció una asociación inversa y dependiente de la dosis entre el consumo medio de flavonoides y el riesgo de apoplejía. (Álvarez *et al.*, (II), 2003)

Parte de esta variabilidad en los resultados puede atribuirse a que, en la mayor parte de los trabajos, no se especifica la composición de los vinos examinados, pese a que se conoce que el contenido en polifenoles cambia de unos a otros. Entre la población del lejano oriente China y Japón, fundamentalmente, donde el consumo de vino no es un hábito dietético generalizado, la baja incidencia dietético de enfermedades coronarias que también se observa se ha relacionado con el elevado consumo de té. Es legítimo pensar que los flavonoides contenidos en esta infusión pudieran desempeñar un papel importante en esta cuestión. Los estudios realizados con esta bebida en humanos sobre su efecto en el estado de oxidación de las LDL se resumen en la Tabla N° 23

**Tabla 23***Efecto del consumo de vino o té en los lípidos plasmáticos y en la oxidación de las LDL en humanos*

Sujetos y tipo de estudio	Resultados
8 varones sanos, 9 controles en paralelo; vino (2 semanas)	El vino tinto reduce la LDLox y el blanco la aumenta
13 varones y mujeres sanos, 11 controles en paralelo; vino blanco o tinto con poco alcohol (4 semanas)	Sin efecto
20 varones sanos, sin control; extracto de vino tinto (2 semanas)	Sin efecto en LDLox, aumenta PL-antiox
6-9 varones; vino tinto o extracto (2 semanas)	Inhibición de LDLox
10 varones, sin control; vino tinto (14 días)	Aumenta PL-antiox
7 sujetos sanos, sin control; zumo de uva (7 días)	Inhibición de LDLox y aumenta PL-antiox
20 varones y mujeres, sin control; vino tinto (10 días)	Sin efecto
12 varones, controles cruzados; vino tinto (agudo)	Sin efecto en LDLox
5 sujetos por grupo; vino tinto, zumo de uva, cerveza, vino blanco (2 horas)	Inhibición de LDLox con vino tinto pero no con zumo de uva
Vino tinto (agudo)	Aumenta PL-antiox
Estudio postingestión; vino tinto o agua mineral	Respecto al agua, el vino aumenta el TG plasmático y la transferencia de TG y EC entre HDL y lipoproteínas ricas en TG
14 varones, 8 controles; té negro (4 semanas)	Sin efecto en LDLox
16 varones y mujeres fumadores por grupo; té verde y negro (4 semanas)	Sin efecto en LDLox, el té verde aumenta la vitamina E
16 varones y mujeres sanos por grupo; té verde y negro (4 semanas)	Sin efectos en LDLox
Té negro (agudo)	Aumenta PL-antiox

EC = ésteres de colesterol.  
HDL = lipoproteínas de alta densidad.  
LDLox = oxidación de lipoproteínas de baja densidad.  
PL-antiox = capacidad antioxidante del plasma.  
TG = triglicéridos.

Fuente: Álvarez *et al.*, (II), (2003)

El consumo de té no parece modificar las concentraciones plasmáticas de lípidos ni la concentración de vitamina E en voluntarios sanos, pero sí retrasa de manera significativa la oxidación de las LDL. Sólo un pequeño número de estudios epidemiológicos ha investigado la asociación entre el consumo de té y el riesgo de enfermedad cardiovascular. De esta forma, no se encontró asociación entre estos parámetros en la población escocesa, tanto masculina como femenina, ni en los profesionales de la salud varones de Estados Unidos. Sin embargo, se estableció una relación inversa en la población noruega entre el consumo de té, la concentración de colesterol en plasma y la mortalidad por enfermedad coronaria. En el estudio prospectivo Rotterdam se encontró una asociación inversa entre la ingestión de té y la aterosclerosis aórtica grave más fuerte en mujeres que en varones. Sin embargo, la reducción del riesgo en caso de aterosclerosis moderada o leve fue muy débil o nula. (Álvarez *et al.*, (II), 2003).

#### 2.4.4.7 Efectos antihipertensivos

A pesar de los efectos vasodilatadores descritos *in vitro* y la beneficiosa acción cardíaca, poca información se dispone sobre los posibles efectos protectores de los flavonoides frente a la hipertensión, un importantísimo factor de riesgo de la enfermedad coronaria y la apoplejía. La mayor parte de los trabajos describen los efectos agudos antihipertensivos tras la administración intravenosa de una sola dosis en animales anestesiados, que puede estar en relación con los efectos vasorrelajantes comentados.

La quercetina administrada diariamente por vía oral, inhibe el desarrollo de hipertensión inducida por tratamiento crónico con N<sup>G</sup>-nitro L-arginina metiléster en ratas e induce la reducción progresiva de la presión sistólica cuando la hipertensión ya está establecida.

Asimismo, reduce la proteinuria, el incremento de la contracción debida al endotelio y la mortalidad. El suplemento dietético con quercetina en sujetos normotensos no modifica la presión arterial, lo que no permite excluir la posibilidad de un efecto antihipertensivo en pacientes con hipertensión. De hecho, una dieta rica en frutas y verduras, presumiblemente también rica en flavonoides, disminuye los valores de presión arterial en individuos hipertensos y no en normotensos. (Álvarez *et al.*, (II), 2003)

De todas formas, los efectos crónicos o a largo plazo de cualquiera de los flavonoides reflejan, probablemente, la acción de sus metabolitos capaces de permanecer en el plasma o en los tejidos, de los que se conoce bien poco acerca de su farmacología. La inhibición de la enzima de conversión de la angiotensina es otra propiedad que podría estar relacionada con la potencial actividad antihipertensiva de los flavonoides.

En resumen, los flavonoides pueden influir, potencialmente, en aquellos estados cardiovasculares patológicos en los que intervengan:

- Los productos de la peroxidación lipídica, especialmente en el terreno vascular y coronario.
- Los procesos inflamatorios y de secreción mastocítica.
- Las moléculas de adhesión endotelial.

Los efectos protectores contra la enfermedad cardiovascular podrán deberse a acciones como:

- La disminución de la oxidación de las LDL.
- El aumento de las concentraciones de HDL.
- La reducción de la liberación de mediadores a partir de mastocitos cardíacos y la disminución de la inflamación cardiovascular.
- La inhibición de la agregación plaquetaria y los daños vasculares derivados de la formación de trombos.
- La vasodilatación y otros efectos antihipertensivos. (Álvarez *et al.*, (II), 2003)

El resultado fue el mismo aún después de hacer ajustes por edad, grasa corporal, fumado, colesterol, presión sanguínea, actividad física, consumo de café, ingesta de calorías, vitamina C, vitamina E, beta-caroteno y fibra. Las principales fuentes de flavonoides de los individuos en el estudio fueron manzanas, cebollas y té.

En el mismo estudio, se observó que el consumo de flavonoides, principalmente quercetina, estaba inversamente relacionado con la incidencia de infarto, después de hacer ajustes de confusores potenciales incluyendo vitaminas antioxidantes. Una implicación de esta observación es la posibilidad de que ciertos flavonoides podrían haber estado almacenados en vasos sanguíneos y ejercer allí efectos antiaterogénicos.

Las evidencias epidemiológicas muestran que los franceses tienen menos cardiopatías de lo esperado, dados los niveles de consumo de grasas saturadas y colesterol que esta población tiene. Este hallazgo inusual se ha atribuido al hábito de beber vino tinto. Las bases bioquímicas y farmacológicas del tema del vino fueron enumeradas en un editorial de Goldberg, quien puntualiza que el vino tinto contiene quercetina, rutina, catequina y epicatequina (entre otros flavonoides). La quercetina y compuestos fenólicos aislados del vino mostraron ser efectivos para inhibir la oxidación catalizada por cobre en LDL, mientras que la exhibida por el alfa-tocoferol solo mostró ser un 60% de la observada en los primeros. Además, el consumo de flavonoides de la dieta se asoció de modo inverso con el riesgo de infarto fatal, Tabla N° 24. (Russo, 2006).

**Tabla 24**

*Riesgo relativo de infarto según la ingesta de flavonoides Del estudio “Rotterdam” (datos tomados de Am J Clin Nutr 2002: 75; 880-886)*

Consumo de Tè	0 ml/d	1 – 375 ml/d	Mayor a 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

FUENTE: Russo, (2006)

Se ha reconocido que, en el hombre, los flavonoides poseen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antialérgicas, hepatoprotectoras, antitrombóticas, antivirales y anticarcinogénicas. Al ser considerados también como compuestos fenólicos, pueden actuar como potentes quelantes de metales, como “scavengers” de radicales libres y como antioxidantes rompedores de cadena, es decir, finalizan la cadena de formación de especies pro-oxidantes mediante la donación o aceptación tanto de un átomo de hidrógeno como un electrón. (Tenorio *et al.*, 2006)

#### **2.4.5 Los flavonoides y el hígado**

Recientemente ha crecido mucho el interés y el uso de varias drogas naturales como hepatoprotectores, esto es como protectores del hígado. Una de las más mencionadas y comercializadas es el ginkgo. La droga la constituyen las hojas de Ginkgo biloba (Gingkoaceae) un arbusto ornamental de origen asiático. Estas contienen flavonoides, biflavonoides, proantocianidinas y otros. El extracto de ginkgo actúa al nivel circulatorio. Inhibe la agregación plaquetaria, aunque contiene una concentración baja de 4'-Ometilpiridoxina, una sustancia neurotóxica. (Martínez, 2005)

#### **2.4.6 Los flavonoides y la arterioesclerosis**

La arteriosclerosis es el endurecimiento progresivo de las venas y arterias por acumulación de sustancias grasas, por lo tanto, afecta la presión arterial y puede llevar a la muerte. Uno de los medios más utilizados para su tratamiento es el manejo de dietas rigurosas y deficientes en grasas y carbohidratos. Sin embargo, existen investigaciones recientes que demuestran que las personas que consumen habitualmente bebidas como los

vinos tintos y el té verde, se ven beneficiados por el hecho de que son menos propensos a ataques cardíacos y prevenir la arteriosclerosis.

Los flavonoides son importantes para la salud de los vasos sanguíneos. Regulan la permeabilidad del capilar, por eso detienen el flujo de proteínas y células de sangre, pero permiten el flujo de oxígeno, dióxido del carbono y otros nutrientes. Muchos flavonoides incrementan la fortaleza de los vasos capilares, previniéndolos de cerrarse fácilmente. Esto es en parte debido a que ciertos flavonoides tienen una acción similar a la de la vitamina C. Esto puede ayudar a proteger los vasos sanguíneos contra las infecciones y las enfermedades.

Los flavonoides también pueden relajar el músculo liso del sistema cardiovascular, disminuyendo así la presión de la sangre. Esto también mejora la circulación en el propio corazón. Los flavonoides son antioxidantes y también pueden prevenir la oxidación del colesterol LDL, previniendo el aumento de placa arterioesclerótica. También pueden detener el agrupamiento de las plaquetas de sangre, reduciendo la coagulación de la sangre y el daño de los vasos sanguíneos. (Martínez, 2005).

#### **2.4.7 Efecto antiinflamatorio de los flavonoides**

Los farmacólogos son personas profesionales en los medicamentos y quienes estudian todos los procesos que ocurren en nuestro organismo cuando ingerimos o se nos inyecta un medicamento, para ellos las sustancias que son fundamentales en los medicamentos las clasifican de acuerdo a su acción, por ejemplo, hay medicamentos antimicrobianos, anticancerígenos, antineoplásicos, antigripales, etc. Una de estas clases son las sustancias antiinflamatorias, que como su nombre lo indica sirven para desinflamar. A los flavonoides se les ha asociado con la acción antiinflamatoria, y es de las más estudiadas. Existen varios ejemplos que demuestran con evidencia experimental entre ellos están, por ejemplo: Algunos dímeros flavonoides (biflavonoides) como el diinisinol, isoflavanquinonas, etc. (Martínez, 2005).

#### **2.4.8 Otros estudios**

El consumo de flavonoides ha reportado beneficios para la salud como la reducción de los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular, la mejora de la función

endotelial y el retraso del deterioro cognitivo relacionado con la edad. Murphy K. J., Walker K. M., Dyer K. A., Bryan J. (2019), realizó un estudio donde pudo determinar la ingesta de flavonoides, clases de flavonoides y subclases de flavonoides de 1183 australianos de 39 a 65 años utilizando un cuestionario validado de frecuencia de alimentos de 215 elementos. Según los datos de ingesta de flavonoides globales limitados, los flavanoles son los principales flavonoides de la dieta y se encuentran principalmente en el té y el cacao. Como los australianos son grandes bebedores de té, anticipamos que los flavanoles serían los principales flavonoides en la dieta australiana, realizó un análisis unidireccional de la varianza para examinar las diferencias entre la ingesta de flavonoides entre hombres y mujeres, la ingesta total de flavonoides fue de  $626 \pm 579$  mg / día, los hombres y las mujeres consumieron  $566 \pm 559$  mg y  $660 \pm 588$  mg de flavonoides totales por día, respectivamente, presentando mejoras en su salud respectivamente.

Xin-Yu Liu, Xia Lv, Ping Wang, Chun-Zhi Ai, Qi-Hang Zhou, Moshe Finel, Bin Fan, Yun-Feng Cao, Hui Tang, Guang-Bo Ge. (2018), mencionan que los flavonoides son fitoquímicos ampliamente distribuidos en vegetales, frutas y plantas medicinales, realizaron estudios recientes demostrando que algunos flavonoides naturales son potentes inhibidores de la UDP-glucuronosiltransferasa 1A1 humana (UGT1A1), una enzima clave en la desintoxicación de compuestos dañinos endógenos como la bilirrubina. En este estudio se analizaron los efectos inhibitorios de 56 flavonoides naturales y sintéticos en UGT1A1, mientras que se investigaron las relaciones de inhibición de la estructura de los flavonoides como inhibidores de UGT1A1. Los resultados demostraron que los grupos hidroxilo C-3 y C-7 en el esqueleto de flavona mejorarían la inhibición de UGT1A1, mientras que los glucósidos de flavonoides mostraron efectos inhibitorios más débiles que sus agliconas correspondientes. Investigaciones adicionales sobre la cinética de inhibición de dos inhibidores fuertes de UGT1A1 tipo flavonoide, acacetina y kaempferol, arrojaron resultados interesantes. Ambos flavonoides fueron inhibidores competitivos contra la glucononidación mediada por UGT1A1 por NHPN-O, pero fueron inhibidores mixtos e competitivos contra la NCHN-O-glucuronidación mediada por UGT1A1, respectivamente. Además, las simulaciones de acoplamiento mostraron que las áreas de unión de NHPN, kaempferol y acacetina en UGT1A1 estaban muy solapadas, y la convergencia con el área de unión de bilirrubina dentro de UGT1A1. En resumen, se investigaron cuidadosamente las relaciones detalladas de inhibición de la estructura de los flavonoides como los inhibidores de UGT1A1 y los hallazgos arrojaron una nueva luz

sobre las interacciones entre los flavonoides y UGT1A1, y contribuirán considerablemente al desarrollo de fármacos de tipo flavonoide sin una fuerte inhibición de UGT1A1.

Ioannis Bakoyiannis, Afrodite Daskalopoulou, Vasilios Pergialiotis, Despina Perrea, (2019), indican que los flavonoides constituyen un gran grupo de compuestos polifenólicos con numerosos efectos sobre el comportamiento y la cognición. Estos efectos varían desde el aprendizaje y la mejora de la memoria hasta una mejora de la cognición general. Además, los flavonoides se han implicado en: a) la proliferación y supervivencia neuronales, actuando en una variedad de cascadas de señalización celular, que incluyen ERK / CREB / BDNF y PI3K / Akt. b) reducción del estrés oxidativo. c) alivio de la enfermedad de Alzheimer tipo de síntomas. Desde un aspecto electrofisiológico, promueven la potenciación a largo plazo en el hipocampo, apoyando la hipótesis de la mediación de la plasticidad sináptica. Juntas, estas acciones revelan un efecto neuroprotector de los compuestos flavonoides en el cerebro. Por lo tanto, la ingesta de flavonoides podría ser una dirección clínica potencial para la prevención y / o atenuación del deterioro del deterioro cognitivo que acompaña a diversos trastornos cerebrales

### **III. METODOLOGÍA Y PROCEDIMIENTOS**

La investigación bibliográfica sobre los Flavonoides y sus beneficios en la Salud se enmarcará en identificar los diversos tipos de alimentos que contienen Flavonoides y cuáles son los principales beneficios que se obtendrían en la salud al ser consumidos por las personas.

Donde se utilizarán fuentes Primarias en la elaboración del presente Informe de Ingeniería las cuales están conformadas por la información proporcionada por algunos profesionales como médicos e ingenieros que trabajaron o tienen conocimiento en este tema.

Así como de fuentes Secundarias utilizadas en la elaboración del presente Informe de Ingeniería las cuales están conformadas por la información proporcionada por libros y revistas especializadas, tesis e investigaciones realizadas sobre el tema y en Internet. Asimismo, las instituciones públicas y privadas que tengan que ver con el tema del consumo de los Flavonoides dentro de los alimentos funcionales y sus beneficios para la salud.

## IV. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LA INFORMACIÓN

Queda claro lo mencionado por Arce (2009), que un alimento funcional es cualquier alimento o preparado por el hombre, que contenga una o más sustancias, clasificadas como nutriente o no nutrientes, capaces de actuar en el metabolismo y en la fisiología humana, promoviendo efectos benéficos a la salud, pudiendo retardar el establecimiento de enfermedades crónicas y/o degenerativas y mejorar la calidad y expectativa de la vida de las personas, y que los alimentos contienen sustancias nutricionales y no nutricionales, y entre las principales sustancias no nutricionales tenemos los Compuestos Fenólicos como se indica en el Cuadro 2.

Así mismo, Lock (1994), indica que los compuestos fenólicos son un grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, y que ocurren frecuentemente como glicósidos, combinados con unidades de azúcar. Y que entre los compuestos fenólicos más importantes se encuentran los Flavonoides, y algunos podrían no tener el OH fenólico libre, varios grupos de materiales poliméricos como las ligninas y taninos son los cuales son polifenólicos y compuestos fenólicos monocíclicos simples son relativamente raros en las plantas.

A lo cual Duran, (2003), agrega que, en cuanto a su diversidad estructural, se han identificado más de 8000 compuestos fenólicos de origen natural, que van desde moléculas simples como ácidos fenólicos, hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Se encuentran principalmente en forma conjugada a uno o más residuos de azúcares. Dentro de esta variedad de compuestos, los flavonoides son el grupo de polifenoles más abundante en nuestras dietas, que los flavonoides como polifenoles constituyen uno de los grupos de compuestos más numerosos y ampliamente distribuidos en los vegetales, en donde cumplen una gran variedad de funciones biológicas. Según Martínez, (2005), las plantas son muy importantes para la vida no solo por la visión ecologista, sino que además de producir sustancias como los carbohidratos, las proteínas y las grasas, que los investigadores han denominado Metabolitos Primarios, dado que se encuentran en prácticamente todas las formas de vida y cumplen funciones básicas para la misma, existen otras que no se encuentran tan distribuidas y que se hallan restringidas solo a ciertas especies, géneros o familias como son los alcaloides, las saponinas esteroides, los aceites esenciales, los terpenoides, etc., a los cuales se les denomina

Metabolitos Secundarios. Dentro de este último grupo están los Flavonoides, unas sustancias bautizadas así porque las primeras que se lograron aislar eran de color amarillo, pero que como más adelante veremos las hay incoloras ó con otros colores diferentes del amarillo como son el rojo, el violeta y el azul.

### **Alimentos ricos en flavonoides**

Martínez, (2005), menciona algunos flavonoides que se encuentran en distintos alimentos, y en distintas proporciones, el cual se puede apreciar en el cuadro 7. Donde se puede notar que los Flavonoles se encuentran en casi todos los alimentos, frutas y verduras en diferentes cantidades.

De Luis, (2002), nos dice que tanto el té negro como el té verde contienen cantidades comparables de flavonoides; sin embargo, éstos se diferencian en su estructura química. Las variedades de té verde contienen una mayor cantidad de flavonoides simples llamados catequinas, la oxidación aplicada a las hojas para obtener el té negro convierte estos simples flavonoides en variedades mucho más complejas tales como las teflavinas y las terubiginas. El Cuadro N° 09 muestra los valores promedio de los diferentes flavonoides presentes tanto en el té verde como en el té negro. También De Luis, (2002), nos indica que los principales flavonoides del té pertenecen a un tipo de sustancias conocidas genéricamente como catequinas. Las cuatro principales catequinas del té son: EC, ECG, EGC y EGCG.

Para complementar lo mencionado anteriormente Martínez (2005), nos dice que de los polifenoles totales del té, el 59,9% lo constituyen las catequinas. Las catequinas (flavanoles) tienen dos núcleos fenólicos (A y B) que están unidos por tres átomos de carbono que forman parte, junto con un átomo de oxígeno, del anillo C. Los carbonos 2 y 3 del anillo C son asimétricos y según la posición espacial de los sustituyentes del C3, las catequinas pueden ser enantiómeros (+) o (-). Se han definido ocho catequinas diferentes, siendo las mayoritarias el (-)-galato de epigalocatequina (EGCG) y (+)-galocatequina (GC), que representan el 51,8% de las ocho catequinas, en donde la composición del té puede variar según la especie, el medio de cultivo, la estación del año y edad de la planta. Por ejemplo, en el té verde las catequinas representan un 80-90% de los flavonoides, mientras que en el té negro esta proporción es de 20-30%.

Y como se puede contrastar tanto en el Cuadro N° 08 y 09, y por lo mencionado por Martínez, (2005) y De Luis, (2002), las Catequinas, que son Flavanoles, en el té verde representan un 80-90% de los flavonoides, mientras que en el té negro esta proporción es de 20-30% aproximadamente.

Peña, (2004), menciona que los compuestos fenólicos de las uvas y el vino, presentan una amplia diversidad de estructuras químicas. En este grupo se distinguen los flavonoles (como la quercetina, miricetina y el kaempferol y sus glicósidos) presentes en los hollejos, siendo importantes por participar en el color amarillo de los vinos blancos y por sus efectos antioxidantes benéficos para la salud, los flavanoles o taninos condensados, presentan como base a la (+)catequina y la (-) epicatequina, la unión de estos compuestos da origen a los taninos de la uva (taninos condensados) ubicados en semillas y hollejos. Finalmente, están los antocianos que dan el color rojo a las uvas tintas, presentes en los hollejos, existiendo 5 antocianinas en la especie *Vitis vinífera* L., siendo la más importante en todos los cultivares, la malvidina-3-glucósido.

Mientras que Gutiérrez, (2002), nos dice que la concentración de compuestos polifenólicos del vino varía entre 1,80 y 1,06 g/L, con un promedio de 2,57 g para el vino tinto y entre 0,16 y 0,30 g/L para el blanco. Los flavonoides, en su mayoría Flavanoles (catequinas, quercitina y resveratrol), están presentes en las uvas, los que son sintetizados por una vía metabólica común a partir de la fenilalanina. Lo cual se puede apreciar en lo mencionado por PEÑA, 2004, Gutiérrez, (2002), y en el cuadro N° 08, que los flavonoides predominantes son los Flavanoles, Flavanoles y las antocianinas.

González et al., (2001), menciona, la cerveza contiene importantes cantidades de flavonoides entre los que destacan los polihidroflavanos (catequina y epicatequina), los antocianógenos (leucocianidina o leucopelargonidina) y los flavonoles (grupo de las quercitinas). Recientemente se han estudiado los isoflavonoides en muestras de cerveza embotelladas, encontrándose que cuatro de ellos totalizan hasta 29 nmol/l, lo que supone cantidades muy significativas de polifenoles biológicamente activos.

Mientras que Duran, (2003), El principal flavonoide presente en los extractos de la flor del lúpulo es el xantohumol, que tiene una estructura de tipo chalcona y está prenilado. El xantohumol está también presente en la cerveza, aunque el isoxantohumol es el prenilflavonoide más abundante en todos los tipos de cerveza evaluados. El

isoxantohumul es un flavonoide de tipo flavanona y está prenilado, se produce durante el proceso de fabricación de la cerveza por la isomerización de xantohumul. La cerveza representa uno de los productos de la dieta más importantes en cuanto al contenido de prenilflavonoides en términos cuantitativos. Los cuales se pueden ver en la figura 34.

Allué, (2001), y Martínez, (2005), mencionan que la soja contiene un tipo de flavonoides los que son las isoflavonas que se encuentran habitualmente tanto en la soja como en el trébol rojo. La soja destaca en especial por su alto contenido en isoflavonas (100 gr de soja contiene 300 mg de isoflavonas). Las isoflavonas son sustancias diferentes a los esteroides endógenos humanos con capacidad de unirse a los receptores estrogénicos. Sus más importantes son genisteína y daidzeína. Las isoflavonas son un tipo de flavonoides con características fitoestrogénicas, es decir, de actuar como los estrógenos.

Moreno et al., (2004), nos indica que, las flavanonas, flavonas y flavonoles son los flavonoides presentes en los cítricos. Aunque las flavonas y los flavonoles se han encontrado en bajas concentraciones en comparación con los flavononas. Las flavononas son responsables de los sabores amargos en los cítricos siendo la naringina y la neohesperidina los componentes mayoritarios. A lo que García et al., (2002), concuerda, y nos menciona que, la naringina es el flavonoide mayoritario en la toronja, mientras la hesperidina lo es en la naranja. La rutina, hesperidina y diosmina son abundantes en el limón y las dos últimas lo son en la mandarina, los cuales se detallan y demuestran en los Tablas 10, 11 y 12.

En la manzana la mayor concentración de flavonoides se da en la piel de la manzana, como nos menciona, Geleijnse, Hollman, (2008), la piel de la manzana posee sustancias con propiedades sumamente importantes para la salud. Es por eso que se recomienda consumirlas con cáscara para obtener así todos sus beneficios. Estos nutrientes son específicamente los polifenoles (quercetina y flavonoides). Tal afirmación, también es mencionada por Navarro et al., (2010), mediante un estudio realizado con el objetivo de determinar el contenido de quercetina, que es un Flavonol, de tres variedades de manzana (Fuji, Red Delicious y Delicia), donde también nos dice que la mayor concentración de flavonoides (contenido total de quercetina) se encuentra en la cáscara de la manzana mientras que la concentración en pulpa de manzana es mínima. En cuanto a las concentraciones de quercetina en las manzanas, la manzana Fuji presentó 0.29-1.65 mg/g, la Red Delicious 0.39-1.21 mg/g y la variedad Delicia 0.32-1.31 mg/g. De acuerdo con

los datos anteriores, el contenido de quercetina puede considerarse igual en las diferentes variedades analizadas. Los resultados se pueden apreciar en la figura N° 34.

En cuanto a la presencia de flavonoides en el tumbo, el sachaculantro, la sachapapa morada, la pituca, el huacatay, el aguaymanto y el sachatomate, Zavaleta, (2004), nos indica de acuerdo con su estudio realizado para detectar la presencia de rutina, morina y quercetina, nos da como resultado, que en estos alimentos existe la presencia de tales flavonoides y los cuales tenemos, que el flavonoide rutina se presentó con mayor concentración en el huacatay (1,80 mg/g), en el sachaculantro (288,7 ug/g) y en el olluco (142,22 ug/g), el sachatomate, el aguaymanto, la pituca y la sachapapa morada tuvieron concentraciones menores. La quercetina se presentó en gran cantidad en el huacatay (2,996 mg/g) y en menor cantidad en el sachaculantro (113,8 ug/g), tumbo, sachatomate y pituca mostraron cantidades menores. La morina sólo se presentó en huacatay (3,21 mg/g) y en el sachaculantro (0,093 mg/g), tal como podemos observar en el Tabla 13.

## **Beneficios de los flavonoides en la salud**

### **1. Capacidad antioxidante de los flavonoides**

Álvarez *et al.*, (2003), indica que las propiedades antioxidantes de un compuesto son consideradas a priori como favorables para la prevención de la oncogénesis. Las especies reactivas de oxígeno (ERO) están envueltas en las distintas etapas del proceso cancerígeno, ya que:

- Pueden oxidar directamente el ADN o activar mutágenos.
- Los promotores tumorales estimulan su producción.
- La inflamación, proceso en el que se generan ERO, está muy relacionada con la carcinogénesis.

Sin embargo, debe tenerse en cuenta la dualidad de la cuestión: compuestos con una actividad protectora frente a la oxidación en unas moléculas, como los lípidos, pueden provocar un daño oxidante en otras, como proteínas o ácidos nucleicos.

La acción antioxidante es la más conocida de los flavonoides, sobre la cual Russo, (2006), y Martínez *et al.*, (2002), mencionan y enumeran los siguientes criterios químicos para establecer la capacidad antioxidante de los mismos:

- Presencia de estructura O-dihidroxi en el anillo B, figura 10; que confiere una mayor estabilidad a la forma radical y participa en la deslocalización de los electrones.
- Doble ligadura, en conjunción con la función 4-oxo del anillo.
- Grupos 3- y 5-OH con función 4-oxo en los anillos A y C, figura 10, necesarios para ejercer el máximo potencial antioxidante.

La actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelatantes de hierro y secuestradoras de radicales libres, además de la inhibición de las oxidasas: lipooxigenasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa y la xantina oxidasa; evitando así la formación de especies reactivas de oxígeno y de hidroxiperóxidos orgánicos. Donde Pérez, (2003), manifiesta que otros autores se refieren además a la inhibición de oxidasas, como la lipoxigenasa (LO), la ciclooxigenasa (CO), la mieloperoxidasa (MPO), la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa (XO); evitando la generación de especies reactivas del oxígeno (ERO) in vivo, así como de hidroperóxidos orgánicos. Por otra parte, se ha podido conocer que también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2 (FLA2), al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, la catalasa (CAT) y la superóxido dismutasa (SOD). De esta forma los flavonoides interfieren en las reacciones de propagación de RL y en la formación del radical en sí.

Y de acuerdo con estos criterios, tanto Russo, (2006), Martínez *et al.*, (2002), y Escamila *et al.*, (2009), están de acuerdo que, el flavonoide quercetina, tiene una función antioxidante muy efectiva. Su capacidad antioxidante medida como Trolox es de 4,7 uM, la cual es 5 veces mayor a la demostrada por las vitaminas E y C y tiene una hidrosolubilidad similar a la de la vitamina E. También se ha observado que la función antioxidante de la quercetina muestra efectos sinérgicos con la vitamina C, porque el ácido ascórbico reduce la oxidación de la quercetina, de manera tal que combinado con ella permite al flavonoide mantener sus funciones antioxidantes durante más tiempo. Por otra parte, la quercetina protege de la oxidación a la vitamina E, con lo cual también presenta efectos sinergizantes.

También manifiestan, que los flavonoides retiran oxígeno reactivo, especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilos, hidroperóxidos y peróxidos lipídicos. Bloqueando la acción deletérea de estas sustancias sobre las células. Donde se ha corroborado la protección antioxidante de los flavonoides en: queratinocitos, fibroblastos dérmicos, ganglios sensoriales, endotelio, tejido nervioso y en lipoproteínas de baja densidad.

Asimismo, Tenorio *et al.*, (2006), Martínez *et al.*, (2002), Pérez, (2003), mencionan que, flavonoides como la quercitina y el kaempferol, tienen mecanismos antioxidantes importantes para el control de las concentraciones intracelulares de glutatión, importante antioxidante celular endógeno.

Además, Escamila *et al.*, (2009), y Pérez, (2003), manifiestan en el sentido de que casi todos los resultados coinciden en que los flavonoides con sustituyentes dihidroxílicos en posiciones 3' y 4' en el anillo B se muestran más activos como antioxidantes y que este efecto es potenciado por la presencia de un doble enlace entre los carbonos 2 y 3, un grupo OH libre en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4; como sucede con la quercetina. Al mismo tiempo se evidencia que las agliconas de los flavonoides se muestran más potentes en sus acciones antilipoperoxidativas que sus correspondientes glicósidos.

Pérez, (2003), también manifiesta que existen numerosas evidencias que apuntan hacia la protección del ADN ejercida por los flavonoides al inhibir los efectos oxidativos que provocan las ERO sobre esta biomolécula. El pretratamiento con flavonoides, a concentraciones estandarizadas (7,6; 23,2; 93 y 279,4 mM), en el daño al ADN generado por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (100 mM) en linfocitos humanos, analizado a través de un ensayo de electroforesis en gel de células individuales (COMETA), redujo el daño oxidativo al ADN. Los compuestos, a la concentración de 270 mM/L, fueron efectivos en el orden siguiente: luteolina (9 % de inhibición del daño por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), miricetina (10 %), quercetina (22 %), kaempferol (32 %), quercitrina (quercetina-3-L-ramnósido) (45 %), apigenina (59 %), quercetina- 3-glucósido (62 %) y la rutina (quercetina- 3-b-D-rutinósido) (82 %). Se corrobora de esta manera que los flavonoides libres ejercen un mayor efecto protector que los conjugados.

Así como también el estudio de Agostini *et al.*, (2004), los cuales determinaron la capacidad antioxidante de los flavonoides en manzanas rojas con y sin cascara, fresas, tomates, frutillas y cebollas frescas y tratadas térmicamente: calor húmedo (hervidor y vapor), seco (horno) y alta frecuencia (microondas). Donde realizaron la medición en un espectrofotómetro de fluorescencia y el análisis estadístico a través de la Varianza y Prueba de Duncan.

Guerrero Rodas *et al.* (2018), menciona que al consumo de los flavonoides (catequinas) del té verde se le ha atribuido efectos beneficiosos para la salud, por su capacidad antioxidante, uno de ellos es el efecto protector contra el estrés oxidativo, ya que mantienen el equilibrio oxidativo e inhiben el mecanismo de peroxidación lipídica. Otro efecto beneficioso es sobre el proceso arteriosclerótico, ya que las catequinas inhiben la proliferación de células musculares lisas expuestas a altos niveles de LDL, por lo que estos componentes ejercen una protección vascular contra la arteriosclerosis al impedir este fenómeno asociado a la hipercolesterolemia. Hay evidencias sustanciales de que la oxidación de las LDL es un hecho central en los procesos que conducen a la arteriosclerosis, los flavonoides presentes en el té han mostrado inhibir la oxidación de las LDL y por tanto, la iniciación de la aterosclerosis a este nivel. Los estudios al respecto, evidencian que los flavonoides (catequinas) reducen la absorción de colesterol y los niveles plasmáticos de este, la disminución se debe fundamentalmente al efecto de la EGCG, estas actúan a nivel intestinal, inhibiendo la absorción del colesterol al disminuir su solubilidad en las micelas y la captación de colesterol por los enterocitos. Los flavonoides del té verde también ejercen efectos sobre la reducción del peso corporal, ya que actúan a nivel del sistema nervioso simpático, encargado de regular la termogénesis mediante el neurotransmisor (noradrenalina) y el receptor  $\beta_3$  de los adipocitos, por ende aumentan la termogénesis y la oxidación de las grasas.

Dando como resultado que en las manzanas frescas con y sin cáscara no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras, siendo los valores 0.259 y 0.267  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox respectivamente, (tabla N° 03), observándose una disminución de esta actividad en las tratadas térmicamente, sobre todo por la aplicación del calor seco (horno): 0.072  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox en la manzana pelada y 0.128  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox, con cáscara.

Las fresas o frutilla presentaron la mayor capacidad antioxidante, la cual disminuyó a partir de los tratamientos térmicos en especial por calor seco, donde su valor fue de 0.278 uM Equivalente Trolox. En el tomate en estado fresco la actividad antioxidante de 0.165 uM Equivalente Trolox, en las cebollas la capacidad antioxidante fue de 0.223 uM Equivalente Trolox en estado fresco. (Tabla N° 03). Quedando evidentemente claro que la quercetina se sitúa como el flavonoide con mayor capacidad antioxidante sobre las demás, las cuales podemos obtener de fuentes como el repollo colorado, cebolla blanca, cerezas, tomate, brócoli, col rizada, arándanos, damascos, te verde y negro, manzanas, uvas negras. (Geleijnse *et al.*, 2008), el huacatay, la pituca, el sachaculantro y el tumbo. (Zavaleta, 2004).

## **2. Actividad anticancerígena de los flavonoides**

Un número creciente de sustancias naturales se han identificado como moduladoras del proceso de carcinogénesis; entre ellas se encuentran los flavonoides que han demostrado poseer efectos antimutagénicos y anticarcinogénicos, según lo que nos menciona, Martínez *et al.*, (2002). Nos indica que estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que los flavonoides pueden modular la actividad de enzimas citosólicas y microsómicas favorables en la formación de metabolitos carcinógenos, y que se ha confirmado el papel protector de la quercetina, la cual ejerce efectos de inhibición frente a células cancerígenas en humanos: en colon, glándula mamaria y ovario, en región gastrointestinal y en la leucemia, como ya fue mencionado anteriormente por, Russo, (2006), Martínez *et al.*, (2002), y Escamila *et al.*, (2009), como agente antioxidante, sino que también es un inhibidor de células cancerígenas.

Como ya lo mencionaron, Tenorio *et al.*, (2006), y Martínez *et al.*, (2002), sobre una posible explicación a estos efectos anticancerígenos podría derivarse al incremento que los flavonoides producen en las concentraciones intracelulares de glutatión a través de la regulación de la expresión de la enzima limitante en su síntesis.

Álvarez *et al.*, (2003), nos menciona que en algunos estudios epidemiológicos realizados entre el uso dietético de verduras y frutas - fuentes importantes de flavonoides - y el cáncer, pero, en general, no se han podido obtener conclusiones definitivas sobre la relación entre el consumo de flavonoides y la incidencia del cáncer, porque todavía

existen dos problemas fundamentales, por un lado, el escaso conocimiento sobre la biodisponibilidad de los flavonoides en humanos y, por otro, la posible acción mutagénica de algunos compuestos de la familia.

También menciona que un modelo más extendido de carcinogénesis, se divide en cuatro etapas (iniciación, promoción, progresión e invasión), y en donde podemos notar donde los inhibidores tumorales pueden interferir en cualquiera de los pasos de este proceso de carcinogénesis o en varios de ellos, y en particular los flavonoides pueden emplear diferentes y variados mecanismos para interferir en las cuatro etapas de la carcinogénesis.

Nos indica según Álvarez *et al.*, (2003), los posibles lugares de interacción de los Flavonoides en cada etapa del proceso carcinogénico, mediante mecanismos anticancerígenos, una actividad anti iniciadora en la primera etapa, por modulación de la activación y detoxificación de carcinógenos, el cual trata de explicar de que muchos de los efectos anticancerígenos de los flavonoides podrían ser el resultado de la modulación de las enzimas metabólicas hepáticas, como las enzimas del citocromo P450 - enzimas metabólicas de fase I - que constituyen la primera línea de acción frente a moléculas exógenas y, en ocasiones, provocan la activación de diferentes agentes carcinógenos, por tanto, la inhibición, la activación o la inducción de estas enzimas pueden modificar dramáticamente el metabolismo de algunos mutágenos, el cual puede deberse a diferentes factores genéticos. Y del cual se deduce que la potenciación o la inducción de de la actividad de estas enzimas responsables de la acción de eliminar carcinógenos, es un

Álvarez *et al.*, (2003), también indica que, la actividad de los flavonoides sobre las enzimas metabólicas puede variar en función del tejido estudiado, así como las catequinas del té *in vitro* inhiben las P450 monooxigenasas, *in vivo*, tanto el té negro como el verde inducen las isoenzimas del sistema P450, enzimas de fase II y de tipo antioxidante.

En cuanto a la etapa de promoción o proliferación, algunos flavonoides tienen acción sobre las señales de traducción que regulan el crecimiento, la proliferación y la diferenciación celular de posibles dianas de actividades cancerígenas. La quercetina es el flavonoide más estudiado en este sentido, y se han llegado incluso a realizar estudios clínicos de fase I, en donde el aumento en las comunicaciones intercelulares por medio de las uniones gap, constituye un mecanismo de acción antitumoral de algunos flavonoides.

Como se puede notar, las cinasas de tirosina codificadas por oncogenes son dianas atractivas para la acción anticancerígena, en donde Álvarez *et al.*, (2003), menciona que la genisteína ha demostrado ser un inhibidor específico de la proteína cinasa de tirosina y de la topoisomerasa II.

Como también indica Martínez *et al.*, (2002), que la genisteína bloquea el desarrollo de tumores al prevenir la formación de nuevos vasos impidiendo con ello la llegada del oxígeno y nutrientes a las células neotumorales. También modula la reacción de los estrógenos ligándose a sus receptores con lo que disminuye el riesgo de cáncer de mama. De hecho, se ha puesto de manifiesto que diversos flavonoides pueden inhibir monooxigenasas dependientes del citocromo P-450, lo que indicaría un papel potencial en la regulación de la activación de carcinógenos y que chalconas y flavononas en concreto son inductoras de las quinonasreductasas y podrían tener un papel preventivo en la progresión de los hepatomas.

La acción prodiferenciadora puede estar asociada a la modulación de la actividad cinasa/fosfatasa de tirosina, ya que este equilibrio parece desempeñar un papel en el control de la proliferación y la diferenciación celular. De nuevo, en la regulación de la apoptosis es muy importante el equilibrio entre las actividades cinasa y fosfatasa de tirosina y el papel que los flavonoides pueden desempeñar en él.

En la etapa de la invasión, la formación de nuevos vasos sanguíneos, se incrementa para asegurar la supervivencia del tumor, Álvarez *et al.*, (2003), indica que un estudio realizado por Fotsis *et al.*, demostraron que la genisteína y otros flavonoides procedentes de la soja dietética inhibían esta desregulación de la formación del tumor.

Álvarez *et al.*, (2003), indica que la genisteína inhibe la inducción estimulada por el factor de necrosis tumoral de moléculas de adhesión celular derivadas del endotelio vascular, Podrían ser varios los flavonoides que inhiben la invasión de células cancerígenas por bloqueo de estas moléculas de adhesión que pueden participar en la metástasis de tumores malignos.

### **3. Flavonoides y enfermedad inflamatoria intestinal**

En cuanto a la Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII), Ballesteri *et al.*, (2006), menciona que fundamentalmente engloba a dos entidades patológicas: la enfermedad de

Crohn (EC) y la colitis ulcerosa (CU). Ambas se caracterizan por una inflamación crónica del intestino.

La EC es una enfermedad que puede afectar a cualquier segmento del tubo digestivo, como en el íleon terminal y el colon proximal, el cual es un daño inflamatorio a través de toda la pared intestinal. Mientras que la CU es una enfermedad específica del colon que afecta generalmente a la porción distal y se extiende progresivamente en dirección proximal.

Ballester *et al.*, (2006), menciona que el daño se da en la mucosa del intestino, acompañado de la ruptura del epitelio intestinal, que en consecuencia se da una alteración de la funcionalidad intestinal, tanto en la motilidad como en la absorción de agua y electrolitos, responsable de algunos de los síntomas característicos de estas patologías, como diarrea, dolor abdominal, malnutrición, etc.

Ballester *et al.*, (2006), menciona que la comunidad científica ha realizado intensos estudios sobre las Enfermedades Inflamatorias crónicas, teniendo resultados insatisfactorios, ya que los tratamientos con los que trabajaron crearon una elevada incidencia de reacciones adversas, por tal motivo se fijaron en los flavonoides los cuales son compuestos que además de estar dotados de una baja toxicidad, presentan unas características idóneas para ser considerados como compuestos antiinflamatorios aplicables en la EII, ya que según estudios, inhiben distintas enzimas cuya expresión y/o actividad se encuentran incrementadas en los procesos inflamatorios, disminuyen la actividad de diversas células del sistema inmune, tal y como se ha podido comprobar en distintos ensayos *in Vitro*, ya que también son compuestos que presentan propiedades antioxidantes y/o antirradicalarias *in Vitro*, como ya lo habían manifestado anteriormente, Tenorio *et al.*, (2006), Martínez *et al.*, (2002), y Álvarez *et al.*, (2003), en cuanto a su capacidad de incrementar el contenido intestinal de glutatión, protegiendo el intestino del daño de tipo lipoperoxidativo que puede generarse cuando existe una superproducción de radicales libres.

Ballester *et al.*, (2006), también menciona que el primer estudio que apuntó el potencial efecto beneficioso de los flavonoides en la EII fue realizado por Galsanov y col. En donde describe la actividad antiinflamatoria presentada por la quercitrina, a las dosis de 25 y 100 mg/kg, en un modelo de inflamación intestinal de tipo alérgico en rata, y que en la

actualidad distintos flavonoides que incluyen heterósidos como la quercitrina, la rutina, la diosmina y la hesperidina, y geninas como la morina o la silimarina, que actúan en varios modelos bien establecidos de inflamación intestinal en rata, como el modelo de colitis inducida por ácido acético, ácido trinitrobenzenosulfónico (TNBS) y sulfato de dextrano sódico (DSS), que presentan algunas similitudes con la EII en humanos. No obstante, diferentes tipos de flavonoides, incluyendo flavonoles (en forma de heterósidos como la quercitrina y la rutina o geninas como la morina), un heterósido de flavona (la diosmina), un heterósido de flavanona (la hesperidina) y un flavanolignano (la silimarina) han mostrado actividad antiinflamatoria.

También Ballester *et al.*, (2006), nos indica que, de todos flavonoides ensayados hasta el momento, la quercitrina es el más potente, al ejercer su actividad ‘preventiva’ o ‘curativa’ a las dosis de 1 y 5 mg/kg, mientras que el resto de los flavonoides ejercen su actividad antiinflamatoria intestinal en un rango de dosis entre 10 y 25 mg/kg, cuando se trata de los heterósidos, y entre 10 y 200 mg/kg cuando estudiaron las geninas.

Ballester *et al.*, (2006), también menciona que los flavonoides estudiados, ayudan a la preservación de la función absortiva colónica, como la absorción de agua y electrolitos, el cual se encuentra profundamente alterada en la inflamación intestinal, que a consecuencia de esta alteración de la función genera algunos síntomas como diarreas, dolor abdominal, malnutrición, etc. Estos flavonoides estudiados como la quercitrina, la rutina, la hesperidina y la morina han demostrado su capacidad de promover la mejora de la funcionalidad absortiva colónica en los animales colícticos. No obstante, únicamente la quercitrina fue capaz de restaurar completamente el transporte hidroelectrolítico colónico, lo que se tradujo en una reducción de la incidencia de diarrea, uno de los síntomas que caracterizan la inflamación intestinal.

#### **4. Acción cardiovascular y sanguínea de los flavonoides**

Álvarez *et al.*, (II), (2003), indica que los flavonoides presentes en bebidas, vegetales o fruta, hace que sean compuestos de interés en el campo cardiovascular por su efecto frente al daño oxidante de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) y protector del endotelio vascular. Pueden desempeñar además un papel importante en la regulación de la agregación plaquetaria y de la contractilidad del músculo liso vascular.

Como se podrán notar y lo que trata de explicar en la figura N° 36. Los flavonoides, ejercen mayoritariamente un efecto vasodilatador en el músculo liso vascular aislado, de manera dependiente de la estructura del compuesto. El principal mecanismo de esta acción parece relacionado con la inhibición de la proteína cinasa C (PKC) o con alguno de los procesos activados por ésta, aunque la inhibición de otras cinasas, de las PDE de nucleótidos cíclicos y el bloqueo de la entrada de calcio, puede contribuir al efecto en mayor o menor medida.

Donde Álvarez et al., (II), (2003), menciona que los flavonoles y flavonas son los inhibidores más activos. Las chalconas se comportan como inhibidores más débiles y las flavanonas son generalmente inactivas. Sin embargo, no disponemos de información sobre los efectos de los flavonoides en las diversas isoenzimas de la PKC presentes en el tejido vascular. La cinasa, de la cadena ligera de miosina, es otra enzima esencial en el desarrollo de la contracción en el músculo liso. El kaempferol, un flavonol muy similar a la quercetina, resulta ser un inhibidor relativamente específico de la actividad de esta proteína purificada a partir de la aorta bovina. Al menos parte del efecto vasodilatador de los flavonoides se puede atribuir al bloqueo de los canales de calcio activados por voltaje.

Álvarez et al., (II), (2003), también menciona un efecto antiaterosclerótico, el cual trata de un incremento de las LDL circulantes, y en especial de las LDL oxidadas, por lo tanto, se considera uno de los factores de riesgo de la enfermedad coronaria. El ateroma lo forman células espumosas, originadas en el subendotelio vascular a partir de macrófagos que han captado de manera descontrolada LDL, previamente oxidadas.

Y tanto Álvarez et al., (II), (2003), como Russo, (2006), indican que la hipótesis oxidativa de la aterogénesis, propone que el proceso de aterogénesis se desencadena cuando en el subendotelio de la pared arterial, los macrófagos captan LDL ricas en colesterol, transformándose en células espumosas que se van acumulando. Pero un hecho importante en esta hipótesis, es que sólo captan LDL previamente oxidadas porque estas células tienen receptores específicos llamados receptores de aseo o receptores multiligandos, dando lugar a la placa o ateroma, elemento central en la lesión vascular arterioesclerótica. Esto ha permitido explicar muchas observaciones sobre factores de riesgo coronario y sobre relaciones entre nutrición y arteriosclerosis. Así, los flavonoides de la dieta pueden tener potencial terapéutico para proteger al endotelio del estrés oxidativo y de la aterogénesis causada por las LDL oxidadas.

Para Álvarez et al., (II), (2003), los flavonoides pueden emplear dos líneas defensivas frente al daño celular provocado por la oxidación de las LDL: la inhibición de la oxidación de las lipoproteínas y el bloqueo directo a nivel celular de la toxicidad de LDL oxidadas. Para algunos flavonoides, como la catequina, la quercetina y la rutina, se ha demostrado un efecto mixto, mientras que la acción de otros antioxidantes se basa en la prevención de la oxidación o en el antagonismo de la toxicidad celular de las LDL oxidadas. De esta forma, los flavonoides procedentes de la dieta pueden estar implicados en la prevención de la aterosclerosis.

Bueno y otra de las propiedades que los flavonoides han mostrado, según Álvarez et al., (II), (2003), es la de inhibir la agregación plaquetaria. Indica que debe haber una unión selectiva de la molécula del flavonoide a la pared de las plaquetas que forman un trombo. Probablemente, desde allí y por sus propiedades neutralizadoras de radicales son capaces de dispersar el trombo y preservar las células endoteliales del daño oxidante, de forma que puedan sintetizar prostaciclina y óxido nítrico normalmente.

Por otra parte, uno de los más potentes mecanismos por el que los flavonoides podrían inhibir la agregación plaquetaria es mediando el incremento de las concentraciones celulares de AMPc, bien por la estimulación de la adenilciclase, bien por la inhibición de las PDE de AMPc.

Álvarez et al., (II), (2003), manifiesta que los flavonoides tienen efectos beneficiosos sobre el tejido miocardio, los cuales mejoran la recuperación postisquémica de la capacidad contráctil del ventrículo izquierdo y parecen facilitar el consumo de oxígeno por un mecanismo en el que parece intervenir el sistema citocromo P450. La flavona puede actuar como un efector alostérico que mejore la actividad catalítica y, consecuentemente, disminuya la producción de ERO.

También Álvarez et al., (II), (2003), como Russo, (2006), en un estudio llamado Zutphen, han revisado la relación entre los flavonoides y la enfermedad coronaria. Debido al perfil lipoproteico que muestran, el descenso en la agregación plaquetaria y la reducción de la oxidación de las LDL, estos compuestos pueden contribuir a prevenir el inicio de la enfermedad coronaria. Los resultados de los estudios epidemiológicos se resumen en el Cuadro N° 14.

Aparece una correlación inversa en el Zutphen Elderly Study entre el consumo de flavonoides y la mortalidad por enfermedad coronaria en ancianos y, aunque de manera más débil, con la incidencia del infarto de miocardio. En la misma población también se estableció una asociación inversa y dependiente de la dosis entre el consumo medio de flavonoides y el riesgo de apoplejía.

Álvarez et al., (II), (2003), indica que entre la población del lejano oriente China y Japón, fundamentalmente, donde el consumo de vino no es un hábito dietético generalizado, la baja incidencia dietético de enfermedades coronarias que también se observa se ha relacionado con el elevado consumo de té. Es legítimo pensar que los flavonoides contenidos en esta infusión pudieran desempeñar un papel importante en esta cuestión. Los estudios realizados con esta bebida en humanos sobre su efecto en el estado de oxidación de las LDL se resumen en la Tabla 15.

El consumo de té no parece modificar las concentraciones plasmáticas de lípidos ni la concentración de vitamina E en voluntarios sanos, pero sí retrasa de manera significativa la oxidación de las LDL. Sólo un pequeño número de estudios epidemiológicos ha investigado la asociación entre el consumo de té y el riesgo de enfermedad cardiovascular. De esta forma, no se encontró asociación entre estos parámetros en la población escocesa, tanto masculina como femenina, ni en los profesionales de la salud varones de Estados Unidos. A lo que Russo, (2006), quedan de acuerdo en un estudio realizado llamado el estudio prospectivo Rotterdam, se observó una relación inversa entre el consumo de flavonoides antioxidantes en la dieta y el riesgo de enfermedades cardiovasculares, también menciona una reducción de la incidencia de infarto cercana al 50% a los 6 años en bebedores de más 375 ml al día de té, en comparación con no bebedores. Además, el consumo de flavonoides de la dieta se asoció de modo inverso con el riesgo de infarto fatal (Tabla 16)

Tenorio et al., (2006), también aporta mencionando que recientemente se ha reportado que tanto la quercetina como metabolitos metilados de ésta, ejercen efectos antihipertensivos y reducen la hipertrofia del ventrículo izquierdo, la disfunción endotelial y mejoran el estatus oxidativo plasmático y hepático. Más recientemente, los resultados obtenidos en el estudio DASH (Dietary Approaches to Stop Hypertension) muestran una disminución sustancial de las cifras de presión arterial, así como una disminución de los lípidos séricos. La dieta DASH es rica en flavonoles, flavanonas, flavan-3-oles, beta-

caroteno, beta-criptoxantina, licopena, luteína y fitosteroles, por lo que los beneficios de esta dieta son atribuibles a estos fitoquímicos y puede esperarse una reducción del riesgo cardiovascular, pues se ha sugerido que los compuestos polifenólicos muestran propiedades de protección miocárdica. En cuanto al mecanismo mediante el cual los flavonoides disminuyen la presión arterial, se ha propuesto que el canal de sodio epitelial (EnaC) tiene un papel crucial en la regulación de la presión sanguínea, contribuyendo además al mecanismo de reabsorción de sodio ( $\text{Na}^+$ ) en los túbulos renales. Mediante el tratamiento con quercetina (10 mg/kg/día) y la asociación de quercetina con una dieta hipersódica, se observó que la ingesta de quercetina disminuye la expresión en el mRNA del ENaC-alpha, observando una clara disminución en las cifras de presión arterial.

Martínez, (2005), también menciona que los flavonoides pueden relajar el músculo liso del sistema cardiovascular, disminuyendo así la presión de la sangre. Esto también mejora la circulación en el propio corazón. Los flavonoides son antioxidantes y también pueden prevenir la oxidación del colesterol LDL, previniendo el aumento de placa arterioesclerótica. También pueden detener el agrupamiento de las plaquetas de sangre, reduciendo la coagulación de la sangre y el daño de los vasos sanguíneos.

## V. PROPUESTA DE APLICACIÓN Y/O MEJORA

Los flavonoides han adquirido notoriedad pública a raíz de su actividad biológica en el hombre, que los consume con los vegetales. Los flavonoides poseen propiedades muy apreciadas en medicina, como antimicrobianos, anticancerígenos, disminución del riesgo de enfermedades cardíacas, entre otros efectos. También son conocidos por los cultivadores de plantas ornamentales, que manipulan el ambiente de las plantas para aumentar la concentración de flavonoides que dan el color a las hojas y a las flores.

Debido a las importantes funciones metabólicas que los flavonoides tienen en las plantas y los animales, sus vías biosintéticas y mecanismos de regulación están siendo cuidadosamente estudiadas. La ciencia aplicada aprovechó este conocimiento en muchos trabajos de ingeniería metabólica, en los que se buscó por ejemplo, aumentar la concentración de flavonoides beneficiosos en las plantas de consumo humano o de uso farmacéutico, modificar su concentración en flores ornamentales para cambiarles el color, e inhibir su producción en el polen para lograr la esterilidad de los híbridos de interés comercial.

### ➤ **Aplicaciones en medicina**

Los flavonoides son prescritas en las dietas funcionales, se encuentran en todas las verduras pero las concentraciones más importantes se pueden encontrar en el brócoli, la soja, el té verde y negro, el vino, y también se pueden ingerir en algunos suplementos nutricionales, junto con ciertas vitaminas y minerales. En los frutos, las mayores concentraciones se encuentran en la piel, por lo que es mejor comerlos sin pelar, debidamente lavados previamente. También es importante destacar que muchos de estos compuestos se encuentran en proporciones variables en los diferentes tipos de vinos, siendo responsables del efecto preventivo que tiene el consumo moderado de vino sobre las enfermedades cardiovasculares, cáncer y otras enfermedades degenerativas.

La concentración de los flavonoides también varía mucho entre plantas de la misma especie, por lo que se recomienda el consumo de verduras de buena calidad, y como los flavonoides se estropean con facilidad, es recomendado consumirlas en lo posible crudas, y si se cocinan no se recomienda el uso del microondas ni congelarlas antes de hervirlas.

➤ **Aplicaciones en plantas ornamentales y frutos comerciales**

Las plantas de mayor valor estético tienen mayor demanda en el mercado, por lo que se han aplicado los conocimientos en flavonoides para realzar las coloraciones de las plantas. La fenilalanina amonioliasa es activada por situaciones de estrés, como puede ser el frío. A bajas temperaturas muchas plantas, como las orquídeas, pueden presentar coloraciones rojizas (o violetas) en hojas que inicialmente eran verdes. Esto no es más que un mecanismo de defensa, pero puede tener aplicaciones comerciales: si se pulveriza con agua un fruto en las horas de mayor temperatura, se favorece la coloración en las zonas en que no se desarrolla bien el color. Este tratamiento produce, al evaporarse el agua, un descenso de temperatura del fruto de hasta 10° C, lo que frenaría temporalmente las reacciones de respiración y favorecería la reacción de síntesis de cianidina produciendo unos frutos de colores más vivos, de más valor comercial.

➤ **Investigación en flavonoides**

La investigación en flavonoides se puede dividir en dos grandes ramas: la investigación básica, que se ocupa de dilucidar las vías biosintéticas de los flavonoides y sus mecanismos de regulación, y la investigación aplicada, representada por la ingeniería genética de flavonoides, que manipula el ADN de las plantas con fines comerciales. Las dos ramas se interrelacionan de forma estrecha, de forma que por un lado, es necesario conocer las vías biosintéticas y de regulación para que la manipulación del ADN tenga mejores probabilidades de éxito, y por otro lado, la misma manipulación del ADN arroja a veces resultados que ayudan a comprender las vías biosintéticas y de regulación. Las dos ramas se diferencian principalmente en los objetivos propuestos, pero se solapan en algunos de los métodos utilizados.

Un tercer aspecto de la investigación es el uso de las vías biosintéticas y de regulación de los flavonoides como herramienta para experimentación en otras áreas, y el uso de los flavonoides en sí mismos, como herramienta para diferenciar las especies en Botánica Sistemática.

➤ **Investigación de las vías biosintéticas y mecanismos de regulación**

Las vías biosintéticas básicas fueron dilucidadas a través de la cuidadosa identificación y caracterización de numerosas enzimas que intervienen en la biosíntesis. En esta etapa de la investigación, se aprovechó la utilidad de muchos tejidos de plantas que poseían la característica de poseer enzimas de la síntesis de flavonoides en grandes cantidades y que podían ser aisladas con facilidad. Ejemplos de trabajos de este tipo son las células irradiadas de perejil rizado (*Petroselinum hortense*) de las que se aisló la chalcona sintasa (Kreuzaler et al. 1979); los cultivos en suspensión de células de semillas de soja (*Glycine max*) y poroto (*Phaseolus vulgaris*) de los que se aisló la chalcona isomerasa (Moustafa y Wong 1967 Dixon et al. 1982); y las flores de *Matthiola incana*, petunia (*Petunia hybrida*), y *Dianthus caryophyllus*, de las que se aisló la flavanona 3-hidroxilasa, la flavonol sintasa, la flavonoide 3'-hidroxilasa, y la dihidroflavonol reductasa (Forkmann et al. 1980 Spribille y Forkmann 1984, Britsch y Grisebach 1986, Stich et al. 1992).

También se ha descubierto un importante rol de los flavonoides en la fertilidad masculina (fertilidad del polen) a través del análisis de mutantes de maíz y de petunia que tenían una mutación en la primera enzima de la biosíntesis de flavonoides. Sin embargo, un mutante de *Arabidopsis* en la misma enzima era totalmente fértil, lo que demuestra que los flavonoides no son requeridos por todas las plantas para la formación del tubo polínico (para review, ver Shirley 1996).

➤ **Ingeniería genética de flavonoides**

Debido a las importantes funciones metabólicas que los flavonoides tienen en las plantas, sus vías biosintéticas están estrictamente reguladas. La ingeniería genética aprovechó esta característica de los flavonoides para hacerlos blanco de muchos trabajos de ingeniería metabólica. La ingeniería metabólica de flavonoides se puede definir como la tecnología que manipula el ADN que interviene en la biosíntesis de flavonoides. El ADN que interviene en la biosíntesis de flavonoides puede dividirse en el que codifica para compuestos estructurales y en el que codifica para proteínas que regulan la transcripción (recientemente se ha descrito que la biosíntesis puede ser regulada al nivel de la transcripción).

La ingeniería metabólica de flavonoides empezó en 1987 y ha sido un área de investigación muy fructífera en la década del '90. Muchos de los procedimientos están bajo patente.

La ingeniería genética es cara y costosa, por lo que deben realizarse previamente experimentos destinados a conocer en profundidad las vías metabólicas de la planta a tratar, con el objetivo de maximizar las probabilidades de éxito del tratamiento. Por ejemplo, se pueden deducir algunos puntos de sus vías biosintéticas analizando la reacción de la planta ante la presencia de ciertos flavonoides conocidos.

Mejoras en el potencial farmacéutico de las plantas. Algunos flavonoides presentes en las leguminosas, llamados isoflavonoides, pueden actuar como fitoestrógenos, lo cual ha generado interés en el uso de estos compuestos para tratar desórdenes hormonales en humanos. La ingeniería genética se utiliza para buscar la biosíntesis de isoflavonoides en plantas de cultivo donde normalmente están ausentes. Se ha realizado un experimento inicial exitoso en *Arabidopsis thaliana*.

#### ➤ **Uso de los flavonoides para experimentación en otras áreas**

Los flavonoides o sus vías biosintéticas han sido también utilizados para experimentar en otras áreas de la ciencia, por ejemplo:

Uso de las vías biosintéticas de los flavonoides como herramienta. Los flavonoides han contribuido en forma directa o indirecta en el descubrimiento de muchos principios biológicos en los últimos 150 años. Dos ejemplos bien conocidos son el uso que Mendel le dio a los colores de las flores y las semillas de *Pisum sativum*, entre otros caracteres, para desarrollar sus teorías acerca de los mecanismos de la herencia; y el estudio de la pigmentación de los granos de maíz de Barbara McClintock que llevó al descubrimiento de los elementos móviles en el ADN. (Winkel, 2001).

#### ➤ **Uso de los flavonoides en botánica sistemática**

La Botánica Sistemática es la ciencia que se ocupa de establecer relaciones de parentesco entre las plantas a partir de sus características morfológicas, anatómicas, fisiológicas, su estructura del ADN, etc. La Botánica Sistemática asume que mientras más parecidas son dos plantas entre sí, más probable es que estén cercanamente emparentadas.

Por eso mientras más características a analizar haya, más precisa va a ser la determinación del parentesco.

Los flavonoides son extensamente utilizados en Botánica Sistemática, probablemente porque son fáciles de extraer e identificar. Debido a que son muy variables, son más útiles en determinar relaciones entre especies cercanamente emparentadas (o incluso en estudios de variación entre poblaciones de la misma especie), pero también son ocasionalmente útiles para determinar relaciones filogenéticas a niveles más altos. Finalmente, la diversidad en la estructura química de los flavonoides ha demostrado ser útil en estudios de hibridación entre especies. (Martínez, 2005)

## CONCLUSIONES

- Un alimento funcional es cualquier alimento o preparado por el hombre, que contenga una o más sustancias, clasificadas como nutriente o no nutrientes, capaces de actuar en el metabolismo y en la fisiología humana, promoviendo efectos benéficos a la salud, pudiendo retardar el establecimiento de enfermedades crónicas y/o degenerativas y mejorar la calidad y expectativa de la vida de las personas, y que los alimentos contienen sustancias nutricionales y no nutricionales, y entre las principales sustancias no nutricionales tenemos los Compuestos Fenólicos como se indica en el Cuadro N° 02.
- Son muchos los alimentos que contienen flavonoides en su composición, en diferentes proporciones, pero si se puede decir que están la mayoría de las frutas y verduras y otras plantas de uso medicinal, una muestra de eso se puede apreciar en el cuadro N° 08 que Martínez, (2005), nos indica.
- En el Té verde y Té negro se encuentra una gran cantidad de flavonoides, entre las que destacan la Catequinas, los cuales son flavanoles, las teflavinas las terubiginas.
- En la uva y el vino se encuentran los flavonoles como son la quercetina, miricetina y el kaempferol y sus glicósidos, también encontramos las catequinas, el resveratrol.
- En la cerveza tenemos la catequina, la epicatequina, un grupo de las quercitinas. Mientras que en el lúpulo encontramos el xantohumol, la isoxantohumol y la humulona.
- En la soja se tienen las isoflavonas genistéina y daidzeína.
- En los cítricos tenemos la naringina, la hesperidina, la rutina y la diosmina entre las más importantes.
- En las manzanas encontramos un flavonol que es la quercetina.
- En tanto en el tumbo, el sachaculantro, la sachapapa morada, la pituca, el huacatay, el aguaymanto y el tomate, se encontraron en su mayoría quercetina, rutina y morina.
- La quercetina es el flavonoide más abundante, en cuanto, a encontrarse en casi todos los alimentos entre frutas y verduras, como en otras plantas.
- Los flavonoides quercitina y el kaempferol, son tienen mecanismos muy efectivos y muy elevados, en cuanto, a actividad antioxidante, antioxidantes importantes para el control de las concentraciones intracelulares de glutatión, importante antioxidante

celular endógeno, ya que su capacidad antioxidante medida como Trolox es de 4,7 uM, la cual es 5 veces mayor a la demostrada por las vitaminas E y C.

- Por lo tanto, como la quercetina se encuentra en casi todas las frutas y verduras, entonces concluimos en que, la gran mayoría de frutas y verduras tienen acción antioxidante, en el organismo, unos más que otros de acuerdo a la fruta o verdura que consuma.
- Estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que los flavonoides pueden modular la actividad de enzimas citosólicas y microsómicas favorables en la formación de metabolitos carcinógenos, y que se ha confirmado el papel protector de la quercetina, la cual ejerce efectos de inhibición frente a células cancerígenas en humanos: en colon, glándula mamaria y ovario, en región gastrointestinal y en la leucemia.
- La genisteína bloquea el desarrollo de tumores al prevenir la formación de nuevos vasos impidiendo con ello la llegada del oxígeno y nutrientes a las células neotumorales. También modula la reacción de los estrógenos ligándose a sus receptores con lo que disminuye el riesgo de cáncer de mama.
- La genisteína inhibe la inducción estimulada por el factor de necrosis tumoral de moléculas de adhesión celular derivadas del endotelio vascular, podrían ser varios los flavonoides que inhiben la invasión de células cancerígenas por bloqueo de estas moléculas de adhesión que pueden participar en la metástasis de tumores malignos.
- Tanto la quercetina como la genisteína se han comprobado que tienen un efecto anticancerígeno dentro del organismo humano, poniendo en claro que también la quercetina aparece, no solo como antioxidante sino como un compuesto que inhibe el crecimiento de células cancerígenas.
- Con la gran mayoría de flavonoides ensayados hasta el momento, la quercitrina es el más potente, al ejercer su actividad ‘preventiva’ o ‘curativa’ en cuanto a la actividad antiinflamatoria intestinal, a las dosis de 1 y 5 mg/kg, mientras que el resto de los flavonoides ejercen su actividad antiinflamatoria intestinal en un rango de dosis entre 10 y 25 mg/kg, cuando se trata de los heterósidos, y entre 10 y 200 mg/kg cuando estudiaron las geninas.
- Estos flavonoides estudiados como la quercitrina, la rutina, la hesperidina y la morina han demostrado su capacidad de promover la mejora de la funcionalidad absortiva colónica, el cual es uno de los problemas críticos en la Enfermedad de Inflamación Intestinal, como las diarreas y otros. No obstante, únicamente la quercitrina fue capaz

de restaurar completamente el transporte hidroelectrolítico colónico, lo que se tradujo en una reducción de la incidencia de diarrea, uno de los síntomas que caracterizan la inflamación intestinal.

- Los flavonoides, ejercen mayoritariamente un efecto vasodilatador en el músculo liso vascular aislado, de manera dependiente de la estructura del compuesto. El principal mecanismo de esta acción parece relacionado con la inhibición de la proteína cinasa C (PKC) o con alguno de los procesos activados por ésta, aunque la inhibición de otras cinasas, de las PDE de nucleótidos cíclicos y el bloqueo de la entrada de calcio, puede contribuir al efecto en mayor o menor medida.
- Los flavonoles y flavonas son los inhibidores más activos. Las chalconas se comportan como inhibidores más débiles y las flavanonas son generalmente inactivas. Sin embargo, no disponemos de información sobre los efectos de los flavonoides en las diversas isoenzimas de la PKC presentes en el tejido vascular. La cinasa, de la cadena ligera de miosina, es otra enzima esencial en el desarrollo de la contracción en el músculo liso. El kaempferol, un flavonol muy similar a la quercetina, resulta ser un inhibidor relativamente específico de la actividad de esta proteína purificada a partir de la aorta bovina.
- Para algunos flavonoides, como la catequina, la quercetina y la rutina, se ha demostrado un efecto mixto, mientras que la acción de otros antioxidantes se basa en la prevención de la oxidación o en el antagonismo de la toxicidad celular de las LDL oxidadas.
- Se puede concluir que, el consumo de té y vino ayudan de sobremanera en la incidencia de infartos y en enfermedades coronarias, como se puede observar en las Tablas N° 14 y 15 respectivamente, dando así una conformidad en la Tabla N° 16, en cuanto a infartos totales.
- Como podemos notar también la quercetina ayuda mucho en el control de enfermedades de tipo vascular.
- Los estudios básicos y los epidemiológicos han mostrado efectos benéficos de algunos flavonoides, flavanonas y antocianidinas en el sistema cardiovascular, con

particular énfasis en sus efectos vasorrelajante e hipotensor, sin dejar a un lado sus notable capacidad antioxidante y antiagregante plaquetario. A pesar de toda esta positiva evidencia, aún es muy apresurado buscar introducir estos compuestos en la práctica terapéutica, pues es necesario ahondar en los estudios básicos para precisar su mecanismo de acción y la compleja relación estructura química/actividad biológica, que permitiría el diseño de moléculas prototipo que sigan conservando el efecto terapéutico que nos interesa, y que preserven, además, la notable tolerabilidad y ausencia de efectos adversos que estos compuestos presentan. Los conceptos de relación estructura química/actividad biológica que hemos revisado permiten proponer que moléculas con núcleos básicos flavilio, con dobles ligaduras entre los carbonos 2 y 3 del núcleo flavonoide y que posean grupos hidroxilo, serían candidatos excelentes a ser evaluados y modificados químicamente en estudios posteriores para afinar sus perfiles biofarmacéuticos. Paralelamente a lo anterior, será necesario llevar a cabo más estudios epidemiológicos que se centren en no sólo verificar el efecto vasorrelajante y/o hipotensor que a muchos productos naturales que contienen flavonoides se les ha atribuido, sino en evaluar objetivamente la efectividad terapéutica de estos potenciales fitofármacos en comparación con los fármacos empleados actualmente en la práctica clínica, buscando, además, una mejor relación costo/beneficio.

## RECOMENDACIONES

- Poner mas atención y dedicación en trabajos de investigación con relación a las propiedades benéficas de estos metabolitos secundarios de las plantas, ya que no solo los flavonoides son muy importantes y con propiedades y beneficios en la salud, sino que hay muchos más por conocer y probar sus acciones benéficas.
- Aún queda mucho por investigar de los flavonoides, de su valor medicinal, y de su impacto en la nutrición y la salud humana y de los animales. También es necesario continuar la investigación de su estructura, su metabolismo y su biodisponibilidad, por lo que se esperan importantes progresos en este campo.
- Es necesario realizar muchas más investigaciones con respecto a los flavonoides ya que brindan diversos beneficios a la salud humana, con lo cual se recomienda a los docentes y alumnos investigar sobre estos compuestos y como aplicarlas en la ciencia agroindustrial y en nuestra dieta diaria.
- Incidir de manera constante e imperiosa en el consumo de frutas y verduras, en nuestra dieta diaria, ya que son las mayores fuentes de estos compuestos fenólicos, que ayudan mucho en el tratamiento de enfermedades coronarias, cancerígenas, hepáticas y muchos otros, que no se han probado in vivo, pero in vitro dieron buenos resultados.
- Implementar laboratorios para realizar estudios y pruebas para mejorar la información ya recabada, y precisar que flavonoides y a qué nivel actúan en nuestro organismo, específicamente saber cuáles son los alimentos y a qué tipo de enfermedades atenúan.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agostini, Lorena R., Morón Jiménez, A. N., Ayala Gómez, A. (2004). Determinación de la capacidad antioxidante de flavonoides en frutas frescas y tratadas térmicamente. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Órgano oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición. Sevilla – España. Vol. 54 N° 1.
- Aherne SA, O'Brien NM. (2002). Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition*, 18:75-81
- Allué Creus, J. (2001). Fitoestrógenos: biología vegetal y biología animal. Universitat Autònoma de Barcelona. Ginecología Clínica y Quirúrgica. Barcelona – España. 2(3):163-165
- Alston, R. E. & Turner B. L. (1963). "Natural hybridization among four species of *Baptisia* (Leguminosae)". *Am. J. Bot.* 50: 159-173.
- Álvarez Castro, E., Orallo Cambeiro, F. (2003). Actividad biológica de los flavonoides (I). Acción frente al cáncer. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago. Santiago de Chile – Chile. Vol. 22. 7 páginas
- Álvarez Castro, E., Orallo Cambeiro, F. (2003). Actividad biológica de los flavonoides (II) Acción Cardiovascular y Sanguínea. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago. Santiago de Chile – Chile. Vol. 22. 11 páginas.
- Ballesteri, Camuesco D., Gálvez J., Sánchez De Medina F., Zarzuelo A. (2006). Flavonoides y enfermedad inflamatoria intestinal. Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Campus Universitario. Granada – España. 47 (1): 5-21.

- Cambell, Judd W. S., Kellogg, C. S., Stevens, E.A. (2002). "Secondary Plant Compounds" en: Plant systematics: a phylogenetic approach. Second Edition. Sinauer Axxoc, USA. Capítulo 4.
- Cueva Vidal, M. A. Rodríguez Solano, K. P. (2018) Cuantificación de flavonoides totales del mesocarpo y vitamina C del zumo del fruto de *Citrus medica* (L.)“cidra”.
- De Felipe, M. R., Pozuelo, J. M. (2004). Flavonoides, isoflavonoides y salud. Centro de Ciencias Medioambientales (CSIC), Schironia Nº 3.
- De Luis, R. A. (2002). Papel de los flavonoides del té en la protección cardiovascular. Sección de Endocrinología y Nutrición Clínica. Unidad de Apoyo a la Investigación. Hospital Universitario del Río Hortega. Instituto de Endocrinología y Nutrición Clínica. Facultad de Medicina de Valladolid. Valladolid – España.10 páginas.
- Duran, Hebe A. (2003). Cerveza y Salud: Propiedades Antioxidantes y Anticancerígenas del Lúpulo. Departamento de Radiobiología de la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA). Buenos Aires – Argentina. 6 páginas.
- Erin E. Mulvihill, Murray W. Huff, (2010). Propiedades antiaterogénicas de los flavonoides: implicaciones para la salud cardiovascular, Revista canadiense de cardiología, Volumen 26, Suplemento A, Páginas 17A-21A, ISSN 0828-282X,
- Escamila Jiménez, C. I., Cuevas Martínez, Y. & Guevara Fonseca, J. (2009). Departamento de Enfermedades Neurodegenerativas, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN). Facultad de Ciencias, UNAM. Facultad de Medicina, UNAM. Medigraphic Artemisa en línea. Tlalpan – México .Vol. 52. 3 páginas.
- García Mesa, M., Armenteros Herrera, D. M., Mahía Vilas, M., Coma Alfonso, C., Hernández Carretero, J., Díaz Batista, A. & Fernández Montequini, J. (2002). Plantas cítricas en el tratamiento de enfermedades vasculares. Instituto Nacional

de Angiología y Cirugía Vascular. *Revista Cubana Angiol y Cir Vasc. La Habana – Cuba.* 3(2):39-46.

Geleijnse, Johanna M., Hollman, P. CH. (2008). Flavonoids and cardiovascular health: which compounds, what mechanisms? *Am. J. Clinical Nutrition.* EE.UU, 12–13.

González Gallegos, J. Culebras Fernández, J.M., Mataix Verdú, J., Tuñón González, M.J., Sánchez Campos, S. (2001). Papel protector de los flavonoides de la cerveza frente a las alteraciones hepáticas inducidas por estrés oxidativo: estudio de los mecanismos moleculares implicados. Centro de Información Cerveza y Salud. Madrid – España. 36 páginas.

Gross, E. G., Pomilio, A. B., Seldes, A. M. & Burton, G. (1990). *Introducción al Estudio de los Productos Naturales.* Buenos Aires – Argentina. 10 páginas.

Guerrero Rodas L. E. & Llantoy Calero R. P. (2017). Efecto de los flavonoides del té verde (*Camellia Sinensis*) sobre los niveles de hipercolesterolemia en adultos atendidos en un Centro de Salud de Lima- Este.

Gutiérrez Maydata, A. (2002). Vino, Polifenoles y Protección a la salud. *Revista Cubana Aliment Nutr.* Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara “Serafin Ruiz de Zarate Ruiz”. La Habana – Cuba. 16(2):134-41 páginas.

Jeandet, Suowen Xu, Samira Shirooie, (2018). Vías biosintéticas de flavonoides en plantas: objetivos versátiles para ingeniería metabólica, *Avances en biotecnología*, ISSN 0734-9750.

Ioannis Bakoyiannis, Afrodite Daskalopoulou, Vasilios Pergalios, Despina Perrea, (2019). Fitoquímicos y salud cognitiva ¿Los flavonoides están haciendo el truco? *Biomedicina y farmacoterapia*, Volumen 109, Páginas 1488-1497, ISSN 0753-3322

IUPAC Compendium of Chemical Terminology. Flavonoides (isoflavonoides y neoflavonoides).

- Ledesma Escobar C. A., Priego Capote F., Luque de Castro M. D., (2019). Capítulo 9. Relevancia y análisis de los flavonoides cítricos, Editor (es): Ronald Ross Watson, Polifenoles en plantas (Segunda edición), Academic Press, páginas 133-150, ISBN 9780128137680,
- Lock De Ugaz, O. (1994). Investigación Fotoquímica. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. Segunda Edición. Lima – Perú. 10 páginas.
- Martínez Flores, S., Gonzáles Gallego, J., Culebras, J. M. & Tuñón, M.<sup>a</sup> J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp.* XVII (6) 271-278
- Martinez M. A. (2005). Flavonoides. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Medellín – Colombia. 76 páginas.
- Morand, C. (2014). Interés de los alimentos ricos en flavonoides para el mantenimiento de la salud cardio-metabólica. *Medicina de las enfermedades metabólicas*, Volumen 8, Número 5, Páginas 477-482, ISSN 1957-2557.
- Morato Gimferrer, N. (2010). La Cebolla, nuevo conservante natural. *Consuma Seguridad Portal Veterinaria*. ([http:// www.consumaseguridad.com](http://www.consumaseguridad.com)).PDF.
- Murphy K. J., Walker K. M., Dyer K. A., Bryan J., (2019). Estimación de la ingesta diaria de flavonoides y las principales fuentes de alimentos en hombres y mujeres australianos de mediana edad, *Investigación nutricional*, Volumen 61, Páginas 64-81,ISSN0271-5317.
- Navarro Cruz, A. R., Vera López, O., Muños Belloda, R., Melgoza Palma, N., Lazcano Hernández, M., Gómez Crisóstomo, M. R., Romero Vásquez, M. (2010). Estudio de la Concentración de Quercetina en las variedades de Manzana (*Malus domestica*) Fuji, Red Delicious y Delicia. XII Congreso Nacional De Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Guanajuato – México. 10 páginas.

- Palazón J., Cusidó R. M. & Morales C. (2002). Metabolismo y significación biológica de los polifenoles del vino. Grupo de Biotecnología Vegetal, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona. Barcelona – España.
- Peña Neira, Á. (2004). Composición fenólica de uvas y vinos. Aspectos generales. Departamento de Agroindustria y Enología. Grupo de Investigación Enológica (GIE). Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile. Casilla 1004. Santiago – Chile. 3 páginas.
- Pérez Trueba, G. (2003). Los flavonoides: Antioxidantes o Prooxidantes. Revista Cubana Invest Biomed. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas Victoria de Girón. La Habana – Cuba. 22(1):48-57 páginas.
- Roy, H., Lundy, Sh., Brantley, Ph. (2002). Cocoa Polyphenols. Pennington Biomedical Research Center. Division of Education. Washington D.C. – EE.UU.
- Russo, R. O. (2006). Los flavonoides en la terapia cardiovascular. Revista Costarricense de Cardiología. Guácimo - Costa Rica. 6 páginas.
- Singleton, V. L. (2002). Flavonoids. En: Childester CO, Mrak EM, Stewart GF (editores). Advances in Food Research. Academic Press. Nueva York – EE.UU. 149-242.
- Tenorio Lopez, F. A., Del Valle Mondragón, L., Pastelín Hernández, G. (2006). Los flavonoides y el sistema cardiovascular: ¿Pueden ser una alternativa terapéutica? Tlalpan – México. Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”. Vol. 76. 13 páginas.
- Valencia Ortiz, C. (1995). Fundamentos de Fotoquímica. Editorial TRILLAS. México D.F. – México. 1ª Edición.
- Viloria Matos, M. P., Miguel Garcia. D. (2004). Evaluación de la Actividad Antioxidante de Extractos de Flavonoides de Cascara de Naranja en el aceite de Soja Desodorizado. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe,

España y Portugal. Universidad Autónoma del Estado de México. Caracas – Venezuela. Vol. 29. pp. 532-538.

Winkel, Shirley, B. (2001). "Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology". *Plant Physiology* 126: 485-493.

Winkel, Shirley, B. (2001b). "It takes a garden. How work on diverse plant species has contributed to an understanding of flavonoid metabolism". *Plant Physiology* 127: 1399-1404.

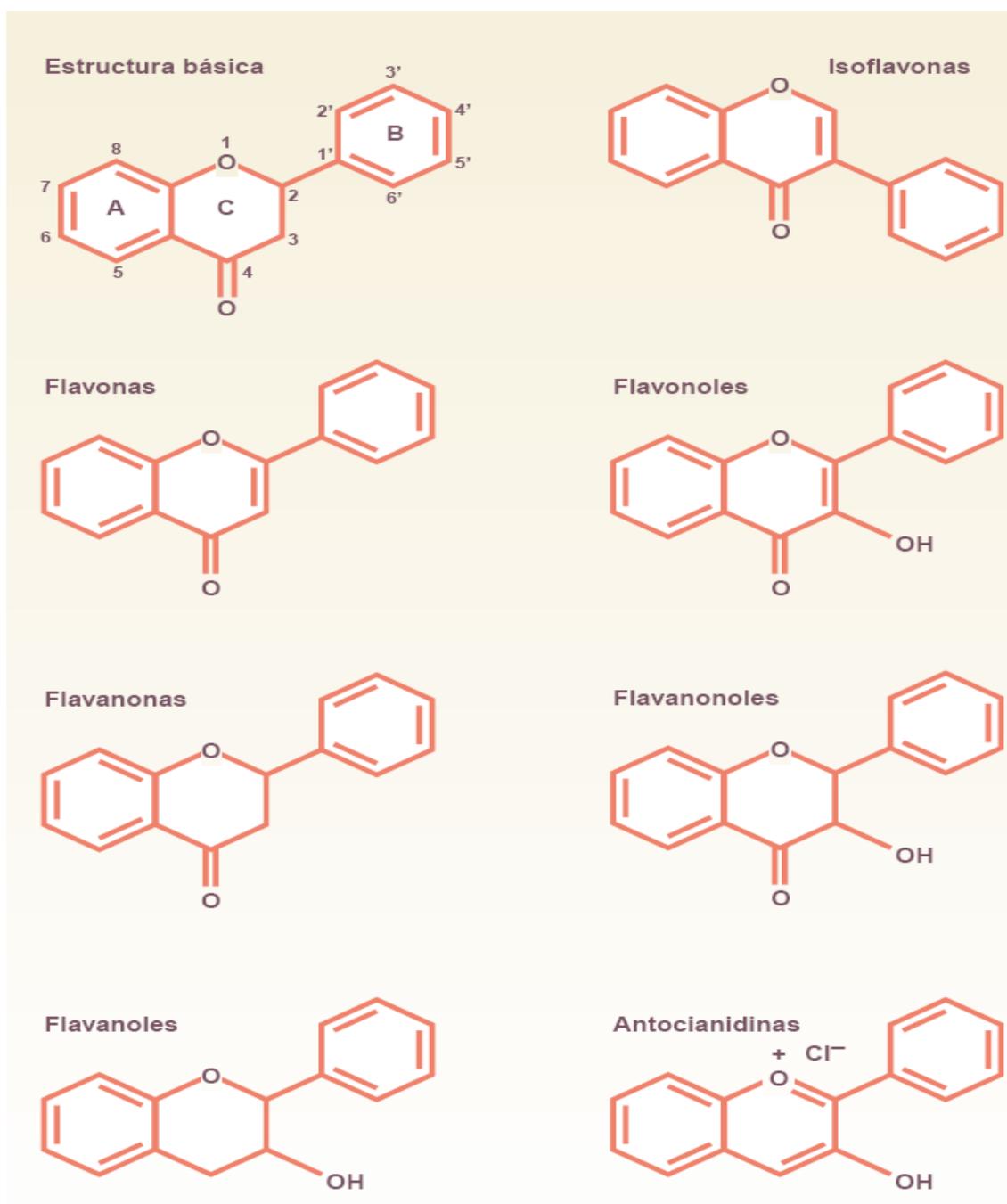
Xin-Yu Liu, Xia Lv, Ping Wang, Chun-Zhi Ai, Qi-Hang Zhou, Moshe Finel, Bin Fan, Yun-Feng Cao, Hui Tang, Guang-Bo Ge, (2018). Inhibición de UGT1A1 por flavonoides naturales y sintéticos, *Revista Internacional de Macromoléculas Biológicas*, ISSN 0141-8130.

Xuan Chen, Zeyuan Deng, Chengyue Zhang, Shilian Zheng, Yao Pan, Hongming Wang, Hongyan Li, (2018). ¿Es la actividad antioxidante de los flavonoides principalmente a través del mecanismo de transferencia del átomo de hidrógeno?, *Academia Internacional de Investigación de Alimentos*, ISSN 0963-9969,

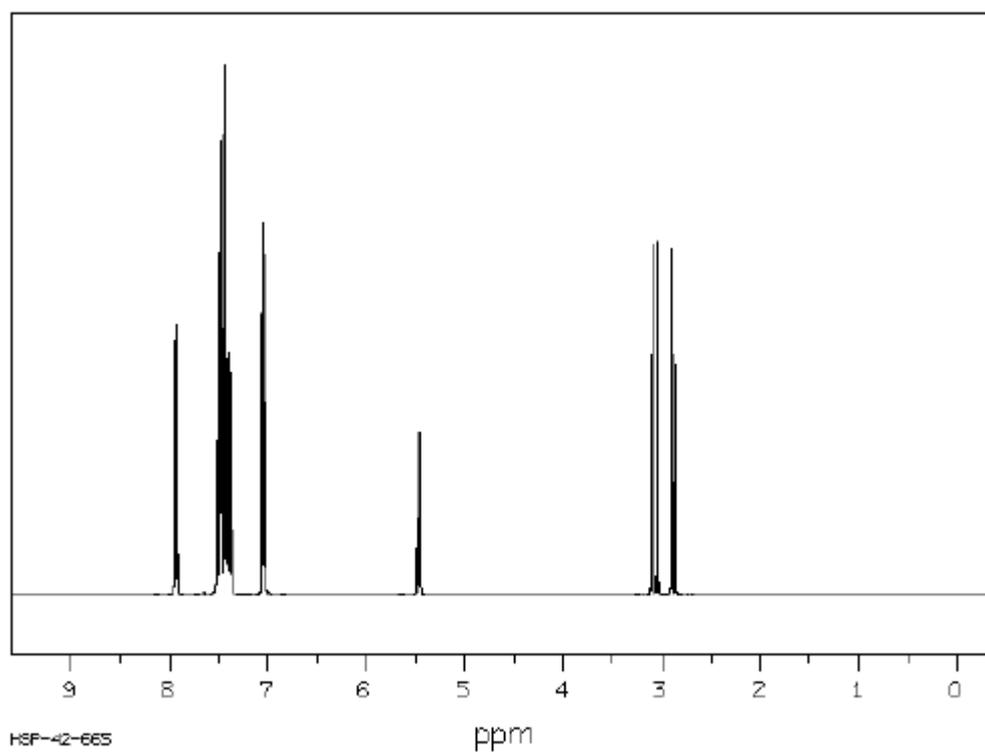
Zavaleta, J. (2004). Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. Facultad de Medicina Humana, USMP. Lima – Perú. 12 páginas.

## VI. ANEXOS

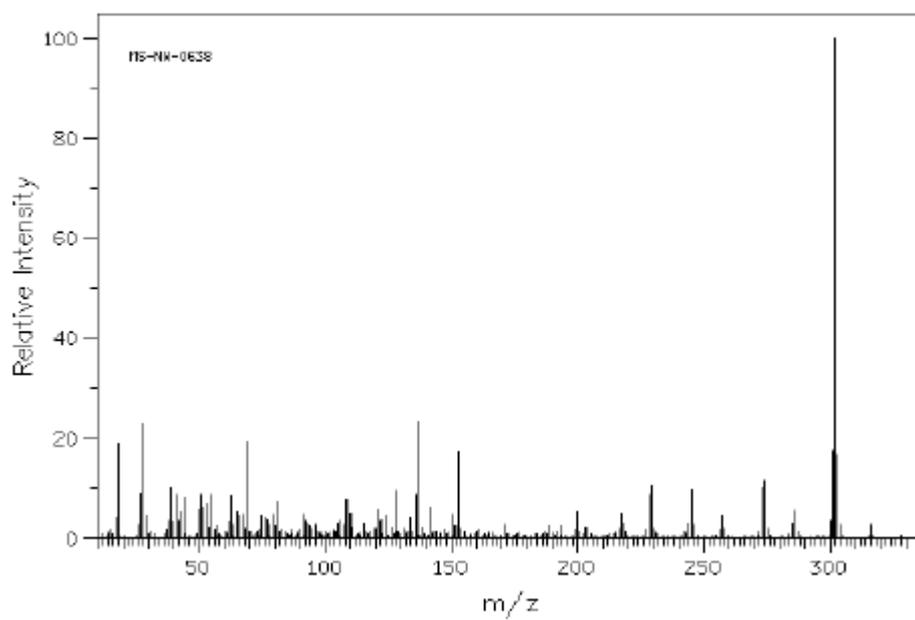
## ANEXO N° 01



Estructura química básica de los flavonoides y de las distintas subfamilias

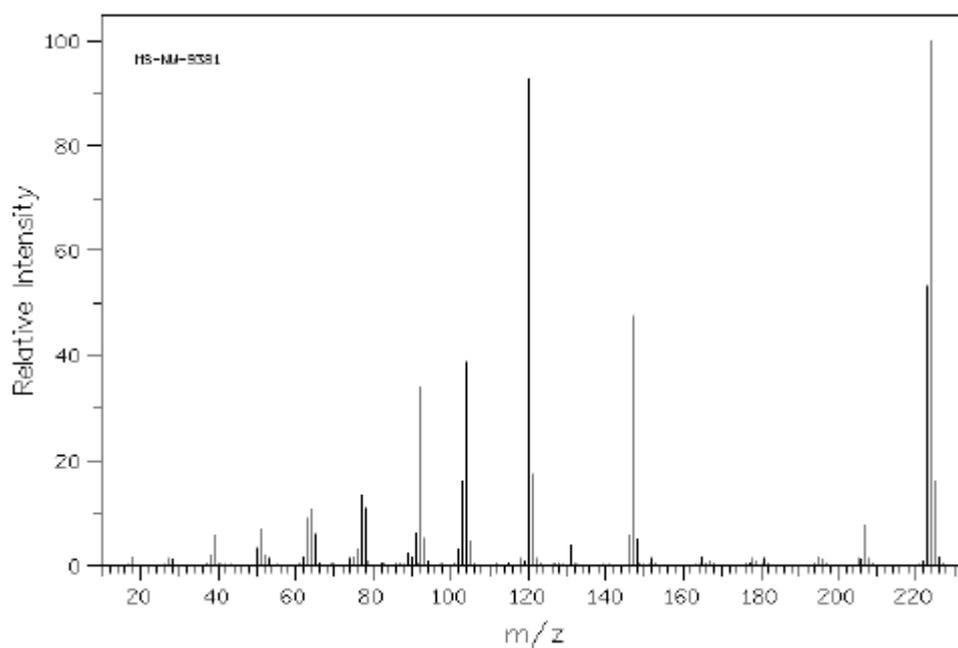
**ANEXO N° 02**

Espectrometría de Resonancia Magnética Nuclear de la flavanona

**ANEXO N° 03**

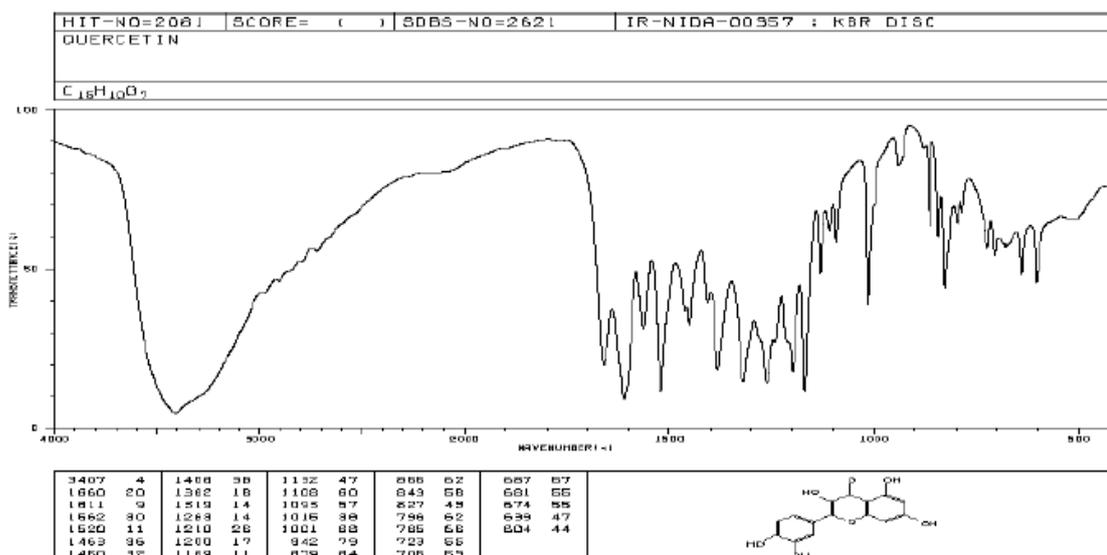
Espectrometría de masas de la quercetina

## ANEXO N° 04



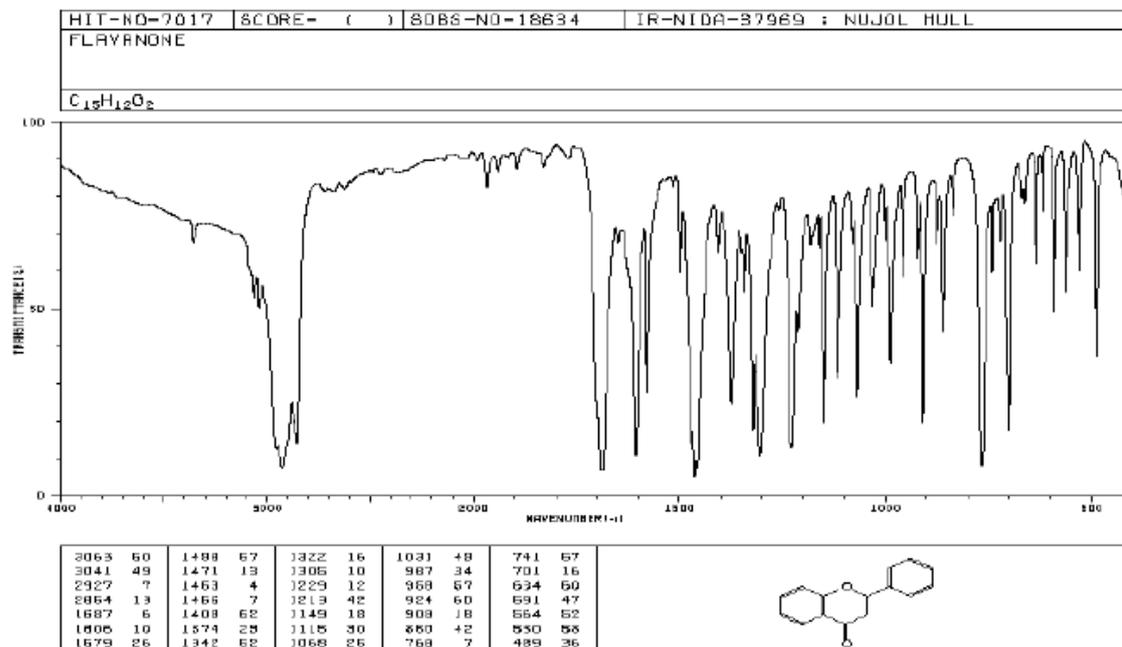
Espectrometría de masas de la flavanona

## ANEXO N° 05



Espectroscopia infrarrojo de la quercetina

## ANEXO N° 06



Espectroscopia infrarrojo de la flavanona

## ANEXO N° 07



Naranjas

**ANEXO N° 08**



Fresas

**ANEXO N° 09**



Manzana

**ANEXO N° 10**



Sachaculantro

**ANEXO N° 11**



Chocolate y Cacao

**ANEXO N° 12**



Sachaculantro

**ANEXO N° 13**



Cebollas

**ANEXO N° 14**

Cacao

**ANEXO N° 15**

Tumbo

**ANEXO N° 16**



Lúpulo

**ANEXO N° 17**



Uvas y vino

**ANEXO N° 18**

Cerveza y Lúpulo

**ANEXO N° 19**

Cítricos

**ANEXO N° 20**



Tomate

**ANEXO N° 21**



Te verde

**ANEXO N° 22**



Te negro

**ANEXO N° 23**



Te verde

**ANEXO N° 24**



La soja

**ANEXO N° 25**



La Pituca