

**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE GRANMA
FILIAL EFRAÍN BENÍTEZ POPA
BAYAMO.**

**Método para la obtención de flavonoides de hojas de Tamarindus indica Lin.
A method for the obtention of flavonoids from the leaves of Tamarindus
indica Lin.**

Valentín Balbuena Escalonaⁱ. Isabel Calderius Espinosaⁱⁱ.

RESUMEN

Con el vocablo Flavonoide se identifica a un grupo de metabolitos secundarios de los vegetales que dentro de las propiedades más importantes que presentan, pueden señalarse sus efectos como cardiotónicos, hepatoprotectores, anticancerosos, antitrombóticos, antiinflamatorios, analgésicos y antimicrobianos.

Aunque se ha reportado actividad de inhibición del crecimiento de microorganismos enfrentados a extractos obtenidos de hojas de Tamarindus indica Lin, se conoce insuficientemente los metabolitos responsables de ello, lo cual, teóricamente pudiera deberse a los flavonoides isoorientina, orientina, isovitexina y vitexina, identificados en dichos extractos. Para posteriormente demostrarlo, se requirió obtenerlos utilizando un método adecuado, por lo que el estudio se propuso evaluar la extracción de flavonoides de sus hojas, empleando el método sólido-líquido y líquido-líquido, basado en la polaridad del butanol y en la basicidad de la solución del bicarbonato de sodio usando menor cantidad de reactivos que otros métodos y con menos peligrosidad por ser inferior la toxicidad de los reactivos manipulados.

Se concluyó que el nuevo método para la extracción de flavonoides logró su propósito y se identificó, química y espectroscópicamente la presencia de flavonoides (flavonas) en el extracto obtenido.

Descriptores DeCS: FLAVONOIDES/uso terapéutico; TAMARINDOS/química; FITOTERAPIA.

Abstract

With the term flavonoid it is identified a group of secondary metabolites of vegetables that present important properties like: cardiotonics, hepatoprotectors, anticancerous, antitrombotic, antiinflammatory, analgesic, and antimicrobials. Although it has been reported the inhibition activity related to the growth of microorganisms against the extracts obtained from the leaves of *Tamarindus indica* Lin. The knowledge of metabolites that provoke this effect is still poor, which theoretically could be the cause of flavonoids isoorientine, orientine isovitexine and vitexine, identified in these extracts. To prove the aforesaid, they were obtained with an adequate method, evaluating the extraction of flavonoids from their leaves, applying the solid-liquid and liquid-liquid methods, based on the polarities of butanol and basicity of sodium bicarbonate solution using less amount of reagents than other methods, being less dangerous because the toxicity of the manipulated reactions is inferior.

To conclude, the new method for the extractions of flavonoids finally reached its purpose and it was identified chemically and spectroscopically the presence of flavonoids in the obtained extract.

KEY WORDS: FLAVONOIDS/therapeutic use; TAMARINDOS/chemistry; PHYTOTHERAPY.

INTRODUCCIÓN

Con el vocablo Flavonoide (proveniente del latín flavus, "amarillo") se identifica a un grupo de metabolitos secundarios de los vegetales (1).

Se clasifican, según las isomerizaciones y los grupos funcionales que les son adicionados a su esqueleto, en seis grupos principales: las antocianinas, las chalconas, las flavonas, los flavonoles, los flavandioles y los taninos condensados. Existe, además, una séptima clase: las auronas, consideradas por varios autores como tal, al existir en un número importante de vegetales (otros que no la consideran, las incluyen en las chalconas)(2).

También hay otros de estos compuestos, que poseen modificaciones que no entran dentro de ninguna de estas clases principales ya que el esqueleto puede sufrir modificaciones, convirtiéndose entonces en un isoflavonoide, derivado de la estructura 3-fenilcromen-4-ona (3-fenil-1,4-benzopirona) o en un neoflavonoide, derivado de la estructura 4-fenilcumarina (4-fenil-1,2-benzopirona), que por lo tanto también son derivados de los flavonoides.

Estos compuestos se producen en todas las plantas y aunque comparten la vía biosintética fundamental, su estructura y concentración son diferentes entre especies y en función de respuesta al medio ambiente (1).

Los flavonoides que el hombre consume (el organismo humano no tiene la capacidad de sintetizar éstos), por medio de su dieta lo protegen de los oxidantes, de determinadas sustancias químicas contenidas en otros alimentos, así como, de la contaminación ambiental.

Dentro de las más importantes propiedades, pueden señalarse:

Propiedades cardiotónicas: su efecto tónico sobre el corazón, potencian el músculo cardíaco y mejoran la circulación. Esta acción se atribuye principalmente a la quercetina.

Propiedades hepatoprotectoras: algunos flavonoides han demostrado disminuir la probabilidad de enfermedades en el hígado. Existen pruebas de laboratorio que demuestran que la silimarina protege y regenera el hígado durante la hepatitis. También la apigenina y la quercetina, actúan sobre dolencias digestivas, como los vómitos y la sensación de plenitud.

Propiedades anticancerosas: muchos flavonoides inhiben el crecimiento de las células cancerosas. Se ha probado contra el cáncer de hígado

Propiedades antitrombóticas: la capacidad de estos compuestos para evitar la formación de trombos sanguíneos permite la prevención de muchas enfermedades cardiovasculares.

Propiedades Antiinflamatoria y analgésica: la hesperidina por sus propiedades antiinflamatoria y analgésica, se ha utilizado para el tratamiento de ciertas enfermedades como la artritis.

Antimicrobianos: los isoflavonoides han demostrado tener propiedades antibacterianas, antivirales y antifúngicas (1).

Dentro de la especies que tienen flavonoides con efecto terapéutico, se encuentra el Tamarindus indica Lin del que se ha probado el efecto de sus frutos como laxante suave, como diurético, antiséptico y antilitiásico renal, además a esta planta, se le atribuyen otras propiedades aún por demostrar, por ejemplo (3) (4) :

Uso de las hojas como hepatoprotector, espasmolítico, antigripal, antidiabético y antibacteriano (tópico)

Pulpa de los frutos como antibacteriano

Empleo de la raíz como antiictérica

Es importante significar que existen referencias de trabajos científicos desarrollados (TRAMIL) acerca de la evaluación de la actividad hepatotropa utilizando hepatocitos aislados de ratas intoxicadas con Terbutil hidroperóxido y la evaluación antirradicalaria

de los extractos en un modelo clínico in Vitro (Test de inhibición del radical difenil picril hidrazil).

Otros trabajos ejecutados por Sur et al en 1981 y Cáceres et al en 1987 han demostrado que los extractos de sus frutos inhiben la formación de cristales de oxalato de calcio en la orina, así como que la pulpa es un diurético muy activo y produce inhibición sobre las bacterias Gram negativas que provocan infecciones urinarias (5).

Aunque se ha reportado actividad de inhibición del crecimiento de microorganismos enfrentados a extractos obtenidos de hojas de *Tamarindus indica* Lin, se conoce insuficientemente los metabolitos responsables de ello. Esto genera una contradicción desde el punto de vista científico pues se ignora si el efecto antimicrobiano es producido por uno, varios o por sinergismo entre éstos. La situación tiene también implicaciones epistemológicas ya que existe una necesidad teórico-práctica en los profesionales de las Ciencias Biomédicas manifestada por la insuficiencia de conocimientos sobre la actividad reportada en estudios precedentes.

A partir de esta situación problemática, se tuvieron en cuenta las siguientes premisas:

Se considera en la actualidad que la actividad antimicrobiana puede estar influida por sinergismo de los principios contenidos en los extractos o al pH que presentan (6) (7).

La actividad observada, teóricamente pudiera deberse a los flavonoides isoorientina, orientina, isovitexina y vitexina, identificados en extractos de sus hojas.

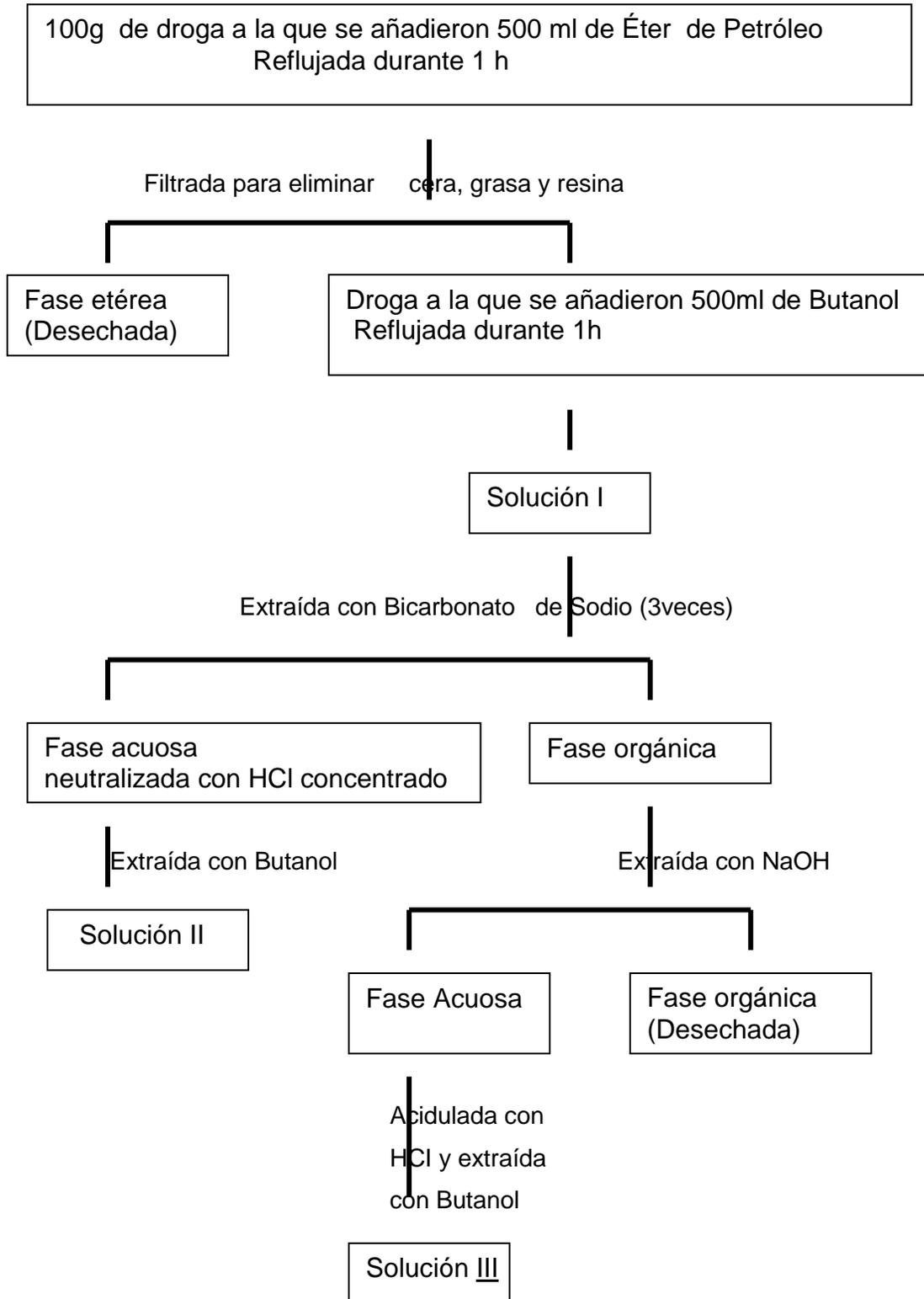
Se necesita perfeccionar el conocimiento a través de una evaluación preclínica que permita dar respuesta a las contradicciones anteriormente expuestas por lo se requiere obtener flavonoides de la planta empleando un método adecuado.

Por ello, el estudio se propuso evaluar un método de extracción de flavonoides de hojas de *Tamarindus indica* Lin empleando el método sólido-líquido y líquido-líquido, basado en la polaridad del butanol y en la basicidad de la solución del bicarbonato de sodio

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la extracción de flavonoides se empleó el método sólido-líquido y líquido-líquido, basado en la polaridad del butanol y en la basicidad de la solución del bicarbonato de sodio, diseñado por Calderús y Araluce, miembros del equipo de investigación del autor, para el estudio del *Tamarindus indica* Lin, que resultó efectivo por ser los flavonoides preferentemente solubles en solventes polares como el butanol.

El esquema de extracción fue el siguiente



Existen otros métodos basados en la polaridad de los solventes que usan mayor cantidad de reactivos, por ejemplo:

Uno emplea Etanol, Éter etílico, Éter de petróleo, Benceno, Tetracloruro de Carbono, Cloroformo y Acetona; en otro se usa Etanol, Éter de petróleo, Éter etílico, Bicarbonato de sodio, Carbonato de sodio, Hidróxido de sodio y Ácido clorhídrico lo que los hace más caros y además su peligrosidad es mayor por ser de alta toxicidad los reactivos que se emplean.

Por otra parte, los resultados en relación con la extracción de flavonoides, de acuerdo a pruebas realizadas, resultan similares.

A las soluciones se le realizaron diferentes ensayos químicos la solución I fue positiva para los ensayos que determinaban la presencia de flavonoides y con las soluciones II y III, se obtuvieron los siguientes resultados:

Ensayo	Coloración presentada	Solución II	Solución III
A	Rojo pardo	+ Todos los Flavonoides	—
B	Amarillo	+ Flavonas y Flavonoles	—
C	Malva	—	—
D	Amarillo	+ Flavonas y Flavonoles	—

Leyenda:

A- A un volumen de muestra se le añadió igual volumen de ácido concentrado, se calentó a ebullición y se dejó enfriar. Positivo cuando se colorea la solución de azul, violeta o rojo pardo.

B- El extracto de flavonoides se basificó. Positivo para identificar estructuras según el color de la solución:

- Antocianinas-----azul
- Calconas-----rojo
- Flavonoles-----anaranjado
- Flavonas e isoflavonas-----rojizo
- Flavonas y flavonoles-----amarillo

C- Shinoda modificado: a una muestra del extracto se le añadió zinc y ácido clorhídrico concentrado, gota a gota, hasta que le volumen no fuera superior a la mitad del original. En éste caso sólo los flavonoles desarrollan coloración verdosa y azulosa.

D-Las flavonas y flavonoles cuando se tratan con unas gotas de ácido sulfúrico concentrado desarrollan una coloración amarilla intensa. Las flavonas diversas tonalidades de anaranjado o guinda y las calconas o auronas a rojo azulado.

Según los resultados anteriores, se puede afirmar que en la Solución II se encuentran los flavonoides, que de acuerdo a los ensayos químicos realizados podrían ser flavonas o flavonoles.

Al realizar el estudio espectroscópico, que se basa en que cuando un rayo de luz pasa a través de un compuesto orgánico o de una solución del mismo, en un solvente adecuado, se producen varios tipos de absorción de energía radiante, empleando un espectrómetro Shimadzu UV 160, en el rango de 200 a 550 nm, la absorción molecular ultravioleta y visible depende de las estructuras electrónicas de las moléculas, es decir que esta parte del espectro se determina por la excitación de los electrones. Por lo tanto la absorción de energía en la región UV que se aplicó a la solución de estudio, es el resultado de una excitación electrónica y de todas las posibles, son las de los enlaces conjugados las de mayor interés.

Las flavonas y los flavonoles presentan dos bandas de absorción características que se encuentran: la primera en el rango de 330-350 nanómetros (nm) y la segunda en el rango de 250 a 270 nm. Los flavonoles pueden extenderse hasta 390 nm.

En la Solución I se obtuvieron todos los máximos de absorción; en la Solución II los siguientes:

Máximos de absorción	Longitud de onda
1	346 nm
2	270 nm
3	218 nm

y en la Solución III sólo a 220 nm, lo que concuerda con el análisis químico realizado pues al existir máximos de absorción entre 250 – 270 nm y 330 – 350 nm, característico de los flavonoides y al no existir por encima de los 350 nm, la posibilidad es la existencia de flavonas y no de flavonoles en los extractos de las hojas del tamarindo.

Estos resultados concuerdan con lo descrito por M. Dehesa, O. Jáuregui y S. Cañigual, en un estudio por HPLC – MS/MS de compuestos fenólicos presentes en las hojas de

Tamarindus indica Lin. donde se identificaron los flavonoides (flavonas): isorientina, orientina, isovitexina y vitexina, así como compuestos fenólicos no reportados con anterioridad como la apigenina, ácidos ferúlico y caféico, luteolina-7-O-glucósido, luteolina, rutina y vicenina, en los extractos de sus hojas (8).

CONCLUSIONES

El nuevo método empleado para la extracción de flavonoides logró su propósito y se identificó, química y espectroscópicamente la presencia de flavonas en el extracto obtenido.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Flavonoide. Wikipedia. La Enciclopedia libre [en internet] 2010 mayo [modificada por última vez 24 jun 2009]. Disponible en: <http://www.wikipedia.org/wiki/Flavonoide>
2. - Graf BA, Milbury PE, Blumberg, JB. Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence. *J Med Food* 8: 281–290
3. - Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana: Editorial Científico Técnica; 1988:1125
- 4.- FITOMED. Rev Elect [En Infomed Red Telemática de Salud en Cuba] 1999 - 2003 [citada el 12 de enero de 2009] Disponible en: <http://www.sld.cu/fitomed/index.html>
- 5.- Enda. Caribe/MINSAP. Tamarindus indica L. 1989; 248-50
6. - Doughari J H. Antimicrobial Activity of Tamarindus indica Linn Tropical Journal of Pharmaceutical Research, December 2006; 5 (2): 597-603 Available online at <http://www.tjpr.org>
- 7.- Abukakar M G, Ukwuane A N and Shehu R a. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Tamarindus indica Pulp Extrac. Asian Journal of Biochemistry. 2008; 3(2):134-138.
8. - Dehesa Marco A, Jáuregui Olga, Cañigueral Salvador. Estudio por HPLC- MS/MS de compuestos fenólicos presentes en las hojas de Tamarindus indica L. Revista de Fitoterapia 2006; 6(S1). Disponible en: <http://www.fitoterapia.net>

i Profesor Auxiliar, Investigador Agregado
ii Instructora. Especialista CPHE