

- Kiuchi, F., Iwakami, S., Shibuya, M., Hanaoka, F. et Sankawa, U. (1992). Inhibition of Prostaglandin and Leukotriene Biosynthesis by Gingerols and Diarylheptanoids, *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, 387-391.
- Kikuzaki, H. et Nakatani, N. (1996). Cyclic Diarylheptanoids from Rhizomes of *Zingiber officinale*, *Phytochemistry*, **43**, 273-277.
- Phillips, S., Ruggier, P. et Hutchinson, S.E. (1993). *Zingiber officinalis* (Ginger) - An Antiemetic for Day Case Surgery, *Anaesthesia*, **48**, 715-717 ; commentaire : Lumb, A.B., *ibid.*, 1118.
- Nishimura, O. (1996). Identification of the Characteristic Odorants in Fresh Rhizomes of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) Using Aroma Extract Dilution Analysis and Modified Multidimensional Gas Chromatography-Mass Spectroscopy, *J Agric. Food Chem.*, **43**, 2941-2945.

Estilbenoides

- Jang, M., Cai, L., Udeani, G.O., Slowing, K.V., Thomas, C.F., Beecher, C.W.W., Fong, H.H.S., Farnsworth, N.R., Kinghorn, A.D., Mchta, R.G., Moon, R.C. et Pezzuto, J.M. (1997). Cancer Chemopreventive Activity of Resveratrol, a Natural Product Derived from Grapes, *Science*, **275**, 218-220.
- Kopp, P. (1998). Resveratrol, a Phytoestrogen Found in Red Wine. A Possible Explanation for the Conundrum of the 'French Paradox' ? *Eur. J Endocrinol.*, **138**, 619-620.
- Soleas, G.J., Diamandis, E.P. et Goldberg, D.M. (1997). Resveratrol : A Molecule whose Time has Come? and Gone ? *Clin. Biochem.*, **30**, 91-113.

Xantonas

- Iinuma, M., Tosa, H., Tanaka, T., Asai, F., Kobayashi, Y., Shimano, R. et Miyauchi, K.-I. (1996). Antibacterial Activity of Xanthonas from Guttiferae Plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *J. Pharm. Pharmacol.*, **48**, 861-865.

Kava

- Boonen, G. et Häberlein, H. (1998). Influence of Genuine Kavapyrone Enantiomers on the GABA_A Binding Site, *Planta Med.*, **64**, 504-506, voir aussi Boonen *et al.*, *ibid.*, 507-510.
- Lebot, V., Merlin, M. et Lindstrom, L. (1992). Kava - The Pacific Drug, Yale University Press, New Haven.
- Lebot, V. et Levesque, J. (1996). Genetic Control of Kavalactone Chemotypes in *Piper methysticum* Cultivars, *Phytochemistry*, **43**, 397-403.
- Singh, Y.N. et Blumenthal, M. (1997). Kava - An Overview, *HerbalGram*, (39), 33-55.
- Voiz, H.-P. et Kieser, M. (1997). Kava-kava Extract WS 1490 versus Placebo in Anxiety Disorders - A Randomized Placebo-controlled 25-week Outpatient Trial, *Pharmacopsychiatry*, **30**, 1-5.

Flavonoides

1. Introducción	306
2. Distribución, localización.	307
3. Estructura química y clasificación	308
A. Flavonas, flavonoles	308
B. Flavanonas y dihidroflavonoles	309
C. Biflavonoides	310
D. Chalconas, auronas	310
E. Heterósidos flavonoídicos	310
F. Caso particular: C-heterósidos	312
4. Origen biosintético	312
5. Propiedades físico-químicas, extracción, caracterización, valoración	314
6. Propiedades biológicas	317
7. Empleo de drogas con flavonoides.	321
8. Utilización de los flavonoides en terapéutica	321
9. Principales flavonoides comercializados	323
citroflavonoides	323
rutósido	324
10. Drogas que deben parte de su actividad a los flavonoides	325
ginkgo	325
pasiflora	329
tomillo, manzanilla romana	331
milénrama	333
cola de caballo	336
Aspalathus	339
11. Bibliografía	339
Isoflavonoides (343), <i>Derris</i>	346
Neoflavonoides (348), <i>Calophyllum</i>	349

1. INTRODUCCIÓN

Los flavonoides *lato sensu* son pigmentos casi universales en los vegetales. Casi siempre hidrosolubles, son responsables de la coloración de las flores, frutos y a veces de las hojas. Así ocurre con los flavonoides amarillos (chalconas, auronas, flavonoles amarillos), con los antocianósidos rojos, azules o violetas. Si no son directamente visibles, contribuyen a la coloración por su papel de copigmentos: así ocurre con las flavonas y flavonoles incoloros que copigmentan y protegen a los antocianósidos. En algunos casos, la zona de absorción de la molécula se sitúa en el ultravioleta próximo: la «coloración» se percibe únicamente por los insectos que se sienten así eficazmente atraídos y guiados hacia el néctar y obligados por lo tanto a asegurar el transporte del polen que condiciona la supervivencia de la especie vegetal. Los flavonoides se encuentran también en la cutícula foliar y en las células epidérmicas de las hojas, asegurando así la protección de los tejidos contra los efectos nocivos de las radiaciones ultravioletas.

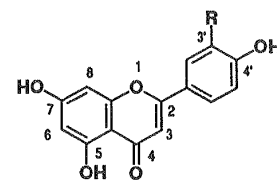
Todos los flavonoides —más de 4.000— poseen un origen biosintético común y, por este motivo, un mismo elemento estructural básico, a saber un encadenamiento 2-fenilcromano*. Se pueden reagrupar en una docena de clases según el grado de oxidación del núcleo piránico central, que puede estar abierto y vuelto a ciclar en una estructura furánica (dihidrofuranona):

- 2-fenilbenzopirilios, *i.e.* antocianos;
- 2-fenilcromonas;
 - flavonas, flavonoles y sus dímeros,
 - flavanonas y dihidroflavonoles (derivados 2,3-dihidrogenados);
- 2-fenilcromanos;
 - flavanos,
 - flavan-3-oles, flavan-3,4-dioles**;
- chalconas y dihidrochalconas (se encuentra abierto el ciclo piránico);
- 2-bencilidencumaranonas (= auronas).

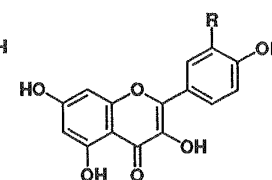
Algunos autores aplican indistintamente el término de flavonoide a todos estos compuestos. Aunque efectivamente se puede —dada la homogeneidad estructural— hablar de flavonoides *lato sensu* para este amplio conjunto de sustancias, es preferible, teniendo en cuenta su comportamiento y sus propiedades particulares, separar los derivados flavánicos, antocianósidos e isoflavonoides y conservar el término de flavonoides (*stricto sensu*) para las flavonas, flavonoles, sus derivados 2,3-dihidrogenados, sus dímeros y los flavonoides «amarillos», auronas y chalconas.

* La migración del fenilo da lugar a 3-fenilcromano, estructura básica de los *isoflavonoides* que de manera voluntaria se han separado del grupo y tratado independientemente (pág. 343).

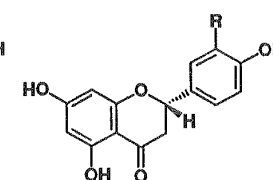
** Las estructuras oligoméricas y poliméricas, *i.e.* los proantocianidoles son, junto con los poliésteres gálicos de la glucosa y sus derivados, taninos.



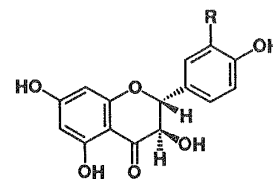
FLAVONAS
R = H, apigenol
R = OH, luteolol



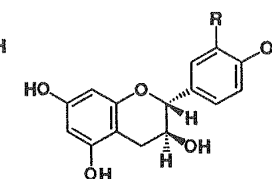
FLAVONOLES
R = H, kaenferol
R = OH, quercetol



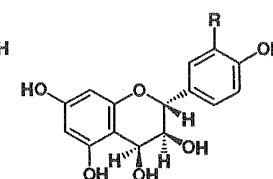
FLAVANONAS
R = H, naringetol
R = OH, eriodictiol



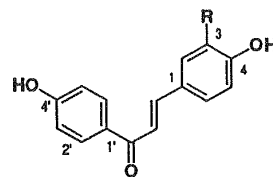
DIHIDROFLAVONOLES
R = H, dihidrokaenferol
R = OH, dihidroquercetol



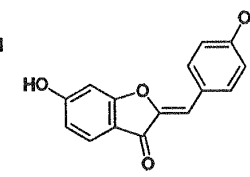
FLAVAN-3-OLES
R = H, afzelecol
R = OH, catecol



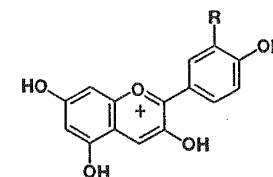
FLAVAN-3,4-DIOLES
R = H, leucopelargonidol
R = OH, leucocianidol



CHALCONAS
R = H, isoliquiritigenina
R = OH, buteína



AURONAS
hispidol



ANTOCIANIDOLES
R = H, pelargonidol
R = OH, cianidol

2. DISTRIBUCIÓN, LOCALIZACIÓN

Distribución. La presencia de flavonoides en las Algas no se ha demostrado hasta el momento. Aunque son frecuentes en Bryophytas (Musgos y Hepáticas), se trata de flavonoides *stricto sensu*, mayoritariamente de *O*- y *C*-heterósidos de flavonas y de derivados *O*-urónicos. En Pteridophytas no es mayor la variedad estructural de flavonoides, las Psylotales y Selaginellales se caracterizan por la presencia de biflavonoides, las Equisetales por la de proantocianidoles. Los *O*-heterósidos de flavonoles dominan en los Helechos que, según algunos autores, elaboran asimismo chalconas o proantocianidoles. En Gymnospermas, los proantocianidoles son bastante constantes y se observa la presencia, en Cycadales y Coniferales (a excepción de Pinaceae) de biflavonoides, ausentes en Gnetales; la distribución de estos compuestos y de heterósidos de flavonas y flavonoles que los acompañan varía netamente, en este

caso, en función del órgano (leño, corteza, hojas). La diversidad estructural de flavonas es máxima en Angiospermas: así una treintena de tipos de flavonoides se han podido identificar en las Asteraceae.

Numerosos autores se han encargado de relacionar la distribución de estas moléculas con los distintos sistemas taxonómicos propuestos por los sistemáticos contemporáneos*: en líneas generales no están en desacuerdo con las tendencias evolutivas establecidas para estos sistemas. Esto permite incluso, sobre todo en el caso de las Dicotiledóneas, la construcción de un filograma bastante coherente entre grupos que han conservado gran cantidad de caracteres ancestrales y otros más evolucionados.

Localización. Los heterósidos de flavonoides, hidrosolubles, se acumulan en las vacuolas y, según las especies, se concentran en la epidermis de las hojas o se reparten entre la epidermis y el mesofilo (aunque estos dos tejidos pueden acumular de manera específica estructuras diferentes, como se ha podido demostrar en algunos cereales). En el caso de las flores, se concentran en las células epidérmicas.

Cuando los flavonoides se encuentran en la cutícula foliar, se trata casi siempre de geninas libres cuya lipofilia se incrementa por la metilación, parcial o total, de los grupos hidroxilo. Esto se refiere sobre todo a plantas de regiones áridas o semiáridas, generalmente provistas de estructuras secretoras.

3. ESTRUCTURA QUÍMICA Y CLASIFICACIÓN

En todas las clases de flavonoides mencionados con anterioridad, la biosíntesis justifica la frecuente presencia de al menos tres hidroxilos fenólicos en C-5, C-7 y C-4' de la genina; aunque alguno de ellos puede faltar.

A. Flavonas, flavonoles

En estas moléculas —representan la mayoría de los flavonoides *stricto sensu* conocidos—, el ciclo A se encuentra, en más del 90% de los casos, sustituido por dos hidroxilos fenólicos en C-5 y C-7. Estos hidroxilos se pueden encontrar libres o eterificados, uno de ellos puede participar en un enlace heterosídico. Un tercer hidroxilo, libre en las chalconas, es biogenéticamente el origen del átomo de oxígeno del ciclo piránico de los demás flavonoides y del oxígeno del ciclo furánico de las auronas.

Se pueden presentar otras sustituciones, con frecuencia variables: hidroxilos libres o eterificados en C-6 y/o en C-8, isoprenilación o metilación en C-6 o en C-8, implicación del C-6 y/o del C-8 en un enlace carbono-carbono con un azúcar (ver seguidamente).

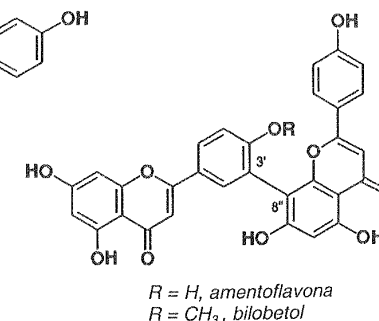
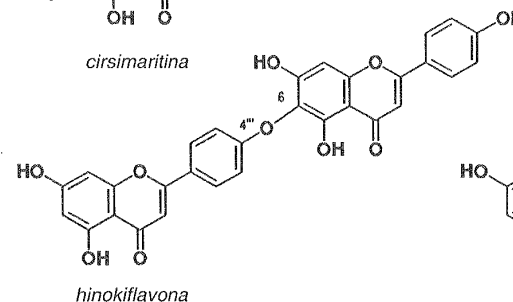
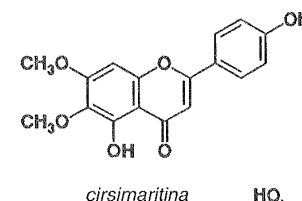
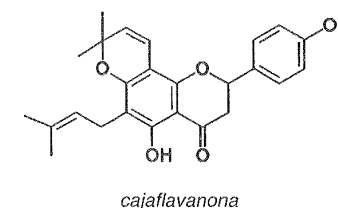
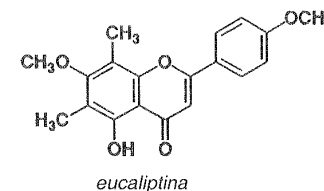
* *inter alia*: (1). Cronquist, A. (1988). An Integrated System of Classification of Flowering Plants, 2.ª ed New York Botanical Garden; (2). Thorne, R.F. (1992), Classification and Geography of Flowering Plants, *Bot. Rev.*, **58**, 225-348. Para una bibliografía y un acceso en línea a los grandes sistemas de clasificación, ver <http://www.inform.umd.edu/PBIO/pb250>.

El ciclo B, sustituido en un 80% de los casos en C-4', puede encontrarse 3',4'-disustituido o, con menor frecuencia, 3', 4', 5'-trisustituido; los sustituyentes son grupos -OH o -OCH₃. Las demás posiciones (C-2' y C-6') sólo se sustituyen de forma excepcional.

La distribución de las flavonas y flavonoles y de sus heterósidos es universal, pero algunos esquemas de sustitución se encuentran restringidos a familias o a grupos de familias, de ahí su interés en términos de quimiotaxonomía: así, los flavonoides 6-O-sustituidos se encuentran frecuentemente en Lamiaceae, Rutaceae y Asteraceae, las 5-desoxiflavonas en Fabaceae y en Myrtales, los flavonoles 2'-O-sustituidos en Lamiaceae, Solanaceae y el exudado harinoso que recubre las hojas y las inflorescencias de las primaveras (Primulaceae).

B. Flavanonas y dihidroflavonoles

Estas moléculas se caracterizan por la ausencia del doble enlace en 2,3 y por la presencia de centros de asimetría. En las flavanonas naturales, el carbono C-2 es normalmente de configuración 2S. En los casos de los dihidroflavonoles son posibles teóricamente cuatro isómeros, aunque la casi totalidad de los compuestos de esta serie



conocidos en la actualidad poseen una configuración, 2*R*, 3*R*, situándose en *trans* el fenilo y el hidroxilo. Las variaciones estructurales son de la misma naturaleza que las descritas anteriormente para las flavonas y flavonoles. Estos flavonoides parece que son un poco menos frecuentes que sus homólogos insaturados y se observa que algunas familias acumulan especialmente sus derivados *C*-alquilados (Asteraceae, Fabaceae).

C. Biflavonoides

Los flavonoides pueden unirse unos con otros, sobre todo por sus carbonos, muy reactivos, C-6 o C-8. Se forma entonces un dímero: un biflavonoide. La mayoría de los biflavonoides naturales son dímeros de flavonas y flavanonas generalmente 5, 7, 4'-trisustituidas cuyo enlace interflavánico puede ser de tipo carbono-carbono (C-3', C-8", ej.: amentoflavona; C-6, C-8", ej.: agatisflavona; C-8, C-8", ej.: cupresuflavona, etc.) o de tipo carbono-oxígeno-carbono (C-6-O-C-4'", ej.: hinokiflavona). Las dos unidades que constituyen el biflavonoide pueden, o no, ser del mismo tipo (bis-flavona, bis-flavanona, flavona-flavanona, flavanona-chalcona*). Los hidroxilos pueden estar libres o -lo que es frecuente- metilados. En este grupo sólo se conocen escasas estructuras heterosídicas. Los biflavonoides son característicos de Gymnospermas (ver anteriormente). En Angiospermas, su distribución es esporádica (*Hypericum*, *Semecarpus*, *Schinus*, *Garcinia*, etc.).

D. Chalconas, auronas

Las chalconas, desprovistas del heterociclo central, se caracterizan por la presencia de una cadena tricarbonada, cetónica, α,β -insaturada. Aunque las sustituciones sobre el núcleo A sean a menudo idénticas a las de otros flavonoides (C-2', C-4', C-6')**, el núcleo B no está normalmente sustituido. Las isoprenil- y las piranochalconas son bastante frecuentes, sobre todo en Fabaceae. Las auronas se caracterizan por una estructura de 2-bencilidencumarana.

E. Heterósidos flavonoidicos

La parte osídica puede ser mono-, di- o trisacáridica. Los monósidos se forman con D-glucosa, D-galactosa o D-alosa, con pentosas (D-apiosa, L-arabinosa, L-ramnosa, D-xilosa) o con los ácidos D-glucurónico y D-galacturónico. La variabilidad estructural aumenta con los heterósidos cuya parte osídica es un disacárido (en 1991 se habían

* Se puede producir oligomerización y polimerización en los derivados flavánicos: la condensación de los flavan-3-oles y flavan-3,4-dioles conduce a los proantocianidoles, ver pág. 374.

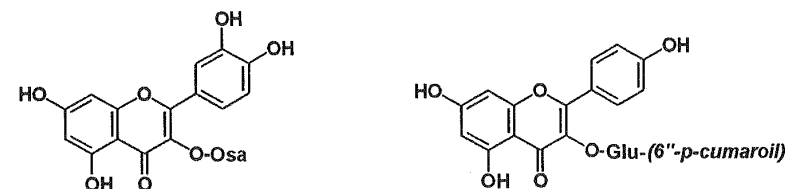
** En lo que respecta a las posiciones C-5, C-7 y al oxígeno del ciclo piránico: ¡atención! la numeración se encuentra invertida, los carbonos de la benzofenona se identifican aquí con números.

estructura	denominación común
O- β -D-xiloxil-(1 \rightarrow 2)-glucosa	sambubiosa
O- α -L-ramnosil-(1 \rightarrow 2)-glucosa	neohesperidosa
O- α -L-ramnosil-(1 \rightarrow 6)-glucosa	rutinosa
O- β -D-glucosil-(1 \rightarrow 2)-glucosa	soforosa
O- β -D-glucosil-(1 \rightarrow 6)-glucosa	genciobiosa
O- β -glucosil-(1 \rightarrow 2)-O- β -glucosil-(1 \rightarrow 2)-glucosa	soforotriosa
O- α -ramnosil-(1 \rightarrow 2)-O- β -glucosil-(1 \rightarrow 3)-glucosa	2'-ramnosil-laminaribiosa
O- α -ramnosil-(1 \rightarrow 4)-O-[α -ramnosil-(1 \rightarrow 6)-galactosa]	4 ^{Gal} -ramnosilrobinobiosa

Ejemplos de di- y trisacáridos constituyentes de heterósidos flavonoidicos.

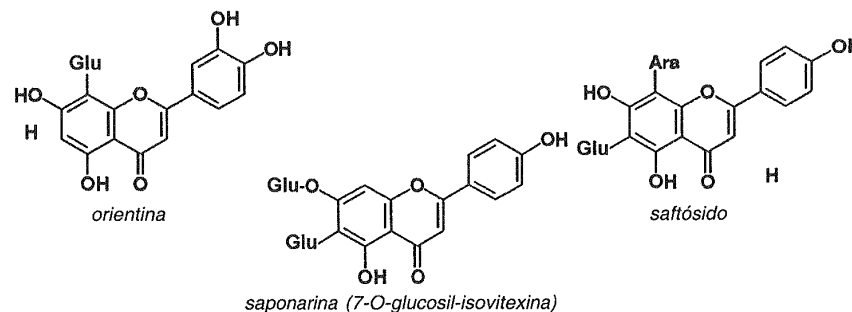
descrito una cuarentena de compuestos) o un trisacárido que puede, factor suplementario de complejidad, ser lineal o ramificado (en esta misma fecha se conocían una treintena de enlaces de este tipo; ver más arriba algunos ejemplos).

La unión entre la genina y el azúcar puede realizarse por cualquiera de los hidroxilos fenólicos de la genina pero, por regla general, son sobre todo el hidroxilo en C-7 de las flavonas y el hidroxilo en C-3 de los flavonoles los implicados.



osa = ramnosa, quercitrósido
osa = galactosa, hiperósido
osa = glucosa, isoquercitrósido

tilirósido



orientina

saponarina (7-O-glucosil-isovitexina)

salfósido

Los progresos de las técnicas analíticas, especialmente en el terreno de la espectrometría de masas (FAB-MS, DCI-MS), conducen a la caracterización de un creciente número de estructuras aciladas: un hidroxilo de la parte osídica se encuentra esterificado por un ácido alifático (acético, malónico, tíglico, etc.) o aromático (gálico, benzoico, 4-cumárico y otros derivados cinámicos). asimismo se conocen más de ochenta flavonoides sulfatados.

F. Caso particular: C-heterósidos (= C-glicósidos)

Estos compuestos, los C-glicosilflavonoides*, no son raros: se conocen más de 350. El enlace se establece entre el carbono anomérico del azúcar (normalmente glucosa, pero también puede ser galactosa o una pentosa) y el carbono C-6 o C-8 de la genina que, aunque normalmente es flavónica puede también ser de otro tipo: flavonol, chalcona, etc. Se distinguen diversos tipos de estructuras: 1° las mono-C-glicosilflavonoides (ej.: escoparósido de la retama negra); 2° los di-C-glicosilflavonoides (ej.: isoschaftósido del té); 3° los C-glicosil-O-glicosilflavonoides (ej.: saponarósido [= 7-O-glucosilisovitexina] de la pasiflora); 4° los acil-C-glicosilflavonoides (ej.: 4'''-O-acetil-2''-ramnosilovitexina del espio blanco). Se observa que el heterociclo de los derivados de tipo 5-hidroxi-C-glicosilflavonas se abre fácilmente en medio ácido, lo que explica su facilidad de isomerización ($6 \leftrightarrow 8$, $8 \leftrightarrow 6$). Esta isomerización, llamada isomerización de Wessely-Moser, posee interés para el estudio estructural de estos compuestos.

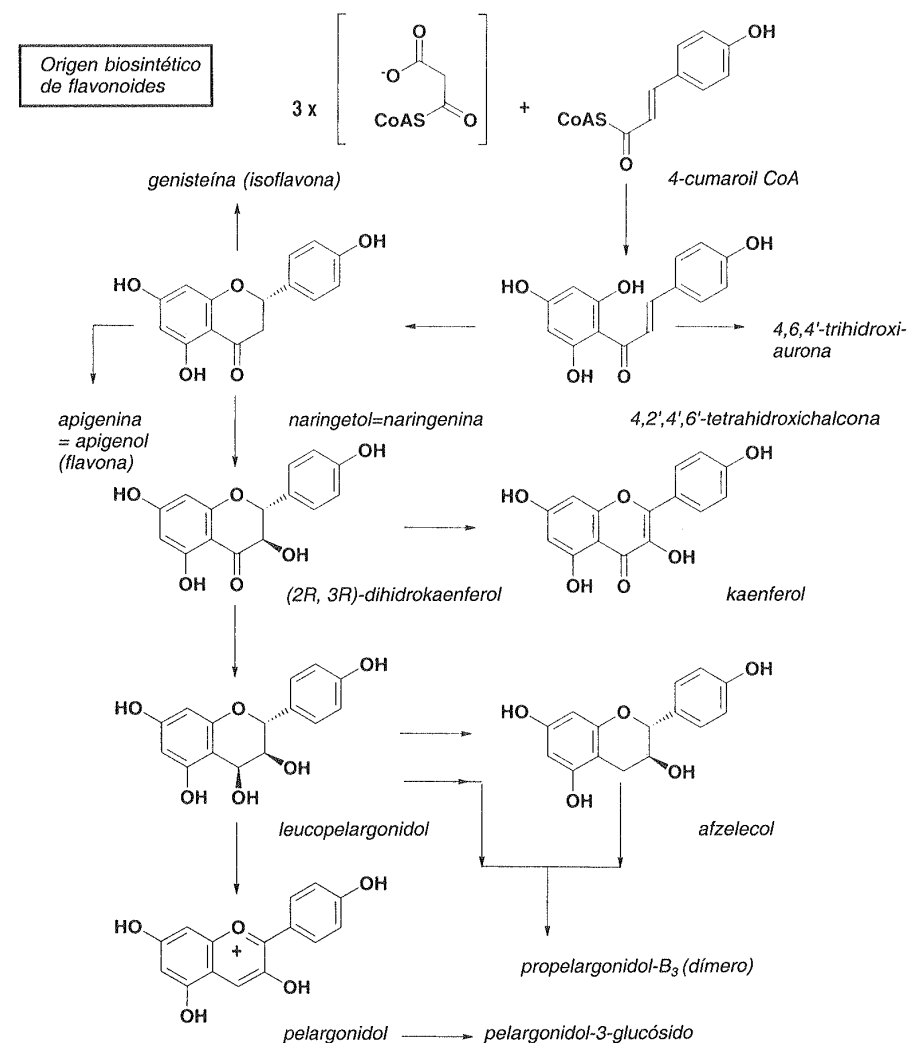
4. ORIGEN BIOSINTÉTICO

El origen de los flavonoides se observa con detalle en su estructura. Aparece claramente en la de las chalconas: condensación de un «triacetato» (ciclo A) y de un ácido cinámico (ciclo B), la ciclación da lugar al ciclo piránico central. Esta hipótesis ha sido confirmada por el empleo de precursores marcados y por estudios a nivel enzimático, tanto en cultivos de tejidos como en planta entera (sobre todo en pétalos).

La etapa clave en la formación de flavonoides es la condensación, catalizada por la chalcona sintetasa de tres moléculas de malonil-CoA con un éster del coenzima A y de un ácido hidroxycinámico, por regla general el 4-cumaroil-coenzima A (la incorporación de cafeoil-CoA parece limitada a algunas especies, la hidroxilación suplementaria del núcleo B se realiza tardíamente). El producto de la reacción es una chalcona, la 4, 2', 4', 6'-tetrahidroxichalcona o, si la condensación tiene lugar en presencia de una poliacetatorreductasa de NADPH, una 6'-desoxichalcona, la 4,2', 4'-trihidroxichalcona. En condiciones fisiológicas normales, la chalcona tiende espontáneamente a

isomerizarse en flavanona racémica. De hecho, la ciclación de la chalcona viene catalizada por un enzima, la chalconaisomerasa, que induce un cierre estereoespecífico del ciclo (adición *syn* sobre el doble enlace *E*) que conduce a la formación únicamente de una (2-*S*)-flavanona: naringenina (=naringetol) y liquiritigenina en los dos casos considerados, es decir los precursores inmediatos y respectivos de los flavonoides y de los 5-desoxiflavonoides.

Se ha aislado una dioxigenasa, la flavanona 3-hidroxilasa, que al catalizar la hidroxilación en C-3 solamente de las (2-*S*)-flavanonas induce, de manera unívoca, la



* Utilizamos voluntariamente la terminología anglosajona en vigor en todas las obras y publicaciones sobre el tema. No debe confundirse un derivado glucosilado (derivado de glucosa) y un derivado glicosilado (derivado de cualquier azúcar).

hidroxilación de la (2-*S*)-naringenina en (2-*R*, 3-*R*)-dihidrokaenferol y la del (2-*S*)-eriodictiol en (2-*R*, 3-*R*)-dihidroquercetol. Sobre estos sustratos actúa a continuación la flavonol-sintetasa: esta dioxigenasa funciona, como la precedente, en presencia de oxoglutarato. Introduce el doble enlace entre los carbonos C-2 y C-3.

Enzimas muy próximos, las flavonasintetasas I y II –la primera conocida en las Apiaceae, la segunda ampliamente distribuida–, transforman las flavanonas en flavonas por introducción, igual que en el caso anterior, de un doble enlace entre los carbonos C-2 y C-3. Contrariamente a lo que se ha postulado durante mucho tiempo, estas desaturaciones no hacen intervenir un intermediario hidroxilado en C-2 sino, más probablemente, la eliminación directa de protones en C-2 y C-3. El mecanismo de formación de las flavonas y de los flavonoles a partir de sus precursores dihidrogenados sería por tanto de la misma naturaleza que el que conduce de las flavanonas a las isoflavonas.

Los demás flavonoides (flavonoles, proantocianidoles, antocianósidos) no poseen grupo carbonílico en C-4. Proviene de un (2*R*,3*R*,4*S*)-*trans*-2,3-flavan-*cis*-3,4-diol (= *cis*-flavan-3, 4-diol = «leucoantocianidol»), producto de reducción, por una dihidroflavonol 4-reductasa NADPH dependiente, de un (2*R*,3*R*)-dihidroflavonol. La formación posterior de los flavan-2,3-*trans*-3-oles (= flavan-3-oles) es inducida por una reductasa. La misma secuencia de reacción sobre un (2*R*,3*S*)-dihidroflavonol conduciría a la serie epi, pero no se sabe nada de los mecanismos implicados en la génesis de los flavan-2,3-*cis*-3-oles (*ent*). La enzimología de la reacción de condensación que conduce a los proantocianidoles no se conoce (vía un carbocatión o una metide-quinona). El mecanismo de formación de los antocianósidos continúa también siendo hipotético (¿glucosilación de un flav-3-en-3,4-diol intermediario después de deshidratación?).

Aunque otros ácidos en C₆ diferentes del ácido 4-cumárico se pueden incorporar *in vitro* para la producción de flavonoides 3', 4'-di- o 3', 4', 5'-trisustituidos, los hidroxilos y metoxilos suplementarios del núcleo B provienen de hecho de sustituciones inducidas sobre las moléculas en C₁₅ por hidroxilasas y *O*-metil-transferasas que son normalmente muy selectivas.

La formación del (o de los) enlace (s) heterosídico (s) depende de la actividad de transferasas que son igualmente muy específicas en cuanto al sustrato y a la posición de la osilación; requiere la presencia de uridín difosfo-osas (UDP-osas). Una especificidad del mismo tipo se ha observado con las acil-transferasas que inducen la acilación de algunos heterósidos, sobre todo antocianícos.

5. PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, EXTRACCIÓN, CARACTERIZACIÓN, VALORACIÓN

A. Solubilidades y extracción

Aunque, por regla general, los heterósidos son hidrosolubles y solubles en alcoholes, muchos de ellos poseen una escasa hidrosolubilidad (rutósido, hesperidósido). Las geninas son, en su mayoría, solubles en disolventes orgánicos apolares; cuando contienen al menos un grupo fenólico libre, se disuelven en disoluciones de hidróxidos alcalinos.

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

Los heterósidos 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 miscibles con el agua: con éter de petróleo que elimina clorofila y lípidos; con dietiléter que extrae las geninas libres; con acetato de etilo que arrastra la mayoría de los heterósidos. Los azúcares libres permanecen en la fase acuosa junto con, en caso de fracaso, los heterósidos más polares.

La separación y purificación de los diferentes flavonoides se funda en las técnicas cromatográficas habituales (sobre poliamida, celulosa, gel de Sephadex®, 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 las técnicas de aislamiento de heterósidos flavónicos (fases reversas C₈ o C₁₈ con disolventes de tipo agua [o acetonitrilo, o THF] + metanol + ácido acético).

B. Caracterización

Aunque numerosas reacciones coloreadas permiten caracterizar geninas y heterósidos 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 auronas pueden detectarse al visible sobre los cromatogramas. En presencia de vapores de amoníaco las manchas pasan a naranja y rojo;
- por examen a la luz ultravioleta antes y después de revelar con tricloruro de aluminio, antes y después de la exposición a vapores de amoníaco: la naturaleza y los cambios de fluorescencia proporcionan datos útiles sobre el tipo de flavonoide presente;
- después de pulverización con una disolución al 1% del éster del 2-aminoetanol y el ácido difenilbórico *i.e.* el «*Naturstoff Reagenz A*», seguido de un examen a la luz ultravioleta y después al visible. Puede mejorarse la sensibilidad pulverizando además con una disolución metanólica al 5% de polietilenglicol 400 (= macrogol 400);
- después de pulverización con cloruro férrico, anisaldehído, ácido sulfanílico diazotado o con otros reactivos generales de fenoles;
- por la utilización de reacciones o propiedades más o menos específicas;
 - reacción –llamada de la cianidina– con polvo de magnesio en medio clorhídrico (flavanonas y dihidroflavonoles) o con 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.



Citrus limon (L.) Burm. f.

Los métodos del estudio estructural y los métodos de hidrólisis de heterósidos no se tratarán aquí. Se resaltarán sin embargo que los adelantos científicos, así como las técnicas de espectrofotometría de masas y de RMN (protón, ^{13}C , correlaciones homo- y heteronucleares) no deben conducir, en este grupo de metabolitos, a despreciar los utilísimos datos que sigue proporcionando la espectroscopia de ultravioleta: los espectros de estas moléculas registrados sucesivamente en medio neutro (metanol), en presencia de bases (acetato sódico, hidróxido sódico), de ácidos de Lewis (tricloruro de aluminio) o de ácido bórico, proporcionan indicaciones fiables sobre el tipo estructural, la naturaleza y la posición de los sustituyentes. Este interés del UV se amplía con la utilización, en controles rutinarios por CLAR, de detectores de barrido de diodo.

C. Valoración

Los métodos de valoración clásicos son, sobre todo, colorimétricos o espectrofotométricos (ej.: medida de la absorbancia después de la reacción con AlCl_3). La CLAR ofrece en la actualidad la posibilidad de una valoración rápida y precisa de todos los flavonoides presentes en una droga, por ello se utiliza ampliamente.

6. PROPIEDADES BIOLÓGICAS

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 (una carencia en flavonoides no ocasiona ningún síndrome especial), 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 venotónicos» se les denomina «venotropos». Este interés de los flavonoides es controvertido: así, la FDA (*Food & Drug Administration*) no les reconoce ninguna actividad; además la lectura de tratados clásicos de farmacología no permite dudar sobre la escasa importancia que, por regla general, se atribuye a su valor terapéutico. No obstante los flavonoides y las preparaciones a base de flavonoides son objeto —en Francia y en muchos países como Alemania, España o Italia— de amplia prescripción, de frecuente recomendación farmacéutica y de una importante automedicación en el terreno de patologías circulatorias menores. Además algunas moléculas de estos grupos, al menos en posologías elevadas, han podido mostrar una cierta eficacia clínica. Actualmente, interesa sobre todo la interacción de los flavonoides con radicales y sus posibles consecuencias en términos preventivos. Muchos trabajos experimentales se esfuerzan asimismo en demostrar, *in vitro*, la actividad celular de estas moléculas y los sistemas implicados en la respuesta inmunitaria y en la inflamación.

FLAVONOIDES, RESISTENCIA Y PERMEABILIDAD CAPILAR

Históricamente, la noción de efecto protector capilar va unida a la siguiente observación: algunas manifestaciones del escorbuto, curadas por administración de zumo de limón, no se solucionan por administración únicamente de ácido ascórbico (= vitamina C). Por ello se ha postulado que el ácido ascórbico actúa únicamente si se le asocia a un factor «C₂» o «P», que en principio se ha identificado con los flavonoides *stricto sensu* y más tarde, más globalmente con los antocianósidos y oligómeros flavanólicos.

Efectivamente se puede demostrar que todas estas moléculas son capaces de disminuir la permeabilidad capilar y aumentar su resistencia. El método más clásico para poner de manifiesto la resistencia de los capilares consiste en medir el valor de la presión necesaria para provocar su ruptura. Esta presión se produce por la aplicación de una ventosa colocada sobre la piel y la ruptura se manifiesta por la formación de petequias. Para evaluar el efecto sobre la permeabilidad capilar, es posible medir en animales, el tiempo de aparición a nivel de la piel irritada del abdomen de un colorante inyectado por vía sistémica. Se pueden emplear otros muchos métodos: inhibición de la extravasación capilar de proteínas marcadas, inducción de éxtasis venosos, estudios sobre venas aisladas, etc. El aumento del tono venoso en el hombre se puede poner de manifiesto por diversas técnicas: pletismografía gaseosa, aclaramiento de ¹³³Xe, etc. Se puede asimismo apreciar el aumento de la resistencia capilar (albúmina marcada).

FLAVONOIDES Y RADICALES «LIBRES»

Numerosas propiedades, comprobadas *in vitro*, pueden explicar la actividad de los flavonoides. Inicialmente, se ha postulado que actúan sobre la reducción del ácido dehidroascórbico *via* glutatión sobre el que se comportan como donantes de hidrógeno. 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 sobre las citocromo oxidasas dando lugar a la producción de radical superóxido (O₂^{•-}). El radical superóxido reacciona con protones dismutándose en dioxígeno y en peróxido de hidrógeno;
- inflamación que se produce, entre otras causas, por la formación de aniones superóxido (O₂^{•-}) inducida por la NADPH-oxidasas 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 (OH[•]; reacción de Fenton; también se produce por radiaciones electromagnéticas) y otras especies reactivas (HOCl, cloraminas, 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[•]) que arranca un hidrógeno a la cadena lateral de un ácido graso, formando un radical carbonado (R[•]). Este último reacciona con oxígeno para formar peróxidos cíclicos y radicales hidroperóxidos (ROO[•]) que propagan esta reacción en cadena. Se forman igualmente radicales alcoxílicos lipófilos (RO[•]).

Normalmente, la cascada de reacciones que se debe al apareamiento de uno de los electrones libres del oxígeno, se interrumpe por diversos sistemas enzimáticos: superóxido dismutasa (mitocondrial y citoplasmática) que transforman el anión radical superóxido (O₂^{•-}) en peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y dioxígeno (O₂); catalasa y glutatión peroxidasa que reducen tanto los peróxidos (en agua) como, posteriormente, los hidroperóxidos (ROOH + 2 GSH → R-OH + H₂O + GS-SG).

Bioquímicamente, los radicales —su papel fisiológico no se encuentra todavía totalmente elucidado— podrían ser responsables de alteraciones de ácidos nucleicos y de mutaciones, del inicio y desarrollo de procesos cancerígenos, así como de degradaciones celulares debidas, entre otros motivos, a su reactividad a nivel de fosfolípidos de membrana. La mayoría de los autores admiten en la actualidad, aunque en ausencia de pruebas absolutas, la hipótesis según la cual los radicales son en parte responsables de la génesis de lesiones ateromatosas, de la aparición de algunos cánceres o de las degeneraciones nerviosas. En base a estos hechos se han desarrollado numerosas investigaciones, sobre todo epidemiológicas, sobre el papel preventivo que podrían desempeñar las moléculas antioxidantes (*i.e.* capaces de captar radicales) como los flavonoides, algunos lignanos y otros metabolitos que se aportan regularmente en la dieta alimenticia.

El efecto antagonista de una sustancia sobre la producción de radicales libres puede comprobarse experimentalmente. De hecho se pueden producir radicales libres *in vitro* por radiolisis (radical hidroxilo) o por vía química (radical difenilpicrilhidracilo) y detectarlos, por resonancia paramagnética electrónica en el primer caso o colorimétricamente en el segundo. De esta manera se puede medir la capacidad antirradicalaria sobre modelos de peroxidación lipídica o evaluar la actividad *in vivo* por comparación con la de un antioxidante de referencia. Numerosos flavonoides *lato sensu* y con ellos muchos otros fenoles (sobre todo los tocoferoles [= vitamina E]), reaccionan con los radicales, impidiendo de este modo las degradaciones debidas a su intensa reactividad. Parece ser que la capacidad antioxidante de un flavonoide depende de su afinidad por los radicales y por tanto de su estructura (*in vitro* los flavanoles son más activos que los flavonoles que a su vez son más activos que las flavanonas, etc.*).

Sea cual sea el interés de estos modelos y de estos trabajos** no hay que perder de vista que aunque haya sido demostrada *in vitro* cualquier tipo de actividad, esto no permite en ningún caso prejuzgar su interés preventivo o terapéutico. A lo largo de estos últimos años, dos estudios de gran amplitud han demostrado, en el caso de los flavonoides *stricto sensu* (quercetol, kaenferol, apigenol, luteolol, miricetol), que:

* En primera aproximación. También hay que tener en cuenta los sustituyentes: el kaenferol (monohidroxilado en el ciclo B) es menos antioxidante que la taxifolina, una flavanona dihidroxilada en C-3' y C-4'.

** La interpretación es a menudo delicada. Así, en el caso del quercetol numerosos trabajos establecen su actividad ya sea cancerígena, co-cancerígena, ya sea anticancerígena, es decir inhibidora del crecimiento de carcinomas... La mutagenicidad y la genotoxicidad *in vitro* de este mismo flavonol parecen menos probadas (pero inhibe la mutagenicidad del benzopireno, etc.). Consultar sobre este tema: Suschetet, N. (1997). Microconstituants végétaux présumés protecteur, in «Alimentation et cancer», (Riboli, E., Declot, F. et Collet-Ribbing, C., eds.), Chap. 24 p. 458-506, Tec & Doc-Lavoisier, París.

- no existe relación entre incidencia de cáncer y consumo en flavonoides* ni entre éste y la mortalidad por cáncer;
- existe una correlación negativa entre el consumo de flavonoides y la mortalidad cardiovascular. Aunque algunos han mostrado ciertas dudas en este estudio, las conclusiones de un trabajo finlandés recientemente publicado abundan en este mismo sentido. Se postula que intervienen protegiendo de la oxidación las LDL.

FLAVONOIDES: INHIBIDORES ENZIMÁTICOS

Por regla general los flavonoides son *in vitro* inhibidores enzimáticos:

- inhibición de la histidina descarboxilasa por el quercetol o la naringenina;
- inhibición de la elastasa;
- inhibición de la hialuronidasa, por las flavonas y sobre todo por los proantocianidoles (ver pág. 374), 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 (roedores *per os*);
- 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 y 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, ver capítulo «taninos»). Se puede también observar que

* Esto no es óbice a lo que en la actualidad es objeto de un consenso internacional: una alimentación rica en frutos y legumbres protege contra el cáncer de pulmón, de vías aereodigestivas superiores, del tracto digestivo. Prácticamente todos los frutos y legumbres contienen flavonoides, pero en cantidad variable. Débil (< 10 mg/kg): col, zanahoria, guisantes, espinacas, melocotón; media (< 50 mg/kg): lechuga, tomate, fresa, manzana, uvas; elevada (> 50 mg/kg): cebolla, judía verde, endivia, brócoli, apio. Los zumos de frutas, los vinos (sobre todo el tinto) y el té, contienen asimismo flavonoides. Según un estudio reciente el consumo medio es de 15 a 34 mg/día de flavonas y flavonoles en tres países de la Unión Europea y de 68 mg/día en Japón.

el anión radical superóxido parece estar implicado en la proteólisis no enzimática del colágeno... y que *in vitro*, los antocianósidos inhiben este proceso degradativo.

OTRAS PROPIEDADES

A menudo presentados como antiinflamatorios –lo que es compatible con lo que se conoce como sus interacciones (*in vitro*) con los polinucleares y los trombocitos o también con el metabolismo del ácido araquidónico– los flavonoides pueden ser antialérgicos, hepatoprotectores (isobutrina, hispidulina, flavanolignanos), antiespasmódicos sobre íleon de cobaya estimulado por diversos agonistas (flavonoides del tomillo y de otras Lamiaceae), hipocolesterolemiantes, diuréticos, antibacterianos, antivirales *in vitro* (3-hidroxi y 3-metoxiflavonas no heterosídicas), etc. Un pequeño número de flavonoides son anticancerígenos e inhibidores del crecimiento de células tumorales *in vitro*: pueden interaccionar con los enzimas del metabolismo xenobiótico, poseer efectos anti-iniciadores y/o antipromotores o incluso ser citostáticos, es decir, citotóxicos. La mayoría de los flavonoides son, *in vitro*, antimutagénicos; *a contrario*, algunos flavonoles son, sobre los mismos modelos, mutagénicos. Las variaciones de actividad en función de las características estructurales no permiten ninguna generalización.

La extrapolación de todos estos datos debe realizarse con prudencia: la biodisponibilidad en el hombre de estas moléculas en general es pequeña (cuando se conoce, lo que raramente sucede) y las actividades descritas *in vitro* rarisísimamente están relacionadas a efectos *in vivo*. Lo que es más, algunos resultados se obtienen con heterósidos que se hidrolizan sin lugar a dudas en el tracto digestivo.

A pesar de los numerosos trabajos publicados sobre las potencialidades farmacológicas de estas moléculas, no se pueden establecer reglas claras sobre las relaciones estructura/actividad. Salvo casos especiales, no se dispone de ningún estudio pertinente que demuestre algún interés en clínica humana.

7. EMPLEO DE DROGAS CON FLAVONOIDES

Algunas drogas se utilizan para la extracción industrial de flavonoides: citroflavonoides totales, hesperidósido, rutósido, etc. (la diosmina, presente en los *Citrus*, se obtiene por hemisíntesis). Otras, que deben su actividad a numerosos principios activos, se utilizan bajo forma de extractos estandarizados (ginkgo). En el caso de las drogas utilizadas en fitoterapia, es difícil, salvo raras excepciones, hablar de «drogas con flavonoides» ya que aunque es posible que participen en la actividad de estas drogas, raramente son los únicos principios que lo hacen: aceites esenciales, otros compuestos fenólicos, sales minerales, saponósidos u otras sustancias pueden a veces justificar una parte de la actividad.

8. UTILIZACIÓN DE LOS FLAVONOIDES EN TERAPÉUTICA*

Pese a los resultados parciales proporcionados por tests bioquímicos o por estudios de farmacología animal, la realidad de la eficacia clínica de la mayoría de los flavonoides

—y, *a fortiori*, de la de las drogas que los contienen— casi nunca ha sido correctamente establecida. Los ensayos en el hombre —que no son normalmente más que meras «observaciones»—, no se realizan siempre de acuerdo con las normas actualmente en vigor para este tipo de pruebas.

Únicamente un pequeño número de moléculas puras o de extractos estandarizados ha podido demostrar una eficacia sintomática moderada a pesar de la subjetividad de los síntomas y de la importancia del efecto placebo en el principal tipo de patología involucrada: la insuficiencia venosa crónica de los miembros inferiores (alrededor de un 50% de pacientes mejoran con el placebo). Estos productos y, por este motivo, poseen una indicación «total y entera» de tipo «tratamiento de».

La eficacia de la gran mayoría de la centena de medicamentos** a base de flavonoides o de drogas con flavonoides actualmente disponibles, no ha sido, según los expertos, establecida según los estándares actuales, por ello —se proponen en— (equivalente a «mejora de») o «utilizados en» (equivalente a «tratamiento de apoyo de»). En el caso de medicamentos a base de plantas en el sentido de la *Note Explicative* de 1998, la redacción de la indicación es del tipo: «tradicionalmente utilizada en» (artículos 15 al 18 del anexo 1). Estas notas, como por otra parte, las indicaciones enumeradas anteriormente, son válidas para los antocianósidos, proantocianidoles, y sus derivados y las drogas que los contienen.

Los flavonoides se utilizan sobre todo en el terreno capilar-venoso: solos o asociados, son constituyentes habituales de vasculoprotectores y venotónicos y de tópicos utilizados en flebología. En general las especialidades que se disponen en la actualidad en el mercado poseen las indicaciones o propuestas de empleo siguiente:

- tratamiento de síntomas relacionados con la insuficiencia venolinfática (pesadez de piernas, dolores, [o mejoría de ... o utilizado en las manifestaciones funcionales de ...]);
- tratamiento de los signos funcionales debidos a la crisis hemorroidal. [Se utilizan en las manifestaciones funcionales ligadas a ...].

Algunas especialidades reivindican además otras indicaciones o propuestas de utilización:

- mejoría de los trastornos de fragilidad capilar a nivel de la piel (petequias); tratamiento de apoyo de trastornos funcionales de la fragilidad capilar. [O utilizado en el tratamiento sintomático de ...];
- tratamiento de metrorragias debidas a la contracepción por microprogestágenos y de metrorragias debidas a la utilización de dispositivos intrauterinos, después de su

* No todos los flavonoides se utilizan en terapéutica así, la neohesperidina dihidrochalcona (= E₉₅₉) es un intenso edulcorante que se sintetiza a partir del neohesperidósido (una molécula natural, amarga). Utilizable en la mayoría de los productos alimenticios (ej.: 30 mg/kg en bebidas no alcohólicas, 20 mg/kg en la sidra, 50 mg/kg en los zumos de frutas, etc. [Directiva europea de 1994]) es a pequeñas dosis (< 5 mg/kg), un reforzante de sabores. Dosis diaria aceptable para el hombre: 0-5 mg/kg.

** En Francia. Algunos países europeos no utilizan los venotropos (Europa del norte) o de manera muy limitada (Reino Unido), habida cuenta de una insuficiente demostración de actividad en flebología.

exploración clínica o paraclínica. [O tratamiento sintomático debido a la contracepción por dispositivo intrauterino, o utilizado en las metrorragias inducidas por el uso de un dispositivo intrauterino después de chequeo etiológico];

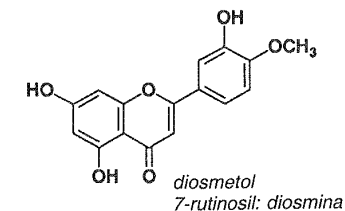
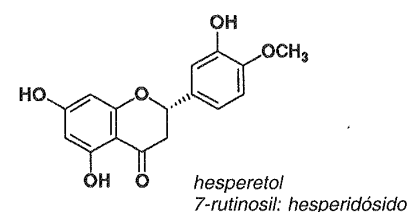
- propuesto en trastornos ligados a la circulación retiniana y/o coroidiana. [Se utiliza en las pérdidas de agudeza y trastornos del campo visual presumiblemente de origen vascular];
- tratamiento del linfoedema de miembro superior consecuente al tratamiento radioquirúrgico del cáncer de mama.

Los expertos se ponen de acuerdo para subrayar que los venotropos carecen de interés demostrado en la prevención de trastornos tróficos en pacientes que poseen varices en los miembros inferiores y en la cicatrización de úlceras de las piernas. En la insuficiencia venosa, no poseen indicación en ausencia de sintomatología funcional; no eximen de una terapéutica etiológica y patogénica.

9. PRINCIPALES FLAVONOIDES COMERCIALIZADOS

● CITROFLAVONOIDES: flavonoides de los frutos de diversos *Citrus*

Los *Citrus* (Rutaceae) son árboles de origen oriental cuyas numerosas especies, variedades e híbridos se cultivan por sus frutos con endocarpio comestible. Muy utilizados por sus aceites esenciales (ver pág. 557), son también fuente de pectinas y flavonoides. Estos últimos, muy abundantes en el pericarpio, son sobre todo heterósidos de flavanonas: hesperidósido (= 7-rutinosil hesperetol), neohesperidósido, naringósido (= naringina), eriodictiósido, eriocitrósido. Estructuralmente, estos heterósidos implican a dos ramnoglucósidos que se diferencian por su forma de unión —la rutinosa y la hesperidosa poseen respectivamente uniones 1→6 y 1→2— y a geninas 4',5,7-trisustituidas (naringenina, isosacuranetina) o 3',4',5,7-tetrasustituidas (eriodictiol, hesperetol) con las cuales se unen por medio de su hidroxilo en C-7. Los pericarpios también contienen heterósidos de flavonas (diosmina). La composición varía, entre otros factores, según la especie productora: la naranja amarga con neohesperidósido y naringósido, la dulce con hesperidósido (0,12-0,25 g/kg), el pomelo rico en naringósido (hasta 0,4 g/kg), etc. Los citroflavonoides se extraen con agua de



los pericarpios y de las pulpas y se aíslan por distintos procedimientos (pasándolos al estado de derivados cálcicos o magnésicos, por adsorción sobre resina de XAD, etc.).

La industria farmacéutica utiliza actualmente:

- una mezcla de citroflavonoides totales, a veces valorada en un flavonoide concreto;
- glicósidos de flavanonas puras: hesperidósido, naringósido;
- derivados hemisintéticos como la hesperidósido metil chalcona (la apertura del heterociclo piránico aumenta sensiblemente la solubilidad);
- un glicósido de flavona producido por hemisíntesis, la disomina.

Todos estos flavonoides se utilizan solos (ej.: diosmina, naringósido) o en asociaciones (entre sí y/o con ácido ascórbico, esculósido, rucósidos, metilesculetol, etc.). Las indicaciones reconocidas para las formas farmacéuticas de elevada dosificación en citroflavonoides (sobre todo en diosmina, 0,3-0,6 g/unidad de toma) son la mejoría de los síntomas relacionados con la insuficiencia veno-linfática, el tratamiento de apoyo de trastornos funcionales de la fragilidad capilar, el tratamiento de los síntomas funcionales ligados a la crisis hemorroidal (1,2-1,8 g/día). La eficacia de las formas farmacéuticas de elevada dosificación es significativamente –pero ligeramente– superior a la de un placebo a pesar de que, en la insuficiencia venolinfática, el 50% de los pacientes encuentren mejoría por un placebo y... manteniendo medidas de higiene general elemental. Las formas de baja dosificación se proponen o utilizan para las mismas indicaciones.

● RUTÓSIDO: 3-O-rutinosilquercetol

Fuentes de rutósido. Aunque el rutósido es relativamente frecuente en la naturaleza, solo un pequeño número de drogas lo contienen en cantidad suficiente para permitir su extracción industrial.

● **sófora**, *Sophora japonica* L., Fabaceae. Este árbol de gran tamaño (el árbol de las pagodas) es originario del centro y norte de China. En nuestras regiones se cultiva con fines ornamentales y la industria farmacéutica lo utiliza por sus botones florales. Estos contienen, inmediatamente antes de abrirse, entre 15 y 20% de rutósido. Tradicionalmente utilizados en Oriente para teñir la seda, han sido reemplazados por colorantes sintéticos.

● **trigo sarraceno**, *Fagopyrum esculentum* Moench., *F. tataricum* (L.) Gaertn., Polygonaceae. Este pseudocereal anual es originario de China. Se cultiva en Europa por sus aquenios amilíferos alimenticios. El rutósido se puede extraer de las hojas que lo contienen del 2-3% al 5-8% en las variedades mejoradas.

● **otras fuentes**. El rutósido se puede extraer de las hojas del *Eucalyptus macrorrhyncha* F. Muell., (Myrtaceae) así como de los frutos de Caesalpinaceae brasileñas del género *Dimorphandra*.

La extracción de rutósido a partir de los botones florales de sófora no presenta especiales dificultades: extracción por agua a ebullición y cristalización por enfria-

miento; recristalización en etanol. En el caso del trigo sarraceno la presencia de pigmentos foliares y la necesidad de eliminar sustancias fotosensibilizantes (fagopirinas) complican la extracción.

El rutósido, solo o asociado (esculósido, citroflavonoides, ácido ascórbico, etc. cf. meliloto, pág. 267) se propone y se utiliza en las manifestaciones funcionales de la insuficiencia venolinfática, en el tratamiento sintomático de trastornos funcionales de la fragilidad capilar, en el tratamiento de los síntomas funcionales ligados a la crisis hemorroidal, en caso de descenso de agudeza y trastornos del campo visual, presumiblemente de origen vascular. Su escasa solubilidad ha llevado a poner a punto derivados más solubles: morfolinoetil-rutósido (etoxazo-rutina, DCI), 3',4',7-tris-(hidroxietil)-rutósido (troxe-rutina, DCI), rutosilpropilsulfonato sódico. La utilización de estos derivados es idéntica a la del rutósido. El rutósido y sus derivados se asocian a veces a alcaloides (ej.: vincamina) en especialidades propuestas para mejorar ciertos síntomas durante el déficit intelectual patológico del anciano.

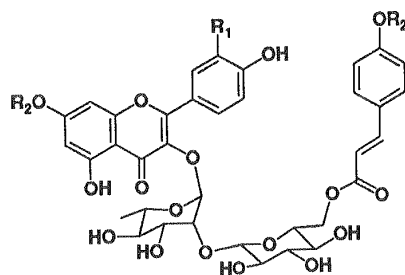
10. DROGAS QUE DEBEN PARTE DE SU ACTIVIDAD A LOS FLAVONOIDES

● GINKGO, *Ginkgo biloba* L., Ginkgoaceae

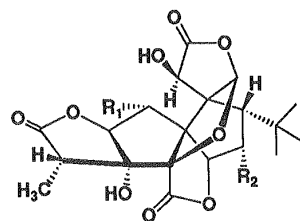
La planta, la droga. El ginkgo, también llamado árbol de los cuarenta escudos, es un árbol dioico de hojas caducas y origen oriental, único superviviente de un orden ampliamente representado hasta finales de la era terciaria. Se caracteriza por órganos reproductores especiales y por un «fruto» de olor desagradable (se trata de hecho de un óvulo fecundado con arilo pulposo). El árbol es objeto de cultivos (Corea, sudoeste de Francia, Estados Unidos de América [Carolina del Sur]) destinados a surtir de hojas el mercado farmacéutico. Éstas, normalmente bilobuladas, pueden ser también casi enteras o muy divididas. El peciolo lleva dos haces de tejido conductor que se dividen en el limbo de manera dicotómica, proporcionándole un aspecto estriado muy característico.

Composición química. Junto con esteroides, alcoholes y cetonas alifáticas, 2-hexenal, ácidos orgánicos, ciclitoles, azúcares sencillos y polisacáridos, etc., la hoja de ginkgo contiene dos grupos de compuestos dotados de propiedades farmacológicas interesantes: flavonoides (0,5-1%) y terpenos-diterpenos (hasta un 0,5%, contenido muy variable según los árboles, la estación, etc.) y sesquiterpenos (bilobalido, 0,4%).

Los flavonoides están representados por una veintena de heterósidos de flavonoles: O-glucósidos, O-ramnósidos y O-rutinósidos en C-3 del quercetol y del kaenferol, y sus ésteres 4-cumáricos en 6" (algunos de los cuales se caracterizan por poseer un enlace interosídico 1"→2"). La hoja contiene también flavan-3-oles, proantocianidoles y biflavonoides, todos biflavónicos con enlace C-3' → C-8" (amentoflavona, bilobetol y 5-metoxibilobetol, ginkgetol, isoginkgetol, esciadopitisina). Las yemas son los órganos más ricos en flavonoides acilados. El contenido en biflavonoides es de tres a cuatro veces superior en otoño que en primavera, época en la cual el contenido en monómeros es más elevado.



$R_1=H$ u OH ; $R_2=H$ o Glu :
ej. de flavonoides complejos
de la hoja de *Ginkgo biloba* L.



$R_1=R_2=H$, ginkgolido A
 $R_1=OH$, $R_2=H$, ginkgolido B
 $R_1=R_2=OH$, ginkgolido C

Conocidos con el nombre de ginkgolidos A, B, C, J (y M en las raíces), los diterpenos del ginkgo presentan una estructura hexacíclica muy particular, caracterizada por la presencia de un encadenamiento espiro-[4,4]-nonánico, por la del grupo *tert*-butil y por la de tres ciclos lactónicos.

Los óvulos fecundados deben su olor nauseabundo a ácidos grasos de cadena mediana (C_4 a C_8). Su parte carnosa contiene alcenilfenoles oxidables en quinonas susceptibles de adicionarse sobre las proteínas y, por ello, inducir alergias cutáneas. La almendra central contiene por su parte 4'-*O*-metilpiridoxina (= ginkgotoxina), potencialmente tóxica*.

Acción farmacológica. El ginkgolido B es inhibidor del PAF (*platelet activating factor*), mediador fosfolipídico intercelular secretado por plaquetas, leucocitos, macrófagos y células endoteliales vasculares. Este mediador está implicado en diversos procesos: agregación plaquetaria, formación de trombos, reacción inflamatoria, alergia, bronconstricción (lo que explica los ensayos efectuados estos últimos años, sobre todo para el tratamiento del asma). Esta actividad anti-PAF y las de los flavonoides, especialmente su capacidad para captar los radicales libres, podrían explicar las numerosas propiedades del extracto de ginkgo observadas en animales y detalladas en varias decenas de publicaciones, revistas y obras. Este extracto se presenta como vasorregulador—vasodilatador arteriolar, vasoconstrictor venoso, reforzador de la resistencia capilar—, inhibidor de la ciclooxigenasa y de la lipoxigenasa, inhibidor de la agregación plaquetaria

* En Japón, donde tradicionalmente se consumen las almendras *cocidas*, se han descrito varios casos de envenenamiento, sobre todo en niños. La sintomatología de esta intoxicación se caracteriza principalmente por pérdida de conciencia y convulsiones. Esto se explica por el antagonismo que ejerce la 4'-*O*-metilpiridoxina frente a la vitamina B_6 . Las mismas causas producen los mismos efectos, esta sintomatología recuerda la que se observa, en el sur del continente africano, en los animales intoxicados por las vainas de *Albizia versicolor* Welw. y otras especies del género que elaboran la misma toxina. Las hojas contienen también la toxina pero la cantidad presente en los medicamentos (< 10 µg/ml) no representa ningún peligro (son necesarios 11 mg/kg para inducir convulsiones en cobayas, 50 mg/kg para provocar su muerte). La cocción de las semillas destruye casi totalmente la toxina.

y eritrocitaria; disminuye la hiperpermeabilidad capilar, mejora la irrigación tisular, activa el metabolismo celular sobre todo a nivel cortical (aumentando la captación de glucosa y de oxígeno). Las fracciones terpénicas aumentan la supervivencia de ratas en hipoxia; protegen las neuronas y los astrocitos de los daños de la isquemia transitoria.

Empleos. Las hojas de ginkgo se utilizan para la obtención de un extracto estandarizado en flavonoides (24%) y en ginkgolidos-bilobalido (6%). Dicho extracto ha sido objeto de varias decenas de ensayos en el hombre, principalmente para apreciar su eficacia en casos de «insuficiencia cerebral». En 1992, una revista analizó ocho ensayos, calificados por los autores de «*well-conducted trials*». Siete de ellos han demostrado el efecto beneficioso del extracto de ginkgo (120-160 mg/día \times 12 semanas, pacientes de 59 a 82 años) sobre los síntomas ligados a una «insuficiencia cerebral» del anciano (dificultades de concentración, alteración de la memoria, confusión, trastornos del humor, falta de energía, cefaleas, etc.). Otros dos ensayos, aún cuando algunos los consideran no demasiado estrictos, indican un efecto positivo en caso de claudicación intermitente; parecen necesarios estudios complementarios.

Estos ensayos (y otros) no parecen ser unánimes: al menos eso se desprende claramente de la lista de indicaciones terapéuticas de las especialidades que, en Francia, contienen extracto de ginkgo: propuesto como tratamiento corrector de síntomas del déficit intelectual de las personas ancianas; propuesto en algunos síndromes vertiginosos y (o) acúfenos y disminución de la agudeza auditiva de origen supuestamente isquémico; propuesto en déficits retinianos de mecanismo isquémico. Solamente una indicación no va precedida de la mención «propuesto»: el tratamiento sintomático de la claudicación intermitente de las arteriopatías crónicas obliterantes de los miembros inferiores (en fase II). Para esta indicación, el extracto es sensiblemente más eficaz que el simple seguimiento de reglas higiénico dietéticas. Los efectos indeseables debidos a la utilización del extracto por vía oral son escasos y menores (cefaleas, trastornos digestivos). Por el contrario la vía parenteral origina graves accidentes. Esta vía, no utilizada en Francia, se ha elegido recientemente para probar el posible interés del extracto de ginkgo en el tratamiento de demencias moderadas (Alzheimer* y otros). Hay que señalar sin embargo que se ha publicado un caso de hematoma subdural en 1996: la paciente, con náuseas y cefalea, había utilizado durante dos años 2×60 mg/día de ginkgo (forma no precisada). El tiempo de sangría, muy aumentado, se encontraba en vías de normalización un mes después del cese de la toma de ginkgo. Este accidente podría ser la consecuencia de la actividad antiagregante plaquetaria del ginkgo* (pág. 325). Asociaciones (ej.: heptaminol y trihidroxietil-rutósido [vía oral], butoformo [vía tópica]), están indicadas en el tratamiento de los síntomas relacionados con la insuficiencia venolinfática y/o en el de los síntomas funcionales ligados a la crisis hemorroidal.

* Un ensayo clínico publicado recientemente permite suponer que el extracto de ginkgo es capaz, *per os* y a largo plazo, de estabilizar e incluso a veces mejorar en pequeña medida las capacidades cognitivas y el comportamiento de los enfermos. Cf. Le Bars, P.L., Katz, M.M., Berman, N., Itil, T.M., Freedman, A.M. y Schatzberg, A.F. (1997). A Placebo-controlled, Double-blind, Randomized Trial of an Extract of *Ginkgo biloba* for Dementia, *JAMA*, **278**, 1327-1332.



Chamaemelum nobile (L.) All.

● **PASIFLORA OFICINAL**, *Passiflora incarnata* L., Passifloraceae

Las partes aéreas desecadas de pasiflora están inscritas en la 10.^a edición de la Farmacopea francesa. Los constituyentes responsables de la actividad sedante de la droga no son conocidos con precisión, por lo que se utilizan sistemáticamente preparados que contienen el conjunto de los constituyentes (cf. Avis 90/22bis, cap. I., 2.1.1. 5^o§).

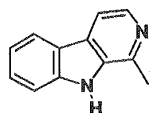
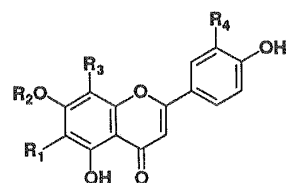
La planta, la droga. La pasiflora oficial es frecuente en los matorrales del sur de Estados Unidos y de México. Es una planta trepadora con hojas alternas, largamente pecioladas, de limbo finamente dentado. De la axila de las hojas parten unos zarcillos que permiten la fijación de las plantas. Las flores, solitarias y de gran tamaño (5-9 cm de diámetro), se caracterizan por 5 sépalos gruesos, blancos en la cara inferior, 5 pétalos blancos y una doble corona de apéndices petaloídicos rojo púrpura en su parte externa, estambres con anteras anaranjadas y un ovario unilocular con tres ramas estigmáticas. El fruto, ovoide, recuerda a una pequeña manzana aplastada, de verdosa a parduzca, con la pulpa amarilla.

La droga lleva fragmentos de tallos leñosos, huecos, grisáceos, que poseen zarcillos finos y lisos. La hoja, largamente peciolada, se divide en tres lóbulos ovales-agudos de los cuales el mediano es el más desarrollado. La droga se puede falsificar con los tallos con hojas de *P. edulis* Sims. cuyo fruto es comestible –cultivado, es el fruto de la pasión (*f. edulis* con frutos púrpuras y *f. flavicarpa* Degener con frutos amarillos)– y cuyo limbo foliar presenta los márgenes dentados. Otra falsificación es más fácil de detectar: es la de *P. coerulea* L., especie cultivada por el carácter ornamental de su corola floral azulada y que posee hojas *pentalobuladas*.

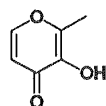
Composición química. Junto a cumarinas, ácidos fenólicos, fitosteroles, 1 ml/kg de aceite esencial y heterósidos cianógenos (ginocardina), la droga contiene 0,05% de maltol (2-metil-3-hidroxipirona de la que algunos autores opinan que es un artefacto) y trazas de alcaloides indólicos. Se han aislado en principio 3 β-carbolinas: harmano, harmol y harmina. Posteriormente todos los estudios realizados excepto dos no han caracterizado más que el harmano y en concentraciones muy pequeñas. De hecho, los trabajos más recientes han mostrado (CLAR) que en la mayoría de las muestras comerciales no se puede detectar el harmano. En una muestra, su contenido era de 0,1 ppm, muy lejano de los 0,01-0,09% publicados hace cuarenta años.

La droga puede contener hasta un 2,5% de flavonoides. Los compuestos mayoritarios de esta serie son di-C-heterósidos de flavonas: shaftósido e isoshaftósido (*i.e.* los C-glucosil-C-arabinosil apigenoles, isómeros 6,8 y 8,6), así como los O-glucósidos en 2'' de isovitexina e iso-orientina (*i.e.* los C-soforósidos del apigenol y del luteolol). Se han caracterizado además de estos compuestos: isovitexina, iso-orientina, vicenina-2 (di-C-glucósido del apigenol), el O-glucósido en 2'' de la isoescoparina, la swertisina y un di-

* Más tarde, se han publicado otros dos incidentes que parece se deben a la toma de ginkgo: 1° Rosenblatt, M. y Mindel, J. (1997). Spontaneous Hyphema Associated with Ingestion of *Ginkgo biloba* Extract, *New Engl. J. Med.* 336, 1108; 2° Vale, S. (1998). Subarachnoid Haemorrhage associated with *Ginkgo biloba*, *Lancet*, 352, 36.



harmano



maltol

C-glucósido del luteolol, la lucenina-2. La saponarina (7-*O*-glucosil-isovitexina) descrita en la droga en los años sesenta, no ha podido ponerse de manifiesto en análisis recientes: puede que se confundiera con la 2''-*O*-glucosil-isovitexina. La composición cualitativa puede variar notablemente. En general la isovitexina y su derivado glucosilado son predominantes.

Ensayos. La droga se identifica por los caracteres macroscópicos y microscópicos de la sección de la hoja: nerviación muy saliente en la cara inferior, pelos tectores generalmente unicelulares, importante sistema conductor compuesto por tres haces gruesos cribo-vasculares coronados por un cuarto haz invertido. El ensayo propiamente dicho comprende un análisis por CCF de los flavonoides y de los alcaloides. El estudio del contenido en heterósidos flavónicos permite diferenciar la especie oficial y descartar las especies no oficiales (*P. coerulea* y *P. edulis*): CCF de un extracto metanólico y caracterización de la orientina y vitexina (de hecho estos flavonoides se encuentran en una cantidad muy escasa), de la iso-orientina y de la saponarina (¿?). Después de proceder a una extracción específica de los alcaloides (que no es reproducible), el cromatograma del residuo *puede revelar* una mancha principal idéntica a la obtenida con el harmano. La droga oficial debe contener un mínimo de 0,8% de derivados flavónicos totales, expresados en vitexina (midiendo la absorbancia después de añadir AlCl_3).

Acción farmacológica. La tradición atribuye a la pasiflora propiedades sedantes, antiespasmódicas y «tranquilizantes», parcialmente confirmadas por la experimentación animal (vía i.p.). A falta de ensayos clínicos, realizados siguiendo las normas metodológicas actuales, numerosas observaciones resaltan el interés de los preparados «neurosedantes» obtenidos a partir de la droga. ¿Cuáles son las moléculas responsables que pueden justificar una actividad de este tipo? ¿El maltol? es depresor, pero su concentración en la droga es insignificante. ¿Los alcaloides? efectivamente, como la mayoría de las β -carbolinas son estimulantes centrales, IMAO y, algunas de ellas son alucinógenas. De todas formas, su concentración —cuando existe— es ínfima. ¿Los flavonoides? recientemente un equipo investigador argentino ha postulado el posible efecto ansiolítico de la

5,7-dihidroxi-flavona de la *P. coerulea* L. y ha demostrado que es un ligando de receptores de benzodiacepinas (pero esta flavona no se ha identificado en la especie oficial). Los trabajos de otros autores, realizados con *P. alata* Aiton, proponen más bien un efecto sinérgico. Otros trabajos confirman la actividad del extracto de pasiflora sobre el SNC de rata y hablan de la existencia de dos compuestos activos no identificados, uno lipófilo, y el otro muy polar, que no se corresponden con ninguna de las estructuras identificadas hasta la fecha en la droga, alcaloides o flavonoides.

Empleos. La droga (infusiones), sus preparaciones galénicas (polvo, extracto, tintura, nebulizado) y los fitomedicamentos que la contienen se emplean tradicionalmente, por vía oral, en trastornos del eretismo cardíaco del adulto (corazón sano) así como en el tratamiento sintomático de estados neuróticos de adultos y niños, especialmente en casos de trastornos menores del sueño [Note Expl., 1998]. Se trata de un uso idéntico al del espinillo blanco* con el que se asocia con frecuencia así como con la valeriana y otras plantas sedantes. La droga se considera atóxica**.

En Alemania (Comisión E) las indicaciones son parecidas: agitación nerviosa, «se ha observado una inhibición de la actividad motora de manera repetida en animales». En la etiqueta de los productos semiterminados figuran también los siguientes empleos: trastornos moderados del sueño, trastornos digestivos de origen nervioso.

● TOMILLO, *Thymus vulgaris* L., *T. zygis* L., Lamiaceae

Esta Lamiaceae mediterránea antibacteriana y espasmolítica, es sobre todo una droga con aceites esenciales, por lo que en este tratado se considera como tal (pág. 539). Dicho esto, es poco probable que los constituyentes del aceite esencial sean los únicos responsables de la actividad antiespasmódica reconocida a las preparaciones acuosas de las flores y sumidades floridas. De hecho, Leni y Vanden Broucke han demostrado que la concentración en fenoles volátiles de aceite esencial en estos preparados es insuficiente para justificar su actividad espasmolítica y que esta es debida a la presencia de polimetoxiflavonas, flavonas di-, tri- y tetrametoxiladas, todas ellas sustituidas en C-6.

● MANZANILLA ROMANA, *Chamaemelum nobile* (L.) All., Asteraceae

«La flor de manzanilla amarga está constituida por los capítulos florales desecados de la variedad doble cultivada de *C. nobile*.» (Ph. eur., 3ª ed.). Como en el caso precedente, la actividad atribuida a esta droga puede deberse en parte a los flavonoides.

* Espino blanco que junto a proantocianidoles activos a nivel miocárdico, contiene mono-C- y di-C-heterósidos de flavonas muy semejantes a los de la pasiflora.

** Recientemente, cinco casos de trastornos de la conciencia se han publicado en Noruega como consecuencia de la utilización de un producto a base de pasiflora (Solbakken, A.M., Rørbakken, G. y Gundersen, T. (1997). Naturmedisin som rusmiddel [A Herbal Product Used for Intoxication], *Tidsskr. Nor. Laegeforen*, 117, 1140-1141.

La planta, la droga. La manzanilla romana o amarga es una planta vivaz con tallos ramificados, hojas pennatisectas de color verde blanquecino, vellosas. Los capítulos de la variedad cultivada tienen un diámetro comprendido entre 8 y 20 mm. Contienen casi únicamente flores liguladas, blancas, estériles, insertas sobre un receptáculo compacto que lleva, entre las flores, filamentos alargados y traslúcidos. El involucreo del capítulo se encuentra reducido a 2-3 filas de brácteas apretadas e imbricadas, escariosas en sus bordes. Las lígulas son lanceoladas, trinervadas y pentadentadas. El mercado farmacéutico se abastece de cultivos (Francia, Bélgica).

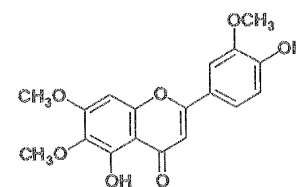
Composición química. Como muchas Asteraceae, la manzanilla amarga contiene lactonas sesquiterpénicas (0,6%). En este caso los germacranólidos (nobilina, 3-epinobilina y derivados análogos) le confieren cierto amargor. El olor de la droga se debe a la presencia entre 4 y 15 ml/kg de un aceite esencial compuesto por más de un 85% de ésteres mono- y bifuncionales de ácidos y alcoholes alifáticos de pequeña masa molecular (*i.e.* en C₄, C₅ o C₆) que provienen del metabolismo de la leucina, isoleucina o valina: angelatos, tiglatos, metilacrilatos, crotonoatos, butiratos de isobutanol, de 3-metilbutan-1-ol, de 2-metilbutan-1-ol, etc. Algunos de estos ésteres existen en la planta fresca al estado de derivados peroxidados (también ocurre esto con la 1-β-hidroperoxiisonobilina). Aunque el aceite esencial contiene también monoterpenos, los azulenos se encuentran sólo al estado de trazas. Los demás constituyentes conocidos del capítulo son ácidos fenoles, cumarinas y flavonoides, glucósidos de la apigenina y de la luteolina.

Ensayos. La identidad de la droga se confirma por un examen macro- y microscópico (tricomas glandulosos cortos, brillantes y amarillos; largos [500 μm] tricomas cónicos de las brácteas involucrales y filamentos, etc.), y por el análisis en CCF del contenido flavonoídico de un extracto metanólico (revelando con difenilborato de aminoetanol).

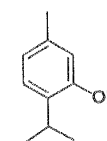
Para ser oficial la droga no debe contener capítulos florales pardos o negruzcos y la proporción de capítulos de diámetro inferior a 8 mm debe ser como máximo de un 3%. El contenido en aceite esencial debe ser como mínimo igual a 7 ml/kg.

Acción farmacológica y empleos. ¿Se debe al aceite esencial la actividad antiinflamatoria de esta droga? A diferencia del aceite esencial de manzanilla dulce, éste no contiene derivados sesquiterpénicos de tipo bisabolano y azulenos en muy pequeña proporción. Por otra parte es poco probable que los germacranólidos se comporten *in vivo* como proazulenos (lo que se ha sugerido en el caso de los guayanólidos de la manzanilla dulce). No se excluye por otra parte, que esta actividad, así como la actividad antiespasmódica, puedan ser achacadas a la apigenina, luteolina y a sus glucósidos cuya actividad ha sido establecida en ratón.

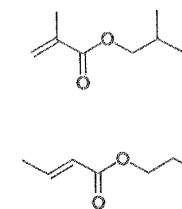
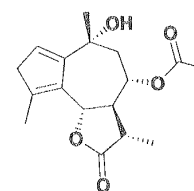
Los fitomedicamentos a base de manzanilla romana se utilizan tradicionalmente, por vía oral, en el tratamiento sintomático de trastornos digestivos tales como: digestión lenta, flatulencia, gases epigástricos, eructos y como tratamiento coadyuvante del componente doloroso de trastornos digestivos funcionales. Tópicamente, se utilizan tradicionalmente en 1º tratamiento complementario suavizante y antipruriginoso de afecciones dermatológicas, como trófico protector en el tratamiento de grietas,



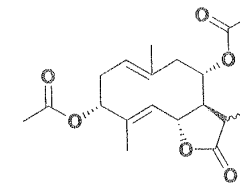
5,4'-dihidroxi-6,7,3'-trimetoxiflavona



tímol

ésteres del a.e.
de manzanilla romana

aquilicina



millefina

excoriaciones, cortaduras y contra las picaduras de insectos; 2º en casos de irritación o molestias oculares debidas a diversas causas (atmósfera con humo, esfuerzos visuales continuados, baños de mar o de piscina, etc.); 3º como antiálgico en afecciones de la cavidad bucal y/u orofaríngea (colutorios, pastillas); 4º en enjuagues bucales o para la higiene bucal [Note Expl., 1998]. Los empleos reconocidos a la droga por las autoridades alemanas (Comisión E) son del mismo tipo: trastornos digestivos, inflamaciones de la cavidad bucal.

La droga y sus extractos forman parte de la composición de champús con virtudes aclarantes (no está excluido que estas propiedades se deban a los peróxidos).

Aceite esencial de manzanilla romana. El aceite esencial no es objeto de monografía en la Farmacopea, sino de una norma AFNOR que propone un perfil cromatográfico: angelato de isobutilo + metacrilato de isoamilo (30-45%), angelato de isoamilo (12-22%), angelato de metilalilo (6-10%), angelato de 2-metilbutilo (3-7%), *n*-butirato de isobutilo (2-9%), α-pineno (1,5-5%), metacrilato de isobutilo (1-3%) isobutirato de isoamilo (3-5%), metacrilato de 2-metilbutilo (0,5-1,5%), pinocarvona (1,3-4%), *trans*-pinocarveol (2-5%) [NFT 75-253, 7-1992].

● MILENRAMA, (aquilea), *Achillea millefolium* L., Asteraceae

La tradición popular atribuye a la sumidad florida propiedades astringentes, antiespasmódicas, cicatrizantes. La droga contiene al menos 2 ml/kg de aceite esencial y como mínimo 0,02% de proazulenos (Ph. eur, 3ª ed., add. 1999).

*Achillea millefolium* L.

La planta, la droga. La aquilea es una especie cosmopolita con hojas sésiles, muy recortadas y vellosas. Las flores se agrupan en capítulos que se reúnen entre sí en corimbos densos. *A. millefolium* L. *stricto sensu* es una especie polimorfa de un género de compleja taxonomía. La flora europea recoge, para nuestra zona, dos subespecies hexaploides: (a)- subsp. *millefolium* y (b)- subsp. *sudetica* (Opiz) Weiss [= subsp. *alpestris* (Wimm. & Grab.) Gremli]; también menciona una forma de mayor porte (= *A. monticola*, Martin-Donos) que, para otros autores, constituye una tercera subespecie: (c)- subsp. *ceretanum* Sennen.

Composición química. A primera vista parece que la composición química de la droga es conocida, pero los resultados publicados muy raramente precisan la identidad exacta de la muestra analizada. Se sabe que la especie (en su más amplio sentido) contiene lactonas sesquiterpénicas (aquilicina [= 8 α -acetoxi-10-epi-artabsina], aquilina, aquifolina, milefina, leucodina, dihidropartenólido, balcanólido, etc.), políinos y entre 2 y 10 ml/kg de un aceite esencial con azulenos. De hecho, únicamente las especies y poblaciones tetraploides de *A. millefolium* *latu sensu* contienen proazulenos que por hidrodestilación, dan lugar a azulenos. Este es el caso, por ejemplo, de *A. collina* J. Becker ex Reichenb. del centro de Europa, rica en proazulenos: aquilicina y otros derivados de la 10-epi-artabsina (8 α -angeloiloxi y 8 α -tigloiloxi). El aceite esencial de los hexaploides contiene únicamente, en el mejor de los casos, trazas de azulenos. El contenido en azulenos del aceite esencial se determina de manera sencilla, por medida de la absorbancia a 608 nm (Farmacopea).

Sea cual sea el grado de ploismo (con excepción del diploidismo), todas las subespecies de *A. millefolium* *stricto sensu* y las especies cercanas al grupo *millefolium* contienen luteolina, apigenina y sus glucósidos en C-7, así como flavonas y flavonoles metoxilados en C-6, di- y trimetilados (pectolinarigenina, 3-metilbetuletol, 3,6,4'-metilquercetagina).

Acción farmacológica y empleos. Una parte de las actividades atribuidas (aunque no probadas) a la subespecie más común (hexaploide con flores blancas) no se puede explicar por la presencia de azulenos, es posible que se deba a los flavonoides que, como es sabido, poseen propiedades antiinflamatorias y antiespasmódicas. La aquilea se utiliza tradicionalmente, por vía oral, en el tratamiento sintomático de trastornos digestivos tales como: flatulencias epigástricas, digestiones lentas, eructos y como tratamiento coadyuvante del componente doloroso de los trastornos funcionales digestivos. Tópicamente se utiliza tradicionalmente en el tratamiento complementario como suavizante y antipruriginoso en afecciones dermatológicas, como trófico protector [Note Expl., 1998]. En Alemania, los empleos recogidos en la Comisión E son: 1° por vía sistémica, en el campo digestivo (trastornos digestivos, dolores abdominales de tipo calambre, pérdida de apetito); 2° tópicamente (en baños de asiento, dolores pelvianos de la mujer). Únicamente la indicación por vía oral, en forma adaptada, se tiene en cuenta para el etiquetado de los productos semiterminados.

Debido a la presencia de lactonas sesquiterpénicas, los sujetos alérgicos a las Asteraceae tienen contraindicado recurrir a esta especie.

OTRAS DROGAS

Cierto número de drogas podrían figurar en este capítulo: por ejemplo, las flores de retama*, de saúco*, la hoja de abedul* y las partes aéreas estériles de la cola de caballo que parece que actúan favoreciendo la eliminación renal de agua. ¿Cuál es el papel de los flavonoides en las propiedades que la tradición popular les atribuye y que no están formalmente desmentidas por la experimentación animal? (aunque tampoco hayan sido siempre netamente confirmadas). La bibliografía no aporta casi ninguna respuesta. La pregunta sobre el papel de los flavonoides podría hacerse en muchos otros casos: *Chrysanthellum**, kinkeliba**, boldo*.

● COLA DE CABALLO, *Equisetum arvense* L., Equisetaceae

La 10.^a edición de la Farmacopea francesa dedica una monografía a la cola de caballo. La droga está constituida por «las partes aéreas estériles desecadas de *E. arvense* L.». El *E. fluviatile* L. y el *E. hyemale* L. se han retirado de la lista revisada de plantas medicinales (Ph. fsa., IV.7.A. el 1-01-1998).

La planta. Esta especie, común en Francia, prefiere suelos húmedos incluso marismas, arcillo-silíceos. Se caracteriza por dos tipos de tallos: fértiles que aparecen al principio de la primavera y estériles que se desarrollan más tarde. Los tallos fértiles, no clorofilicos, poseen una espiga esporangífera oblonga. Las ramas estériles (0,2-0,8 m) poseen tallos huecos, articulados en los nudos y recorridos por 6-12 surcos no muy profundos, y ramas secundarias con cuatro ángulos. En los nudos se insertan hojas verticiladas, de tamaño reducido; en forma de dientes soldados con una extremidad negra, las hojas forman una vaina alrededor del tallo. El corte del tallo muestra una epidermis con paredes silicificadas (cutícula en cúpula); se observa que el tejido colenquimatoso se encuentra impregnado de sílice a nivel de las protuberancias y cavidades aeríferas a nivel de los surcos; el endodermo es común a todas las estelas.

* Retama, pág. 843, saúco, pág. 362, abedul, pág. 752, boldo, pág. 900, *Chrysanthellum*, pág. 707.

** KINKELIBA. *Combretum micranthum* G. Don, es un arbusto de la familia de las Combretaceae que crece en todo el oeste del continente africano. La droga está constituida por la hoja (Ph. fsa., 10.^a ed.) y es conocida por contener ácidos fenóles, C-heterósidos de flavonas (el contenido mínimo exigido para la droga en la Farmacopea es de 1,2% expresado en vitexina), proantocianidoles y otros compuestos fenólicos (más del 11%), aminoácidos cuaternarios (hidroxiestaquidrina), esteroides, triterpenos. Se aprecia la presencia de sorbitol, meso-inositol y ciclitoles. Para algunos autores, estos polioles serían responsables de la actividad hepatobiliar atribuida a la droga. En ausencia de experiencias farmacológicas recientes y de ensayos clínicos, la kinkeliba entra en la formulación de especialidades destinadas a mejorar la sintomatología de trastornos digestivos, favorecer la secreción biliar, estimular la eliminación renal de agua. La *Note Explicative* de 1998 recoge indicaciones del mismo tipo: [tradicionalmente utilizada para] facilitar (1) funciones de eliminación urinaria y digestiva y (2) la eliminación renal de agua; (3) como colerético y colagogo.

E. palustre L., especie reputada como tóxica (¿para el hombre?*) y que puede constituir una falsificación, posee un único tipo de ramas con tallos huecos con 6-8 surcos profundos, ramas secundarias de 4-5 ángulos y verticiladas en 8. La presencia de alcaloides no parece constituir una característica distintiva importante.

Composición química. Las colas de caballo son ricas en sales minerales (15-20% de cenizas), sobre todo de silicio: 5-10% (SiO₂) de la masa seca, según las especies. El silicio, concentrado sin duda en la planta por un fenómeno activo, se presenta principalmente en forma de concreciones opalinas dispuestas sobre las epidermis, colénquimas periféricos, endodermo de los tallos y ramas (de ahí la rugosidad de estos órganos). Una pequeña parte del silicio podría encontrarse en una forma soluble aún no bien conocida (¿silicatos hidrosolubles? ¿silicio orgánico?). La droga contiene además esteroides, ácido ascórbico y ácidos fenólicos: cinámicos, dicafeil-meso-tartárico y 5-O-cafeilsikímico; abundantes estos últimos en primavera, desaparecen posteriormente.

La cola de caballo contiene numerosos flavonoides: existe cierta confusión en los resultados inicialmente publicados que se explica porque las muestras estudiadas, de épocas y lugares de recolección diferentes, etc., no siempre han sido bien caracterizadas. Además, estos trabajos no tienen en cuenta la posibilidad de la existencia, comprobada actualmente, de quimiotipos. Se conoce, en efecto, la existencia de dos quimiotipos que se diferencian por la composición en flavonoides de sus tallos estériles. El primero, *asiático* y *americano*, contiene flavonas O-glucosiladas en C-5, principalmente 5-O-glucosiluteolina y su éster malónico en 6'' que representa del 50 al 60% de los flavonoides totales. El segundo quimiotipo, *europeo*, está desprovisto de ellos. Los dos quimiotipos analizados contienen en cantidad importante 3-O-(6''-O-manolil-β-D-glucopiranosil)-quercetol (constituyente mayoritario -30 a 50% en el quimiotipo europeo), 3-O-glucosilquercetol y otros heterósidos de flavonoles (en total, se han caracterizado cerca de veinte flavonoides en ambos quimiotipos). En zonas atlánticas (Escandinavia, Escocia), la reproducción cruzada de los quimiotipos origina poblaciones de composición intermedia. Para un mismo quimiotipo, la composición cualitativa en flavonoides de una cola de caballo varía fuertemente en función del ciclo vegetativo y su cantidad depende de factores ambientales (luz, agua). Las ramas fértiles contienen flavonoides con el ciclo B modificado (glicósidos de protogenkwanina y derivados análogos) así como una sustancia con comportamiento de flavonoide, pero que es un glucósido de estilipirona.

* Aunque se conocen casos de intoxicación en caballos (cf. Granacher, A. (1995). *Der klinische Fall, Tierärztl. Prax.*, 23, 241-242 y 316-317), no se señalan incidentes debidos a la utilización de la cola de caballo oficial por el hombre. Resaltamos, sin embargo, que se ha observado un caso de debilidad muscular acompañada de una clara alteración del ionograma y de perturbaciones del ECG en España en 1996. La especie involucrada fue *E. telmateia* Ehrh.; la víctima, una mujer de 84 años, la utilizaba en infusión desde hacía seis meses (cf. Miró, Ó., Pedrol, E., Nogué, S. y Cardellach, F. (1996). Hiponatremia e hipopotasemia graves inducidas por el consumo de *Equisetum telmateia*, *Med. Clin. [Barcelona]*, 106, 639).

Ensayos. La droga se identifica por sus características macro- y microscópicas. A título de ensayo propiamente dicho, la Farmacopea prescribe la búsqueda de otros equisetos mediante estudio microscópico del polvo (presencia de una pared intercelular a nivel de las crestas epidérmicas) así como dos ensayos en CCF: la finalidad del primero es la caracterización de los flavonoides contenidos en un extracto etanólico (revelando con difenilborato de aminoetanol/ UV), la segunda prueba permite detectar la sustitución por *E. palustre* L.: utiliza el residuo obtenido después de una extracción en medio ácido (H_2SO_4) y purificación por reextracción (éter dietílico, amoníaco). No se deben observar manchas al revelar con el reactivo de yodoplatinato. En la práctica, el análisis por CLAR permite detectar la contaminación de la droga por el equiseto palustre que contiene un flavonoide específico: el 3-O-rutinosil-7-O-glucosilkaenferol. En lo relacionado con el *E. telmateia* Ehrh., se caracteriza por la presencia de glicósidos acetilados del kenferol.

Acción farmacológica. La tradición y experimentación animal antigua atribuyen a la cola de caballo un efecto diurético. Otros datos experimentales, más recientes, demuestran como máximo un ligero aumento en la eliminación hídrica. En estas circunstancias, la discusión de atribuir la actividad a una u otra molécula parece vana... La cola de caballo por otra parte, parece ser hemostática y «remineralizante»: aunque algunos autores piensan que el silicio interviene en la estructuración del tejido conjuntivo y que interactúa con el metabolismo fosfocálcico, la acción de la cola de caballo no ha sido demostrada en este terreno.

Toxicidad. Los equisetos, sobre todo el *E. palustre*, pueden originar intoxicaciones en animales herbívoros. Especialmente en el caballo la intoxicación es grave y reviste todos los aspectos de carencia aguda de vitamina B₁ (incoordinación motora), lo mismo que se observa en este animal con *Pteris aquilina* L. (Cf. nota pág. 337).

Empleos. Los fitomedicamentos a base de cola de caballo pueden reivindicar las siguientes indicaciones (por vía oral): tradicionalmente utilizados para facilitar las funciones de eliminación urinaria y digestiva; para favorecer la eliminación renal de agua y como coadyuvante en curas de adelgazamiento [Note Expl., 1998]. Además de las indicaciones reconocidas, los fitoterapeutas recomiendan frecuentemente la cola de caballo en casos de fragilidad ósea, de calambres, etc.

En Alemania, la indicación que lleva la etiqueta de los productos semiterminados es la siguiente «afecciones inflamatorias de riñones y vejiga, para aumentar el volumen de orina». El edema unido a una disfunción cardíaca o renal constituye una contraindicación. Hay que señalar que la monografía de la Comisión E indica como usos de esta droga «diurético débil», casos de edemas post-traumáticos y estáticos, afecciones inflamatorias y bacterianas del aparato urinario y para los cálculos renales. Tópicamente, la cola de caballo se utiliza como coadyuvante en el tratamiento de apoyo de heridas que cicatrizan mal.

La cola de caballo y sus preparados se utilizan mucho en cosmetología (prevención de arrugas, estrías, celulitis).

● «**ROOIBOS TEA**», *Aspalathus linearis* (Burm. f.) R. Dahlgr., Fagaceae

Esta Crotalariae no es propiamente hablando una planta medicinal. Las hojas jóvenes, fermentadas y desecadas, se utilizan como alternativa del té, sobre todo en África del Sur. Son también reputados sedantes, que favorecen la digestión y el sueño. El consumo de este té se ha extendido en la actualidad y ha llegado a Europa sobre todo porque algunos le atribuyen efectos antioxidantes.

Los tallos y las hojas de este arbusto no contienen cafeína, sino ácido ascórbico, fluoruros, trazas de aceite esencial y, sobre todo, ácidos fenóles y flavonoides: C-glicósidos (aspalatina, orientina, iso-orientina), O-glicósidos (rutósido, isoquercitrósido), geninas (crisoeriol). La aspalatina es un C-glucósido de dihidrochalcona. Característica en la planta fresca, desaparece casi totalmente durante la fermentación. El producto fermentado es rico en quercetol. No se han podido detectar alcaloides pirrolizidínicos tóxicos característicos de géneros afines.

Experimentada *in vitro* como captadora de radicales (radical difenilpicrilhidracilo), la infusión de *Aspalathus* no fermentadas es algo menos activa que el té verde (*Camellia sinensis*). La actividad decrece ligeramente después de la fermentación. El análisis de los datos bibliográficos no revela toxicidad ni efectos secundarios.

11. BIBLIOGRAFÍA

Generalidades

- ANDEM (1996). Veinotropes, *Concours Med.*, **42**, suppl. 5, 22-29.
- Gordon, M.H. (1996). Dietary Antioxidants in Disease Prevention, *Nat. Prod. Rep.*, **13**, 265-273.
- Halliwel, B. (1994). Free Radicals, Antioxidants, and Human Disease : Curiosity, Cause, or Consequence ? *Lancet*, **344**, 721-724.
- Harborne, J.B., éd. (1994). The Flavonoids -Advances in Research since 1986, Chapman & Hall, Londres.
- Hertog, M.G.L., Kromhout, D., Aravanis, C., Blackburn, H., Buzina, R., Fidanza, F., Giampaoli, S., Jansen, A., Menotti, A., Nedeljkovic, S., Pekkarinen, M., Simic, B.S., Toshima, H., Feskens, E.J.M., Hollman, P.C.H. et Katan, M.B. (1995). Flavonoid Intake and Long-term Risk of Coronary Heart Disease and Cancer in the Seven Countries Study, *Arch. Intern. Med.*, **155**, 381-386.
- Hertog, M.G.L., Feskens, E.J.M., Hollman, P.C.H., Katan, M.B. et Kromhout, D. (1993). Dietary Antioxidant Flavonoids and Risk of Coronary Heart Disease : the Zutphen Elderly Study, *Lancet*, **342**, 1007-1011.
- Hertog, M.G.L., Feskens, E.J.M., Holiman, P.C.H., Katan, M.B. et Kromhout, D. (1993). Dietary Antioxidant Flavonoids and Cancer Risk in the Zutphen Elderly Study, *Nutr. Cancer*, **22**, 175-184.
- Hertog, M.G.L., van Poppel, G. et Verhoeven, D. (1997). Potentially Anticarcinogenic Secondary Metabolites from Fruit and Vegetables, in « *Phytochemistry of Fruit and Vegetables* », (Tomás-Barberán, F.A et Robins, R.J., eds.), p. 313-329, Clarendon Press, Oxford.
- Knekt, P., Järvinen, R., Reunanen, R. et Maatela, J. (1996). Flavonoid Intake and Coronary Mortality in Finland : a Cohort Study, *Br. Med. J.*, **312**, 478-481 ; commentaire Muldoon, M.F. et Kritchevsky, S.B., *ibid.*, 458-459.

- Knekt, P., Järvinen, R., Seppänen, R., Heliövaara, M., Teppo, L., Pukkala, E. et Aromaa, A. (1997). Dietary Flavonoids and the Risk of Lung Cancer and other Malignant Neoplasms, *Am. J. Epidemiol.*, **146**, 223-230.
- Remesy, C., Manach, C., Demigne, C., Texier, O. et Régerat, F. (1996). Intérêt nutritionnel des flavonoides, *Med. Nutr.*, **32**, 17-27.
- Rice-Evans, C.A. et Packer, L. (1998). Flavonoids in Health and Disease, Marcel Dekker, New York.

Citroflavonoides, rutósido

- Borrego, F., Canales, I. et Lindley, M.G. (1995). Neohesperidin Dihydrochalcone : State of Knowledge Review, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, **200**, 32-37.
- Calvarano, M., Postorino, E., Gionfriddo, F., Calvarano, I., Bovalo, F. et Calabrò, G. (1996). Naringin Extraction from Exhausted Bergamot Peels, *Perfume. Flavor.*, **21**, (5), 1-4.
- Gilly, R., Pillion, G. et Frileux, C. (1994). Evaluation of a New Venoactive Micronized Flavonoid Fraction (S 5682) in Symptomatic Disturbances of a Veinolympathic Circulation of the Lower Limbs. A Double-blind, Placebo-controlled Study, *Phlebology*, **9**, 67-70.
- MacLennan, W.J., Wilson, J., Rattenhuber, V., Dickland, W.J., Vanderdonck, J. et Moriau, M. (1994). Hydroxyethylrutosides in Elderly Patients with Chronic Venous Insufficiency : its Efficacy and Tolerability, *Gerontology*, **40**, 45-52.

Ginkgo

- Arenz, A., Klein, M., Fiehe, K., GroB, J., Drewke, C., Hemscheidt, T. et Leistner, E. (1996). Occurrence of Neurotoxic 4'-O-Methylpyridoxine in *Ginkgo biloba* Leaves, *Ginkgo Medications and Japanese Ginkgo Food*, *Planta Med.*, **62**, 548-551.
- DeFeudis, F.V. (1991). *Ginkgo biloba* Extract (EGb 761) : Pharmacological Activities and Clinical Applications, Elsevier, Amsterdam.
- Braquet, P., éd. (1988-1989). Ginkgolides, Chemistry, Biology, Pharmacology and Clinical Perspectives, 2 volumes, J.R. Prous Science, Barcelone.
- Hasler, A., Gross, G.-A., Meier, B. et Sticher, O. (1992). Complex Flavonol Glycosides from the Leaves of *Ginkgo biloba*, *Phytochemistry*, **31**, 1391-1394.
- Kleijnen, J. et Knipschild, P. (1992). *Ginkgo biloba*, *Lancet*, **340**, 1136-1139.
- Rowin, J. et Lewis, S.L. (1996). Spontaneous Bilateral Subdural Hematomas Associated with Chronic *Ginkgo biloba* Ingestion, *Neurology*, **46**, 1775-1776-, voir aussi le cas décrit par Matthews, M.K. en 1998 (*ibid.*, **50**, 1933) et la réponse de Rowin et Lewis (*ibid.*, 1933-1934).
- Smith, P.F., MacLennan, K. et Darlington, C.L. (1996). The Neuroprotective Properties of the *Ginkgo biloba* leaf : a Review of the Possible Relationship to Platelet-activating-factor (PAF), *J. Ethnopharmacol.*, **50**, 131-139.
- Sticher, O. (1993). Quality of *Ginkgo Preparations*, *Planta Med.*, **59**, 2-11.

Passiflora

- Meier, B. (1995). *Passiflora incarnata* L. - Passionblume. Portrait einer Arzneipflanze, *Z. Phytother.*, **16**, 115-126.
- Qimin, L., Van den Heuvel, H., Delorenzo, O., Corthout, J., Pieters, L.A.C., Vlietinck, A.J. et Claeys, M. (1991). Mass Spectral Characterization of C-Glycosidic Flavonoids Isolated from a Medicinal Plant (*Passiflora incarnata*), *J. Chromatogr.* (562), 435-446.
- Rahman, K., Krenn, L., Kopp, B., Schubert-Zsilavecz, M., Mayer, K. K. et Kubelka, W. (1997). Isoscoparin-2"-O-glucoside from *Passiflora incarnata*, *Phytochemistry*, **45**, 1093-1094.
- Rehwald, A., Sticher, O. et Meier, B. (1995). Trace Analysis of Harman Alkaloids in *Passiflora incarnata* by Reversed-phase High Performance Liquid Chromatography, *Phytochem. Analysis*, **6**, 96-100.

Milenrama

- Hofmann, L., Fritz, D., Nitz, S., Kollmannsberger, H. et Drawert, F. (1992). Essential Oil Composition of Three Polyploids in the *Achillea millefolium* 'complex', *Phytochemistry*, **31**, 537-542.

Cola de caballo

- Veit, M., Beckert, C., Höhne, C., Bauer, K. et Geiger, H. (1995). Interspecific and Intraspecific Variation of Phenolics in the Genus *Equisetum* subgenus *Equisetum*, *Phytochemistry*, **38**, 881-891.

Rooibos tea

- Rabe, C., Steenkamp, J.A., Joubert, E., Burger, J.F.W. et Ferreira, D. (1994). Phenolic Metabolites from Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*), *Phytochemistry*, **35**, 1559-1565.
- Von Gadow, A., Joubert, E. et Hansmann, C.F. (1997). Comparison of the Antioxidant Activity of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*) with Green, Oolong and Black Tea, *Fil. Chem.*, **60**, 73-77.