

Determinación estructural de flavonoides en el extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. “Tuna Verde”

Bonilla Rivera Pablo Enrique¹; Fernández Rebaza Gustavo Adolfo¹; Bustamante Peñaloza Luis Enrique¹; Casas Martel Luby Evelyn¹; Cirineo Rodríguez Mishell Xiomi¹; Hinostrza Lorenzo Mónica Lucero¹; Villar Melendez Heidy Cristina¹; Yupanqui Gallegos Brigitte Marylin¹

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 18/10/2017

Aprobado: 14/12/2017

Autor corresponsal

Gustavo Adolfo Fernández Rebaza
gustav.unmsm@gmail.com
+511991895544

Financiamiento

Autofinanciado

Conflictos de interés

Ninguno

Citar como

Bonilla Rivera PE; Fernández Rebaza GA; Bustamante Peñaloza LE; Casas Martel LE; Cirineo Rodríguez MX; Hinostrza Lorenzo ML; Villar Melendez HC; Yupanqui Gallegos BM. Determinación estructural de flavonoides en el extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. “Tuna Verde”. Rev Peru Med Integrativa.2017;2(4):835-40.

Resumen

Objetivos. Determinar estructuralmente los flavonoides encontrados en el extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. “Tuna Verde”. **Materiales y métodos.** Se preparó el extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Luego se detectaron sus componentes mediante un tamizaje fitoquímico. A través de cromatografía en capa fina se aislaron los compuestos fenólicos tipo flavonoides. Finalmente, usando espectroscopia UV/Vis se propuso la posible estructura de los flavonoides encontrados. **Resultados.** El tamizaje fitoquímico mostró presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y glicósidos. Se propuso cinco estructuras químicas de compuestos fenólicos, todas con un núcleo en común: flavona, mediante las lecturas en el espectrofotómetro UV/Vis y por comparación con lo publicado por TJ Mabry. **Conclusión.** Se determinó la posible estructura química de cinco flavonoides presentes en el extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. “Tuna Verde”.

Palabras clave: *Opuntia ficus-indica*, flavonoides, tamizaje, cromatografía, espectroscopia UV/Vis. (Fuente: DeCS BIREME).

Structural identification of flavonoids in ethanolic extract of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. “Tuna Verde” cladodes

Abstract

Objectives. To determine structurally the possible flavonoids found in the ethanolic extract of cladodes of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. “Tuna Verde”. **Materials and methods.** An ethanolic extract *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. cladodes was prepared and its components were detected by phytochemical screening. Flavonoid-type phenolic compounds were isolated by thin layer chromatography and, after that, the structures of the possible flavonoids were proposed through-Vis spectroscopy. **Results.** The phytochemical screening showed the presence of phenolic compounds, flavonoids and glycosides. Five chemical structures of phenolic compounds were proposed, all of them with a common core: flavone, by UV / Vis spectrophotometry and comparison with TJ Mabry’s patterns. **Conclusions.** Five possible chemical structures of flavonoids from the ethanolic extract *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. “Tuna Verde” cladodes were determined.

Keywords: *Opuntia ficus-indica*, flavonoids, screening, chromatography, UV/Vis spectroscopy (Source: MeSH NLM).

Introducción

Los flavonoides son una familia de compuestos fenólicos que se encuentran en los vegetales, frutas, semillas, frutos secos, cereales, así como en la cerveza, el té o el vino. Estos brindan protección al organismo del daño producido por

agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental o sustancias químicas presentes en los alimentos; sin embargo, el organismo humano no es capaz de sintetizar esta sustancia, por lo que deben ser obtenidos en la dieta ⁽¹⁾.

El esqueleto básico de los flavonoides está constituido por una estructura del tipo C₆-C₃-C₆; cuya estructura, en su forma

¹ Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara”, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú.

más sencilla, consta de dos anillos fenólicos conectados entre sí por un puente de tres carbonos⁽²⁾. Esta estructura explica las propiedades antioxidantes de los flavonoides y promueve la capacidad que estos poseen para atrapar los radicales libres, de reaccionar con las especies reactivas de oxígeno y de formar complejos con el hierro. Asimismo, estos compuestos atrapan radicales libres por presentar grupos hidroxilo-fenólicos y, en esta reacción, el flavonoide cede un átomo de hidrogeno al radical agresor⁽³⁾.

Opuntia ficus-indica (L.) Mill tuna es una cactácea nativa de México, pero con distribución global⁽⁴⁾. Las propiedades medicinales más importantes atribuidas a los cladodios, fruto y flores de la tuna, son: antioxidante, antiulcerante, analgésico y antiinflamatorio, hipoglucemiante, diurético y antiúrico^(5,6). Además, tanto el fruto como el cladodio de la tuna presentan en su composición química minerales tales como fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, manganeso, cobre, zinc, y compuestos funcionales como niacina, ácido ascórbico, fitomenadiona, carotenos y clorofila a+b⁽⁷⁾.

Un estudio previo realizado en cladodios de *Opuntia ficus-indica*, mediante análisis fisicoquímicos, encontró un alto contenido de flavonoides y un buen potencial antioxidante. Cabe destacar que este estudio aportó un análisis único al expresar el contenido de flavonoides como equivalente de quercetina⁽⁸⁾. Otros estudios encontraron actividad antiinflamatoria similar a la de la indometacina al usar un gel elaborado con los cladodios de *Opuntia ficus-indica* en modelos murinos⁽⁹⁾, así como actividad antitóxica de los cladodios de tuna deshidratados, sobre daño hepático inducido por organofosforados⁽¹⁰⁾.

Si bien estos estudios ya han demostrado las potenciales acciones biológicas de esta especie, es necesario iniciar la caracterización de estos compuestos bioactivos⁽¹¹⁾. En la presente investigación se busca determinar estructuralmente los flavonoides encontrados en el extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. "Tuna Verde".

Materiales y métodos

Descripción botánica de la especie

La *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. "Tuna Verde" es una planta arbustiva, que puede alcanzar los 3,5 a 5 m de altura. Los tallos o cladodios, comúnmente llamados pencas, presentan forma de raqueta alargada alcanzando hasta los 60-70 cm de longitud, dependiendo del suministro de agua y nutrientes⁽⁴⁾.

Las aréolas presentan espinas de dos tipos en su cavidad: las pequeñas denominadas "gloquidios", y las grandes que son,

al parecer, hojas modificadas. Las flores, que se desarrollan normalmente en el borde superior de las pencas, son sésiles, hermafroditas y solitarias. El fruto es una falsa baya con ovario ínfero simple y carnoso, con forma y tamaño variable⁽¹²⁾.

Preparación de la muestra⁽¹³⁾

Se procedió a la recolección de diez cladodios de la planta en estudio, en el distrito de Villa el Salvador-Lima. Se realizó la identificación taxonómica a través de un consultor botánico colegiado como *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill "Tuna Verde".

Posteriormente, se inició la limpieza de cladodios, la reducción de tamaño del material vegetal fresco y su secado en estufa a 40 °C. Este material seco fue posteriormente molido, sometido a maceración etanólica por siete días con agitación periódica y filtrado por gravedad. El material filtrado fue secado en una estufa a 40 °C hasta obtener un "extracto seco".

Ensayo de solubilidad

El extracto seco (5 mg) se trató con solventes de polaridad creciente: agua, metanol, etanol, n-butanol y cloroformo. La solubilidad fue expresada en escala ordinal donde (+++) es soluble, (++) parcialmente soluble, (+) poco soluble e (-) insoluble.

Tamizaje fitoquímico⁽¹³⁾

Se realizaron diferentes reacciones químicas de identificación: gelatina para detección de taninos, cloruro férrico para compuestos fenólicos, reacción de ninhidrina para aminoácidos libres, reacción de Dragendorff y reacción de Mayer para alcaloides, reacción de Shinoda para flavonoides, reacción de Molisch para glucósidos e hidróxido de sodio (NaOH) para antraquinonas.

La positividad se definió como cambios de color o formación de precipitados, lo que determinó la presencia de metabolitos secundarios.

Cromatografía en capa fina (CCF)

Se realizó la cromatografía en capa fina del extracto etanólico, sembrando la muestra y luego desarrollando la determinación con el sistema de solventes de cloroformo:metanol (3:1). Finalmente, se reveló la cromatoplaca de silicagel a la lámpara de luz UV 365 nm y 254 nm.

Determinación de estructuras químicas

Se realizó la desorción de las manchas encontradas, las cuales fueron leídas en el espectrofotómetro UV/vis Thermo Scientific GENESYS 10S[®] y comparadas con las estructuras publicadas por TJ Mabry (1970)⁽¹⁴⁾.

Resultados

Al realizar la solubilidad del extracto seco se encontró una afinidad regular con compuestos polares o medianamente polares (Tabla 1).

Tabla 1. Solubilidad del extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. "Tuna Verde".

Solvente	Resultado
1. Agua	++
2. Metanol	++
3. Etanol	++
4. n-Butanol	+
5. Cloroformo	+

(+++ Soluble, (++) Parcialmente soluble, (+) Poco soluble, (-) Insoluble

En el tamizaje fitoquímico del extracto se encontró presencia regular de glicósidos y poca presencia de flavonoides, entre otras sustancias (Tabla 2).

En la cromatografía bajo el sistema de solventes cloroformo: metanol (3:1) y revelado en luz UV 365 nm, se hallaron cinco manchas para lectura con espectrofotometría (Figura 1).

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill "Tuna Verde".

Metabolito	Reactivo	Resultado
Taninos	Gelatina	+
Compuestos fenólicos	Cloruro férrico	+
Aminoácidos libres	Rx. Ninhidrina	-
Alcaloides	Rx. Dragendorff	-
	Rx. Mayer	-
Flavonoides	Rx. Shinoda	+
Glicósidos	Rx. Molisch	++
Antroquinona	NaOH	+

(+++ Abundante, (++) Regular, (+) Poco, (-) Ausente.



Figura 1. Cromatografía en capa fina del extracto etanólico a la luz UV 365 nm con especificación de manchas para lectura con espectrofotómetro.

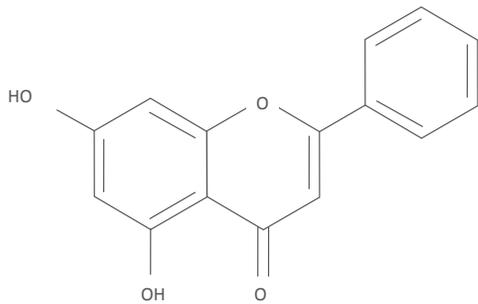
Después de la lectura correspondiente, se proponen cinco estructuras de flavonoides aislados del extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. "Tuna Verde" (Figura 2).

Discusión

El extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. "Tuna Verde", presenta solubilidad en solventes polares y fue poco soluble en solventes apolares. Se ha mostrado en estudios anteriores que los compuestos polares tienen altas probabilidades de actuar como *scavengers* contra especies reactivas de oxígeno⁽¹⁵⁾.

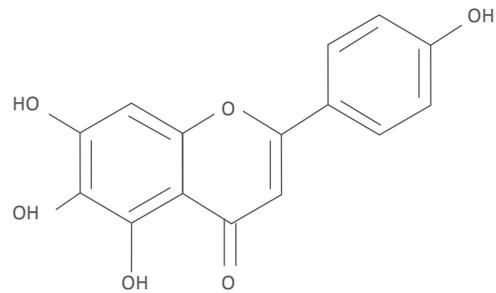
Lanuzza *et al.*⁽¹⁶⁾ y Albano *et al.*⁽¹⁷⁾ determinaron, en extractos metanólicos y etanólicos, respectivamente, la alta concentración de polifenoles y flavonoides en cepas itálicas, los cuales podían ser responsables de los efectos antioxidantes observados en esta especie vegetal. Por otro lado, Villabona *et al.*⁽¹⁸⁾, durante la caracterización de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill, evidenciaron en su composición metabolitos secundarios tales como taninos, compuestos fenólicos tipo flavonoides y glicósidos en mayor cantidad; estos hallazgos coinciden con lo encontrado en el presente estudio.

Muestra 1. $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtoH}}$ 267,318 nm



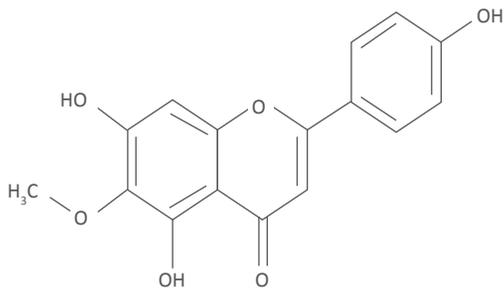
A. 5,7- dihidroxiflavona

Muestra 2. $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtoH}}$ 277,327 nm



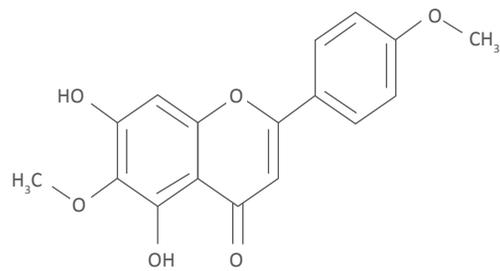
B. 4',5,6,7- tetrahidroxiflavona

Muestra 3. $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtoH}}$ 271,328 nm



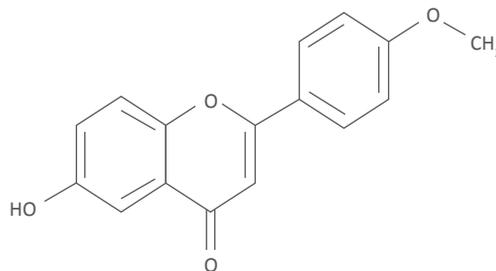
C. 4',5,7- trihidroxi - 6 metoxiflavona

Muestra 4. $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtoH}}$ 272,323 nm



D. 5,7- dihidroxi-4',6 -dimetoxiflavona

Muestra 5. $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtoH}}$ 261,324 nm



E. 6-hidroxi-4',6-metoxiflavona

Figura 2. Estructuras propuestas de flavonoides aislados del extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. "Tuna Verde".

Llama la atención la poca proporción de flavonoides encontrada mediante la reacción de Shinoda en el extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. “Tuna Verde” lo que difiere de lo encontrado en investigaciones previas en otras especies⁽¹⁹⁾ y otras cepas de la misma especie^(16,20). Esto se puede explicar por el lugar de recolección, la temporada en la que ésta se realiza, entre otros factores. Además, se debe tener en cuenta que la especie estudiada es la (“Tuna Verde”), la cual es diferente a las otras especies antes mencionadas que han mostrado contenido rico en antocianinas. Las estructuras encontradas también revisten importancia en los efectos biológicos antes descritos. Por ejemplo, 5,7-dihidroxi-4',6'-dimetoxiflavona, llamado comúnmente “crisina”, que ha demostrado en modelos animales tener efectos reguladores de la producción de estrógenos⁽²¹⁾, insulina y efectos antiinflamatorios⁽²²⁾.

Por otro lado, 4',5,7-trihidroxi-6-metoxiflavona (“hispidulina”), ha sido estudiada por sus propiedades antioxidantes, antitumorales e incluso anticonvulsivantes⁽²³⁾, por lo que, asociado a la crisina⁽²⁴⁾, podrían abrir la posibilidad de estudiar estos efectos en extractos de *Opuntia ficus-indica* (L.) “Tuna

Verde”. Otros flavonoides como la 4',5,6,7-tetrahidroxiflavona, que fue encontrada por Guerrero Alva⁽²⁵⁾ en la caracterización de flavonoides provenientes de la cascara de *Musa cavendishii* (plátano) o 5,7-dihidroxi-4',6'-dimetoxiflavona, que fue encontrado por Campos Fernández⁽²⁶⁾ en propóleos rojos, aún no han sido debidamente estudiados y, por ende, sus efectos biológicos no han sido establecidos completamente.

Este estudio tiene la limitante de estar restringido a la caracterización previa de moléculas de importancia biológica en una especie con potencial terapéutico como *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. “Tuna Verde”. Con estos resultados, futuros estudios podrían estudiar en modelos experimentales efectos terapéuticos ya encontrados en las moléculas caracterizadas y así incrementar la probabilidad de éxito en estas investigaciones.

En conclusión, se determinó la posible estructura química de cinco flavonoides presentes en el extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. “Tuna Verde”: 5,7-Dihidroxi-4',6'-dimetoxiflavona; 4',5,6,7-tetrahidroxiflavona; 4',5,7-trihidroxi-6-metoxiflavona; 5,7-Dihidroxi-4',6'-dimetoxiflavona; 6-hidroxi-4'-metoxiflavona.

Referencias bibliográficas

- Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr.* octubre de 2001;74(4):418–25.
- Firenzuoli F, Gori L, Crupi A, Neri D. [Flavonoids: risks or therapeutic opportunities?]. *Recenti Prog Med.* agosto de 2004;95(7–8):345–51.
- Jiménez CIE, Martínez EYC, Fonseca JG. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. *Rev Fac Med UNAM.* 2009;52(2):73–5.
- Reyes-Agüero J, Aguirre-Rivera J, Hernández H. Systematic notes and a detailed description of *Opuntia ficus-indica* (L.) mill. (Cactaceae). *Agrociencia.* 2005;39(4):395–408.
- Galati EM, Tripodo MM, Trovato A, Miceli N, Monforte MT. Biological effect of *Opuntia ficus indica* (L.) Mill. (Cactaceae) waste matter. Note I: diuretic activity. *J Ethnopharmacol.* enero de 2002;79(1):17–21.
- Arauz JCG. Efectos biofuncionales del Nopal y la Tuna. *Hortic Int.* 2009;(71):18–9.
- Livrea M, Tesoriere L. Health benefits and bioactive components of the fruits from *Opuntia ficus-indica* [L.] Mill. *J Prof Assoc Cactus Dev.* 2006;8:73–90.
- Pérez Encalada SA. Determinación de flavonoides y actividad antioxidante de cladodios de nopal (*Opuntia ficus-indica*). [Tesis para optar al título profesional de químico farmacéutico.]. [Guayaquil]: Universidad de Guayaquil; 2017.
- Bustamante Burga RA. Comparación de la actividad antiinflamatoria del gel de cladodios de *Opuntia ficus-indica* “Tuna” versus Indometacina en *Mus musculus* BALB/c [Internet] [Tesis para obtener el título de Médico-Cirujano]. [Lima]: Universidad San Martín de Porres; 2014 [citado 23 de enero de 2018]. Disponible en: <http://www.repositorioacademico.usmp.edu.pe/handle/usmp/1324>
- Ncibi S, Ben Othman M, Akacha A, Krifi MN, Zourgui L. *Opuntia ficus indica* extract protects against chlorpyrifos-induced damage on mice liver. *Food Chem Toxicol.* 1 de febrero de 2008;46(2):797–802.
- Felker P, Inglese P. Short-term and long-term research needs for *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Utilization in arid areas. *J Prof Assoc Cactus Dev.* 2003;5:131–51.
- Sáenz C, Berger H, Corrales García J, García de Cortazar V, Higuera I, Mondragón C, et al. Utilización agroindustrial del nopal. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma: Food & Agriculture Org.; 2006. 192 p.
- Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2ª ed. Lima: Fondo Editorial PUCP; 1994. 98-102 p.
- The Systematic Identification of Flavonoids | Tom Mabry | Springer [Internet]. [citado 21 de noviembre de 2017]. Disponible en: [//www.springer.com/gp/book/9783642884603](http://www.springer.com/gp/book/9783642884603)

15. Oboh G, Raddatz H, Henle T. Antioxidant properties of polar and non-polar extracts of some tropical green leafy vegetables. *J Sci Food Agric.* 1 de noviembre de 2008;88(14):2486–92.
16. Lanuzza F, Occhiuto F, Monforte MT, Tripodo MM, D'Angelo V, Galati EM. Antioxidant Phytochemicals of *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Cladodes with Potential Anti-spasmodic Activity. *Pharmacogn Mag.* octubre de 2017;13(Suppl 3):S424–9.
17. Albano C, Negro C, Tommasi N, Gerardi C, Mita G, Miceli A, et al. Betalains, Phenols and Antioxidant Capacity in Cactus Pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] Fruits from Apulia (South Italy) Genotypes. *Antioxid Basel Switz.* 1 de abril de 2015;4(2):269–80.
18. Villabona Ortiz A, Paz Astudillo IC, Martínez García J. Caracterización de la *Opuntia ficus-indica* para su uso como coagulante natural. *Rev Colomb Biotecnol.* 2013;15(1):137–44.
19. González P, Eugenia M. Determinación de la actividad antioxidante de cuatro plantas nativas del Ecuador [Internet] [Tesis para obtener el título de Químico-Farmacéutico]. [Quito]: Universidad Central del Ecuador; 2013 [citado 25 de enero de 2018]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/1901>
20. Kim JW, Kim TB, Kim HW, Park SW, Kim HP, Sung SH. Hepatoprotective Flavonoids in *Opuntia ficus-indica* Fruits by Reducing Oxidative Stress in Primary Rat Hepatocytes. *Pharmacogn Mag.* 2017;13(51):472–6.
21. Jana K, Yin X, Schiffer RB, Chen J-J, Pandey AK, Stocco DM, et al. Chrysin, a natural flavonoid enhances steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory protein gene expression in mouse Leydig cells. *J Endocrinol.* mayo de 2008;197(2):315–23.
22. Ramírez-Espinosa JJ, Saldaña-Ríos J, García-Jiménez S, Villalobos-Molina R, Ávila-Villarreal G, Rodríguez-Ocampo AN, et al. Chrysin Induces Antidiabetic, Antidyslipidemic and Anti-Inflammatory Effects in Athymic Nude Diabetic Mice. *Mol Basel Switz.* 28 de diciembre de 2017;23(1).
23. Atif M, Ali I, Hussain A, Hyder S viqar, Khan FA, Maalik A, et al. Pharmacological assessment of hispidulin - a natural bioactive flavone. *Acta Pol Pharm.* junio de 2016;73(3):565–78.
24. Sharma P, Kumari A, Gulati A, Krishnamurthy S, Hemalatha S. Chrysin isolated from *Pyrus pashia* fruit ameliorates convulsions in experimental animals. *Nutr Neurosci.* 28 de diciembre de 2017;1–9.
25. Alva G, Mirtha D. Detección de los flavonoides de la cáscara de plátano (*Musa cavendishii*) y su aplicación en un derivado lácteo. Univ Nac Callao [Internet]. 2014 [citado 22 de noviembre de 2017]; Disponible en: <http://repositorio.unac.edu.pe/handle/UNAC/957>
26. Campo Fernández M. Estudio químico de propóleos rojos cubanos [Internet] [dcmcd]. Universidad de La Habana; 2008 [citado 25 de enero de 2018]. Disponible en: <http://tesis.repo.sld.cu/219/>