

Evaluación del efecto antimicrobiano de flavonoides obtenidos de extractos de hojas de Tamarindus indica Lin

Evaluation of the antimicrobial effect of flavonoids obtained from the extracts of leaves of Tamarindus indica Lin

Ms Med. Bioenerg. Valentín Balbuena Escalona.

Filial de Ciencias Médicas. Bayamo. Granma. Cuba.

RESUMEN

En Cuba, el MINSAP promueve la utilización de plantas medicinales y estimula investigaciones al respecto. Dentro de estas plantas está: Tamarindus indica Lin del que se han probado efectos de sus frutos y se le atribuyen otras propiedades, dentro de ellas las antibacterianas lo cual generó como situación problemática el desconocimiento de los metabolitos responsables de dicha actividad. Por ello se desarrolló un estudio experimental, entre enero 2009 y mayo de 2011, en Ciencias Médicas Bayamo para evaluar el efecto antimicrobiano de un pool de flavonoides de sus hojas. Los extractos se enfrentaron a cepas bacterianas (*S. aureus*, *E coli*, *P aeruginosa*) de cultivos de colección. Las variables de medición de respuesta fueron: Crecimiento y No crecimiento. La obtención de información se realizó bajo la observación a ciegas. Las acciones investigativas constituyeron procedimientos normalizados de trabajo, los equipos y cristalería fueron certificados aptos y los reactivos con calidad pura para análisis. Las hojas se recolectaron entre enero y mayo (donde es mayor la concentración de flavonoides en sus hojas). Se estandarizó y controló la calidad de la droga seca de la que se extrajo el pool de flavonoides y se efectuaron ensayos químicos y espectroscópicos para su identificación. En la determinación botánica de la planta se observaron características concordantes con las del género y la especie. El pool de flavonoides obtenido, constituido por orientina, isoorientina, vitexina e isovitexina, nunca antes reportados con estos efectos, inhibió el crecimiento de las cepas bacterianas.

Descriptores DeCS: FLAVONOIDES/uso terapéutico; TAMARINDUS/parasitología; PLANTAS MEDICINALES.

ABSTRACT

In Cuba, the MINSAP promotes the use of medicinal plants and stimulates the research on the subject. These plants include: *Tamarindus indica* Lin from which there have been proved the effects of the fruit, attributing some other properties, like the antibacterial effect, what provoked as the main problem, the ignorance of the responsible metabolites that caused this activity. Therefore an experimental study was performed between January 2009 and May 2011 in the Faculty of Medical Sciences in Bayamo in order to evaluate the antimicrobial effect of a pool from the flavonoid leaves. The extracts faced bacterial strains (*S. aureus*, *E coli*, *P. aeruginosa*) from collection cultures. The measurement of response variables were: Growth and Non growth. The gathering of information was carried out under blind observation. The investigative actions constituted standardized work procedures, equipment and glassware were suitable certificated and reagents had pure quality for the analysis. The leaves were collected between January and May (where is greater the concentration of flavonoids in the leaves). It was standardized and controlled the quality of dried drugs from which the pool of flavonoids was extracted and then chemical and spectroscopic tests were made for the identification. In the botanical identification of the plant there were observed characteristics that agreed with genus and species. The pool of flavonoids obtained, consisting of orientina, isoorientina, vitexin and isovitexina, had never been reported with these effects before, therefore it inhibited the growth of bacterial strains.

Subject heading: FLAVONOIDS/therapeutic use; TAMARINDUS/parasitology; MEDICINAL PLANTS.

INTRODUCCIÓN

La utilización de plantas medicinales abarca milenios; diversos grupos poblacionales, según la riqueza de la flora, encontró o atribuyó efectos terapéuticos a determinadas plantas y su aplicación, devino en tradición. La Organización Mundial de la Salud (OMS), estima que 80% o más de la población mundial utiliza la medicina tradicional y que gran parte de los tratamientos implica la utilización de extractos de plantas o sus principios activos, de acuerdo con esto, los principios activos, pueden ser empleados como materia prima para la fabricación de medicamentos semisintéticos más complejos, o como precursores para la síntesis de otros fármacos. La OMS, basada en estos hechos, ha promovido el estudio de plantas medicinales y en la conferencia de Alma-Ata, se acordó impulsar la evaluación científica de plantas utilizadas en la medicina tradicional, lo que

permitió establecer un diálogo sobre el principio de eliminar prácticas peligrosas y promover sólo lo seguro y eficaz.¹

En Cuba, el Ministerio de Salud Pública ha sugerido la utilización de especies con efectividad probada y estimula investigaciones al respecto. Dentro de estas especies se encuentra Tamarindus indica Lin del que se ha probado efectos de sus frutos como laxante suave, diurético, antiséptico y antilitiásico renal, y se le atribuyen otras propiedades: hojas como hepatoprotector, espasmolítico, antigripal, antidiabético y antibacteriano, semillas como afrodisíaco y raíz como anti-ictérico y antihemorrágico.^{2,3} Hay referencias de trabajos desarrollados acerca de la evaluación de actividad hepatotropa y antirradicalaria de extractos en in vitro. Otros estudios de Sur et al en 1981 y Cáceres et al en 1987 demostraron que extractos de sus frutos producen inhibición en bacterias Gram negativas que provocan infecciones urinarias.

Feng en 1962 y *Ross* en 1984 observaron que extractos etanólicos y acuosos de hojas, eran activos contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Georges Pandalai en 1949; *Ray y Majumdar* en 1976 y *Ross* en 1980 han señalado que, in vitro, los extractos etanólicos del fruto, presentan actividad contra *Escherichia coli*, *Salmonella typhosa*, *Bacillus subtilis*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus*, *Trycophytum rubrum* y *mentagrophyto*, *Staphylococcus albus*, *Bacillus negaterium*, *cereus* y *Pseudoma aeruginosa*.³

Estos elementos, la inocuidad planteada por la categorización de TRAMIL para esta especie,³ así como la situación problemática provocada por el conocimiento insuficiente de los metabolitos responsables de los reportes sobre la actividad de inhibición del crecimiento de microorganismos enfrentados a extractos de hojas de *Tamarindus indica* Lin, avalan la pertinencia de la presente investigación.

A partir de la situación problemática, se tuvieron en cuenta las siguientes premisas: Los extractos son ricos en ácidos orgánicos, fenoles, taninos, triterpenos, esteroides y flavonoides, de importancia terapéutica.³

Se considera que la actividad antimicrobiana puede estar influida por sinergismo de los principios contenidos en los extractos o al pH que presentan.^{4,5}

La actividad observada, pudiera deberse a los flavonoides identificados en sus hojas.

Por ello se requería perfeccionar el conocimiento para dar respuesta a dichas contradicciones. Tomando como base el argumento planteado y las premisas, se enunció

el siguiente problema de investigación: ¿La actividad antimicrobiana de los extractos de hojas de Tamarindus indica Lin estará determinada por los flavonoides contenidos en éstos? y como Hipótesis: "Si se aplica una concentración adecuada de un pool de flavonoides obtenidos de extractos de hojas de tamarindo, a un inóculo de bacterias estandarizado según Escala de Mac Farland a $1,5 \times 10^9$ microorganismos por ml, sembrado en un medio propicio e incubado, siguiendo las buenas prácticas de laboratorio, entonces no se producirán crecimientos en los cultivos realizados".

Objetivo General:

Evaluar el efecto antimicrobiano de un pool de flavonoides obtenidos de extractos de hojas de Tamarindus indica Lin.

Objetivos específicos:

Determinar botánicamente la especie recolectada.

Determinar a la droga seca humedad, humedad residual, cenizas totales e insolubles en ácido clorhídrico y agua.

Extraer flavonoides de las hojas de Tamarindus indica Lin., identificarlos química y espectroscópicamente en los extractos obtenidos, y enfrentarlos, a diferentes concentraciones, con cepas bacterianas Gram positivas y negativas.

MÉTODO

Se desarrolló un estudio experimental, preclínico, entre los meses comprendidos entre enero 2009 y mayo de 2011, en Bayamo M.N., teniendo como sede Ciencias Médicas de Bayamo, Filial de la Universidad Médica de la Provincia Granma.

Para alcanzar los objetivos del proyecto el estudio siguió el algoritmo siguiente:

- a) Recolección de hojas de Tamarindus indica Lin, determinación botánica, secado, molinado, caracterización.
- b) Obtención de flavonoides de las hojas por el método de extracción sólido – líquido y líquido – líquido basados en la polaridad del Butanol y en la basicidad de la solución de Bicarbonato de Sodio.

Caracterización química y espectroscópica.

- c) Evaluación del efecto antibacteriano del pool de flavonoides:

1. Dilución del pool en el medio
2. Dilución del menstuo en el medio
3. Siembra > Incubación > Lectura

Para alcanzar la calidad adecuada, las acciones investigativas constituyeron procedimientos normalizados de trabajo, los equipos y cristalería fueron certificados como aptos, los reactivos usados con calidad pura para análisis, fueron de las marcas BDH y Merck, por otra parte el material vegetal se recolectó en los meses comprendidos entre enero y mayo, (etapa en la que la concentración de flavonoides es mayor en las hojas de la planta).

Para estandarizar y controlar la calidad de los extractos flavonólicos y caracterizar la droga, se determinó humedad (Peso de la droga verde menos peso de la droga seca), humedad residual (Peso de la droga seca menos peso obtenido establemente después de someter la misma a 110° C por 3 h. aproximadamente) y cenizas totales. (Peso de la droga menos peso de las cenizas obtenidas por incineración).

De la droga seca se extrajo un pool de flavonoides, a los que se le efectuaron ensayos como antimicrobiano de acuerdo al algoritmo antes expuesto, el pool de flavonoides disuelto en butanol, se secó por rotoevaporación y se redisolvió en etanol al 70%. Para las pruebas de sensibilidad antimicrobiana se empleó Agar Muller Hinton y para lograr los cuatro grados previstos para la variable independiente, se procedió con el pool y el menstuo como se muestra en la tabla1.

Tabla 1. Resultado de las pruebas antimicrobianas.

Cantidad a diluir		Concentración de flavonoides		Concentración del alcohol	
Ensayo (pool)	Control (menstruo)	Ensayo (pool)	Control (menstruo)	Ensayo (pool)	Control (menstruo)
2 ml	2 ml	0.2 mg/ml	0	4 %	4 %
2 ml	2 ml	0.6 mg/ml	0	8 %	8 %
2 ml	2 ml	1.2 mg/ml	0	10.7 %	10.7 %

Los extractos se enfrentaron a distintas cepas bacterianas provenientes de cultivos de colección y el inóculo se estandarizó según Escala de Mac Farland a $1,5 \times 10^9$ microorganismos por ml.

Las variables de medición de respuesta fueron: Crecimiento y No crecimiento del micro organismo.

La obtención de la información se realizó bajo el principio de observación a ciegas, quienes diluyeron los cultivos, sembraron, leyeron y procesaron estadísticamente los resultados, no conocieron los que contenían el menstuo o los extractos, sólo conoció éstos, el investigador principal.

El análisis estadístico se realizó en dos etapas:

Estudio descriptivo: Para las variables se obtuvieron las frecuencias absolutas y relativas.

Estudio inferencial: Para la validación se usó Chi cuadrado y comparación de porcentajes de muestras independientes.

Para definir el tamaño de muestra, se empleó el Módulo de muestra y potencia para comparación de proporciones emparejadas con una potencia de 80% y un nivel de confianza de 99%, del programa EPIDAT, Versión 3,1 para Windows del año 2000 que arrojó como resultado: Tamaño de muestra: 22 pares (como la variable independiente tenía cuatro grados, fueron aproximadamente 22 pares para cada una).

RESULTADOS

Al enfrentar el *S. aureus* ATCC 25923 a las distintas concentraciones del pool de flavonoides de *Tamarindus indica* Lin., se observaron diferencias en la variable de respuesta: en las siembras realizadas en cultivos con presencia mínima del estímulo (0.2 mg/ml de flavonoides y 4% de alcohol), el crecimiento se produjo en 80% de dichas siembras mientras que, con la presencia moderada (0.6 mg/ml y 8%), no se observó crecimiento y con la fuerte (1.2 mg/ml y 10.7%), sólo en 10% de ellas. En general, teniendo en cuenta las tres concentraciones empleadas, sólo 30% de los cultivos mostraron crecimiento bacteriano. (tabla 2)

Tabla 2. Efecto del pool de flavonoides de hojas de tamarindo ante *Staphylococcus aureus* según concentración y variables de respuesta. Grupo ensayo.

Concentración		Número de Siembras				Total
Flavonoides	Alcohol	Con crecimiento	%	Sin crecimiento	%	
0.2 mg/ml	4%	8	80	2	20	10
0.6 mg/ml	8%	0	0	10	100	10
1.2mg/ml	10.7%	1	10	9	90	10
Total		9	30	21	70	30

En las siembras controles, enfrentadas al menstuo con concentraciones de alcohol de 4; 8 y 10.7%, la variable de respuesta fue igual en todos los casos: en 90% de los cultivos de cada concentración, se produjo crecimiento de *S. aureus*. (tabla 3)

Tabla 3. Efecto del menstuo ante *Staphylococcus aureus* según concentración y variables de respuesta. Grupo control.

Concentración de Alcohol	Número de Siembras				Total
	Con crecimiento	%	Sin crecimiento	%	
4%	9	90	1	10	10
8%	9	90	1	10	10
10.7%	9	90	1	10	10
Total	27	90	3	10	30

La *Escherichia coli*, ATCC 25922, enfrentada a las distintas concentraciones del pool de flavonoides obtenido, mostró diferencias en la variable de respuesta: ante la presencia mínima del estímulo, se produjo crecimiento en 90% de los cultivos, sin embargo, la presencia moderada y fuerte, inhibió totalmente la multiplicación bacteriana. Se observó crecimiento en 30% del total de cultivos realizados con las diferentes concentraciones. (tabla 4).

Tabla 4. Efecto del pool de flavonoides de hojas de tamarindo ante *Escherichia coli* según concentración y variables de respuesta. Grupo ensayo.

Concentración		Número de Siembras				Total
Flavonoides	Alcohol	Con crecimiento	%	Sin crecimiento	%	
0.2mg/ml	4%	9	90	1	10	10
0.6mg/ml	8%	0	0	10	100	10
1.2mg/ml	10.7%	0	0	10	100	10
Total		9	30	21	70	30

El crecimiento de *E. coli*, se produjo en todas las siembras realizadas como controles independientemente de las concentraciones de alcohol del menstuo. (tabla 5).

Tabla 5. Efecto del menstuo Escherichia coli según concentración y variables de respuesta. Grupo control.

Concentración de Alcohol	Número de Siembras				Total
	Con crecimiento	%	Sin crecimiento	%	
4%	10	100	0	0	10
8%	10	100	0	0	10
10.7%	10	100	0	0	10
Total	30	100	0	0	30

Pseudomona aeruginosa ATCC 27853, también mostró diferencias en la variable de respuesta, según las concentraciones de flavonoides empleadas: con la presencia mínima, 90% de los cultivos tuvieron crecimiento bacteriano, con la presencia moderada, sólo se observó en 10% de ellos y con la fuerte, se inhibió en todos. Considerando todas las concentraciones, sólo se observó crecimiento en 33% de los cultivos. (tabla 6).

Tabla 6. Efecto del pool de flavonoides de hojas de tamarindo ante *Pseudomona aeruginosa* según concentración y variables de respuesta. Grupo ensayo.

Concentración		Número de Siembras				Total
Flavonoides	Alcohol	Con crecimiento	%	Sin crecimiento	%	
0.2mg/ml	4%	9	90	1	10	10
0.6mg/ml	8%	1	10	9	90	10
1.2mg/ml	10.7%	0	0	10	100	10
Total		10	33	20	67	30

El crecimiento de *P. aeruginosa* en los controles fue de 90% en los cultivos con el menstuo al 4% de concentración de alcohol y de 100% en las siembras con concentraciones mayores (8 y 10.7%). En general, 97% de los controles mostraron crecimiento. (tabla 7).

Tabla 7. Efecto del menstuo ante Pseudomona aeruginosa según concentración y variables de respuesta. Grupo control.

Concentración de Alcohol	Número de Siembras				Total
	Con crecimiento	%	Sin crecimiento	%	
4%	9	90	1	10	10
8%	10	100	0	0	10
10.7%	10	100	0	0	10
Total	29	97	1	3	30

En estudio realizado por Balbuena y colaboradores, con tinturas de hojas de Tamarindus indica Lin. en el que los extractos fueron concentrados a sequedad, a baja presión con un roto evaporador RE 120 alemán, y estandarizados al 80% a partir de los que se prepararon concentraciones de 0,02 y 0,04 % y en una segunda etapa se utilizaron al 2 y al 4% acorde con las concentraciones que en la práctica farmacéutica resultan más comunes para las tinturas, los resultados obtenidos en la inhibición del crecimiento de los cultivos a diferentes concentraciones fueron los siguientes (tabla 8):

Tabla 8. Resultados obtenidos en la inhibición del crecimiento de los cultivos a diferentes concentraciones.

Microorganismo	Sin crecimiento según concentración expresados en porcentaje					
	0.02%	0.04%	Subtotal	2%	4%	Subtotal
Staphylococcus aureus	18.18	27.27	27.70	40.00	100.00	70.00
Escherichia coli	10.00	30.00	20.00	40.00	100.00	70.00
Pseudomona aeruginosa	66.66	90.00	78.90	80.00	100.00	90.00
Total	39.75			76.67		

El valor de X^2 , que con dos grados de libertad, debe alcanzarse para obtener significancia con 99% de certeza, es 9.21 y para este caso, el calculado fue de 64.72; significa que los resultados del pool de flavonoides, no pueden ser fácilmente explicables por el azar. (tabla 9)

Tabla 9. Efecto del pool de flavonoides de hojas de tamarindo ante todas las cepas según concentración y variables de respuesta. Grupo ensayo.

Concentración		Número de Siembras				Total
Flavonoides	Alcohol	Con crecimiento	%	Sin crecimiento	%	
0.2mg/ml	4%	26	86.7	4	13.3	30
0.6mg/ml	8%	1	3	29	97	30
1.2mg/ml	10.7%	1	3	29	97	30
Total		28	31	62	69	90

$$X^2 = 64.72$$

$$X^2_{.95} = 5.99$$

$$X^2_{.99} = 9.21$$

En relación con los resultados del control, la inhibición no mostró diferencias notables con respecto a las concentraciones de alcohol (4; 8 y 10.7%) y en general, se observó en 4.4% de los cultivos; el valor de Chi cuadrado calculado de 0.55 no fue significativo, lo que sugiere ausencia de asociación entre la inhibición de crecimiento y el menstuo con diferentes concentraciones. (tabla 10)

Tabla 10. Efecto del menstuo ante todas las cepas según concentración y variables de respuesta. Grupo control.

Concentración De Alcohol	Número de Siembras				Total
	Con crecimiento	%	Sin crecimiento	%	
4%	28	93,3	2	6,7	30
8%	29	97	1	3	30
10.7%	29	97	1	3	30
Total	86	95,6	4	4,4	90

$$X^2 = 0.55$$

$$X^2_{.95} = 5.99$$

$$X^2_{.99} = 9.21$$

Al comparar los efectos del pool de flavonoides y del menstuo de acuerdo a sus concentraciones, se pudo observar lo siguiente:

En la concentración mínima de ambos, la diferencia entre los porcentajes de siembras sin crecimiento (6.6%) no fue significante. (tabla 11).

Tabla 11. Efecto del pool de flavonoides de hojas de tamarindo y del alcohol en la concentración mínima utilizada ante todas las cepas de bacterias.

Concentración		Número de Siembras		
Flavonoides	Alcohol	Realizadas	Sin crecimiento	%
0.2mg/ml	4%	30	4	13.3
0	4%	30	2	6.7
Total		60	6	10.0

2EE de la diferencia entre porcentajes = 7.75;

Diferencia entre los porcentajes de las muestras = 6.6 (No significativo)

En las concentraciones moderada y fuerte, los valores de las diferencias de los porcentajes, en ambos casos, fueron altamente significantes. (tabla 12, 13).

Tabla 12. Efecto del pool de flavonoides de hojas de tamarindo y del alcohol en la concentración moderada utilizada ante todas las cepas de bacterias.

Concentración		Número de Siembras		
Flavonoides	Alcohol	Realizadas	Sin crecimiento	%
0.6mg/ml	8%	30	29	96.7
0	8%	30	1	6.3
Total		60	30	50.0

2EE de la diferencia entre porcentajes = 25.82

Diferencia entre los porcentajes de las muestras = 93.46 (Significante)

Tabla 13. Efecto del pool de flavonoides de hojas de tamarindo y del alcohol en la concentración fuerte utilizada ante todas las cepas de bacterias.

Concentración		Número de Siembras		
Flavonoides	Alcohol	Realizadas	Sin crecimiento	%
1.2mg/ml	10.7%	30	29	96.7
0	10.7%	30	1	6.3
Total		60	30	50.0

2EE de la diferencia entre porcentajes = 25.82

Diferencia entre los porcentajes de las muestras = 93.46 (Significante)

DISCUSIÓN

En la determinación botánica de la planta recolectada, se observaron características plenamente concordantes con las del género *Tamarindus* y la especie *Tamarindus indica*

Lin.,⁶⁻⁸ y en el proceso de control de calidad de la droga, se determinaron las siguientes características:

Humedad	67.30%
Humedad residual	6.90%
Cenizas totales	7.10%
Cenizas insolubles en HCl	0.35%
Cenizas insolubles en agua	5.01%

Estos valores concordaron con los obtenidos por V. Balbuena y col. en estudio realizado en 1994 sobre la caracterización físico-química de los extractos de *Tamarindus indica* Lin. y su acción como antibacteriano.

La droga molinada, se tamizó para obtener un tamaño de partículas de 120–80 mesh que propició mayor superficie de contacto entre solvente y droga, y efectividad, en la extracción de flavonoides. El rendimiento de los principios solubles fue de 125 a 175 g/Kg., superior al obtenido con partículas de mayor tamaño.⁹

Para la extracción de flavonoides se empleó el método sólido-líquido y líquido-líquido, diseñado por Calderús y Araluce, efectivo por ser los flavonoides solubles en solventes polares.¹⁰

A las soluciones se le realizaron ensayos químicos para determinar la presencia de flavonoides y según sus resultados, se afirmó que en una de la soluciones (Solución II) se encontraban los flavonoides, que de acuerdo a los ensayos químicos podrían ser flavonas o flavonoles. En el estudio espectroscópico, la posibilidad fue solo la existencia de flavonas. Estos resultados concuerdan con *M. Dehesa, O. Jáuregui y S. Cañiguera*, en un estudio de compuestos fenólicos presentes en las hojas de *Tamarindus indica* Lin. donde se identificaron los flavonoides isoorientina, orientina, isovitexina y vitexina y compuestos no reportados con anterioridad como apigenina, ácidos ferúlico y caféico, luteolina-7-O-glucósido, luteolina, rutina y vicenina.¹¹

Al comparar los resultados de las concentraciones bajas (0.02 y 0.04%) con los de las altas concentraciones (2 y 4%), la inhibición del crecimiento mostró diferencias a favor de las segundas, lo que permitió afirmar que existía relación entre la concentración empleada y el crecimiento bacteriano. En este estudio, se consideró que en las soluciones hidroalcohólicas usadas como control, los resultados estadísticos conllevaron a afirmar que el crecimiento bacteriano no estaba relacionado con las distintas concentraciones alcohólicas, utilizadas con un 99% de certeza.⁹

Los resultados observados en la variable de respuesta al enfrentar cepas bacterianas Gram positivas (*S. aureus*) y Gram negativas (*P. aeruginosa* y *E. coli*) a diferentes concentraciones del pool de flavonoides de hojas de *T. indica* Lin., disuelto en alcohol y al menstreo con iguales concentraciones de este último en relación con el pool, permitieron inferir que la efectividad antibacteriana, está asociada a la presencia de flavonoides en los cultivos y no a la presencia de alcohol. Ambos resultados coinciden con el estudio de A. Obregón y N. Rojas que de modo diferente en 1989, estudiando la acción antimicrobiana de extractos alcohólicos de propóleos, comprobaron que las concentraciones de alcohol empleadas, no influyen en la actividad inhibitoria del crecimiento de las siembras bacterianas.¹²

Según las concentraciones del pool de flavonoides, se observaron diferencias notables: con la mínima no se produjo crecimiento en 13.3% de los cultivos y con la concentración moderada y la fuerte no existió en 97% de ellos. El efecto, en general fue de 69% de inhibición de crecimiento, en los cultivos realizados con todas las cepas bacterianas.

En las siembras realizadas por Balbuena y colaboradores, empleando tinturas, la inhibición en general fue del 51,65 %, inferior, probablemente por contener menor concentración de flavonas.⁹

Durante el estudio realizado con tinturas de las hojas de tamarindo, en la década de los años 90, Balbuena planteó que los flavonoides, producto de su estructura, podrían ser los responsables del efecto de inhibición de crecimiento bacteriano por la inducción de la ruptura de su DNA en un sitio determinado; por bloqueo del complejo aminoacil transferasa, por intercalación entre bases de DNA alterando la síntesis de ácido nucleico o por la formación de dímeros de timina.⁹

También consideró que otros mecanismos provocados por los flavonoides pudieran propiciar resultados semejantes, alterando la composición de las membranas y el metabolismo celular por medio de inhibición de la fosforilación de proteínas o por la formación de complejos con proteínas solubles de la pared de las células bacterianas. Años después, Domingo D y López-Brea M. plantearon que la actividad de las flavonas frente a los microorganismos probablemente se debe a que forman complejos con las proteínas solubles y extracelulares y con las células de la pared bacteriana, de forma similar a las quinonas, lo que refuerza el efecto observado¹³ y resulta concordante con alguna de las especulaciones realizadas en relación con el posible mecanismo de acción.

De lo que no cabe dudas, es que la vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina, nunca antes consideradas con efecto antibacteriano, según la investigación bibliográfica

realizada, sino como efectos antioxidantes y también como antiinflamatoria, en el caso de la primera, ^{14, 15} y que se reportan en este estudio por primera vez, son responsables del efecto antibacteriano de los extractos de hojas de *Tamarindus indica* Lin., pues al analizar estos resultados, empleando el Método de Diferencia, que establece que, si dos grupos de circunstancias sólo difieren en un factor (en este caso el pool de flavonoides) y la que presenta ese factor produce un fenómeno (la inhibición del crecimiento bacteriano en los cultivos) en tanto que la otra no, es lícito considerar al factor como causa del fenómeno, si además, se aplica el Método de la Variación Concomitante, que consiste en que si una variación de cierto factor (la presencia de flavonoides en concentraciones consideradas mínima, moderada y fuerte), produce un cambio paralelo del efecto (mayor o menor porcentaje de cultivos sin crecimiento), ese factor es, probablemente, la causa del fenómeno. De esta forma, se consolidó el criterio de causalidad, que permitió aceptar la hipótesis de investigación elaborada y dar adecuada respuesta al problema de investigación planteado.

CONCLUSIONES

El pool de flavonoides obtenido de las hojas de *Tamarindus indica* Lin., inhibió el crecimiento de las cepas bacterianas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ortiz Sánchez Yurisnel. Eficacia y seguridad de la tintura de *Pedilanthus tithymaloides* (L) Poit (Itamo real) en el tratamiento de la gingivitis crónica edematosa [Tesis]. Santiago de Cuba: Universidad Médica de Santiago de Cuba; 2007.
2. Álvarez Avalo A, Armentero Vera I, Corrales Salvado A, Domínguez Ganzó NA, Fernández Zequeira M, González-Quevedo Rodríguez M, et al. Tamarindo. FITOMED. [Internet]. 2003 [citada 12 de enero de 2009] Disponible en: <http://www.sld.cu/fitomed/tamarindo.htm>
3. Enda. *Tamarindus indica* L. La Habana: MINSAP; 1989.
4. Doughari JH. Antimicrobial Activity of *Tamarindus indica* Linn Tropical. TJPR [Internet]. 2006 [citado 10 de mayo 2010]; 5 (2): [aprox. 6p.]: Disponible en: <http://www.tjpr.org>
5. Abukakar MG, Ukwuane AN, Shehu RA. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Tamarindus indica* Pulp Extrac. Asian Journal of Biochemistry 2008; 3(2):134-138.
6. *Tamarindus indica* L. Species Plantarum 1. [Internet]. s/a [Citado 10 de febrero de 2010]. Disponible en: <http://www.arbolesornamentales.com/Tamarindusindica.htm>

7. Grieve M. Tamarinds. [Internet] s/a [citado 5 de mayo 2011]. Disponible en:
<http://www.botanical.com/botanical/mgmh/t/tamari04.html>
8. Ruiz–Oronoz M. Tratado elemental de botánica. 2009: 730 p. Disponible en:
<http://biblioteca.universia.net/ficha.do?id=37817108>
9. Balbuena Escalona V, Calderius Espinosa I, Arias M. Caracterización físico-química de los extractos de Tamarindus indica Lin. y su acción como antibacteriano. Informe final. Bayamo. Granma: Grupo de trabajo para la investigación de plantas medicinales; 1994.
10. Calderius Espinosa I, Araluce Calderius J. Metodología de obtención de flavonoides aplicada a las hojas de Tamarindus indica Lin. Informe Forum de Ciencia y Técnica. Ponencia 1200247 Grupo Estatal 01; LT 01030; 1994. Retracción de: Calderius Espinosa I y Balbuena Escalona V. 2009 Diciembre.
11. Dehesa Marco A, Jáuregui Olga, Cañigüeral Salvador. Estudio por HPLC- MS/MS de compuestos fenólicos presentes en las hojas de Tamarindus indica L. Fitoterapia [Internet]. 2006 [citado 10 de abril 2009]; 6(S1): [aprox. 6p.]. Disponible en:
www.fitoterapia.net
12. Obregón AM, Rojas N. Acción Antimicrobiana de los extractos alcohólicos de propóleos. Rev. Cubana Farm 1990; 24(1):34-44.
13. Domingo D, López-Brea M. Plantas con acción antimicrobiana. Rev. Esp Quimioterap 2003; 16(4): 385-393).
14. Martínez Ruiz C, García Sánchez M, Martínez Martín SM, Larionova M, Sebazco Pernas C, Machín Lugones M, Ruiz Alcorta V. Evaluación antiinflamatoria del flavonoide 2"- o- ramnosil 4"- o- metil vitexina en ratas. Rev Cubana Plant Med 2004; 9(1).
15. Orrego Castillo R. Efecto de antioxidantes derivados de productos naturales, sobre la modificación oxidativa in vitro, de lipoproteínas de baja densidad (LDL). Universidad de Talca. [Internet]. 2008 [citada 12 de abril de 2010]. Disponible en:
<http://dspace.otalca.cl/handle/1950/5244>

Recibido: 5 de diciembre 2011.

Aprobado: 6 de enero 2012.

Valentín Balbuena Escalona. Filial de Ciencias Médicas. Bayamo. Granma, Cuba. Email:
balbuena@fcmg.sld.cu. Telf. 48-2215.