

ESTUDIO ETNOBOTÁNICO Y FITOQUÍMICO DE HOJAS DE *Brassica oleracea* L. "COL MORADA"

PHYTOCHEMICAL AND ETHNOBOTANICAL STUDY LEAVES *Brassica oleracea* L. "PURPLE CABBAGE"

¹Gustavo Adolfo Fernández Rebaza, ¹Yoselin Milagros Chambi Velasquez, ¹José Miguel Ayme Huamani, ¹María Eugenia Quiñones Huayaney, ¹Jorge Luis Tolentino Chavez, ²Víctor Elmo Miranda García, ¹Pablo Enrique Bonilla Rivera

RESUMEN

Se realizó un estudio etnobotánico y fitoquímico de *Brassica oleracea* L. "col morada". Teniendo como objetivos detectar metabolitos secundarios fenólicos. La especie fue ubicada y recolectada en la Región Junín. En el análisis fitoquímico del extracto etanólico se detectó flavonoides, antocianósidos y otros. Se realizó cromatografía en capa fina en los diferentes sistemas de solventes (cloroformo:metanol); luego, un fraccionamiento con diclorometano, etanol y agua mediante cromatografía en columna rápida, obteniéndose en el subextracto etanólico presencia de flavonoides y otros compuestos fenólicos a la luz UV, que fue corroborado al utilizar reveladores como amoníaco y tricloruro férrico. En la determinación estructural mediante espectroscopia UV-visible del subextracto etanólico se obtuvo tres probables flavonoides: dos de núcleo flavona y uno de flavanona.

Palabras clave: *Brassica oleracea* L., flavonoides, flavonas, cromatografía, espectroscopia UV-visible.

ABSTRACT

Ethnobotanical study and phytochemical of *Brassica oleracea* L. "purple cabbage" was performed. The objectives were detected phenolic secondary. The species was located and collected in Junin region. Phytochemical analysis of the ethanol extract detected flavonoids, anthocyanins and other. Thin Layer Chromatography was performed in different solvents (chloroform: methanol); then, a fractionation with dichloromethane, ethanol and water by flash chromatography to get flavonoids and other phenolic compounds in the ethanolic extract sub with UV light, which was confirmed by using developers as ammonia and ferric trichloride. The structural determination by UV-visible spectroscopy of ethanolic extract sub obtained three probable flavonoids: two flavone core and one flavanone.

Keywords: *Brassica oleracea* L., flavonoids, flavones, chromatography, UV-visible spectroscopy.

INTRODUCCIÓN

Actualmente el estudio de flavonoides ha cobrado alta importancia porque la mayoría de ellos protegen el daño producido por agentes oxidantes, por ello la búsqueda de plantas¹ con estos compuestos tales como *Brassica oleracea* L. la cual es una planta originaria de Europa (Inglaterra, Dinamarca, Francia, España, Holanda).² Usada comúnmente para el tratamiento de inflamaciones crónicas de la membrana del estómago y úlcera gástrica, además contiene gran número de compuestos anticancerígenos y antioxidantes.^{2,3} Existen variedades en el Perú como la "col blanca", "col verde", "col morada o roja".² En el presente estudio se utilizó la planta *Brassica oleracea* L. "col morada" para una evaluación etnobotánica referencial y una fitoquímica según Olga Lock,⁴ con algunas variantes para el extracto etanólico de hojas. Luego se utilizaron técnicas cromatográficas que

permitieron separar compuestos del extracto utilizando silicagel 60 G, el mejor adsorbente para separación de sustancias de naturaleza polar.⁵ Se proponen estructuras químicas, utilizando espectroscopia UV-visible, los que posiblemente sean responsables de la actividad citotóxica sobre células cancerígenas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio etnobotánico e identificación morfológica de la planta

La "col morada" se recolectó en Junín-Perú a una altitud de 3050 msnm en el mes de agosto, con una humedad relativa de 70% y temperatura ambiental de 17°C. Fue clasificada en el Museo de Historia Natural de la UNMSM. Las hojas son alternadas, simples y sin estípulas, con frecuencia lobuladas de color verde (cubren la cabeza). Se tomó las

¹ Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara", Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

² Colaborador

hojas que se encontraban en la cabeza (parte comestible) que en su totalidad tenían color morado y de aspecto liso, pesando aproximadamente 1kg.⁵

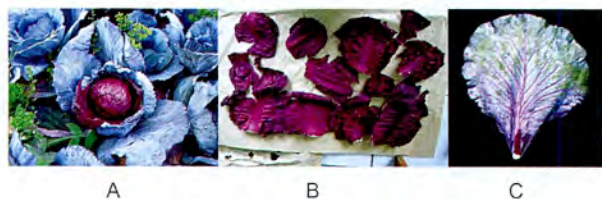


Figura 1. A) Col morada o Repollo presenta hojas verdes rodeando la cabeza que es de color morado, B) Hojas de la cabeza del repollo, C) Morfología de hojas externas de la planta

Obtención de la muestra:



Figura 2. Método operatorio para obtención del extracto seco.

Tamizaje fitoquímico

Se realizó en el Laboratorio de Farmacognosia y Medicina Tradicional en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM, de acuerdo al método descrito por Olga Lock⁴ por ofrecer mayor reproducibilidad y ser de fácil ejecución.

Según este método se realizó la marcha del extracto etanólico, utilizándose los reactivos de Molish, FeCl₃, Gelatina 1%, Shinoda, H₂SO_{4cc}, Dragendorff, Mayer, Vainillina clorhídrico entre otros. (Tabla 1).

Técnicas cromatográficas

Realizadas en el laboratorio del Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara", Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Cromatografía en capa fina analítica (CCF)

Se realizó cromatografía en capa fina analítica del extracto etanólico total, se sembró la muestra de extracto semisólido disuelto en etanol en varios sistemas de solventes de cloroformo: metanol en las proporciones 3:2, 1:1, 1:2, 2:3 y 1:3. Se reveló las cromatoplas a la lámpara de luz UV 365 nm y 254 nm, FeCl₃ y vapores de amoníaco.⁵

Cromatografía en columna rápida

Se fraccionó 50 g del extracto etanólico total mediante cromatografía en columna rápida utilizando Silicagel para cromatografía en columna, con los siguientes eluyentes: diclorometano, etanol y agua, obteniéndose los subextractos correspondientes.

Se realizó CCF analítica del subextracto etanólico y acuoso en cromatoplas de silicagel 60-G utilizando como sistema de solventes cloroformo: metanol (3:1), luego se reveló en lámpara UV 365 nm y 254 nm, vapores de amoníaco y tricloruro férrico.

Cromatografía en capa fina a escala preparativa

Se realizó la cromatografía en capa fina a escala preparativa de las muestras para aislar los componentes en el sistema de solventes cloroformo: metanol 3:1 del subextracto etanólico y acuoso.⁵

Determinación de estructuras químicas

Luego de realizar la CCF a escala preparativa se procedió a la desorción de las manchas correspondientes. La silicagel con la mancha correspondiente se disolvió en alcohol etílico Q.P. y se centrifugó. Para separar los componentes se usó la centrífuga modelo Rotomix 32 a 2000 RPM, tomándose el sobrenadante y vertiéndolo en viales debidamente rotulados.

Los componentes químicos obtenidos fueron determinados mediante espectroscopía UV, en un rango de 200-400 nm usando el equipo Thermos científico modelo Helios Zeta y el programa Vision lite⁹, en el Centro de Producción Farmacéutica (CENPROFARMA) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

RESULTADOS

Tamizaje fitoquímico

Tabla 1. Resultados del tamizaje fitoquímico de *Brassica oleracea* L.

Metabolito	Reacción	Resultado
Carbohidratos	Molish	++
	Benedict	+++
	Fehling	++
Compuestos Fenólicos	FeCl ₃	+++
Taninos	Gelatina	++
	Agua de Bromo	+
Triterpenoides y Esteroides	Lieberman-Burchard	++
Flavonoides	Shinoda	+++
Antocianinas y Flavonoides	Rosenheim	+++
Antocianósidos (Heterósidos Flavonoides)	H ₂ SO _{4cc}	+++
	NaOH 30%	++
Catequinas Glicosiladas	Vainillín clorhídrico	+++
Naftaquinonas, Antraquinonas y Antronas	Borntrager	+
Aminoácidos Libres y Grupos Amino	Ninhidrina	++
Alcaloides	Dragendorff	+++
	Mayer	++
	Bertrand	+++
	Bouchardat	++
	Sonnenschein	+
	Popoff	++
Cumarinas	NH ₄ OH _{cc}	+

+++; Abundante; ++; bastante; +; regular; -: ausencia



Figura 3. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico total de *Brassica oleracea* L.

Cromatografía en capa fina analítica

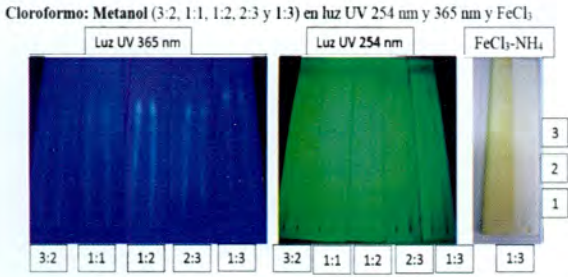


Figura 4. Cromatografía en capa fina analítica del extracto etanólico total de hojas de *Brassica oleracea* L. Revelado con: lámpara luz UV 365 nm, UV 254 nm, FeCl₃ y NH₄

Cromatografía en capa fina analítica luego de la columna rápida

Total: 50 g de extracto, Subextracto alcohólico: (15,06%), Subextracto acuoso: (37,2%).

Cloroformo: Metanol (3:1) en lámpara de luz UV 365 nm y 254 nm y FeCl₃

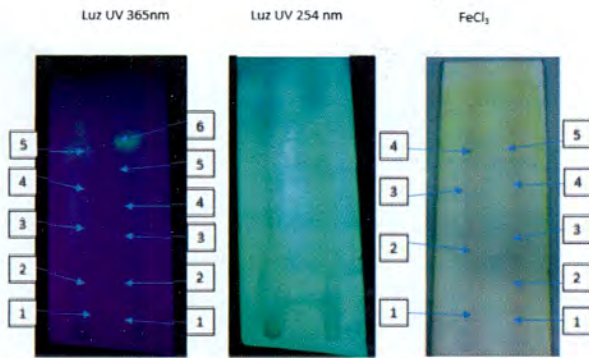


Figura 5. Cromatografía en capa fina analítica comparativa de los sub extractos acuoso y alcohólico de hojas de *Brassica oleracea* L.

Cromatografía en capa fina a escala preparativa

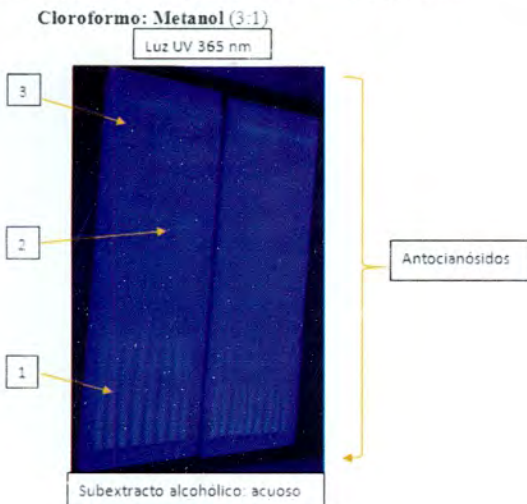


Figura 6. Cromatografía en capa fina a escala preparativa del subextracto alcohólico y acuoso de hojas de *Brassica oleracea* L.

Propuesta de estructuras químicas

Del subextracto etanólico se obtuvieron 3 compuestos y se proponen sus estructuras químicas mediante comparación con lo publicado por Mabry *et al.*⁶

Flavonas:

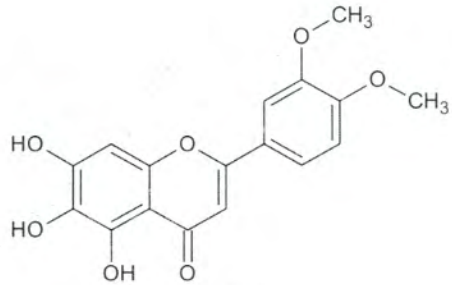


Figura 7. N° 1 $\lambda_{max}^{EtOH} = 260\ 275\ 330\ nm$
5,6,7-trihidroxi-3',4'-dimetoxiflavona

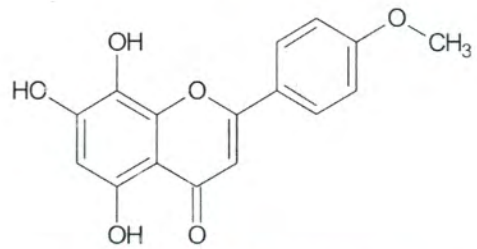


Figura 8. N° 2 $\lambda_{max}^{EtOH} = 260\ 280\ 320\ nm$
5,7,8-trihidroxi-4'-metoxiflavona

Flavanonas:

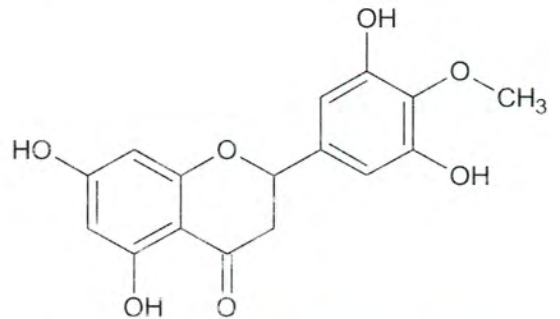


Figura 9. N° 3 $\lambda_{max}^{EtOH} = 260\ 290\ 330\ nm$
3',5',5',7-tetrahidroxi-4'-metoxiflavanona

En el extracto acuoso se detectó presencia de antocianinas, mediante la marcha fitoquímica y fluorescencia característica en cromatografía en capa fina.

DISCUSIÓN

El screening fitoquímico del extracto etanólico de *Brassica oleracea* L. detecta la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, glicósidos, taninos, antocianinas y alcaloides.⁴

Por ensayos cromatográficos se identifican compuestos fenólicos y flavonoides, utilizando como adsorbente silicagel 60-G y como fase móvil CHCl₃: MetOH (3:1); observando los cromatogramas a la lámpara de luz UV 254 nm y 365 nm se visualiza las manchas correspondientes a flavonoides, además de reveladores cromogénicos como amoníaco y FeCl₃ al 5% que confirman dicha presencia de compuestos fenólicos.^{4,5}

Los flavonoides son aislados y purificados mediante cromatografía en capa fina a escala preparativa, utilizándose como adsorbente silicagel 60-G, como sistema de solventes cloroformo: metanol (3:1 y 1:3), y se observa los cromatogramas a la lámpara de luz UV a 254 nm y 365 nm.^{4,5}

Se separan tres fracciones a partir del subextracto etanólico los cuales por métodos espectroscópicos UV-visible, y por comparación con espectros publicados en Mabry,⁶ permiten proponer estructuras químicas como flavonoides de núcleo flavona y flavanona. Para acercarnos más a la estructura real se tendría que evaluar con reactivos de desplazamiento⁷ y de esta manera confirmar dichas estructuras químicas.

Además, los compuestos fenólicos son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas, por tanto, son productos biosintetizados en las plantas, en las que desarrollan diversas funciones, como la protección frente a condiciones externas. Se encuentran en casi todos los alimentos de origen vegetal aportando color, sabor amargo, astringencia y/o aroma, siendo su distribución muy diversa dentro de las plantas (hojas, flores, frutos, semillas, tallos, raíces). Los compuestos fenólicos, especialmente los flavonoides, poseen diferente actividad biológica, pero las más importantes son la actividad antioxidante y el efecto inhibidor de varias clases de tumores.⁸

Finalmente de acuerdo a otros trabajos el contenido de polifenoles y otros componentes fitoquímicos en coles puede ser influenciado por varios factores tales como cultivos, condiciones climáticas, madurez en condiciones de cosecha y almacenamiento. Así en el caso de compuestos fenólicos, que son especies altamente reactivas, el método de preparación de la muestra es muy importante para su detección.^{9,10}

CONCLUSIONES

1. Se identificó la muestra en estudio como *Brassica oleracea* L. "col morada".
2. Se detectaron flavonoides en el subextracto etanólico de hojas de *Brassica oleracea* L. "col morada" mediante ensayos cromatográficos y confirmados mediante espectroscopía UV, proponiéndose tres probables flavonoides: dos de núcleo flavona y 1 de flavanona.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón M. Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr. Hosp. 2002; 17 (6): 271-278.
2. Fonnegra R, Jimenez S. Plantas medicinales aprobadas en Colombia. 2 ed. Medellín. Editorial Universidad de Antioquia.; 2007.p. 97-99.
3. Jaramillo J, Diaz C. El cultivo de las crucíferas Brócoli, Coliflor, Repollo, Col china en Colombia. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria – CORPOICA. Centro investigación La Selva; 2006 Septiembre. Documento de trabajo 2.1.4.04.32.05.
4. Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2ed. Lima. Pontificia Universidad Católica del Perú Fondo Editorial. Lima; 1994. p. 98-102.
5. Stahl E. Thin-Layer Chromatography. A Laboratory Handbook. Berlin. Editorial Springer-Verlag; 1978. p. 687-703.
6. Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. The systematic identification of flavonoids. Springer-Verlag. New York-Heidelberg-Berlin, 1970.
7. Bonilla P, Arroyo J, Lozano N, Beltrán H, Alba A, Aguedo J, et al. Composición química y actividad farmacológica del extracto etanólico de *Satureja sericea* "goyal". Ciencia e Investigación 2011; 14(1): 14-20.
8. Czczot, H. (2000). Biological activities of flavonoids: A review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 950, 3-13.
9. Singh, J., Upadhyay, A.K., Prasad, K., Bahadur, A. and Rai, M. (2007). Variability of carotenes, vitamin C, E and phenolics in Brassica vegetables. Journal of Food Composition and Analysis, 20, 106-112.
10. Fernández Leon, M. Evolución de los parámetros de calidad físico-químico y funcional de distintas brassicas sometidas a diferentes tratamientos postcosecha. [Tesis doctoral]. España: Repositorio institucional Universidad de Extremadura; 2013.

ANEXO

Ficha taxonómica de la planta "col morada"

Correspondencia:

Gustavo Adolfo Fernández Rebaza: gustav.unrsm@gmail.com
UNMSM. Jr. Puno 1002-Lima 1; Lima.

Fecha de Recepción: 19/09/2015

Fecha de Aceptación: 20/11/2015



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Promoción de la Industria Responsable y del Compromiso Climático"

CONSTANCIA N° 256- USM-2014

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa) recibida de **Gustavo FERNANDEZ REBAZA, Jorge TOLENTINO CHAVEZ, María QUIÑONES HUAYANEY, Jose AYME HUAMANÍ, Yoselin CHAMBI VELASQUEZ y Pablo BONILLA RIVERA**, ha sido estudiada y clasificada como: ***Brassica oleracea* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: DILLENIIDAE

ORDEN: CAPPRALES

FAMILIA: BRASSICACEAE

GENERO: Brassica

ESPECIE: Brassica oleracea L.

Nombre vulgar: "col morada"
Determinado por Mag. Hamilton Beltran.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 01 de setiembre de 2014



Haydee Montoya Terreros
Dra. Haydee Montoya Terreros
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono: (511)471-0117, 470-4471,
470-7918, 619-7000 anexo 5703

e-mail: museohn@unmsm.edu.pe
<http://museohn.unmsm.edu.pe>