

Caracterización de flavonoides en el extracto alcohólico de hojas de *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC

Bonilla Rivera Pablo Enrique ¹, Fernández Rebaza Gustavo Adolfo ¹, Gutiérrez Serrano David Gustavo ¹, Haro Calvo Jorge André ¹, Salvador Villanueva Magaly Ljubisa ¹, Tapia Bañez Ysamar Audy ¹, Terrazos Ramos Shelby Akira ¹, Toche Tuesta Analucía ¹, Pumacayo Hinostrza Janet Livia ¹, Curioso Melo Dara Edith ¹, Bonifacio Velez de Villa Eliezer Isai ¹.

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 07/04/2019
Aprobado: 02/06/2019

Autor responsable

Gustavo Adolfo Fernández Rebaza
gustav.unmsm@gmail.com
991895544

Financiamiento

Autofinanciado

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés

Contribución de autores

PEBR y GAFR, intervinieron en la concepción y diseño del artículo, redacción del artículo; revisión crítica del artículo; aprobación de la versión final. ATT, JHP, DECM, EIBV, participaron en análisis e interpretación de datos, concepción y redacción del artículo. DGG, JAHC, MLSV, YATB participaron en la concepción, diseño del artículo y recolección de resultados.

Citar como

Bonilla Rivera PE, Fernández Rebaza GA, Gutiérrez Serrano DG, Haro Calvo JA, Salvador Villanueva ML, Tapia Bañez YA, Terrazos Ramos SA, Toche Tuesta A, Pumacayo Hinostrza JL, Curioso Melo DE, Bonifacio Velez de Villa EI. Caracterización de flavonoides en el extracto alcohólico de hojas de *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC. *Rev Peru Med Integrativa*.2019;4(2):58-63.

Resumen

Objetivo. Caracterizar flavonoides presentes en el extracto y subextracto metanólico de las hojas de *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC. "Apio-nabo". **Materiales y métodos.** Se elaboró un extracto y subextracto metanólico de las hojas *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC. "Apio-nabo". Se determinó la solubilidad del extracto metanólico en solventes de polaridad creciente. Se detectaron los componentes químicos del extracto y subextracto metanólico mediante un tamizaje fitoquímico empleando gelatina, tricloruro férrico, reactivo de Shinoda, reactivo de Dragendorff y reactivo de Ninhidrina, entre otros. Se ejecutó cromatografía en capa fina y mediante espectroscopia UV/Vis se propuso estructuras químicas para los metabolitos tipo flavonoides presentes en el extracto y subextracto metanólico de hojas de *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC. "Apio-nabo". **Resultados.** El extracto metanólico de hojas de *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC fue soluble en solventes polares. Los metabolitos secundarios encontrados son compuestos fenólicos tipo flavonoides, taninos y alcaloides en el extracto y subextracto metanólico. Se propuso tres estructuras químicas de flavonoides a través del análisis de los espectros UV/Vis, y mediante comparación con lo publicado por TJ Mabry y Olga Lock. **Conclusión.** Se caracterizó la posible estructura química de tres metabolitos secundarios tipo flavona encontrados en el subextracto metanólico de hojas de *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC.

Palabras clave: *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC, tamizaje, cromatografía, espectroscopia UV/Vis, flavonoides. (Fuente: DeCS)

Characterization of flavonoids in alcohol extract of leaves of *Apium graveolens* var. *Rapaceum* DC.

Abstract

Objective. To characterize flavonoids present in the methanol extract and subextract of the leaves of *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC. "Celery-turnip". **Materials and methods.** A methanolic extract and subextract of *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC. "Celery-turnip" was prepared. The solubility of the methanolic extract in solvents of increasing polarity was determined. The chemical components of the methanolic extract and subextract were detected by means of a phytochemical screening using gelatin, ferric trichloride, Shinoda reagent, Dragendorff reagent and Ninhydrin reagent, among others. Thin layer chromatography was carried out and by means of UV / Vis spectroscopy chemical structures were proposed for the flavonoid metabolites present in the methanolic extract and subextract of *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC. "Celery-turnip". **Results.** It was determined that the methanolic extract of the leaves of *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC. is soluble in polar solvents. The metabolites, the phenolic compounds, the flavonoids, the tannins and the alkaloids in the extract and methanol subextract. Flavonoid chemical structures are proposed through the analysis of the UV / Vis spectra, and it has been published with TJ Mabry and Olga Lock. **Conclusion.** The possible chemical structure of three secondary flavone metabolites found in methanolic subextract of leaves of *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC.

Keywords: *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC, screening, chromatography, UV/Vis spectroscopy, flavonoids (Source: MeSH)

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

Introducción

Por siglos la alimentación y la nutrición fueron ejes de investigación constante y hasta este momento la información disponible ha crecido en forma notable. Además, a través de los diferentes medios de comunicación, el consumidor ha recibido abundante información acerca de las propiedades de los alimentos con acción beneficiosa. Asimismo, la calidad de la ingesta permite optimizar las funciones fisiológicas de cada individuo de manera segura, el máximo de bienestar y salud a lo largo de toda su vida ⁽¹⁾. En este sentido, diferentes autores investigaron las propiedades del *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC. mencionando que poseían efectos antimicrobianos ⁽²⁾, antifúngicos ⁽³⁾ y actividad antiinflamatoria ^(4,5), así como efectos positivos en el tratamiento de la artritis reumatoide y la osteoartritis ⁽⁶⁾, propiedades hepatoprotectoras ^(6,7), anticancerígenas, antiproliferativas ^(8,9), citotóxicas ⁽¹⁰⁾ y acción hipolipemiente ⁽¹¹⁾.

La presente investigación se propuso caracterizar los flavonoides presentes en el extracto y subextracto metanólico de las hojas de *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC. "Apio-nabo".

Materiales y métodos

Descripción botánica de la especie

El apio-nabo tiene una parte comestible, la cual es hinchada y de tronco nudoso, que se forma por debajo de la superficie del suelo. En su mejor tamaño comestible con raíces cortadas, las medidas de apio-nabo son de tres a cuatro pulgadas de ancho y tres pulgadas de largo. El interior es suave y blanco, similar a colinabo o tallo nabo. Las hojas y tallos de apio-nabo como son huecos no son muy agradables al paladar ⁽¹²⁾. Las raíces son numerosas, succulentas y bien desarrolladas. Las ramas troncales son angulares o fistulosas, y conspicuamente articuladas. Las hojas son oblongas a obovadas, pinnadas o trifoliadas. Las flores son de color blanco o verdoso blanco y muy pequeñas. El fruto es un esquizocarpo consistente de dos mericarpos, suborbiculares a elipsoide, marrón grisáceo a marrón con crestas pálidas, aromático y ligeramente amargo ⁽¹²⁾.

Preparación del extracto metanólico

La especie vegetal fue recolectada en la localidad de Tarma, en el departamento de Junín, en la primera semana del mes de agosto de 2015. Se realizó la identificación taxonómica



Figura 1. Muestra de *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC "apio-nabo"

en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, como *Apium graveolens* var. *Rapaceum*; posteriormente, se realizó la selección de las muestras en buen estado de las hojas, estas fueron limpiadas y secadas a temperatura ambiente y llevadas a una estufa a 40 °C, se consiguió la reducción de tamaño de las hojas. Finalmente, las hojas trituradas de *Apium graveolens* var. *Rapaceum* ("apio-nabo") fueron almacenadas de acuerdo con lo descrito por Lock *et al.* ⁽¹³⁾.

Ensayo de solubilidad

El extracto metanólico seco de hojas de *Apium graveolens* var. *Rapaceum*, DC. "apio-nabo" se trató con solventes de polaridad creciente (Tabla 1) ⁽¹³⁾.

Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico consistió en un conjunto de reacciones de coloración y precipitación que se realizó

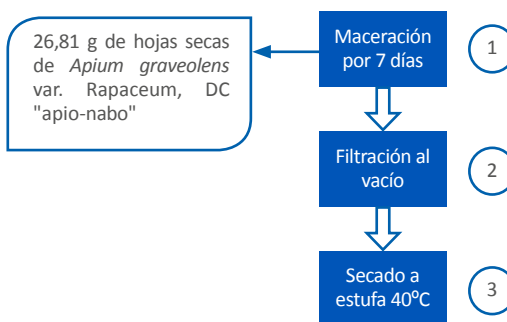


Figura 2. Elaboración del extracto (10 días). 1. Maceración (7 días). 2. Filtración (1 día). 3. Secado (3 días)

para detectar los componentes químicos⁽⁸⁾ del extracto y subextracto metanólico de hojas de *Apium graveolens* var. Rapaceum, DC. ("apio-nabo") (Tablas 2 y 3).

Cromatografía de capa fina

Se realizó la cromatografía en capa fina analítica del subextracto metanólico de hojas de *Apium graveolens* var. Rapaceum, DC. "apio-nabo". Para ello, se sembró la muestra y se desarrolló la cromatografía de capa fina con el sistema de solventes diclorometano:metanol (1:3) y diclorometano:metanol (3:1), respectivamente. Posteriormente, se reveló la cromatopla de silicagel 60-G a la lámpara de luz UV 365 nm y 254 nm.

Cromatografía en capa fina a escala preparativa

Se realizó la cromatografía en escala preparativa del subextracto metanólico de hojas de *Apium graveolens* var. Rapaceum, DC. para aislar los componentes en el sistema de solventes de diclorometano:metanol (5:1). Se reveló la cromatopla de silicagel a lámpara de luz UV de onda corta y onda larga.

Determinación de estructuras químicas

Luego de realizar la cromatografía en capa fina (CCF) a escala preparativa, se realizó la desorción de las fracciones correspondientes, posteriormente fueron leídas en el espectrofotómetro UV/vis Thermo scientific GENESYS 10S y comparadas con las estructuras publicadas por TJ Mabry (1970)⁽¹⁴⁾.

Resultados

El extracto metanólico de hojas de *Apium graveolens* var. Rapaceum, DC. "apio-nabo" presentó una buena solubilidad

Tabla 1. Solubilidad del extracto metanólico de hojas de *Apium graveolens* var. Rapaceum, DC. "apio-nabo"

Solventes	Hojas
Agua	+
Metanol	+++
Etanol	+++
Acetona	+
Acetato de etilo	+
Diclorometano	+
Cloroformo	+
Tolueno	+

+++ : Soluble, + + : parcialmente soluble, + : poco soluble, - : insoluble

Tabla 2. Tamizaje fitoquímico del extracto metanólico de hojas de *Apium graveolens* var. Rapaceum, DC. "apio-nabo"

Metabolito	Reacción	Hojas
Carbohidratos	Rx. Molisch	++
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	+++
Taninos	Gelatina	+++
Flavonoides	Rx. Shinoda	++
Aminoácidos libres	Ninhidrina	+++
Alcaloides	Rx. Dragendorff	+++
	Rx. Mayer	+
Naftaquinonas, antraquinonas y antronas	Rx. Borntrager	+
Terpenos y esteroides	Liebermann	+++

+++ : Abundante; ++ : regular; + : poco; - : ausencia

en metanol y etanol mientras que en otros solventes se observó poca solubilidad (Tabla 1).

Al realizar el tamizaje fitoquímico del extracto metanólico de hojas, se encontró una gran cantidad de compuestos fenólicos, aminoácidos, taninos, alcaloides y terpenos y esteroides (Tabla 2).

Al realizar el tamizaje fitoquímico en el subextracto metanólico de hojas, se encontró una cantidad abundante de taninos y alcaloides (Tabla 3).

Al realizar la cromatografía en capa fina utilizando el sistema diclorometano: metanol (1:3) y revelado en luz UV 365 nm y 254 nm presentó los siguientes resultados (Figura 3).

Tabla 3. Tamizaje fitoquímico del subextracto metanólico de hojas y tallos de *Apium graveolens* var. Rapaceum, DC. "apio-nabo"

Metabolito	Reacción	Hojas
Carbohidratos	Rx. Molisch	+
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	++
Taninos	Gelatina	+++
Flavonoides	Rx. Shinoda	+
Aminoácidos libres	Ninhidrina	-
Alcaloides	Rx. Dragendorff	-
	Rx. Mayer	+++
Naftaquinonas, antraquinonas y antronas	Rx. Borntrager	-
Terpenos y esteroides	Liebermann	-

+++ : Abundante; ++ : regular; + : poco; - : ausencia

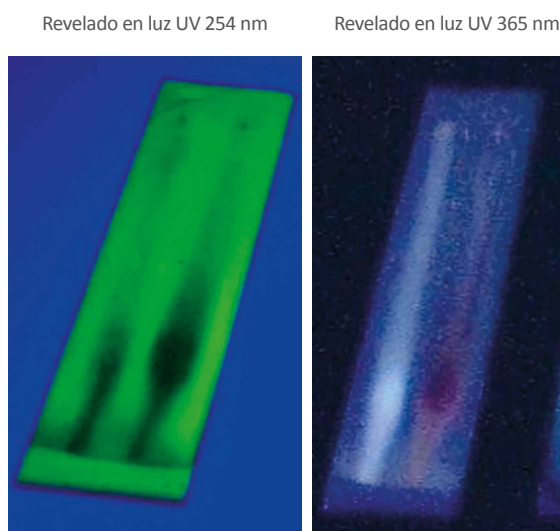


Figura 3. Cromatografía en capa fina del subextracto metanólico a luz UV 365 nm y 254 nm

Al realizar la cromatografía en capa fina utilizando el sistema diclorometano: metanol (3:1) y revelado en luz UV 365 nm y 254 nm, se presentaron los siguientes resultados (Figura 4).

Al realizar la cromatografía en capa fina en escala preparativa del subextracto acuoso, se encontraron diez manchas; de la

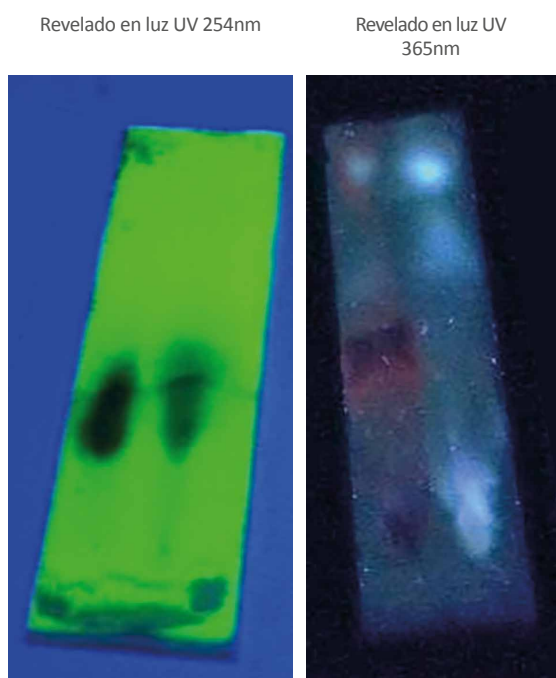


Figura 4. Cromatografía en capa fina del subextracto metanólico a la luz UV 365 nm y 254 nm

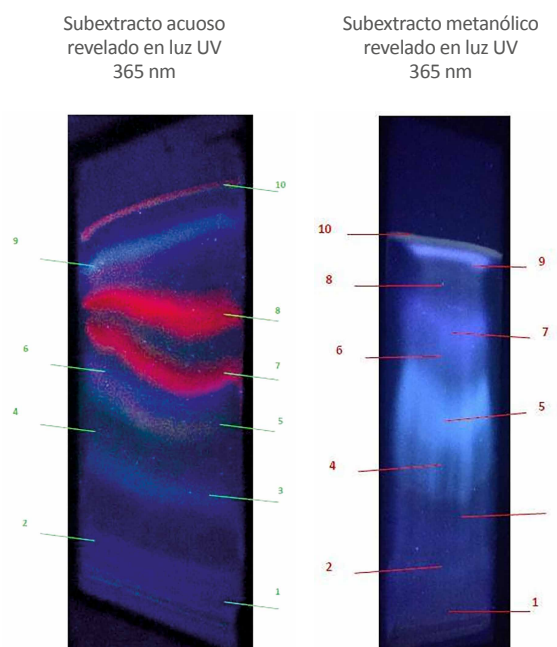


Figura 5. Cromatografía en capa fina a escala preparativa del extracto. Izquierda, subextracto acuoso. Derecha, subextracto metanólico

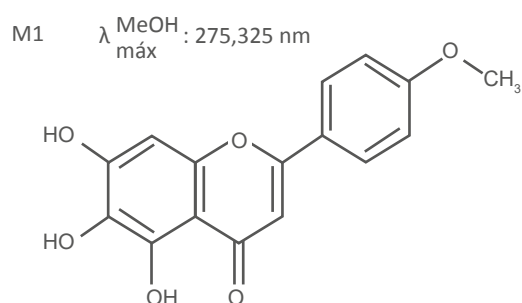
misma manera, del subextracto metanólico se encontraron diez manchas, revelando en luz UV 365 nm y 254 nm (Figura 5). Las estructuras propuestas de los componentes químicos aislados se encuentran en la Figura 6.

Se encontró que las estructuras con mayor factor de retención fueron la 5,6,7-trihidroxi-4'-metoxiflavona, 5,7,8-trihidroxiflavona y 5-hidroxi-4'-metoxiflavona.

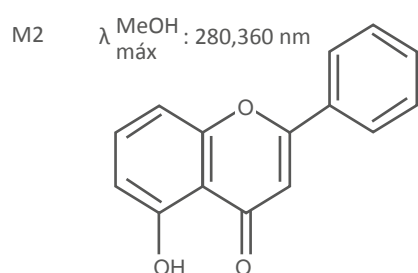
Discusión

Al realizar la prueba de solubilidad del extracto metanólico, se observaron excelentes resultados con el solvente de baja polaridad como el etanol, tal cual lo menciona un estudio previo sobre la especie vegetal en estudio. Este estudio previo demostró que posee flavonas unidas a azúcares, el cual posee el nombre de apiin lo cual le da al extracto actividad antiinflamatoria ⁽¹⁵⁾, esto puede ser tomado en consideración para investigaciones futuras.

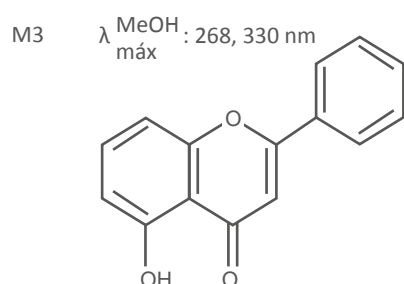
En el extracto metanólico estudiado se evidenció taninos y alcaloides en abundancia; lo mismo se encontró en el extracto etanólico de hojas de *Apium graveolens* L. ⁽¹⁶⁾. Así mismo, Bermúdez *et al.* encontraron en el extracto



5,6,7-trihidroxi-4' metoxiflavona



5,7,8- trihidroxiflavona



5-hidroxiflavona

Figura 6. Estructuras químicas propuestas de compuestos fenólicos tipo flavonoides del subextracto metanólico de *Apium graveolens* var. Rapaceum, DC. "apio-nabo"

Referencias bibliográficas

- Olagnero G, Genevois C, Irei V, Marcenado J, Bendersky S. Alimentos funcionales: Conceptos, Definiciones y Marco Legal Global. DIAETA: Buenos Aires; 2007: 25(119)
- Sultana S, Ahmad S, Jahangir T, Sharma T. Inhibitory effect of celery seeds extract on chemically induced hepatocarcinogenesis: modulation of cell proliferation, metabolism and altered hepatic foci development. Cancer Lett. 2005; 221(1): 11-20.
- Subhadradevi V, Khairunissa K, Asokkumar K, Umamaheswari M, Sivashanmugam A. Induction of Apoptosis and Cytotoxic Activities of *Apium graveolens* Linn. Using in vitro Models. J. Sci. Res. 2011; 9 (1): 90-94.
- Beretz A, Anton R, Cazenave JP. In Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological, and Structure-Activity Relationships E. Harbotne, J.B. 1998; 1(1): 187-191.
- Beretz A, Briancon-Scheid F, Siierle A, Corre G, Anion R. Inhibition of human platelet cyclic AMP phosphodiesterase and of platelet aggregation by a hemisynthetic flavonoid, amentoflavone hexaacetate, Biochem. Pharmacol. 1986; 35(1): 257-262.
- Beretz A, Cazenave J.P, Anton R. Inhibition of aggregation and secretion of human platelets by quercetin and other flavonoids: Structure-activity relationships. Agents Actions. 1982; 12(3): 382-387

hidroalcohólico de *Apium graveolens* mayor proporción de alcaloides y cumarinas⁽¹⁷⁾.

De forma semejante, en el análisis fitoquímico al extracto etanólico de *Eryngium foetidum* L. (Familia Apiaceae) se demostró la presencia de taninos, flavonoides y alcaloides⁽¹⁸⁾. Por ello, se puede inferir que los resultados que se obtuvieron por nuestro estudio tienen concordancia con los estudios antes realizados.

Se presentaron tres estructuras propuestas de flavonoides, las cuales encontramos en la literatura científica. La 5,6,7-trihidroxi-4'-metoxiflavona ha sido relacionada con propiedades antioxidantes en la cáscara de *Musa cavendishii*, plátano⁽¹⁹⁾ y en hojas de *Chuquiraga lessing* "huamanpinta"⁽²⁰⁾. Por otro lado, se ha relacionado a la 5,7,8-trihidroxiflavona con propiedades antioxidantes y microbianas sobre *Staphylococcus aureus*⁽²¹⁾. En contraste, en la evaluación de 5-hidroxiflavona se encontró escasa o nula actividad antioxidante y antirradical⁽²²⁾.

El presente estudio aporta dirigir mejores esfuerzos hacia la investigación preclínica de esta especie, sin embargo, no está exento de limitaciones; por ejemplo, el método de extracción utilizado no aporta especificidad en los resultados y un mayor rendimiento. Asimismo, se sugiere completar los estudios de elucidación estructural de los componentes del extracto utilizando equipos especializados de espectrofotometría, con el objetivo de complementar los estudios farmacológicos y toxicológicos del presente extracto.

En conclusión, se caracterizó la posible estructura química de tres metabolitos secundarios tipo flavonas encontrados en el subextracto metanólico de hojas de *Apium graveolens* var. Rapaceum, DC.: 5,6,7-trihidroxi-4'-metoxiflavona, 5,7,8-trihidroxiflavona y 5-hidroxiflavona.

7. Beretz A., Stierle A, Anion R., Cazenave JP. Role of cyclic AMP in the inhibition of human platelet aggregation by quercetin, a flavonoid that potentiates the effect of prostacyclin. *Biochem. Pharmacol.* 1982; 31(1): 3597-3600
8. Landolfi R, Mower RL, Steiner M. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. Structure-activity relations. *Biochem Pharmacol.* 1984; 33(9): 1525–1530.
9. Kumamoto II, Matsubara Y, Iizuka Y, Okamoto K, Yokoi, K. Structure and hypotensive effect of flavanoid glycosides. *Nippon Noeikagaku Kaishi.* 1985; 59(7): 677-682.
10. Teng CM, Lee LG, KO SN. Inhibition of platelet aggregation by apigenin from *Apium graveolens*. *As. Pac. J. Pharmacol.* 1985; 16 (83): 275-278.
11. Garg SK. Glucosides of *Apium graveolens*. *Planta Med.* 1980; 38(4): 363-364.
12. Garg SK. Glucosides of *Apium graveolens*. *Planta Med.* 1980; 38(4): 363-364.
13. Lock O. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2ª ed. Lima: Fondo Editorial PUCP; 1994. 98-102 p.
14. Momin R, Nair J. *Agric. Food Chem.* 2001; 3 (49): 142-143.
15. Mencherini, T, Cau, A, Bianco, G., Loggia, RD, Aquino, RP, y Autore, G. (2007). Un extracto de *Apium graveolens* var. hojas de dulce: estructura del constituyente principal, apigenin y sus propiedades antiinflamatorias. *Revista de Farmacia y Farmacología*, 59 (6), 891–897.
16. Guerrero M, Gracia C, Meneses B. Actividad anticonvulsiónante del extracto de *Apium graveolens* L. en ratones. *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm.* 1997; 26: 7-10.
17. Bermúdez D, Boffill M, Valido A, Iglesias N y Martínez C. Evaluación de la acción hemolítica del *Apium graveolens* en presencia de la luz ultravioleta. *Medicentro.* 2010; 14(2): 91-94.
18. Beltrán C, Díaz F, Gómez H. Tamizaje fitoquímico preliminar de especies de plantas promisorias de la costa atlántica colombiana. *Rev Cubana Plant Med.* Octubre de 2013; 18(4): 619-631.
19. 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>
20. Ramírez E, Bonilla P, Suarez S, Choquesillo F, Castro A. Actividad antioxidante, antiinflamatoria e inmunomodulador del extracto clorofórmico de las hojas de *Chuquiraga lessing* "huamanpinta". *Cienc E Investig.* 20 de marzo de 2015;17(1):37–42.
21. Mayar Ganoza Y. Síntesis de 5,7,8-trihidroxiflavona a partir de crisina por persulfatación y estudio de su actividad antioxidante y antibacteriana in vitro. [Internet] [Tesis].2012 [citado 12 de abril de 2019]. Disponible en: dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/7724
22. Burda S., Oleszek W. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. *J. Agric. Food Chem.* 2001, 49, 2774–2779