

# POLIFENOLES EN MYRISTICACEAE AMERICANAS (I)

Luis Enrique Aguirre-Galviz (1)

## RESUMEN

Se estudió la distribución de agliconas de ácidos fenólicos y flavonoides en 122 muestras de 22 especies de *Myristicaceae* americanas no colombianas. Las muestras eran provenientes de especímenes de herbario, para comparación cualitativa con muestras frescas, indicando la utilidad de estudios de tales compuestos realizados directamente sobre especímenes botánicos en investigaciones quimiotaxonómicas y fitoquímicas.

## SUMMARY

The occurrence and distribution of phenolic acids and flavonoid aglycones in 122 samples from 22 species of American *Myristicaceae*, other than Colombian, were studied. The samples were obtained from herbarium specimens in order to establish a qualitative comparison against fresh samples, pointing out to the possibility of studying such compounds directly on botanical voucher specimens for the purpose of phytochemical and chemotaxonomic discussions.

**Palabras claves:** Myristicaceae, polifenoles, ácidos hidroxiaromáticos, flavonoides.

---

(1) Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia A.A. 23227, Bogotá, D.E. Colombia.

## INTRODUCCION

Las myristicaceae constituyen una familia pantropical bien representada en regiones bajas de América, Asia y Africa. Los taxa americanos se hallan distribuidos en el área circunscrita por el sur de México, las Antillas Menores, el norte de Bolivia y el Matto Grosso brasileño, siendo *Virola* el género con más amplia distribución, seguido de *Irianthera*, *Compsonaura*, *Dialianthera* y *Osteophloem*.

Tanto la distribución geográfica de la familia, con géneros característicos para cada continente, así como los estudios fitogeográficos realizados (Croizat, 1952) hacen suponer que las Myristicaceae tuvieron un origen Malayo durante el Jurásico y una ulterior emigración a los otros dos centros distribucionales.

Existe el interrogante sobre la evolución intergenérica de la familia (Smith y Woodehouse, 1937), cuya respuesta podría proveer una base de estudio para el entendimiento de su evolución, origen y dispersión. Si se tiene en cuenta que las Myristicaceae presentan una amplia distribución geográfica, se comprende la escasez de estudios sistemáticos a nivel químico sobre un número representativo de especies y la exigua cantidad de muestras examinadas, sin contar con los problemas de clasificación y determinación taxonómica correctas. Así, Kubitzki & Resnik (1966), sólo pudieron examinar los flavonoles de seis miembros de las Myristicaceae; Agurell et al. (1969), aislaron triptaminas en cinco especies, mientras que los diarilpropanoides de sólo ocho representantes brasileños de la familia fueron estudiados por Gottlieb, et al. (1973).

Los exicados depositados en herbarios representan una solución a estos problemas, siempre y cuando los compuestos que se vayan a examinar en partes de ellos sean relativamente estables aún después de varios meses de colección y secado, presenten variación estructural, una amplia distribución en el taxon examinado y, lo que es más importante, sean susceptibles de extracción y análisis en ínfimas cantidades de material vegetal. Tal es el caso de flavonoides y los derivados de los ácidos cinnámico y benzóico y, de tenerse en mente la posibilidad de cambios químicos que se suceden durante el almacenamiento y secado prolongados, el estudio de dichos compuestos puede resultar de utilidad. Es posible que los flavonoides, debido a su distribución universal en las plantas vasculares y su relativa estabilidad (Grisebach, 1973), ayuden a dilucidar parte de estos problemas si su ocurrencia y distribución se combinan con los de otros metabolitos secundarios tales como los ácidos fenólicos y con un estudio taxonómico de la familia.

Este artículo tiene por objeto describir el estudio de las agliconas de flavonoides y ácidos hidroxiaromáticos presentes en 122 muestras de 22 especies de *Myristicaceae* americanas, con miras a ser utilizadas como marcadores filogenéticos en futuros estudios sobre los problemas evolutivos de la familia cuando los datos obtenidos se puedan combinar con investigaciones sobre los mismos compuestos realizados en material colombiano.

Esta primera parte del estudio fue llevada a cabo en muestras obtenidas en el exterior y se espera que trabajos futuros permitan conclusiones referentes a especies colombianas.

## MATERIALES Y METODOS

### A) Material Vegetal

La mayoría del material fue coleccionado en varias partes de la selva pluvial amazónica en Venezuela, Brasil y Perú. Los especímenes fueron determinados y depositados en el Botanical Museum of Harvard University (Cambridge, Mass. U.S.A.).

Casi la totalidad del material fue sujeto a la acción de formaldehído al 1% inmediatamente después de la colección y antes del secado. De los especímenes botánicos se obtuvieron muestras de 300-500 mg y también se recibieron especímenes frescos (200-300 g), para comparación del Instituto Nacional de Pesquisas de Amazonía Manaus, Brasil (ver Tabla No. 1).

### B) Extracción

La hidrólisis se llevó a cabo mediante la maceración del material (hojas) en tubos de ensayo con ácido clorhídrico 2N (2-3 ml por cada 100 mg de muestra seca) y calentamiento de la suspensión a 100°C por 60 minutos. Después de la hidrólisis (Figura 1), el sobrenadante se decantó en tubos limpios y el residuo se lavó con agua destilada que luego fue agregada al producto de la hidrólisis (H1). El color del hidroxilado se anotó cuidadosamente con el fin de controlar la producción de antocianidinas provenientes de protoantocianidinas. Esta solución se extrajo dos veces con dietil-éter (mitad de su volumen) para separar los ácidos hidroxiaromáticos. La fracción resultante (E1) fue, a su vez, extraída con bicarbonato de sodio 0.1 N para obtener una fracción básica B (pH = 8.0). La capa orgánica remanente (E2), se lavó dos veces con agua destilada y las soluciones acuosas combinadas (W), se agregaron a la solución B.

La capa etérea residual (E3), se redujo en volumen y se agregó al hidroxilado original (H2). La fracción básica (B), se acidificó con  $H_2SO_4$  2N (pH = 1.5 - 2.0) y los ácidos hidroxiaromáticos libres se re-extrajeron varias veces con éter (E4). La capa etérea fue evaporada para dar la fracción de ácidos, lista para cromatografía.

El hidroxilado total ( $H_2 + E_3$ ), se calentó para remover el éter disuelto y se sometió a la acción de acetato de etilo (mitad de volumen). Esta fracción (EA) contiene el resto de flavonoides y compuestos relacionados, excepto las antocianidinas que permanecen en la solución acuosa ( $H_3$ ), de la cual fueron extraídas con n-butanol, hasta obtener la fracción (Bu).

TABLA 1  
Material Myristicaceae Americanas Estudiado (\*)

ESPECIE	COLECTOR Y NUMERO DE COLECCION	SITIO DE COLECCION
<i>Iryanthera crassifolia</i>	Martin & Lau-Can, 1025	Iquitos, Loreto, Perú
<i>I. longiflora</i>	Martin & Lau-Can, SN	Iquitos, Loreto, Perú
<i>I. paraensis</i>	Murca-Pires, S.N. (**)	Belem, Brasil
<i>I. tessmani</i>	Tina & Tello, 2048	Iquitos, Loreto, Perú
<i>I. tricornis</i>	Tina & Tello, 2039	Iquitos, Loreto, Perú
<i>I. ulei</i>	Schultes, 24610	Manaus, Amaz., Brasil
<i>Osteophloem platyspermum</i>	Martin & Lau-Can, 1086 Murca, Pires, S.N. (**)	Iquitos, Loreto, Perú Belem, Brasil
<i>Virola calophylloidea</i>	Rodríguez & Coelho, 7266 Rodríguez & Plowman, 4997 (**)	Amazonas, Brasil Manaus, Amaz., Brasil
<i>V. calophylla</i>	Schultes, 24611 Rodríguez, 5534 Martin & Lau-Can, 1186 Rodríguez & Coelho, 9639 (**) Rodríguez & Coelho, 2226 Tello & Tina, 2049 Prance & Woodcutt, 15565 (**)	Manaus, Amaz., Brasil Manaus, Amaz., Brasil Iquitos, Loreto, Perú Manaus, Amaz., Brasil Manaus, Amaz., Brasil Ushpacano, Loreto, Perú Rio Unciuri, Brasil
<i>V. cuspidata</i>	Coelho, 1403 Rodríguez & Coelho, 2415	Tarumazinho, Amaz., Brasil Amazonas, Brasil
<i>V. divergens</i>	Rodríguez & Osmarino, (**) 8220 Plowman, 2526 (**) Chagas, 951 Rodríguez, 5212 Rodríguez & Loureiro, 5835	Manaus, Amaz., Brasil Loreto, Perú Manaus, Amaz., Brasil Manaus, Amaz., Brasil Manaus, Amaz., Brasil
<i>V. elongata</i>	Tello & Tina, 2049 Murga-Pires, S.N. (**)	Iquitos, Loreto, Perú Belem, Brasil
<i>V. lorentensis</i>	Martin & Law-Can, 1026 C. Kirkbride SN (**) Murga-Pires SN (**)	Iquitos, Loreto, Perú Delta Amacuro, Venezuela Belem, Brasil
<i>V. melinoii</i>	Rodríguez & Loureiro, 7152 Rodríguez, 5326 (**) Schultes, 24569	Manaus, Amaz., Brasil Manaus, Amaz., Brasil Rio Gauaburi, Amaz., Brasil

Continuación Tabla 1

ESPECIE	COLECTOR Y NUMERO DE COLECCION	SITIO DE COLECCION
<i>V. multinervia</i>		Manaus, Amaz., Brasil Manaus, Amaz., Brasil Manaus, Amaz., Brasil Delta Smacuro, Venezuela Belem, Brasil  Belem, Brasil
<i>V. peruviana</i>		Iquitos, Loreto, Perú
<i>V. rufula</i>		Manaus, Amaz., Brasil Loreto, Iquitos, Perú Manaus, Amaz., Brasil Manaus, Amaz., Brasil Manaus, Amaz., Brasil
<i>V. sebifera</i>	C. Kirkbride, 277 (**) Blanco, 418 Blanco, 445 Murca-Pires, SN (**)	Delta Amacuro, Venezuela Delta Amacuro, Venezuela Est. Bolívar Venezuela Belem, Brasil
<i>V. surimamensis</i>	Murca-Pires, SN (**)	Belem, Brasil
<i>V. theidora</i>	Chagas, 196 Schultes, 24626	Manaus, Amaz., Brasil Río Totobí, Amaz., Brasil
<i>V. venosa</i>	Shultes, 24613 Rodríguez, 5327 Rodríguez & Coelho, 2231 Rodríguez, 6708 Rodríguez & Osmarina 5968 (**) Rodríguez, 5561 (**)	Manaus, Amaz., Brasil Manaus, Amaz., Brasil Manaus, Amaz., Brasil Manaus, Amaz., Brasil Manaus, Amaz., Brasil Manaus, Amaz., Brasil
<i>V. weberbaueri</i>	Tello & Tina, 2229	Iquitos, Loreto, Perú

(\*) Exicados depositados en Botanical Museum of Harvard University (USA)

(\*\*) Muestras constituidas por especímenes frescos (200-300 g).

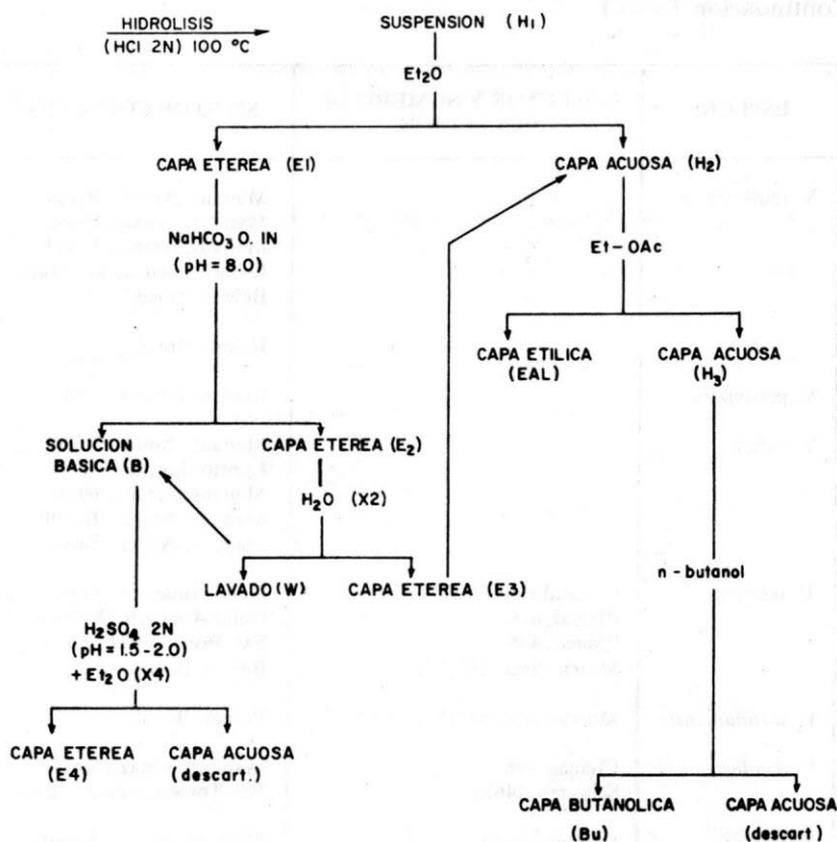


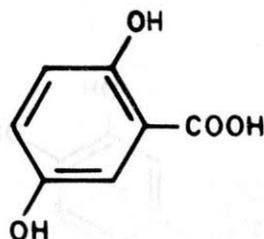
Figura 1: Procedimiento de extracción de polifenoles de Myristicaceae.

Tanto el extracto de acetato de etilo (EA) como el butanólico (Bu), se llevaron a sequedad *IN VACUO*. Los residuos de esos extractos y los de (E4) se tomaron en la mínima cantidad de metanol, metanol ácido y metanol al 80% respectivamente para examen cromatográfico.

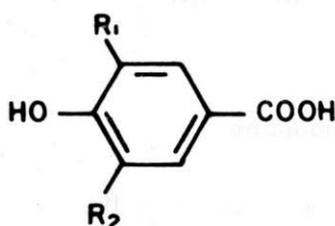
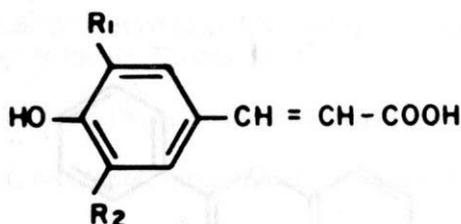
### C) Cromatografía

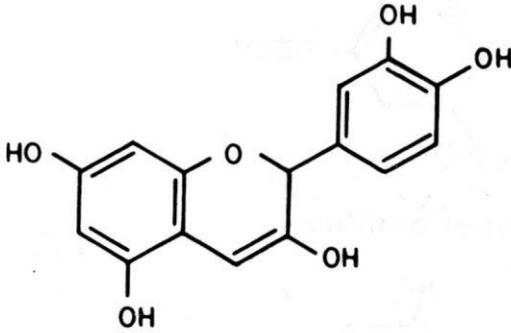
En todos los casos se utilizaron como patrones mezclas de ácidos: gentísico (I), protocatecuico (III), vanílico (IV), p-cumárico (VI), caféico (VII) y ferúlico (VIII), además de los flavonoides: cianidina (X), apigenina (XI), luteolina (XII), flavona (XIII), kanferol (XIV), quercetina (XV), azaleatina (XVI) y ramnetina (XVII).

La cromatografía analítica en capa fina se efectuó uni y bidimensionalmente sobre placas comerciales de soporte plástico (schleicher & Schull F

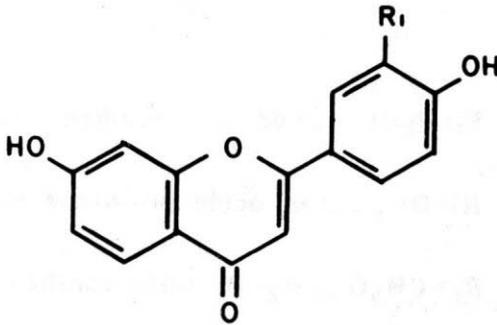


(I) ácido gentísico

(II)  $R_1 = R_2 = H$  : ácido p-hidroxibenzoico(III)  $R_1 = OH$  ;  $R_2 = H$  : ácido protocatecuico(IV)  $R_1 = CH_3O^-$  ;  $R_2 = H$  : ácido vanílico(V)  $R_1 = R_2 = CH_3O^-$  : ácido siríngico(VI)  $R_1 = R_2 = H$  : ácido p-cumárico(VII)  $R_1 = OH$  ;  $R_2 = H$  : ácido caféico(VIII)  $R_1 = CH_3O^-$  ;  $R_2 = H$  : ácido ferúlico(IX)  $R_1 = R_2 = CH_3O^-$  : ácido sinápico

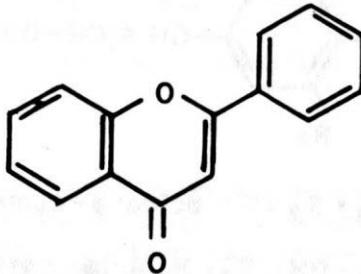


(X) Cianidina

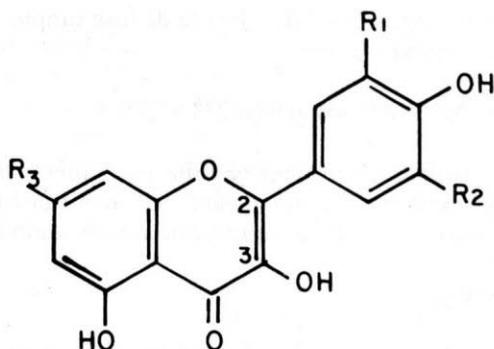


(XI) R<sub>1</sub> = H : Apigenina

(XII) R<sub>1</sub> = OH : Luteolina



(XIII) Flavona



( XIV )  $R_1 = R_2 = H$ ;  $R_3 = OH$  : Kanferol

( XV )  $R_1 = R_3 = OH$ ;  $R_2 = H$  : Quercetina

( XVI ) Azaleatina ( 5 - metoxi - quercetina )

( XVIII )  $R_1 = OH$ ;  $R_2 = H$ ;  $R_3 = CH_3O^-$  : Ramnetina

1440), sin aditivo fluorescente que garantizan un grosor y cantidad de sílica uniforme. La parte preparativa se llevó a cabo en placas de soporte de vidrio (400  $\mathcal{A}$ ), cubiertas por sílica gel - G Merck y Co. tipo 60. y activados a 50-60°C durante 4 horas antes de ser utilizados. Los solventes utilizados fueron:

**BzAW:** Benceno, ácido acético glacial, agua (6:7:3), capa superior. Debe dejarse equilibrar por lo menos 72 horas (8).

**NAF:** Hidróxido de sodio IN, ácido fórmico, agua (150:8:42).

**IBA:** Isopropanol, n-butanol, tert-butanol: amoníaco conc. (d = 088), agua (4:2:2:1:1).

**BAW:** n-butanol, ácido acético glacial, agua (6:1:2), solvente de una sola fase equivalente a la capa superior de BAW 4:1:5.

**TAW:** Tolueno, ácido acético glacial, agua (4:1:5), capa superior equilibrio del tanque con la capa inferior por 12-24 h.

**FOR:** Acido acético glacial - ácido clorhídrico conc. agua (30:3:10) para separar agliconas de flavonoides que se presenten como impurezas.

FW: Fenol, agua (80:20), solvente de fase simple, útil en la separación de compuestos polimetilados.

AcOH: Acido acético glacial 2% y 50%.

Los tres primeros solventes se utilizan solamente para cromatografía bidimensional. Siempre que fue posible se corrieron cromatogramas bidimensionales sobre papel, para comparación, utilizando los mismos solventes.

#### D. Detección

Después del corrido y secado, se marcaron las manchas bajo luz ultravioleta (254 y 360 nm) y se observó el cambio hipercromático.

A continuación se efectuó la ionización de los grupos fenólicos sometiendo los cromatogramas a la acción de gases de amoníaco ( $d = 0.88$ ), anotando el color, antes y después de la ionización.

Algunos compuestos, especialmente aquellos que no contienen un grupo carbonilo conjugado, reaccionan con aminas diazotadas para dar manchas visibles que cambian de color con la variación del pH. Por conveniencia la p-nitroanilina, que da una diazo-sal relativamente estable, se usó principalmente para la detección de ácidos hidroxibenzóicos.

El reactivo se preparó como sigue: p-nitroanilina (0.5%) en HCl 0.1 N nitrito de sodio (5%) -carbonato de sodio M- agua destilada 10:1:50:50 en volumen. Los colores se dejan desarrollar durante 5 minutos 80°C.

#### E. Electroforesis

La electroforesis se efectuó sobre papel Whatman No. 3 (5 x 15 cm), usando un aparato Desaga de 1.100 V., enfriado por agua. Los electrolitos empleados fueron buffer de acetato (pH = 5.2) y de fosfato (pH = 7.2). El voltaje fue ajustado a 66 V/cm durante 20 minutos.

Se usó ácido salicílico como patrón y las tasas de movimiento de los compuestos se refirieron a este patrón como 100 (MAS).

#### F. Espectroscopía

Los espectros ultravioleta fueron obtenidos en un espectrofotómetro Pye-Unican SPI 600, equipado con un control automático de longitud de onda y cambio de filtro. Todos los espectros fueron obtenidos inicialmente en alcohol metílico al 80% (absorbancia = 0.25 a  $\lambda$  210 nm y 0.01 a 230 nm; celda = 1 cm), primero se utilizaron patrones a concentraciones de 10 mg/ml para obtener absorbancia max = 0.5 - 1.5. Como los espectros son influenciados por el pH y la presencia de cationes metálicos, se aseguró que fuesen totalmente removidas trazas de ácidos extraños presentes en los eluidos de cromatogramas. Para obtener valores de pH constantes, se trataron 0.5 ml

del extracto en solución metanólica (80%) con 0.1 ml de ácido acético 1N en Metanol al 80%. Esto dió un pH de 3.8 y, entonces, se tomó el espectro. Posteriormente se agregaron 0.1 ml de KOH M para obtener un pH de 6.8 y el espectro fue obtenido de nuevo. Finalmente, se adicionaron otros 0.1 ml de KOH M para un pH de 12.0 y se registró un nuevo espectro. Estos tres espectros obtenidos se llamaron "ácido", "neutro" y "básico" respectivamente.

También se tomaron nuevos espectros en presencia de cloruro de aluminio (0.1 ml de  $AlCl_3$  0.005 M en metanol al 80% adicionados a 0.1 ml de la solución metanólica original del compuesto) y después de la adición de 0.1 ml de HCl 4 N.

Los espectros IR fueron obtenidos con un aparato, Perkin-Elmer 237, utilizando el método de la pastilla (KBr).

## F. Cromatografía Rutinaria de los Extractos

### i. Fracción Etérea E4

De cada extracto se prepararon 4 placas analíticas de capa fina. Dos de ellas se corrieron bidimensionalmente en BzAw y NAF y las otras dos en BzAw, seguido de IBA. Después del corrido, las cuatro placas se secaron a temperatura ambiente y una de cada corrido se roció con p-nitro-anilina deazotada fresca y luego se calentó a 80°C durante 5 minutos; la otra se reservó para comparación con placas preparativas.

### ii. Capa (EA)

Las soluciones metanólicas provenientes de la fracción (EA), se aplicaron a papel Whatman No. 1 y se corrieron en BAW, FOR, AcOH, FW y TAW con marcadores. Después de secar a temperatura ambiente, se determinaron los valores  $R_f$  de las manchas.

### iii. Fracción Butílica (Bu)

La fracción butílica (Bu) se tomó en HCl metanólico (1%) y se corrió sobre papel Whatman no. 1 en FOR, BAW y AcOH (50%). La elución se llevó a cabo con HCl metanólico diluido y los espectros U.V. se tomaron contra un blanco constituido por eluidos de bandas equivalentes de papel Whatman No. 3 que habían sido corridos en el mismo sistema de solventes.

En los casos en que se disponía de material fresco (Ver Tabla 1), la fracción de ácidos hidroxiaromáticos se separó por cromatografía bidimensional utilizando placas "gruesas" de celulosa y empleando los mismos solventes señalados anteriormente. Luego de compararlas con placas analíticas no rociadas con p-nitroanilina, se rasparon y se eluyeron para estudios espectrométricos. Parte del eluido se guardó para electroforesis.

La separación de flavonoides a gran escala se realizó a partir de extractos de muestras frescas, mediante la aplicación de una banda del extracto al origen de papel Whatman No. 3 y corrido descendente en BAW. Después de secar a temperatura ambiente con corriente de aire, las bandas obtenidas se visualizaron e identificaron bajo luz ultravioleta, se cortaron y se eluyeron con metanol 80%.

Cada eluido se sometió a prueba de homogeneidad mediante corrido analítico en papel o capa fina (sílica) en tres solventes: ácido acético (30%), BAW y FOR. En caso de requerirse nueva purificación, el proceso se repitió utilizando otro sistema de solventes.

## DISCUSION Y RESULTADOS

Se encontraron 9 ácidos fenólicos (4 derivados del ácido cinnámico y 5 del benzoico), que fueron identificados como: gentísico (I), p-hidroxibenzoico (II), protocatecuico (III), vanílico (IV), sirínico (V) p-cumárico (VI), caféico (VII), ferúlico (VIII) y sinápico (IX); una proantocianina, cianidina (X), dos flavonoles: kanferol (XIV) y quercetina (XV) y 5 compuestos, no plenamente identificados, que podrían ser flavanoles ó flavanonas. (F1-F5).

La Tabla 2 resume las características cromatográficas, electroforéticas y espectroscópicas de los metabolitos estudiados; la distribución de los compuestos aislados aparece en las Tablas 3 y 4.

TABLA 2 - Características cromatográficas, electroforéticas y espectrales de los polifenoles aislados de Myricaceae americanas

COMPUESTO	CROMATOGRAFIA										ELECTROFORESIS		ESPECTROSCOPIA (UV)				
	COLOR (*)			VALORES Rf. (x 100')							MAS (**)		Acido	Neutro	Básico	AlCl <sub>3</sub>	+ HCl
	UV	NH <sub>3</sub>	pNO <sub>2</sub>	BAW	W	2% Ach	3% Ach	50% Ach	TAW	FOR	Acet.	Fosf.					
p-OH-benédico	Az obs	-	R	69		80			10	80	64	77	257	258	305	257	
Protocatecúico	Az	-	V/Az	60		51		82		80	50	67	267 296	265 300	265 300	237 293 sh	
P-cumárico	Az obs	Az/Viol	Az	92		80			5	84	34	58	312	288	335		
Caféico	Az	Az/v	Az/v	78		5		82	0	61	20	50	300 328	290 319	302 348	331	
Ferúlico	Az	Az/v	Az	84		40 83		85	25	80	22	42	288 323	290 315	306 350		
Centísico	Az/v	(=)	B/Az	64		30 59					58		237 322	232 313	233 312	232 328	
Sindípico	Az	Az/v	Az/v	84		30 75			11	86		28	230 325	295	150		
Siríngico	Az	-		69		-					0	21	273	273	248	273	
Vanílico	p	(=)	Viol.	72		20 62			65	65	63		264 295	267 294	228 321	264 295	
Kenferol	Am	+		82	0			51	0	58	0	0	266 367	278 414	274 305,367	288 424	268 425
Quercetina	Am	+		85	0			48	0	50	0	0	255 370	321	261 388	265 458	263 426
Cienidina	R	-		68	0			50	0	49			277 535		-	555	-
F <sub>1</sub>	Az	Az/v		85	15			65					230 288,388	258 290,360	240 320,380	241 320,336	240 317,330
F <sub>2</sub>	Am obs	+		96	65			80		85			222 312 sh	222 398	250 285	308 350	278 300
F <sub>3</sub>	Az/v pel	Az/v		80 85	60			78					238 316 sh	316 390	228 316	280 212	280 312
F <sub>4</sub>	Az pel	Az/v		80	30			80					298 335 sh	260 368	248 340	300 340	300 340
F <sub>5</sub>	Az	+		78	30			75					250 287,324	270 360	284 320	312 371	310 371

(\*) Az = Azul; Am = Amarillo; V = Verde; P = Púrpura; Viol = Violeta; R = Rojo; B = Blanco  
obs = oscuro; pel = pálido; Acet. = Acetato; Fosf. = Fosfato.

(\*\*) MAS = distancia recorrida por el derivado / distancia recorrida por ácido salicílico.

(+) Color aumenta con vapores de NH<sub>3</sub>

(-) No hay cambio de color con vapores de NH<sub>3</sub>

(=) No visible.

TABLA 3

Distribución de ácidos hidroxiaromáticos  
en muestras de herbario de Myristicaceae americanas (\*)

ESPECIE Y NUMERO DE COLECCION (**)	DERIVADOS DE ACIDOS FENOLICOS								No. DE MUESTRAS EXAMINADAS		
	p-C	Caf	Fer	Sin	p-OH-B	Prot	Van	Gent		Sir	
<i>Iryanthera crassifolia</i> 1025			+	+	+		+	+	+	+	1
<i>I. longiflora</i> SN	+		+	+	+		+	+	+	+	1
<i>I. paraensis</i> SN	+	+	+	+	+					+	3
<i>I. tessmani</i> 2048			+				+	+	+	+	2
<i>I. tricornis</i> 2039	+		+				+			+	2
<i>I. ulei</i> 24610				+			+	+			2
<i>Osteophloem platyspermum</i>	+	+					+	+	+		3 2
<i>Virola</i> 7266	+	+					+	+	+	+	2
<i>calophylloidea</i> 4997	+	+					+	+	+	+	4
<i>V. calophylla</i> 24611	+	+					+		+		2
5334	+	+							+		2
1186	+	+					+		+		2
9639	+	+					+	+	+		3
2226		+					+		+		3
2049	+	+					+		+		2
15565	+	+					+		+		4
<i>V. cuspidata</i> 1403	+						+	+	+	+	2
2415	+						+	+		+	2
<i>V. surinamensis</i> SN	+	+					+	+	+		3
<i>V. theidora</i> 196	+	+					+	+			3
24626	+	+					+	+	+		3

Continuación Tabla 3

ESPECIE Y NUMERO DE COLECCION (**)	DERIVADOS DE ACIDOS FENOLICOS						No. DE MUESTRAS EXAMINADAS					
	p-C	Caf	Fer	Sin	p-OH-B	Prot		Van	Gent	Sir		
<i>V. venosa</i> 24613	+				+	+		+	+			3
5327	+				+	+		+				3
2231		+					+					3
6708	+	+			+	+		+				2
5968	+	+	+		+	+		+				2
5561	+						+	+		+		1
<i>V. weberbaueri</i> SN	+				+	+	+					1
2229	+				+	+	+					1

## (\*) Abreviaturas

p-C	=	ácido p-cumárico	Prot	=	ácido protocatecúico
Caf	=	ácido cafélico	Van	=	ácido vanílico
Fer	=	ácido ferúlico	Gent	=	ácido gentísico
Sin	=	ácido sináptico	Sir	=	ácido siríngico
p-OH-B	=	ácido p-hidroxi-benzóico	SN	=	sin número

(\*\*) Véase tabla 1 para sitios de colección,

TABLA 4

Distribución de Flavonoides en muestras de herbario  
de Myristicaceae americanas

ESPECIE ESTUDIADA	NUMERO DEL EJEMPLAR	AGLICONAS DE FLAVONOIDES					OTROS	
		FLAVONOLES			FLAVANONAS			
		Pro-Cy	K	Q	F1	F2 F3 F4 F5		
<i>Compsoeura capitellata</i>	8			+		+	+	
<i>C. aprucei</i>	68							
	69						+	
<i>Iryanthera crassifolia</i>	70						+	
<i>I. juruensis</i>	71						+	
<i>I. laevis</i>	1		+					
	9a						+	D
	2							D
	6a		+					
<i>I. longiflora</i>	72						+	
<i>I. paraensis</i>	13							D
<i>I. tessmani</i>	73							
<i>I. tricornis</i>	74						+	
<i>I. ulei</i>	75						+	
	78						+	
<i>Dialyanthera parvifolia</i>	66		+					
	7		+					
<i>Osteophloem platyapermum</i>	10		+	+	+		+	D
			+	+	+		+	A,C
<i>Virola calophylla</i>	19		+				+	+
	20						+	+
	21						+	+
	22		+	+			+	+
	23		+				+	+
	24		+		+		+	
	25		+				+	+
	26		+				+	+
	27			+	+			
<i>V. calophylloidea</i>	5		+		+		+	+
	14		+				+	
	15		+				+	
	16		+				+	+
	17		+				+	+
	18			+			+	
	50		+		+			
<i>V. carinata</i>	4			+			+	+
	28		+				+	
	29		+				+	
	77		+	+			+	
<i>V. cuspidata</i>	30			+	+		+	+
	31						+	

Continuación Tabla 4

ESPECIE ESTUDIADA	NUMERO DEL EJEMPLAR	AGLICONAS DE FLAVONOIDES							OTROS		
		FLAVONOLES			FLAVANONAS						
		Pro-Cy	K	Q	F1	F2	F3	F4		F5	
<i>V. divergens</i>	32	+	+					+			
	33	+			+	+					
	34			+							
	35	+	+							+	+
	36	+	+	+							
<i>V. elongata</i>	37	+				+	+				+
	38	+	+								
<i>V. lorentensis</i>	39			+	+	+	+				
<i>V. melinonii</i>	40	+	+								
	41	+			+	+					
	42	+	+	+							
<i>V. multinervia</i>	43	+	+	+							+
<i>V. peruviana</i>	46	+					+				
<i>V. rufula</i>	47				+	+			+		
	48	+									
	49	+						+	+	+	
	51	+									
	52				+	+	+				
<i>V. sebifera</i>	3	+	+								
	6	+		+	+				+		
	9	+									
	11	+	+		+	+					
	54	+	+	+						+	+
<i>V. subcordata</i>	55	+	+	+							
<i>V. surinamensis</i>	5	+									
	12	+		+							
<i>V. theidora</i>	56					+					
	57	+									
	58	+		+							
	59				+		+				
	60	+	+							+	
<i>V. venosa</i>	61	+					+				+
	62	+	+								
	63	+		+	+		+				
	64	+		+							+
	65	+			+	+	+			+	
	66	+		+	+	+	+				
<i>V. weberbaueri</i>	67	+				+	+	+			

## (\*) Abreviaturas

- Pro-Cy = cianidina de procianidina  
 K = kanferol  
 Q = quercetina  
 F1-F5 = flavanonas incompletamente determinadas  
 A,B,C,D = COMPUESTOS NO IDENTIFICADOS

Los ácidos fenólicos, junto con los flavonoides, se han usado ampliamente en discusiones quimiotaxonómicas en plantas superiores pero las *Myristicaceae* han sido objeto de pocos estudios en este campo. Esto probablemente se debe a su amplia distribución y al hecho de que muchas especies, teniendo su hábitat en el bosque pluvial tropical, son difíciles de obtener en fresco por lo que el estudio de algunos compuestos en material de herbario presenta una alternativa a tales dificultades.

Sin embargo, es importante tener en cuenta que existen desventajas al someter material de herbario a los procedimientos de extracción de sus componentes, especialmente aquellos que durante la colección botánica han sido previamente tratados con formaldehído u otros preservativos. Es bien sabido que los o-glicósidos se hidrolizan rápidamente en tales especímenes (Harborne, 1974), y que también pueden sucederse otras transformaciones químicas. Por ejemplo, Bate-Smith y Harborne (1971), demostraron que, en especies de *Dillenia*, el contenido de flavonoles y proantocianinas disminuye notablemente en especímenes de herbario. No obstante, parece ser razonable asumir que los ácidos hidroxí-aromáticos y otros compuestos con grupo carbonilo o carboxilo, que tienden a reducir la actividad nucleofílica fenólica, se verán menos afectados que las leucoantocianinas. Aunque es obvio que se requiere mayor experimentación a este respecto, las observaciones realizadas durante el trabajo descrito en este artículo indican que, para el caso de ácidos hidroxí-aromáticos, la cantidad de compuestos aislados en muestras pequeñas de material de herbario, aún siendo inferior a la obtenida con el mismo peso de material fresco no impide una comparación cualitativa en cuanto a distribución de los diferentes compuestos en los diversos taxa. Este es el caso *Osteophloem platyspermum*, donde la muestra fresca y el espécimen de herbario presentaron idéntica composición e idéntica carencia de ácidos ferúlico, vanílico y gentísico o *Virola calophylla* y *V. callophyloidea*, ambas desprovistas de ferúlico sinápico y vanílico, pero similares en lo que respecta a los demás ácidos, excepto siríngico, a pesar de que se estudió tanto material seco como fresco (véase tabla IV). *V. difergens* y *V. lorentensis*, presentan un cuadro similar, con presencia de iguales componentes pero sin ácidos ferúlico, p-hidroxibenzóico, vanílico y siríngico. Las únicas excepciones a esta norma fueron *V. sebifera* y *V. venosa* en donde se presentaron divergencias en el contenido de ácido ferúlico entre el material fresco y el seco.

## CONCLUSIONES

1. La distribución de los ácidos fenólicos fue la siguiente (Tabla III): el ácido p-cumárico se encontró en todos los géneros pero es relativamente raro en *Irianthera* (6 de 11 muestras 6/11), común en *Osteophloem* (5/5) y *Virola* (98/108), excepto *V. peruviana*. El ácido caféico está presente en todos los géneros estudiados: *Irianthera* (7/11) *Osteophloem* y *Virola* (23/108) mientras que el ácido ferúlico está ausente de *Osteophloem*, es raro en *Virola* (15/108) pero común en *Irianthera* (9/11).

2. Los ácidos metoxilados, sinápico y siríngico, siguen un patrón de distribución similar, estando el primero ausente en *Osteophloem*, raro en *Virola* (6/108) pero común en *Irianthera* (7/11).

El ácido siríngico es raro en *Virola* (15/108) pero común en *Irianthera* (9/11). Otro ácido metoxilado, el vanílico, se encontró en *Irianthera* (7/11), *Osteophloem* (5/5) y *Virola* (22/108). Los ácidos p-hidroxibenzóico, protocatecúico y gentísico parecen seguir un patrón de distribución similar.

3. La única proantocianina encontrada produjo cianidina y se presentó en *Dialyanthera* (1/1), *Irianthera* (1/8), *Osteophloem* (5/5) y *Virola* (16/18) pero no se aisló de especies de *Componeura*.

Como cabría esperar según los resultados obtenidos por Kubitzki y Reznik (1966), el kanferol y la quercetina se encontraron en la mayoría de las especies examinadas, excepto en *Dialyanthera parvifolia*. El kanferol se halló en menores cantidades que la quercetina en concordancia con lo demostrado por los autores antes señalados.

4. Otros cinco flavonoides encontrados (F1-F5), no se pudieron identificar plenamente pero, a juzgar por sus características espectrales se trata de flavononas o flavononoles. El compuesto F1 está presente en 12 especies de *Virola* pero ausente en todos los otros géneros. El compuesto F2 se encuentra en casi todas las especies excepto *Dialyanthera parvifolia*, *Virola carinata*, *V. elongata*, *V. flexuosa*, *V. multinervia*, *V. surinamensis* y *V. weberbaueri*. El compuesto F-3 se encontró sólo en *Componeura capitellata* y ocho especies de *Virola* mientras que las otras "flavononas" se detectaron únicamente en *Virola*.
5. No se hallaron trazas de luteolina ni de apigenina. Esto no es completamente inesperado puesto que Kubitzki y Reznick (1966), demostraron que estas flavonas son relativamente raras en los taxa que examinaron. Sin embargo, ellos encontraron apigenina en *Dialyanthera parvifolia* y *V. oleifera* pero el material de *D. parvifolia* estudiado en el presente trabajo no mostró trazas de este compuesto y desafortunadamente, no se contó con muestras de *V. oleifera* para comparación.
6. Las muestras de material fresco presentan una mayor cantidad de compuestos que los especímenes secos, pero este hecho sólo influye en el aspecto cuantitativo. Es posible, pues, una comparación cualitativa de la distribución de los componentes cuando se hacen extracciones en material de herbario.

## BIBLIOGRAFIA

- AGURELL, S.B., HOLMSTEDT, et al. 1969. Alkaloids in Certain Species of *Virola* and Other South American Plants of Ethnopharmacologic Interest. *Acta Chem. Scand.*, 23; 903.
- BATE-SMITH, E. y J.B. HARBORNE. 1971. Differences in Flavonoid Content Between Fresh and Herbarium Leaf Tissue in *Dillenia*. *Phytochem.*, 10; 1055.
- GROIZAT, L. 1952. *Manual of Phytogeography*. Springer Verlag.
- GOTTLIEB, O.R., A. LOUREIRA, M. DOS SANTOS et al. 1973. Distribution of Diarylpropanoids in Amazonian *Virola* Species. *Phytochem.*, 12; 1880.
- GRISSEBACH, H. En: T. Swain (Edit.). 1973. *Chemistry in Evolution a Systematics*. IUPAC Symposium, Strasburg.
- HARBORNE, J.B. 1974. *Phytochemical Methods*. Cox and Wyman Ltd., Fakenham.
- KUBITZKI, K. y H. RESNICH. 1966. Flavonoid Patterns of the Polycarpiceae as a Systematic Index. *Beitr. Biol. Pflanzen.*, 42; 445.
- SMITH, A.C. y S.P. WOODHOUSE. 1937. Revision of the American Myristicaceae. *Brittonia*, 2; 393.