

Estudio fitoquímico preliminar del extracto etanólico de la corteza de *Virola peruviana* (A.DC.) Warb. (Myristicaceae)

William Trujillo-Calderón*, Correa-Múnera Marco A**, Urrea-Bulla Angélica María*** & Castro-Castro Teófilo Ernesto***

*Biólogo con énfasis en biorecursos, Universidad de la Amazonia, Florencia, Caquetá.

**Director del Herbario HUAZ, Jardín Botánico Uniamazonia, Florencia, Caquetá

***Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de la Amazonia, Florencia, Caquetá

Recibido, 8 de Noviembre 2005; aceptado 5 de Marzo de 2006

Resumen

Se presentan los resultados de la marcha fitoquímica preliminar de la corteza de *Virola peruviana* (extracto etanólico total) y de actividad biológica frente a *Artemia salina* (extracto etanólico y las tres fracciones obtenidas a través de fraccionamiento soxhlet correspondientes a los solventes Eter de petróleo (EDP), cloroformo (CHCl₃) y acetato de etilo (AcOEt) utilizando el software Probit con un nivel de confianza del 95%. Se detectó presencia de alcaloides, esteroides y/o triterpenoides y lactonas terpénicas en poca cantidad y taninos en mayor cantidad. Ninguno de los extractos probados en el bioensayo es activo frente a *Artemia salina*

Palabras clave: Fitoquímica, Myristicaceae, Metabolito

Abstract

There were presented the preliminary results of bark *Virola peruviana* extract and its biological activity in front *Artemia salina*. For this there were carried out ethanolic petroleum, ethyl acetate and chloroform extracts, obtained by Soxhlet fractions and using Probit software 95% confidence level. Alkaloids, Steroids and/or triterpenoids, terpenoid lactones and tannins were detected. *Artemia salina* bioassay for all extracts was negative.

Keywords: Phytochemistry, Myristicaceae, Metabolites

Introducción

Virola (Aublet) es un género de la familia Myristicaceae, circunscrito a la flora neotropical y propio de América, su distribución va desde Guatemala y las Antillas menores hasta Bolivia, Brasil meridional y la costa occidental de Colombia y Ecuador en el Atlántico (Rodríguez 1980). La mayoría de las especies están distribuidas en la amazonia occidental, por ello se considera ésta región como el centro de distribución del género. En Colombia, la especie *Virola peruviana* (A. DC.) Warb ha sido reportada en un rango altitudinal de entre 100 y 1100 m, de acuerdo a las colecciones botánicas depositadas en el Herbario Nacional Colombiano (COL) y el Herbario Amazónico Colombiano (COAH), no obstante puede habitar ambientes de mayor elevación ya que ha sido registrada a 2100 m de altitud en Brasil (Rodríguez 1980).

La especie *V. peruviana* presenta hojas simples, alternas, oblongas con ápice cuspidado o acuminado, base redondeada o subcordada, con tricomas estrellados; el tallo tiene una corteza muerta de color amarillo, fisurada y gruesa, la corteza viva es de color marrón, laminada y desprende un exudado rojizo oscuro. Las inflorescencias son panículas estaminadas con tres a diez flores por fascículo, subsésiles y con pedicelos de hasta 3 mm de largo. Los frutos son cápsulas elipsoides, lisas o ligeramente carinados.

El estudio etnobotánico realizado por Schultes y Raffauf (1990) presenta un completo reporte del uso tradicional de las especies del género *Virola* por comunidades indígenas del Amazonas, entre ellos se encuentran el tratamiento de infecciones fúngicas, erisipelas, cólicos, paludismo, dispepsia, reumatismo, dolor muscular y quizá el uso más difundido es como alucinógeno en el ámbito cultural. Las hojas de *V. peruviana* son

Autor Correspondencia: email: teocastro@yahoo.com

usadas para tratar infecciones en la piel y para el dolor de dientes, la resina es aplicada sobre las heridas para detener el sangrado y la corteza para preparar el rapé alucinógeno. Es así como las especies del género se constituyen en una fuente potencial de metabolitos secundarios con actividad farmacológica, si se tiene en cuenta los usos tradicionales que se reportan.

Los constituyentes químicos de la mayoría de las especies del género son: alcaloides (Kawanishi & Hashimoto 1985, Schultes 1979), derivados de ácidos grasos (Kawanishi & Hashimoto 1987), policétidos (Kato et al. 1985), flavonoides (Cuca 1985), lignanos (Martínez et al. 1985, Ferri et al. 1992, Calvacantes et al. 1985, Rezende & Kato 2002), estilbenos (McRae & Towers 1985), terpenos (Lopes et al. 1997). Los lignanos son los compuestos más abundantes en el género.

Se presenta el reporte cualitativo de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de la corteza de *V. peruviana* y los resultados del ensayo de actividad biológica citotóxica frente a *Artemia salina* Leach.

Metodología

El trabajo de investigación, se llevó a cabo en el laboratorio de Productos naturales Vegetales, del Departamento de química (Facultad de Ciencias) de la Universidad Nacional de Colombia, dirigido por el Dr. Luis Enrique Cuca Suarez.

Material biológico

La corteza de *Virola peruviana* (A. DC.) Warb fue colectada en noviembre de 2005 en la Sede Social de la Universidad de la Amazonia, vereda Santo Domingo, municipio de Florencia Caquetá Colombia (1°36' Norte, 75°39' Oeste). Para la determinación taxonómica, se colectó una muestra botánica en estado fértil, con tres duplicados, la cual fue prensada, secada y herborizada, bajo estándares internacionales. La muestra botánica fue incluida en la colección de referencia del herbario HUAZ de la Universidad de la Amazonia bajo el número 001226. La determinación del material fue hecha por el Biólogo Marco Correa Múnera.

Extracción

Para la obtención del extracto crudo se tomaron 3984.8 g de corteza de *V. peruviana* que fue secado en un horno a 40°C para obtener 2356 g de peso seco del cual se obtuvo un extracto de 68.73 g por

maceración en etanol al 96%.

Análisis fitoquímico

Utilizando la metodología propuesta por Sanabria (1983) se evaluó el extracto etanólico crudo de la corteza de *V. peruviana* para la identificación de metabolitos secundarios por pruebas cualitativas de coloración y precipitación, como: Reacción de Cianidina, también denominada Shinoda (Flavonoides), Reacción de Bornstrager - Graus (Naftoquinonas y/o Antraquinonas), Reacción de Lieberman - Burchard (Esteroides y Triterpenoides libres), Prueba de FeCl₃ (taninos); para el reconocimiento de alcaloides se utilizaron los reactivos de precipitación Dragendorff, Valser y Reineckato de Amonio y para la detección de Lactonas terpénicas se llevó a cabo una cromatografía en capa delgada desarrollada con cloroformo - acetona (90:10) y revelada con solución de 1% de vainillina.

Debido a que las pruebas son cualitativas, la tabulación de los resultados se presenta de acuerdo a la cantidad del precipitado o la intensidad del color, de la siguiente manera: (++++) = presente en abundancia, (++) = presente en mediana cantidad, (+) = presente en pequeña cantidad, (-) = ausente (ver tabla 1).

Fraccionamiento Soxhlet

Se tomaron 12.26 g de extracto etanólico crudo y se sometió a fraccionamiento con los siguientes solventes en orden creciente de polaridad: Eter de Petróleo (EDP), cloroformo (CHCl₃), Acetato de Etilo (AcOEt) obteniendo así tres fracciones correspondientes a cada solvente, más el extracto etanólico crudo. A los cuatro extractos se les hizo el ensayo de actividad biológica.

Ensayo de actividad biológica frente a *Artemia salina*

Artemia salina es un camarón de la subclase de los anostráceos ampliamente utilizado como bioensayo de toxicidad general por su fácil y económica consecución en tiendas de peces ornamentales. Se basa en la premisa de que los compuestos bioactivos son tóxicos a altas dosis y que la letalidad en un organismo simple puede ser utilizada para detectar y guiar el fraccionamiento de los extractos. Para el ensayo, se expusieron los nauplios (larvas) de *A. salina* a 3 diferentes concentraciones (dosis) de cada extracto: 10, 100 y 1000 ppm más el blanco, empleando tres réplicas

por dosis y 10 nauplios por réplica. Para disolver cada extracto en su correspondiente concentración se utilizó Dimetil Sulfoxido (DMSO) en cantidad que no excediera el límite de toxicidad (50 µl/vial) y se adicionaron 5 ml de agua de mar utilizando viales de vidrio de 10 ml. Al cabo de 24 horas se contaron en cada vial el número de larvas muertas. Con los datos obtenidos se determinó el intervalo de concentración letal 50 (CL₅₀) con el 95% de confianza utilizando el software Probit, esto es, la dosis necesaria para matar al 50% de las larvas.

Resultados y Discusión

El extracto etanólico crudo de la corteza de *V. peruviana* (A. DC) Warb muestra la presencia de alcaloides, esteroides y/o triterpenoides, taninos y lactonas terpénicas (tabla 1).

Tabla 1. Metabolitos secundarios presentes en el extracto crudo de la corteza de *V. peruviana*

SUSTANCIA	PRUEBA	RESULTADO
Alcaloides	Dragendorff	+
	Mayer	-
	Reineckato	-
Flavonoides	Cianidina	-
	HCl 10%	-
Naftoquinonas y/o antroquinonas	Bornstrager - Kraus	-
Taninos	Gelatina - sal	-
	FeCl ₃	+++
Esteroides y/o triterpenoides	C.C.D	+
	Lieberman-Burchard	+
Lactonas Terpénicas	Vainillina	+

(+++)
Presente en abundancia. (++) Presente en media cantidad. (+) Presente en pequeña cantidad, (-) = ausente.

Ensayo de actividad biológica frente a *Artemia salina*

Se comprobó que el extracto etanólico de *V. peruviana* y sus fracciones de eter de Petróleo (EDP), cloroformo (CHCl₃) y Acetato de Etilo (AcOEt), no fueron activos frente a las larvas de *Artemia salina*. Ya que la salida del Software Probit arroja resultados con CL₅₀ mayores de 1000 ppm, lo cual es evidencia suficiente para afirmar que ninguno de los cuatro extractos probados son activos frente a *Artemia salina*.

La prueba de Dragendorff muestra la presencia de alcaloides en pequeña cantidad (Tabla 1). Por su parte la prueba de FeCl₃ presenta como resultado, la presencia en abundancia de taninos, éstos son compuestos polifenólicos y tienen importancia económica debido a su capacidad de

unirse a las proteínas, por lo que se usan industrialmente para curtir cueros. Además son compuestos de alta distribución en plantas. Adicionalmente se detectó esteroides y/o triterpenoides libres y lactonas terpénicas, ambos en pequeña cantidad. Este tipo de compuestos ya han sido descubiertos y elucidados en especies de este género como *Virola surinamensis* (López et al. 1985), sin embargo la literatura no reporta este tipo de compuestos en *V. peruviana*.

Algunos investigadores han aislado y caracterizado compuestos presentes en *Virola peruviana* como agliconas de flavonoides en hojas (Aguirre 1998), lignanos en frutos (Cavalcante et al. 1985) y en corteza (Lai et al. 1973, citado por Von Rotz et al. 1987). Se sugiere realizar estudios de actividad biológica adicionales a los aquí registrados que permitan evidenciar el potencial farmacológico y validar los usos dados a la especie.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Dr. Luis Enrique Cuca Suárez y al grupo de Investigación en Myricaceas y Rutaceas de Colombia del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia por facilitar los reactivos, equipos, materiales y el espacio en el laboratorio de Productos Naturales Vegetales de la Universidad Nacional para el desarrollo de la Investigación. A la Dra. Bárbara Moreno Murillo por su colaboración en el ensayo de actividad biológica.

Literatura citada

- Aguirre, G. I. 1988. Polyphenols in american Myricaceae: I. Acta Biológica Colombiana 1: 25-44.
- Cavalcante, S. H., D. Fernandes, H. F. Paulino, M. Yoshida & Gottlieb, O. R. 1985. Lignoids from the fruit of three *Virola* species. Phytochemistry 24: 1865-1866.
- Cuca, L. E. 1985. Estudio de los extractos bencénicos de las hojas corteza y Madera de *Virola calophylloidea* [Tesis de Maestría]. Bogotá: Departamento de química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.
- Ferri, P. H. & Barata, L. E. S. 1992. Neolignans and phenylpropanoids from *Virola pavonis* leaves. Phytochemistry 31: 1375-1377.
- García-Barriga, H. 1974. Flora medicinal de Colombia. Bogotá: Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia. Tomo I
- Kato, M.J., Lopes, L. M. X., Paulino, H. F., Yoshida, M. & Gottlieb, O. 1985. The chemistry of Brazilian myricaceae XXIV. Acylresorcinols from *Virola elongata* and *Virola sebifera*. Phytochemistry 26: 533 - 536.

- Kawanishi, K. U. & Hashimoto, Y. 1985 Alkaloids from the hallucinogenic plant *Virola sebifera*. *Phytochemistry* 24:1372-1375.
- Kawanishi, K. U. & Hashimoto, Y. 1987. Long chain esters of *Virola* species. *Phytochemistry* 26: 749 - 759.
- Lopes, N.P., Kato, M. J. Andrade, E. H., Soares, J. G. & Yoshida, M. 1997 Circadian and seasonal variation in the essential oil from *Virola surinamensis* leaves. *Phytochemistry* 49: 689 - 693.
- Martínez, J. C., Cuca, L. E., Santana, A. J., Pombo, E. & Bernart, B. 1985. Neolignans from *Virola elongate*. *Phytochemistry* 24: 1612 - 1614.
- McRae, D. & Towers, N. 1985. Non - alkaloids constituents of *Virola elongate* bark *Phytochemistry* 24: 561 - 566.
- Rezender, K. R. & Kato, M. J. 2002. Dibenzylbutane and aryltetralone lignans from seeds of *Virola sebifera*. *Phytochemistry* 61: 427 - 432.
- Rodríguez, W. A. 1980. Revisão taxonômica das espécies de *Virola Aublet* (Myristicaceae) do Brasil. *Acta Amazônica* 10 (1) suplemento.
- Sanabria, A. 1983. Análisis fitoquímico Preliminar, metodología y su aplicación en la evaluación de 40 plantas de la familia Compositae. Bogotá: Departamento de farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.
- Schultes, R.E. & Raffauf, R. F.. 1990. *The Healing Forest. Medicinal y Toxic Plants of the Northwest Amazonia*. Dioscorides Press, Portland Oregon.
- Schultes, R.E. 1979. Evolution of the identification of Myristicaceous hallucinogens of South America. *Journal of Ethnopharmacology* 1: 211 - 239.
- Von Rotz, R. Cuca, L. E. & Martínez, J. C. 1987. Lignanos en hojas de *Virola sebifera*. *Revista Colombiana de Química* 16: 51 - 55.