

## SOBRE LA PRESENCIA DE FLAVONOIDES EN ALGUNAS ESPECIES DE MUSGOS

por

M.<sup>a</sup> EUGENIA RON, ARTURO VELASCO, M.<sup>a</sup> JOSÉ PÉREZ-ALONSO & JOSÉ CEREZO\*

### Resumen

RON, M.<sup>a</sup> E., A. VELASCO, M.<sup>a</sup> J. PÉREZ-ALONSO & J. CEREZO (1990). Sobre la presencia de flavonoides en algunas especies de musgos. *Anales Jard. Bot. Madrid* 46(2): 421-426.

Siguiendo los planteamientos sobre investigación de flavonoides en musgos que actualmente se están llevando a cabo por el grupo de R. Mues y H. D. Zinsmeister en la Universidad de Saarlandes, se han estudiado mediante cromatografía en capa fina y papel, además de la espectroscopía de ultravioleta, 16 especies de musgos acrocárpicos y pleurocárpicos de procedencia española. Se han obtenido resultados positivos en algunos de ellos, como *Dicranum scoparium* Hedw., *Racomitrium lanuginosum* (Hedw.) Brid., *R. aciculare* (Hedw.) Brid., *R. heterostichum* (Hedw.) Brid. y *Calliergonella cuspidata* (Hedw.) Loeske. Se confirma asimismo la presencia de biflavonas en *Racomitrium lanuginosum*.

Palabras clave: Musgos, flavonoides.

### Abstract

RON, M.<sup>a</sup> E., A. VELASCO, M.<sup>a</sup> J. PÉREZ-ALONSO & J. CEREZO (1990). On the presence of flavonoids in some species of mosses. *Anales Jard. Bot. Madrid* 46(2): 421-426 (in Spanish).

Following the publications about the flavonoid patterns of mosses by R. Mues & H. D. Zinsmeister (University of Saarlandes) we have studied by thin layer chromatography, paper chromatography and UV spectroscopy, 16 species of mosses growing in Spain. Flavonoids were detected in *Dicranum scoparium* Hedw., *Racomitrium lanuginosum* (Hedw.) Brid., *R. aciculare* (Hedw.) Brid., *R. heterostichum* (Hedw.) Brid. and *Calliergonella cuspidata* (Hedw.) Loeske. We have confirmed the presence of biflavones in *Racomitrium lanuginosum*.

Key words: Mosses, flavonoids.

## INTRODUCCIÓN

Durante bastantes años ha sido cuestionada la presencia de flavonoides en briófitos. Actualmente conocemos muchas publicaciones en lo que concierne a los flavonoides en *Hepaticopsida* (*Marchantiopsida*) (ZINSMEISTER & MUES, 1980; HUNECK, 1983), sin embargo son pocas las que tratan de flavonoides en *Andreaeopsida*, *Sphagnopsida* y *Bryopsida* (HUNECK, 1983; MUES & ZINSMEISTER, 1988; MUES, 1988; MARKHAM & al., 1988; GEIGER & al., 1988).

\* Departamento de Biología Vegetal I, Facultad de Biología, Universidad Complutense. 28040 Madrid.

Después del trabajo pionero en quimiotaxonomía de musgos realizado por McCLURE & MILLER (1967), surgieron nuevas investigaciones sobre el tema. Así, el aislamiento de un glicósido de 5-deoxidihidroflavonol, en *Georgia pellucida* (L.) Rabh. (VANDEKERKHOVE, 1977a); 7-ramnoglucósido de apigenina, en *Hylocomium splendens* (Hedw.) B. S. G. (VANDEKERKHOVE, 1977b); apigenina y 7-ramnoglucósido de apigenina, en *Pleurozium schreberi* (Willd.) Mitt. (VANDEKERKHOVE, 1980); saponarósido, schaftósido, isoschaftósido, neoschaftósido, isoneoschaftósido, vecenina-2, crisoeriol y diversos 6,8-di-C-glicósidos, en *Plagiomnium undulatum* (Hedw.) T. Kop., y saponarósido, en *Plagiomnium cuspidatum* (Hedw.) T. Kop. (FREITAG & al., 1986; VANDEKERKHOVE, 1978). ÖSTERDAHL (1979) aísla en *Dicranum scoparium* Hedw. diversos glicósidos de luteolina, apigenina y diosmetina, así como una biflavona de la luteolina (5', 8''-biluteolina). El mismo autor aísla en *Hedwigia ciliata* (Hedw.) P. Baeauv. además de varios glicósidos de luteolina y apigenina, una flavona que no identifica y que nosotros, de acuerdo con su retención cromatográfica en cromatografía en papel y capa fina, damos tentativamente como 5', 8''-biluteolina.

Se han aislado isoflavonas en *Bryum capillare* Hedw. (ANHUT & al., 1984); en este mismo musgo se han aislado también ésteres malónicos en 6' de diosmetina y luteolina (STEIN & al., 1985); glucurónidos aislados por primera vez en musgos por MUES & al. (1986) y O-glucósidos de iso-orientina en *Plagiomnium affine* (Funk) T. Kop. (FREITAG & al., 1986).

Si a toda esta información añadimos la presencia de auronas (WEITZ & IKAN, 1977) y de 3-deoxiantocianidinas (BENDZ & al., 1962) en varios musgos, todo apoya la propuesta de que los musgos no son embriobiontes primitivos y de que comparten una fuerte afinidad con las plantas vasculares y bioquímicamente han ido muy paralelos en su evolución.

Pero probablemente el descubrimiento más importante en estos tres últimos años y que refuerza la propuesta anterior, ha sido el aislamiento de brioflavona y heterobrioflavona, dos dímeros isoflavona-flavona, en *Bryum capillare* Hedw. (GEIGER & al., 1987); y las biflavonas 5', 3'''-dihidroxirobustaflavona y 5', 8''-biluteolina en *Hylocomium splendens* (Hedw.) B. S. G. (BECKER & al., 1986).

Con fecha posterior a la presentación de este trabajo en el VII Symposium de Botánica Criptogámica, GEIGER & al. (1988) denuncian el aislamiento de 5', 8''-biluteolina y 5', 3'''-dihidroxirobustaflavona en los musgos: *Antitrichia curtipendula* (Hedw.) Brid. y *Racomitrium lanuginosum* (Hedw.) Brid., además en *Plagiomnium elatum* (B. S. G.) Kop. 5'-hidroxiamentoflavona.

Presentamos en este trabajo nuestros resultados sobre la presencia/ausencia de flavonoides en diversas especies de musgos recogidos en España.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Los testimonios de los ejemplares estudiados se encuentran depositados en el herbario MACB (tabla 1).

La metódica empleada para la extracción e identificación de flavonoides fue la descrita por WAGNER & al. (1984), y las otras técnicas cromatográficas y espectroscópicas utilizadas lo fueron por MARKHAM (1982).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 figuran las especies de musgos estudiadas, la localidad y el número de pliego testigo, ecología, partes utilizadas, método de extracción,  $R_f$  y color de las manchas debidas a flavonoides y otros componentes una vez reveladas con Naturstoffreagenz A (NA).

En *Dicranum scoparium*, nuestros resultados coinciden con los de MCCLURE & MILLER (1967), que detectan un flavonoide utilizando un extracto metanólico, y con los de ÖSTERDAHL (1979), que con una extracción más completa identifica cuatro O-glicosidos de flavona y una biflavona. Como hemos podido comprobar, las biflavonas de los musgos se extraen mejor con mezclas de metanol-agua (90:10) o acetona-agua (90:10); por esto, en nuestra muestra de *Dicranum scoparium* tratada con metanol no aparece la mancha debida a biflavona, que, sin embargo, sí se presenta cuando la extracción se realiza con metanol-agua.

Los musgos siguientes: *Tortula subulata*, *Aulacomnium androgynum*, *Leucodon sciuroides*, *Antitrichia curtipendula*, *A. californica*, *Hookeria lucens*, *Thuidium tamariscinum*, *Rhynchostegium riparioides* y *Pleurozium schreberi*, todos ellos tratados según las técnicas de MCCLURE & MILLER (1967) y WAGNER & al. (1984) con metanol, dan resultados negativos en lo que se refiere a la presencia de glicosidos de flavonoide. Otros autores señalan, sin embargo, para *Pleurozium schreberi* (VANDEKERKHOVE, 1980) apigenina y apigenina 7-ramnoglucósido, y para *Antitrichia curtipendula*, las biflavonas antes reseñadas (GEIGER & al., 1988).

Han resultado positivos en lo que se refiere a la presencia de flavonoides y/o biflavonas: *Calliergonella cuspidata*, *Racomitrium aciculare*, *R. heterostichum*, *R. lanuginosum*, *Hylocomium splendens*, *Homalothecium sericeum* y *Dicranum scoparium*.

A propósito de *Racomitrium lanuginosum*, en los estudios preliminares que hemos citado nos llamó la atención el flavonoide que con elevado  $R_f$  en el sistema acetato de etilo-ácido fórmico-ácido acético glacial-agua (100-11-11-27) sugería una biflavona. Al ser conscientes de la importancia que tendría este hecho de confirmarse, realizamos pruebas complementarias: cromatografía en papel en dos dimensiones, extracción con metanol-agua (90:10) y cromatografía en capa fina (Kieselger 60 F254) con disolventes especiales para biflavonoides. En todos los casos encontrábamos una mancha negro-violácea al UV que no variaba de color al exponerla a los vapores de amoníaco. Sin embargo, se revelaba con un color marrón oscuro al pulverizar con tricloruro férrico.

Purificado por cromatografía en papel unidimensional con ácido acético al 40%, se aisló un producto amarillo claro que coincidía, según los datos cromatográficos y espectroscópicos, con los de ÖSTERDAHL (1979) y BECKER & al. (1986) y han sido confirmados recientemente por los de GEIGER & al. (1988) y MARKHAM & al. (1988) para la 5'8"-biluteolina.

## CONCLUSIONES

Se comprueba que los flavonoides se encuentran bastante repartidos en los musgos y que el método de extracción tiene especial importancia cuando se trata

FLAVONOIDES EN VARIAS ESPECIES DE MUSGOS DE PROCEDENCIA ESPAÑOLA

Especies	Localidad y pliego testigo	Ecología	Partes utilizadas	Método de extracción	Flavonoides	Otros
<i>Dicranum scoparium</i> Hedw.	Montes de Toledo (Toledo) MACB: 19960	Terrícola	G + E	MeOH	ADR <sub>r</sub> = 28 ACR <sub>r</sub> = 24	AzV R <sub>r</sub> = 45
Ídem	Ídem	Terrícola	G + E	MeOH + H <sub>2</sub> O	ADR <sub>r</sub> = 28 ACR <sub>r</sub> = 24 A R <sub>r</sub> = 94	AzV R <sub>r</sub> = 45
<i>Tortula subulata</i> Hedw.	Moncayo (Soria) MACB: 11073	Terrícola	G + E	MeOH	—	—
<i>Racomitrium aciculare</i> (Hedw.) Brid.	Montejo de la Sierra (Madrid) MACB: 19956	Saxícola	G + E	MeOH	ACR <sub>r</sub> = 20	—
<i>Racomitrium heterostichum</i> (Hedw.) Brid.	El Escorial (Madrid) MACB: 19961	Saxícola	G + E	MeOH	AzVA R <sub>r</sub> = 20 AzVA R <sub>r</sub> = 15 AzVA R <sub>r</sub> = 12	—
<i>Racomitrium lanuginosum</i> (Hedw.) Brid.	Navahermosa (Toledo) MACB: 15094	Saxícola	G	MeOH + H <sub>2</sub> O	A R <sub>r</sub> = 94 ACL R <sub>r</sub> = 45	—
Ídem	Seoane del Caurel (Lugo) MACB: 19963	Saxícola	G	MeOH	—	—
Ídem	Navahermosa (Toledo) MACB: 20328	Saxícola	G	MeOH	—	—
Ídem	Ídem	Saxícola	G	MeOH + H <sub>2</sub> O	A R <sub>r</sub> = 94	—
<i>Aulacomnium androgynum</i> (Hedw.) Schwaegr.	Puerto de Canencia (Madrid) MACB: 19957	Casmófito	G	MeOH	—	AzV R <sub>r</sub> = 45
<i>Leucodon sciurooides</i> (Hedw.) Schwaegr.	Calatañazor (Soria) MACB: 19951	Epifito	G	MeOH	—	—

<i>Leucodon sciurioides</i> (Hedw.) Schwaegr.	Montejo de la Sierra (Madrid) MACB: 19954	Epífito	G	MeOH	—	AzV R <sub>f</sub> = 45
<i>Anitrichia curipendula</i> (Hedw.) Bröd.	Montejo de la Sierra (Madrid) MACB: 19955	Terrícola	G	MeOH	—	AzV R <sub>f</sub> = 45
<i>Anitrichia californica</i> Sull.	Puerto de Canencia (Madrid) MACB: 19958	Terrícola	G	MeOH	—	AzV R <sub>f</sub> = 45
<i>Hookeria lucens</i> (Hedw.) Sm.	Moncayo (Soria) MACB: 11049	Terrícola Riparia	G	MeOH	—	AzV R <sub>f</sub> = 45
<i>Thuidium tamariscinum</i> (Hedw.) B. S. G.	Moncayo (Soria) MACB: 11072	Terrícola	G	MeOH	—	—
<i>Calliergonella cuspidata</i> (Hedw.) Loeske	Montejo de la Sierra (Madrid) MACB: 19953	Terrícola	G	MeOH	AzVA R <sub>f</sub> = 12 AzVA R <sub>f</sub> = 19 AC R <sub>f</sub> = 24 A R <sub>f</sub> = 28	AzVA R <sub>f</sub> = 45
<i>Homalothecium sericeum</i> (Hedw.) B. S. G.	Montejo de la Sierra (Madrid) MACB: 19952	Terrícola	G	MeOH	AzVA R <sub>f</sub> = 18	AzV R <sub>f</sub> = 45
<i>Rhynchostegium riparioides</i> (Hedw.) Card.	Montejo de la Sierra (Madrid) MACB: 19962	Saxícola Riparia	G + E	MeOH	—	AzV R <sub>f</sub> = 45
<i>Pleurozium schreberi</i> (Bröd.) Mitt.	Ídem MACB: 19949	Terrícola	G	MeOH	—	—
<i>Hylacomium splendens</i> (Hedw.) B. S. G.	Ídem MACB: 19959	Terrícola	G	MeOH	AC R <sub>f</sub> = 28	AzVA R <sub>f</sub> = 35 AzVA R <sub>f</sub> = 41 AzV R <sub>f</sub> = 45

G = gametófito; E = esporófito; AzV = azul violeta; AzVA = azul violeta amarillo; A = amarillo; AD = amarillo dorado; AC = ácido clorogénico; mancha A de R<sub>f</sub> = 94 = 5'8''-bituleolina.

de biflavonoides; éstos están también ampliamente distribuidos, siendo la 5'8''-bifluteolina la biflavona hasta ahora más encontrada. Este hecho, de confirmarse, tiene una importancia quimiosistemática indiscutible.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANHUT, S., H. D. ZINSMEISTER, W. BARRZ, K. MACKENBRACK, J. KOSTER & K. R. MARKHAM (1984). The first identification of isoflavones from a bryophyte. *Phytochemistry* 23(5): 1073-1075.
- BECKER, R., R. MUES, H. D. ZINSMEISTER, F. HERZOG & H. GEIGER (1986). A new biflavone and further flavonoids from the moss *Hylocomium splendens*. *Z. Naturforsch.* 41c: 507-510.
- BENDZ, G., O. MARTENSSON & L. TERENIUS (1962). Moss pigments I. The anthocyanins of *Bryum cryophilum*. *Acta Chem. Scan.* 16: 1183-1190.
- FREITAG, P., R. MUES, C. BRILL-FRES, M. STOLL, H. D. ZINSMEISTER & K. R. MARKHAM (1986). Isoorientin 3'-O-sophoroside and 3'-O-neohesperidoside from the moss *Plagiomnium affine*. *Phytochemistry* 25(3): 669-671.
- GEIGER, H., S. WOLFGANG, R. MUES & H. D. ZINSMEISTER (1987). Bryoflavone and heterobryoflavone. Two new isoflavone-flavone dimers from *Bryum capillare*. *Z. Naturforsch.* 42c: 863-867.
- GEIGER, H., S. ANHUT & H. D. ZINSMEISTER (1988). Biflavones from some mosses. *Z. Naturforsch.* 43c: 1-4.
- HUNECK, S. (1983). Chemistry and biochemistry of Bryophytes. In: R. M. Schuster (Ed.). *New manual of Bryology*. Nichinan.
- MARKHAM, K. R. (1982). *Techniques of flavonoid identification*. Londres.
- MARKHAM, K. R., O. M. ANDERSEN & E. S. VIOTTO (1988). Unnique biflavonoid types from the moss *Dicranoloma robustum*. *Phytochemistry* 27(6): 1745-1749.
- MCCLURE, J. W. & H. A. MILLER (1967). Moss chemotaxonomy. A survey for flavonoids and the taxonomic implications. *Nova Hedwigia* 14: 111-125.
- MUES, R. (1988). Thin-layer chromatography (TLC) of flavonoids compounds from Bryophytes. In: J. M. Glime (Ed.). *Methods in Bryology*. Nichinan.
- MUES, R., G. LEIDINGER, V. LAUCK, H. D. ZINSMEISTER, T. KOPONEN & K. R. MARKHAM (1986). Rhizomnium magnifolium and R. pseudopunctatum, the first mosses to yield flavone glucuronides. *Z. Naturforsch.* 41c: 971-975.
- MUES, R. & H. D. ZINSMEISTER (1988). The chemotaxonomy of phenolic compounds in Bryophytes. *Journ. Hattori Bot. Lab.* 64: 109-141.
- ÖSTERDAHL, B.-G. (1979). Chemical studies on bryophytes, isolation and identification of flavones and flavone glycosides. *Acta Universitatis Upsaliensis. Abstracts of Upsala Dissertations from the Faculty of Sciences* 516: 1-55.
- STEIN, W., S. ANHUT, H. D. ZINSMEISTER, R. MUES, W. BARZ & J. KÖSTER (1985). New flavone glucoside malonylestere from *Bryum capillare*. *Z. Naturforsch.* 40c: 469-473.
- VANDEKERKHOVE, O. (1977a). Isolierung und Charakterisierung eines Dihydroflavonols bei dem Laubmoss *Georgia pellucida* (L.) Rabh. *Z. Pflanzenphysiol.* 82S: 455-457.
- VANDEKERKHOVE, O. (1977b). Über die Verbreitung von Flavonoiden bei pleurokarpen Laubmoosen I. Apigenin-7-rhamnoglucoside bei *Hylocomium splendens* (Hedw.) Br. Eur. *Z. Pflanzenphysiol.* 85S: 135-138.
- VANDEKERKHOVE, O. (1980). Über die Verbreitung von Flavonoiden bei akrocarpen Laubmoosen I. Die flavonoid von *Mnium undulatum* (L.) Hedw. *Z. Pflanzenphysiol.* 86S: 135-139.
- VANDEKERKHOVE, O. (1980). Apigenin und Apigenin 7-rhamnoglucoside bei *Pleurozium schreberi* (Willd.) Mitt. *Z. Pflanzenphysiol.* 100S: 369-372.
- WAGNER, H., S. BLADT & E. M. ZGAINSKI (1984). *Plant Drug Analysis*. Berlin.
- WEITZ, S. & R. IKAN (1977). Bracteatin from the moss *Funaria hygrometrica*. *Phytochemistry* 16: 1108-1109.
- ZINSMEISTER, H. D. & R. MUES (1980). The flavonoid chemistry of Bryophytes. *Rev. Latinoamer. Quim.* 11: 23-29.