

METABOLITOS SECUNDARIOS DEL LIQUEN *Hypotrachyna chicitae*

Olivio Castro Mandujano^{1*}, Juan Carlos Cedrón²

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió el líquen *Hypotrachyna chicitae*, recolectado en el departamento de Junín (Perú). Del extracto con cloroformo se aislaron dos metabolitos mayoritarios, los cuales fueron elucidados por técnicas espectroscópicas, identificándose tales compuestos como ácido úsnico y atranorina.

Palabras clave: Líquen, *Hypotrachyna chicitae*, atranorina, ácido úsnico.

TWO METABOLITES FROM LICHEN *Hypotrachyna chicitae*

ABSTRACT

In this work the lichen *Hypotrachyna Chicitae*, collected in the province of Junin (Peru), was studied. From the chloroformic extract two metabolites were isolated in a large quantity. Identification of the two metabolites was achieved by spectroscopic techniques, resulting on usnic acid and atranorin.

Key words: Lichen, *Hypotrachyna chicitae*, atranorin, usnic acid.

INTRODUCCIÓN

Los líquenes son organismos simbióticos conformados por un hongo y un alga. Crecen sobre rocas, corteza, hojas de árboles, suelos, etc, y son muy resistentes a condiciones climáticas adversas, tales como humedad, altitud, temperatura, entre otros¹. Se conocen alrededor de 17000 especies de líquenes, las cuales se caracterizan por producir un grupo de metabolitos secundarios característicos, llamados compuestos liquénicos². Dentro de estos compuestos destacan los dépsidos, depsidonas, depsonas, dibenzofuranos y ácido úsnico³. Más de mil metabolitos secundarios han sido aislados de diversas especies de líquenes y varios de ellos poseen importantes actividades biológicas⁴. Por ejemplo, se ha reportado actividad antimicrobiana, antifúngica y antitumoral para el (+)-ácido úsnico (figura 1)⁵.

El género *Hypotrachyna* agrupa alrededor de 150 especies distribuidas principalmente a lo largo de la cordillera de los Andes. Sin embargo, pese al alto número de especies que se mencionan, son escasos los estudios fitoquímicos realizados, y a nivel nacional, estos resultan insuficientes. En el presente trabajo se estudió la especie *Hypotrachyna chicitae*, distribuida en zonas andinas de Sudamérica como Perú, Bolivia y Colombia. De acuerdo a la literatura científica, éste es el primer trabajo que se realiza sobre esta especie recolectada en Perú.

¹ Pontificia Universidad Católica del Perú. Sección Química. Av. Universitaria 1801, Lima 32 - Perú. ocastro@puccp.pe

² Universidad de Ingeniería & Tecnología (UTEC). Av. Cascanueces 2281 Santa Anita, Lima 43 - Perú.

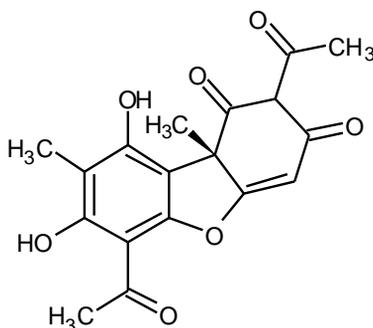


Figura 1. Estructura del (+)-ácido úsnic

PARTE EXPERIMENTAL

Material biológico

La especie *Hypotrachyna chicitae* fue recolectada entre las lagunas de Lasuntay y Chuspicocha, las cuales están al pie del nevado de Huaytapallana (provincia de Huancayo, departamento de Junín) sobre los 4000 msnm, en julio del 2000. La determinación taxonómica (tabla 1) fue realizada por el biólogo Ángel Ramírez, de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Tabla 1. Taxonomía del líquen en estudio

Reino	Fungi
Clase	Lecanoromycetes
Orden	Lecanorales
Familia	Parmeliaceae
Género	<i>Hypotrachyna</i>
Especie	<i>Hypotrachyna chicitae</i>

Extracción

Un total de 300 gramos de muestra limpia, seca y molida, fue macerada en 1 litro de cloroformo, por tres días; esta maceración se repitió por una vez más. La solución obtenida fue filtrada y concentrada, obteniéndose 3,2 gramos. Este sólido fue recrystalizado en cloroformo-metanol 1:1 y se obtuvo 1,1 gramos de cristales amarillos en forma de agujas (sólido A). Las aguas madres fueron concentradas hasta 200 mL y colocadas en una nevera a 0 °C durante 24 horas. Al cabo de ese tiempo se obtuvo un precipitado blanco, el cual fue filtrado y lavado con cloroformo-metanol 1:1 frío. Se obtuvo así 0,75 gramos de unos cristales blancos (sólido B).

Análisis por HPLC

Los sólidos A y B fueron analizados por HPLC en el laboratorio de investigación del Dr. John Elix (Australian National University, en Canberra, Australia). Para ello se utilizaron las siguientes condiciones instrumentales: cromatógrafo HPLC Kontron HPLC, systems-data con

detector UV-430; columna Spherisorb 5 ODS-2, Kontron 250 x 4,6 mm; fase móvil: agua bidestilada con 1% de ácido ortofosfórico, flujo 0,7 mL/min; volumen de inyección 5 μ L, longitud de onda a 245 nm.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis por HPLC de los sólidos A y B confirmó la presencia de un único compuesto en cada caso. Bajo las condiciones de HPLC usadas, el tiempo de retención de los sólidos A y B fue de 26,1 y 29,7 minutos, respectivamente. La figura 2 muestra el cromatograma HPLC del sólido B.

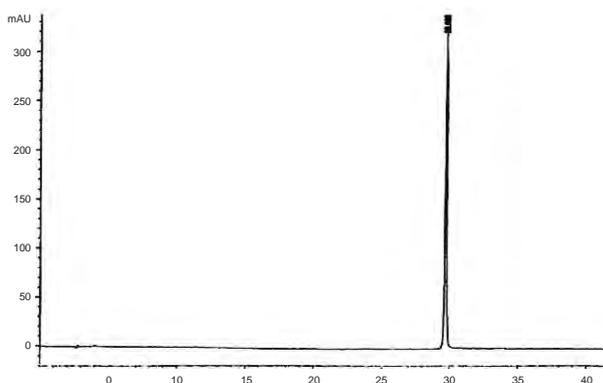


Figura 2. Cromatograma HPLC del sólido B

Elucidación del sólido A

El sólido A es soluble en cloroformo, y tiene un punto de fusión de 203-204 °C. Se hizo una cromatografía en capa fina (usando el sistema tolueno/acetato de etilo/ácido acético glacial 6:4:1), obteniéndose una única mancha con valor de R_f idéntico al de una muestra de ácido úsnico (0,45). Se midió la rotación óptica del compuesto, calculándose el $[\alpha]_D$ a 25 °C de +492, en cloroformo ($c = 0,52$). En base a los espectros de ^1H -y ^{13}C -RMN, al signo y valor de la rotación óptica, proponemos la estructura del sólido A como la del (+)-ácido úsnico, $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_7$, metabolito aislado previamente de diversos líquenes⁸. Además, el punto de fusión del sólido A coincide con el valor teórico del ácido úsnico (200-201 °C)⁹.

Elucidación del sólido B

El sólido B es soluble en cloroformo y tiene un punto de fusión de 198 °C. A diferencia del sólido A, no mostró actividad óptica. Su espectro UV-V mostró dos máximos de absorción a 217 y 266 nm. En su espectro de ^1H -RMN (figura 3) se observaron 10 singuletes con integración para 18 hidrógenos, destacando la presencia de tres metilos unidos a anillo aromático (2,09; 2,55 y 2,69 ppm), un metoxilo (3,99 ppm), dos hidrógenos aromáticos (6,40 y 6,52 ppm), un hidrógeno de un aldehído (10,36 ppm) y tres hidrógenos fenólicos (11,96; 12,51 y 12,56 ppm).

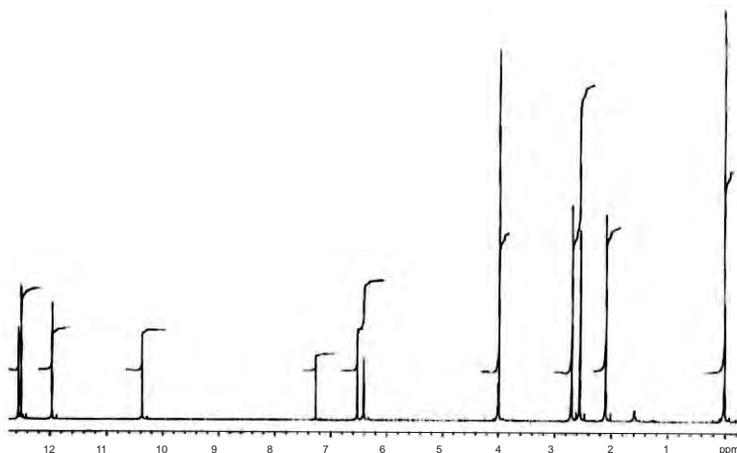


Figura 3. Espectro de ^1H -RMN del sólido B (CDCl_3 , 300 MHz)

En su espectro de ^{13}C -RMN se identificó 19 señales, apareciendo una de ellas a 194,0 ppm, confirmando la presencia del aldehído. Asimismo, se identificó señales para dos grupos éster, a 169,8 y 172,3 ppm. Los datos espectroscópicos mostrados en la tabla 2 resultaron ser muy parecidos a los de la atranorina, un dépsido aislado de otras especies líquénicas. Por tal motivo, se identificó al sólido B como atranorina, con fórmula $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_8$ (figura 4). Para una correcta asignación de las señales de RMN, se tomó espectros bidimensionales (HSQC, HMBC) en benceno deuterado. La figura 5 muestra el espectro HMBC de la atranorina, así como las correlaciones observadas (destacadas con flechas) para distintos hidrógenos y carbonos de su estructura. Finalmente, las señales mostradas en la tabla 2 fueron comparados con los publicados previamente, resultando muy similares¹⁰. El punto de fusión teórico es de $194\text{ }^\circ\text{C}^{11}$.

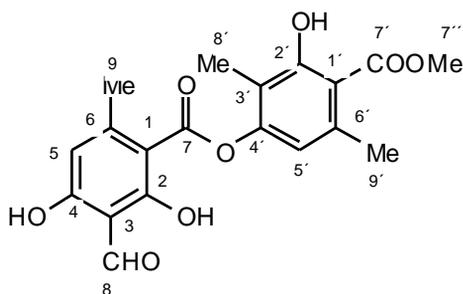


Figura 4. Estructura de atranorina

Tabla 2. Datos de ^1H - y ^{13}C -RMN del sólido B (atranorina)

H	δ (ppm)	C	δ (ppm)	C	δ (ppm)
2-OH	12,51	1	102,8	1'	116,8
4-OH	12,56	2	169,2	2'	163,0
5	6,40	3	108,6	3'	110,3
8	10,36	4	167,6	4'	151,1
9	2,69	5	112,9	5'	116,1
2'-OH	11,96	6	151,5	6'	139,9
5'	6,52	7	169,8	7'	172,3
8'	2,09	8	194,0	8'	23,9
9'	2,53	9	25,4	9'	9,2
7''	3,99			7''	52,2

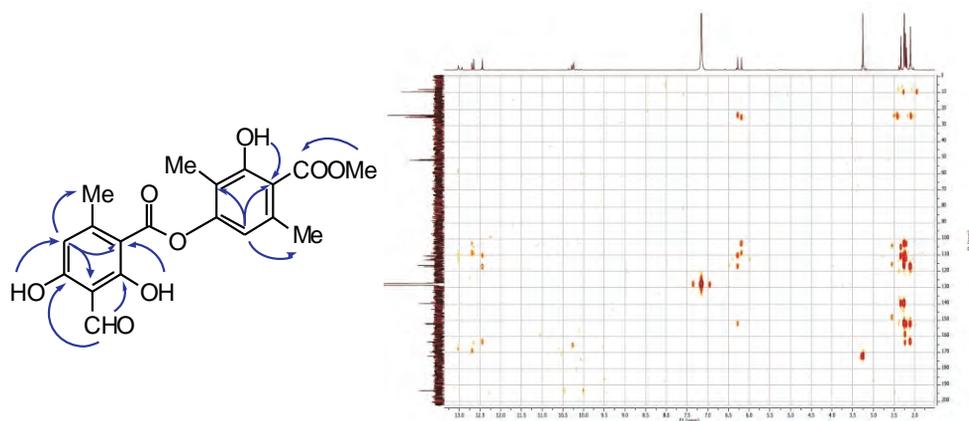


Figura 5. Correlaciones HMBC observadas en el espectro de la atranorina

CONCLUSIONES

Se realizó el estudio fitoquímico de la especie *Hypotrachyna chicitae*, aislándose dos compuestos liquénicos. En base a sus espectros de RMN mono- y bidimensionales, se identificó tales compuestos como ácido úsnico y atranorina. El presente trabajo es el primer estudio de la especie en mención, aislada en Perú.

AGRADECIMIENTOS

Al biólogo Ángel Ramírez de la Facultad de Ciencias Biológicas - UNMSM, Perú por la identificación botánica; al Dr. Arturo San Feliciano (Universidad de Salamanca, España) por la realización de los espectros de RMN; y al Dr. John Elix por los análisis de HPLC.

BIBLIOGRAFÍA

1. Huneck S, Yoshimura I. Identification of lichen substances. Berlin: Springer-Verlag GmbH, 1996.
2. Castro O, Pastor A, Collantes I. Aislamiento de ácido úsnico y parietina de *Caloplaca saxicola* Hoffm. *Rev. Soc. Quím. Peru* 2011; 77 (2): 152-161.
3. Leuckert C, Ahmadjian V, Culberson C, Johnson A. Xanthonos and depsidones of the lichen *Lecanora dispersa* in nature and of its mycobiont in culture. *Mycologia* 1990; 82 (3): 370-378.
4. Papadopoulou P, Tzakou O, Vagias C, Kefalas P, Roussis V. â-Orcinol metabolites from the lichen *Hypotrachyna revoluta*. *Molecules* 2007; 12: 997-1005.
5. Kanuraratne V, Bombuwela K, Kathirgamanathar S, Thadhani V. Lichens: a chemically important biota. *J. Natn. Sci. Foundation Sri Lanka* 2005; 33 (3): 169-186.
6. Leal Arturo A. Determinación del potencial antioxidante y evaluación del coeficiente de reparto a 25°C de metabolitos secundarios de una especie del líquen colombiano del género *Hypotrachyna*. [Tesis de magíster]. Bogotá, Colombia. Universidad Nacional de Colombia; 2012. (disponible en línea: <http://www.bdigital.unal.edu.co/6792/1/197415.2012.pdf>)
7. Flakus A, Oset M, Jablonska A, Rodriguez Saavedra P, Kukwa M. Contribution to the knowledge of the lichen biota of Bolivia. *Polish Botanical Journal* 2011; 56 (2): 159-183.
8. Rashid M, Majid M, Quader M. Complete NMR assignments of (+)-usnic acid. *Fitoterapia* 1999; 70 (1): 113-115.
9. Romagni J, Meazza G, Nanayakkara D, Dayan F. The phytotoxic lichen metabolite, usnic acid, is a potent inhibitor of plant p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *FEBS Letters* 2000; 480: 301-305.
10. Melo M, Araujo A, Rocha C, Almeida E, Siqueira R, Bonjardim L, *et. al.* Purification, physicochemical properties, termal analysis and antinociceptive effect of atranorin extracted from *Cladina kalbii*. *Biol. Pharm. Bull.* 2008; 31 (10): 1977-1980.
11. Nasser J, Abu-Lhwm A, Humaid A, Gumaih H. Chemical constituents of the lichen *Stereocaulon tomentosum*. *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.* 2012; 3 (1): 13-17.