

LIQUENES Y SUSTANCIAS LIQUENICAS

SEGUNDA PARTE

Juana Robles C., Patricia Morales B. y Ana Pastor de Abram*

En el volumen VI, Nº 1 de esta revista se inició una presentación del estudio químico de líquenes y sustancias liquénicas, revisando los aspectos físico y cualitativo de ellos. En esta oportunidad se presenta las principales características espectroscópicas de los productos liquénicos.

ESPECTROSCOPIA

Espectroscopía infrarroja

Similarmente al caso de otros productos naturales, la espectroscopía infrarroja es de gran ayuda para la elucidación estructural e identificación de sustancias liquénicas.

El carbonilo del enlace éster de los dépsidos y las depsidonas presenta una zona característica de absorción; en el caso de las depsidonas ésta varía entre 1685-1750 cm^{-1} . En los dépsidos se observa que si el sustituyente en la posición 2 es un grupo metoxilo, la absorción se produce entre 1730-1760 cm^{-1} ; pero cuando se tiene un grupo hidroxilo en dicha posición, se puede apreciar que la banda de ν_{∞} es desplazada a mayores longitudes de onda, entre 1640-1665 cm^{-1} [1, 5]. En la Tabla 8 se puede apreciar algunos ejemplos.

* Pontificia Universidad Católica del Perú, Sección Química

Tabla 8 Absorción IR de sustancias líquénicas [6]

Compuesto	Medido	ν (cm ⁻¹)
Dépsidos		
brialmontina 1	—	1730
brialmontina 2	—	1650
atranorina	nujol KBr	1650 1663
ác. barbático	KBr	1665
ác. difractaico	KBr	1730
ác. evérmico	KBr	1660
ác. lecanórico	KBr	1665
pseudocifelarina A	KBr	1640
pseudocifelarina B	KBr	1640
escrobiculina	nujol	1660
ác. planaico	CCl ₄	1760
ác. meroclorofaeico	KBr	1750
ác. criptoclorofaeico	nujol	1740
Depsidonas		
ác. 4-0-metilfisiódico	nujol	1740
eriodermina	KBr	1712
ác. protocetrárico	KBr	1750
diploicina	nujol	1740
ác. virénsico	—	1724
compuesto "J"	KBr	1744
compuesto "G"	KBr	1733
Depsona		
ác. picrolíquénico	KBr	1820-1825
Dibenzofuranos		
ác. úsnico	KBr	1635, 1685

Espectroscopía ultravioleta

La espectroscopía ultravioleta es una excelente ayuda para asignar a una sustancia líquénica desconocida, su grupo correspondiente. Según se ha reportado [1], los dépsidos del orcinol presentan un espectro característico con dos máximos, en el rango de 240 a 330 nm. En la Tabla 9 se observa que la absorción varía entre 217 a 342 nm, las mediciones se han efectuado en metanol o etanol.

Tabla 9 Absorción UV de sustancias líquénicas [6]

Compuesto	λ_{\max} (nm)
Dépsidos	
atranorina	251; 277
pseudocifelarina A	218; 250; 342
pseudocifelarina B	226; 275; 318
escrobiculina	217,5; 265; 302,5
ác. planaico	250; 284
ác. merochlorofacico	260; 300
ác. criptoclorofaeico	260; 295
ác. lecanórico	270; 307
Depsidonas	
ác. 4-0-metilfisódico	211; 260
eriodermina	222; 262; 306; 370
ác. protocetrárico	238; 312
ác. virénsico	240; 308
diploicina	270; 325
compuesto "J"	210,8; 236,6; 310,4
compuesto "G"	210,6; 236,6; 310,2
Depsona	
ác. picrolíquénico	225; 250; 280
Dibenzofuranos	
ác. úsnico	232; 282
ác. porfirílico	248; 282

Espectroscopía de resonancia magnética nuclear

La poca solubilidad de los ácidos fenólicos liquénicos en CCl_4 o CDCl_3 , resulta un impedimento para su investigación por RMN, en estos casos se puede convertir a un derivado fácilmente soluble (metil-ésteres o acetatos), o también se puede usar DMSO-d_6 como solvente.

La $^1\text{H-RMN}$ brinda información acerca de la localización y el número de:

- grupos alquilo unidos a los anillos aromáticos
- grupos metoxi y metoxicarbonílicos
- protones aromáticos.

La Tabla 10 presenta los rangos en los que se localizan las señales de los grupos frecuentemente encontrados en los dépsidos y las depsidonas reportadas [6].

Tabla 10 Localización de las señales de $^1\text{H-RMN}$ [6]

Grupo	δ (ppm)
Ar - CH_3	2,00 - 2,75
Ar - OCH_3	3,70 - 4,05
Ar - COOCH_3	3,91 - 3,98
Ar - $\text{CH}_2 - \text{CO} -$	4,00 - 4,10
Ar - $\text{CH}_2 - \text{O} -$	4,63 - 5,50
Ar - H	6,22 - 6,84
Ar - CHO	10,30 - 10,75
Ar - OH	10,33 - 13,00
	5,00 - 7,00
Ar - COOH	10,70 - 12,30

En el caso de los dépsidos se observa un fenómeno interesante: cuando la posición 2 presenta un grupo hidroxilo libre la señal del grupo metilo en el C-5 se ve desplazada a campo bajo, localizándose entre 2,57 y 2,73 ppm [5, 7]. Este hecho se puede explicar asumiendo que se produce un fuerte puente de hidrógeno entre el protón hidroxílico en el C-2 y el grupo carbonilo

del dépsido, lo cual se ve corroborado por el espectro IR que presenta las bandas de ν_{CO} entre 1630 y 1665 cm^{-1} [7, 8].

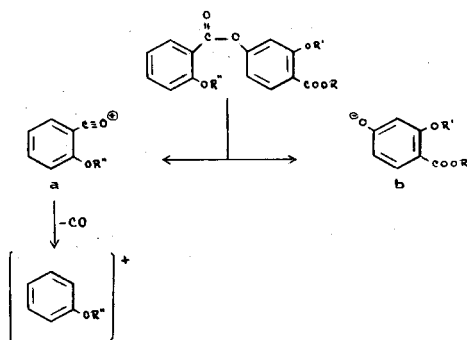
En base a los datos reportados [6] para la ^{13}C -RMN, se puede considerar los rangos de localización para los diferentes tipos de carbono de dépsidos y depsidonas, según se resume en la Tabla 11.

Tabla 11 Localización de señales de ^{13}C -RMN [6]

Tipo de C	δ (ppm)
C-7	163,0 — 172,4
C-7'	163,8 — 174,8
C-aromático	110,0 — 169,1
C-1	102,9 — 122,0
C-1'	105,8 — 121,3
Ar-CHO	192,5 — 194,2
Ar-OCH ₃	55,7 — 61,9
Ar-COOCH ₃	\approx 52,3
Ar-CH ₃	17,2 — 25,4
	8,5 — 13,2

Espectrometría de masas

La espectrometría de masas de las sustancias liquénicas resulta muy útil, no sólo para la determinación de pesos moleculares, sino también para la elucidación estructural, especialmente en el caso de los dépsidos, en los que se puede observar [1, 5, 6, 7] la presencia del ion molecular y de dos fragmentos principales debido a la ruptura del enlace éster del dépsido, según se muestra:



Según lo reportado se ha podido apreciar que:

- a) cuando el dépsido tiene grupos hidroxilo libre, se presenta el ion $[M-H_2O]^+$
- b) cuando el dépsido tiene grupos metoxilo, se presentan pérdidas del grupo metilo en los fragmentos a y/o b
- c) el fragmento b presenta pérdida del grupo ROH o también descarboxilación, en caso de que $R = H$.

Se ha observado que en la espectrometría de masas por impacto electrónico, el fragmento que presenta el pico de mayor intensidad, es el que corresponde al ion a (75-100%), mientras que el fragmento b presenta intensidades variables (2-4%; 10-30%; 80-97%); así mismo, el ion molecular puede presentar una intensidad mínima (0,4-10%), o bastante apreciable (73,3%).

Los espectros de masas de las depsidonas presentan muy pocos picos, debido a que la fragmentación se dificulta a causa de la presencia del enlace éter. Si la molécula contiene átomos de cloro, sólo se observan los iones $[M-Cl]^+$ [1], y cuando el grupo ácido se encuentra libre, se puede producir una rápida descarboxilación [9, 10].

La espectrometría de masas se ve restringida ante la presencia de sustancias térmicamente lábiles o si las fuertes condiciones energéticas del método de ionización empleado producen mezclas complejas de iones de degradación.

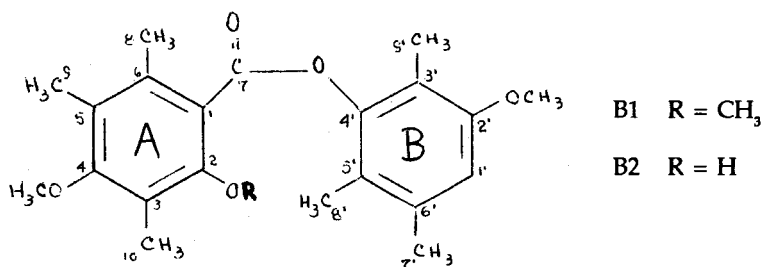
Se ha reportado [11] el uso combinado de ionización suave a través del bombardeo atómico rápido en el método negativo (NI-FAB), produciendo iones $[M-H]^-$ de baja energía, y el análisis estructural por descomposición metaestable de iones (MS/MS). Este método permite la investigación de los patrones de fragmentación de iones $[M-H]^-$ individuales, originados a partir del extracto crudo del material liquénico y el estudio selectivo de la estructura de los componentes.

La ventaja de la combinación es el contar con un método de rápido barrido, sin el consumo de tiempo en los procesos de aislamiento, purificación o derivatización, y la exclusión de los inconvenientes causados por las degra-

daciones térmicas. Se ha reportado, mediante este método, la detección, por primera vez, del tridésido ácido ovoico en el género *Umbilicaria*, demostrando así la utilidad de este método.

El empleo del NI-FAB en sustancias líquénicas y estudios detallados de MS/MS de los iones $[M-H]^-$ proporcionan un método muy útil y también pueden ser aplicados en la detección de trazas de compuestos presentes en líquenes. Es necesario complementar con análisis de CCD, debido a que los componentes pueden suprimirse en el análisis NI-FAB por efectos de solvatación y diferentes tendencias de ionización.

A modo de ejemplo sobre la determinación de la estructura de sustancias líquénicas, se menciona el caso de brialmontina 1 (B1) y brialmontina 2 (B2), cuyas estructuras son las siguientes [5]:



y sus principales datos espectroscópicos corresponden a:

	B1	B2
IR (cm ⁻¹)	1730	1650 3400
¹³ C-RMN (ppm), C-7	167,1	170,4
MS (m/e)	372 207 (100%) 165	358 193 (100%) 165

Se puede observar en el IR, la presencia del grupo carbonilo de los dépsidos, el cual se halla a mayor longitud de onda en el segundo caso (B2), indicando la presencia de un grupo hidroxilo libre en posición 2, confirmado por la señal que se presenta en 3400 cm^{-1} , formándose un puente de hidrógeno entre el oxígeno del carbonilo y el hidrógeno del hidroxilo, lo que origina que la señal del C-7 en el ^{13}C -RMN se desplace hacia campo bajo.

Los datos espectroscópicos de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN, indican que se trata de compuestos muy similares, según se muestra a continuación:

Datos espectroscópicos de ^1H -RMN

Protón	Compuesto	
	B1	B2
2-OH	—	11,42
H-1'	6,63	6,66
2-OCH ₃	3,81	—
4-OCH ₃	3,81	3,84
2'-OCH ₃	3,70	3,75
3'-CH ₃	2,36	2,25
3-CH ₃	2,30	2,32
5'-CH ₃	2,27	2,67
5-CH ₃	2,19	2,22
6-CH ₃	2,19	2,05
6'-CH ₃	2,19	2,05

Datos espectroscópicos de ^{13}C -RMN

Carbono	Compuesto	
	B1	B2
C-1	120,9	122,0
C-2	158,9	161,9
C-3	116,7	166,6
C-4	154,6	156,9
C-5	124,7	120,1

C-6	135,2	138,0
C-7	167,1	170,4
C-8	17,2	19,3
C-9	12,5	12,6
C-10	9,7	9,6
C-2-OCH ₃	61,9	—
C-4-OCH ₃	60,1	60,0
C-2'-OCH ₃	55,7	55,7
C-1'	110,2	110,2
C-2'	155,8	156,8
C-3'	122,2	120,0
C-4'	148,6	150,2
C-5'	126,4	125,0
C-6'	133,5	135,2
C-7'	20,5	20,4
C-8'	12,6	12,6
C-9'	9,7	9,1

En el primer caso, B1, se observa la presencia de un tercer grupo metoxilo, en tanto que el segundo, B2, carece de éste, presentando en cambio, un grupo hidoxilo en posición 2, consistente con los datos proporcionados por el IR y ¹³C-RMN; similarmente se aprecia que la señal de los protones del grupo metilo en posición 5' del compuesto B2, ha sido desplazada hacia campo bajo.

El espectro de masas presenta, además del ion molecular, dos fragmentos principales formados por la ruptura del enlace éster, lo cual es característico de los dépsidos. Así mismo se observa que las señales de mayor porcentaje son las que difieren en su relación m/e, en tanto que el otro fragmento presenta la misma relación, lo cual confirma que la diferencia entre las estructuras de ambos compuestos se encuentra en el anillo A.

BIBLIOGRAFIA

1. Huneck, S. (1968) Liquen Substances, en: Progress in Phytochemistry Vol. 1. Interscience Publishers, John Wiley & Sons, London, p. 223-346.
2. Fiedler, P., Gambaro, V., Garbarino J. A. y Quilhot, W. (1986) *Phytochemistry*, 25, 461.

3. Vicente Córdoba, C. (1975) **Fisiología de las Sustancias Liguénicas**. Editorial Alhambra S. A., Madrid - España.
4. Culberson, Ch. F. (1963) *Phytochemistry*, **2**, 335.
5. Vinet, C., Quilhot, W., Gambaro, V. y Garbarino, J. A. (1990) *Journal of Natural Products*, **53**: 2, 500.
6. Robles C., J. Estudio Fitoquímico del Líquen *Alectoria scrobiculata*, Tesis de Bachiller en Química, PUCP, 1990.
7. Huneck, S., (1984) *Phytochemistry*, **23**: 2, 431.
8. R. I. Zalewski, J. J. Skolik, (1985) **Studies in Organic Chemistry 20, Natural Products Chemistry**. Elsevier, Science Publishers B. V., Amsterdam.
9. Culberson, Ch. F. (1966) *Phytochemistry*, **5**, 815.
10. Huneck, S., Djerassi, C., Becher, D., Barber, M., Von Ardenne, M., Steinfeldt, K. y Tümmler, R. (1968) *Tetrahedron*, **24**, 2707.
11. Holzmann, G. y Leuckert, C. (1990) *Phytochemistry*, **29**, 7, 2277.