

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE CIENCIAS QUÍMICAS



TRABAJO PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

ESTUDIO QUÍMICO DE LA ESPECIE
OROPOGON PENDULUS

POR: OSCAR MIGUEL GARCIA GUTIERREZ
TUTOR: PhD. JOSÉ LUIS VILA CASTRO

LA PAZ – BOLIVIA

Agosto, 2020

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS PURAS Y NATURALES
CARRERA DE CIENCIAS QUÍMICAS



TRABAJO PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

ESTUDIO QUÍMICO DE LA ESPECIE
OROPOGON PENDULUS

POR: OSCAR MIGUEL GARCIA GUTIERREZ

TUTOR: PhD. JOSÉ LUIS VILA CASTRO

TRIBUNAL: LIC. WILLY RENDÓN PÓRCEL

LA PAZ – BOLIVIA

Agosto, 2020

Dedicado:

A mis padres Juan y Ana; mi hermana Camila; y mi abuela Susana, quienes me apoyaron todo el tiempo. A la memoria de mi abuelo Miguel Q.E.P.D. A mi novia Nicole quien me apoyo y alentó para continuar, cuando parecía que me iba a rendir.

AGRADECIMIENTOS

Mi más sincero agradecimiento a mi tutor Dr. José Luis Vila Castro, por haberme iniciado en el área de los líquenes, por su aceptación, confianza y tolerancia depositada en mi persona, el cual dio paso a la preparación y elaboración del presente trabajo en su laboratorio que es un catalizador de conocimientos químicos.

A la Lic. Rosaícela Meneses por su colaboración en el ámbito de la parte botánica.

A todos y cada uno de los Docentes de la Carrera de Ciencias Químicas por mi presente formación académica.

A todas las personas que de alguna manera o de otra colaboraron en el presente trabajo, de una manera emocional y académica.

Gracias.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ESPECTROS

ABREVIATURAS

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 ANTECEDENTES	3
1.2 ASPECTOS BOTÁNICOS	10
1.2.1 Características generales del género <i>Oropogon</i>	10
1.2.2 Características generales de la especie <i>Oropogon Pendulus</i>	11
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivos Generales.	15
2.2 Objetivo Específico	15
3. PARTE EXPERIMENTAL	16
3.1 Muestra Liquen	16
3.2 Metodología de extracción y separación	16
3.3 Purificación	17
3.4 Elucidación Estructural	17
3.5 Materiales y Métodos	18
4. DISCUSION Y RESULTADOS	22
3.1 Caracterización Estructural del compuesto MG – 1.	22
3.1.1 Características Generales	22
3.1.2 Datos y Estudio Espectroscópico	23
5. CONCLUSIONES	33
6. BIBLIOGRAFÍA	34
7. APÉNDICE	35

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Clasificación botánica del género <i>Oropogon</i>.....	10
Tabla 2	Clasificación botánica de la especie <i>Oropogon Pendulus</i>.....	12
Tabla 3	Propiedades Características del compuesto MG – 1.....	22
Tabla 4	Datos Espectroscópicos de RMN – ¹H del compuesto MG – 1.....	23
Tabla 5	Datos Espectroscópicos del espectro RMN – ¹³C del compuesto MG – 1.....	26
Tabla 6	Datos de RMN – ¹³C experimentales relacionados con el reporte computarizado del compuesto 3 – (1 – hidroximetil) – 3,4a,7,7,10a – pentametil – Nafto – [2,1 – b] – pirano.....	32

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	Estructuras químicas de los compuestos orgánicos en el género <i>Oropogon</i>: a) Tipo Orcinol, b) Tipo β-Orcinol.....	5
Figura 2	Estructuras químicas presentes en el género <i>Oropogon</i>: c) Tipo para – dépsidos del β – Orcinol, d) Tipo para – dépsidos del Orcinol.....	6
Figura 3	Estructuras químicas presentes en el género <i>Oropogon</i>: e) depsidonas acidas del tipo β – Orcinol, f) depsidonas de β – orcinol del ácido protocetrárico.....	7
Figura 4	Estructuras químicas presentes en el género <i>Oropogon</i>: g) Esteres Bencílicos, h) Parietina (antraquinona), i) ácido placodiólico (tipo ácido úsnico).....	8
Figura 5	Estructuras químicas presentes en el género <i>Oropogon</i>: j) ácido caperático (ácido graso), k) ácido secalónico A nisantraquinona.....	9
Figura 6	Fotografía <i>Oropogon Pendulus</i>, Beharrel 601 (US, holotipo). A. Hábitat. B. Talo Hueco.....	13
Figura 7	<i>Oropogon Pendulus</i>.....	14
Figura 8	Mapa de ubicación del Hábitat. <i>Oropogon pendulus</i> Provincia Sud Yungas.....	19

Figura 9	a) Localidad de Pongo; b) Localidad de Unduavi.....	20
Figura 10	Esquema del proceso experimental y separación del metabolito MG – 1 de la especie <i>Oropogon Pendulus</i>.....	21
Figura 11	Estructura del 3 – (1 – hidroximetil) – 3,4a,7,7,10a – pentametil – Nafto – [2,1 – b] – pirano	31

INDICE DE ESPECTROS

Espectro 1	RMN – ^1H del compuesto MG – 1.....	24
Espectro 2	RMN – ^1H con las asignaciones respectivas de señales e integrales.....	25
Espectro 3	RMN – ^{13}C del compuesto MG – 1.....	27
Espectro 4	RMN – ^{13}C del compuesto MG – 1 normalizado y con sus respectivas asignaciones de señales.....	28
Espectro 5	RMN – COSY del compuesto MG – 1, bidimensional.....	29
Espectro 6	RMN – COSY del compuesto MG – 1, asignado con sus respectivas señales y normalizado.....	30

ABREVIATURAS

AcEt	Acetato de Etilo
COSY	Espectroscopia de correlación bidimensional ^1H
^{13}C – RMN	Resonancia magnética nuclear de carbono – 13
EP	Éter de Petróleo
^1H – RMN	Resonancia magnética nuclear de protón – 1
EtOH	Alcohol Etilico
ppm	Partes por millón
MG – 1	3 – (1 – hidroximetil) – 3,4a,7,7,10a – pentametil – Nafto – [2,1 – b] – pirano

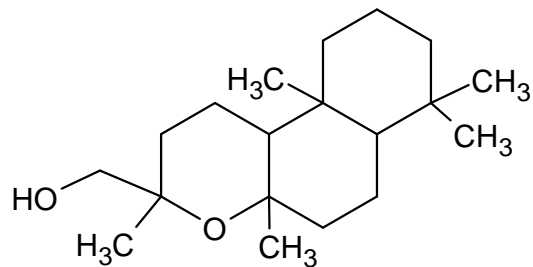
RESUMEN

Los líquenes, son organismos que surgen de la simbiosis entre un hongo llamado micobionte, perteneciente a las divisiones *Ascomycota* o *Basidiomycota*, y un alga llamado ficobionte, perteneciente a las divisiones *Chlorophyta* o *Heterokonta*, o una cianobacteria.

La presencia de líquenes en el mundo ha generado un área de investigación científica, debido a calidad de los compuestos químicos orgánicos presentes en ellos ya que estas presentan un marcado interés en el ámbito farmacéutico y químico, por eso su interés de evaluar los líquenes. El liquen de la especie *Oropogon Pendulus*, perteneciente al género *Oropogon*, fue recolectado en la localidad de Pongo, muy cerca de la localidad de Undiavi, perteneciente a la provincia Sud Yungas, en el departamento de La Paz. El género *Oropogon* (*Alectoriaceae*) fue propuesto por primera vez por Theodor Fries en el año de 1861, como una especie americana originalmente descrita por Feé en el año de 1824 como *Cornicularia Loxensis*. El material fue secado a temperatura ambiente en los laboratorios de la Carrera de Ciencias Químicas de la Universidad Mayor de San Andrés, obteniéndose una cantidad de muestra seca, procediéndose luego al cortado de los talos a tamaños pequeños, para optimizar la extracción respectivamente.

El liquen de la especie *Oropogon Pendulus*, fue sometido a un proceso de extracción Sólido – Líquido por maceración con Etanol, Acetato de Etilo y Éter de petróleo, obteniéndose extractos etanólicos, etéreos y del mismo Acetato de Etilo. Los extractos obtenidos de las maceraciones anteriores fueron sometidos a estudios químicos, los cuales por técnicas de separación se aisló un producto. Todas las extracciones anteriores fueron sometidas a 3 extracciones liquido – líquido con EtOH y AcEt, de los cuales se obtuvo el compuesto MG – 1 (polvo blanquecino) éste fue cristalizado en DMSO (dimetilsulfóxido).

El producto aislado fue identificado por métodos espectroscópicos (RMN/ ^1H , RMN/ ^{13}C , RMN COSY 2D $^1\text{H}/^1\text{H}$) obteniendo como resultado el 3-(1-hidroximetil)-3,4a,7,7,10a-pentametil-nafto-[2,1-b]-pirano:



Palabras claves: Líquenes, metabolitos liquénicos, bioindicador, *Oropogon*, taxonomía y química de líquenes.

1. INTRODUCCIÓN

La presencia de líquenes en el mundo ha generado un área de investigación científica, debido a calidad de los compuestos químicos orgánicos presentes en ellos ya que estas presentan un marcado interés en el ámbito farmacéutico y químico, por eso su interés de evaluar los líquenes.

Las presencias de metabolitos secundarios en los líquenes, estos tienen la función de aprovechar eficientemente el agua y la luz, para generar un mejor desarrollo botánico, así también le permite eliminar sustancias tóxicas presentes en él y sus alrededores. Estos metabolitos secundarios presentes en los líquenes son fuertemente citotóxicas porque tiene la capacidad de detener la proliferación de células cancerosas a concentraciones micromolares (Fries, 1861).

Los líquenes son considerados bioindicadores, los cuales los hacen sensibles a las concentraciones de oxígeno presentes en el medio ambiente y en ambientes específicos.

La química de líquenes se ha convertido en un área de interés muy importante de las Ciencias Químicas y desarrollada en el conocimiento de los Productos Naturales. Resaltando de esta manera el interés de la investigación en la búsqueda de nuevos compuestos químicos orgánicos (metabolitos secundarios) con actividad biológica y/o farmacéutica.

Los líquenes, son organismos que surgen de la simbiosis entre un hongo llamado micobionte, perteneciente a las divisiones *Ascomycota* o *Basidiomycota* y un alga llamado ficobionte, perteneciente a las divisiones *Chlorophyta* o *Heterokonta* o una cianobacteria (Feé, 1824).

De acuerdo con el carácter de esa asociación, se pueden distinguir numerosos tipos estructurales de líquenes: desde los más simples, donde hongo y alga se unen de forma casual, a los más complejos, donde el micobionte y el fitobionte dan lugar a un talo morfológicamente muy diferente a aquellos que forman por separado los líquenes, y donde el alga se encuentra formando una capa bajo la protección del hongo.

La síntesis de compuestos orgánicos presentes en estos organismos, llamadas *sustancias liquénicas*, permiten el mejor aprovechamiento de agua, luz y la eliminación de sustancias tóxicas como: dióxido de azufre (SO₂) (Angela Canseco, 2006).

El género *Oropogon* (*Alectoriaceae*) fue propuesto por primera vez por Theodor Fries (1861) como una especie americana originalmente descrita por Feé (1824) como *Cornicularia Loxensis* (Feé, 1824).

La fecha de publicación de Fries fue el 24 de enero de 1861 apenas es anterior a la publicación del sinónimo *Atestia* por Trevisan del 28 de enero de 1861 (Esslinger, 1980).

Desde entonces, el género no ha tenido el interés científico necesario ya que solo se han descrito cinco especies más, tres en Asia (Sato 1937; Asahina 1952) y dos de América (Esslinger, 1980). Durante aproximadamente ochenta años después de su descripción original, el género *Oropogon* siguió siendo un género monotípico, y la mayoría de los documentos relacionados con el género durante ese tiempo incluyeron poco más que breves comentarios sobre la distribución de la especie individual. Describiéndose durante ese tiempo algunas variedades como: el tipo de talo, plasticidad y ubicación geográfica (Esslinger, 1980).

Después de la descripción de las tres especies asiáticas de Asahina, se publicaron una serie de documentos breves que en resumen daban a conocer la taxonomía y distribución del género, particularmente localizadas en Asia.

En la última década (2010 -2020), los cinco documentos importantes sobre el género *Oropogon* están relacionados con la composición química bastante compleja y otro sobre la tipificación y descripción de dos nuevas especies americanas por Esslinger (1980).

Los antecedentes recopilados nos permiten plantear la necesidad de realizar estudios sobre los metabolitos secundarios presentes en los líquenes, ya que algunos podrían ser utilizados en el ámbito biológico, químico y/o farmacéutico.

El presente trabajo está dirigido a obtener los compuestos químicos presentes y conocer su o sus respectivas estructuras moleculares que en su composición son muy diversas. Como no se tiene reportado hasta la fecha ningún estudio químico acerca de esta especie

(*Oropogon Pendulus*), por lo que consideramos que el presente trabajo es una contribución primaria al estudio de la especie (*Oropogon Pendulus*).

1.1 ANTECEDENTES

El género *Oropogon* ha sido reportado en varios continentes, excepto en la Antártica, en Bolivia se encuentra una gran variedad de líquenes, presentes en la localidad de Pongo cerca de Unduavi a una altitud de 3699 msnm.

Oropogon es un género de ascomicetos presente en la familia *Parmeliaceae*. Es un género que comprende aproximadamente 40 especies. Fue incluido anteriormente dentro la familia *Alectoriaceae*, pero ésta familia fue incorporada en la familia *Parmeliaceae* (Ahmadjian, 1993).

Los líquenes del genero *Oropogon* están constituidos por ácidos grasos no identificados, para-dépsidos y/o depsidonas, orcinol, fenoles y terpenoides.

El género *Oropogon* está constituido por las siguientes especies:

Oropogon Lateralis, ***Oropogon Pendulus***, *Oropogon Sperlingii*, *Oropogon Imperforatus*, *Oropogon Loxensis*, *Oropogon Pseudoloxensis*, *Oropogon Venezuelensis*, *Oropogon Cinereus*, *Oropogon Macilentus*, *Oropogon Lopezii*, *Oropogon Atranorinus*, *Oropogon Parietinus*, *Oropogon Herzogii*, *Oropogon Bolivianus*, *Oropogon Byssaceus*, *Oropogon Aliphaticus*, *Oropogon Bicolor*, *Oropogon Fissuratus*, *Oropogon Striatulus*, *Oropogon Halie*, *Oropogon Colibor*, *Oropogon Barbaticus*, *Oropogon Formosanus*, *Oropogon Mexicanus*, *Oropogon Lorobic*, *Oropogon Caespitosus*, *Oropogon diffractaicus*, *Oropogon Granulosus*, *Oropogon Maurus*, *Oropogon Americanus*.

Varias de estas especies son utilizadas como bioindicadores ambientales, esto debido a la reacción simbiótica sensible que hay entre hongo y alga. Otra característica importante es el crecimiento lento de estas especies botánicas cuyo desarrollo es aproximadamente de 1 cm en 10 a 12 meses en la mejor de las condiciones ambientales y por lo general el crecimiento es muy lento, normalmente crecen de 0,1 mm a 0,5 mm al año.

Debido a la escasez de caracteres morfológicos y la relativa ambigüedad de muchos de sus caracteres como ser el color del talo, el conocimiento de la química ha demostrado ser de particular importancia ya que permite definir y delimitar las especies del género *Oropogon*.

La documentación consultada muestra que el género de *Oropogon* muestra similitud con otros géneros como: *Xanthoparmelia* (Vainio) Hale o *Neofuscelia* Esslinger, donde la flexibilidad morfológica hace que el reconocimiento limite a unos pocos morfotipos hace imposible su clasificación sin el uso de la química (Schmitt, 2011).

Sin embargo, una vez que los especímenes muestran aspectos morfológicos, se procede al estudio químico, con estos datos correlacionados entre la química, la morfología y la geografía permite la segregación de grandes y muy variadas poblaciones en unidades más pequeñas y más fáciles de ser analizadas.

El análisis químico es el recurso técnico utilizado para definir las variaciones en el género *Oropogon* (Asahina, 1952).

Por los antecedentes expuestos y la falta de información técnica se hace imperiosa la necesidad del estudio químico de la especie (*Oropogon Pendulus*).

En el género *Oropogon* se encontraron compuestos derivados del *Orcinol* y β -*Orcinol*. (Figuras: 1, 2, 3, 4 y 5)

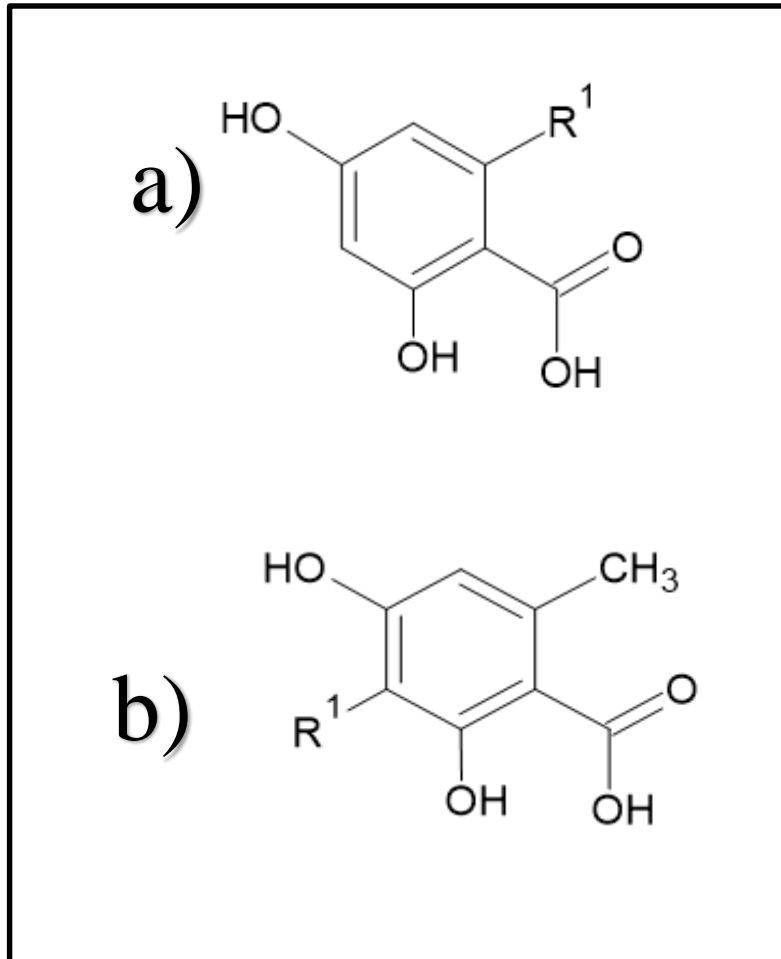


Figura 1 Compuestos químicos orgánicos en el género *Oropogon*: a) Tipo Orcinol, b) Tipo β -Orcinol.



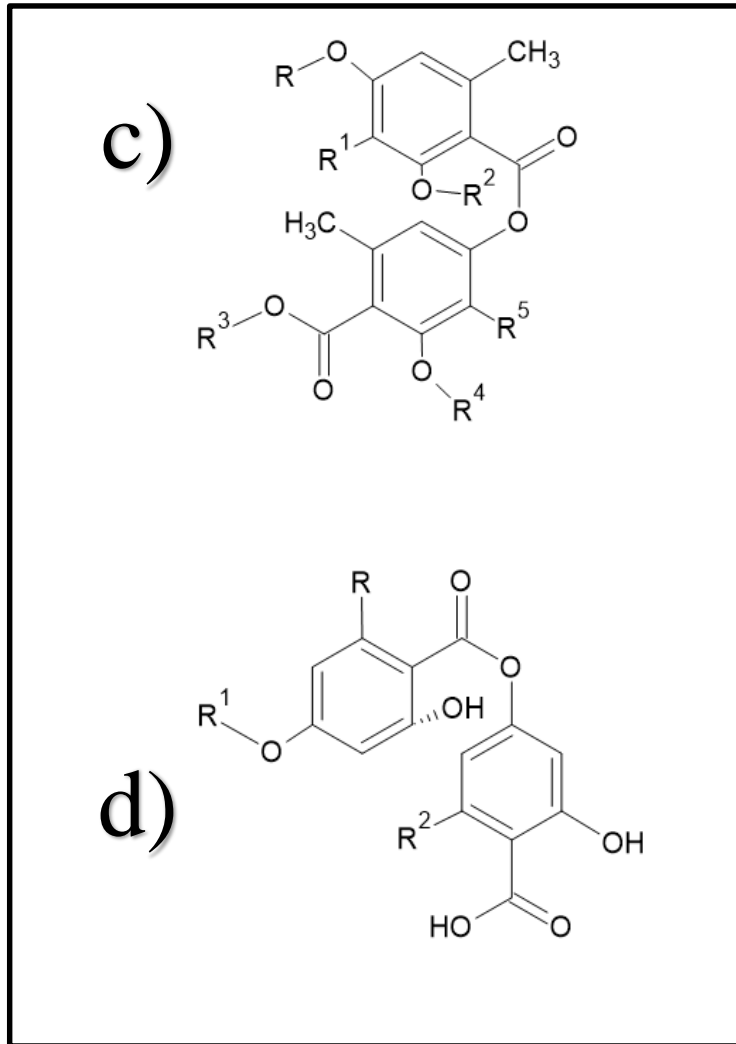


Figura 2 Compuestos químicos orgánicos presentes en el género *Oropogon*: c) Para – dépsidos del β – Orcinol, d) Para – dépsidos del Orcinol.

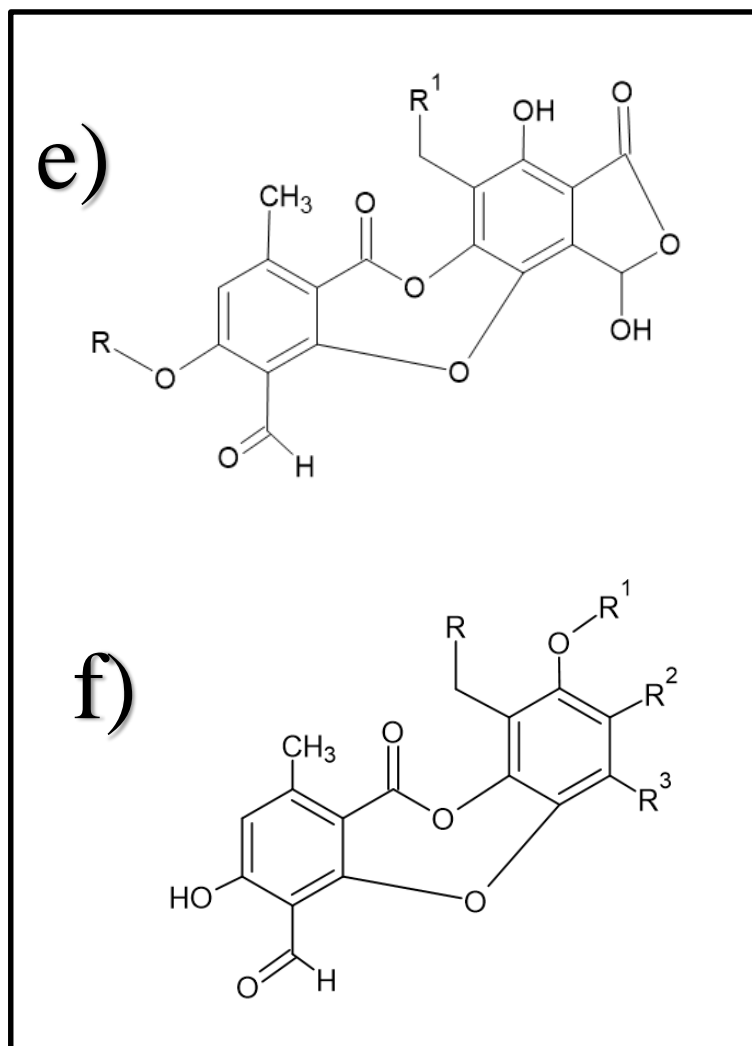


Figura 3 Compuestos Orgánicos presentes en el género *Oropogon*: e) depsidonas ácidas del tipo β – Orcinol, f) depsidonas de β – orcinol de ácido protocetrárico.

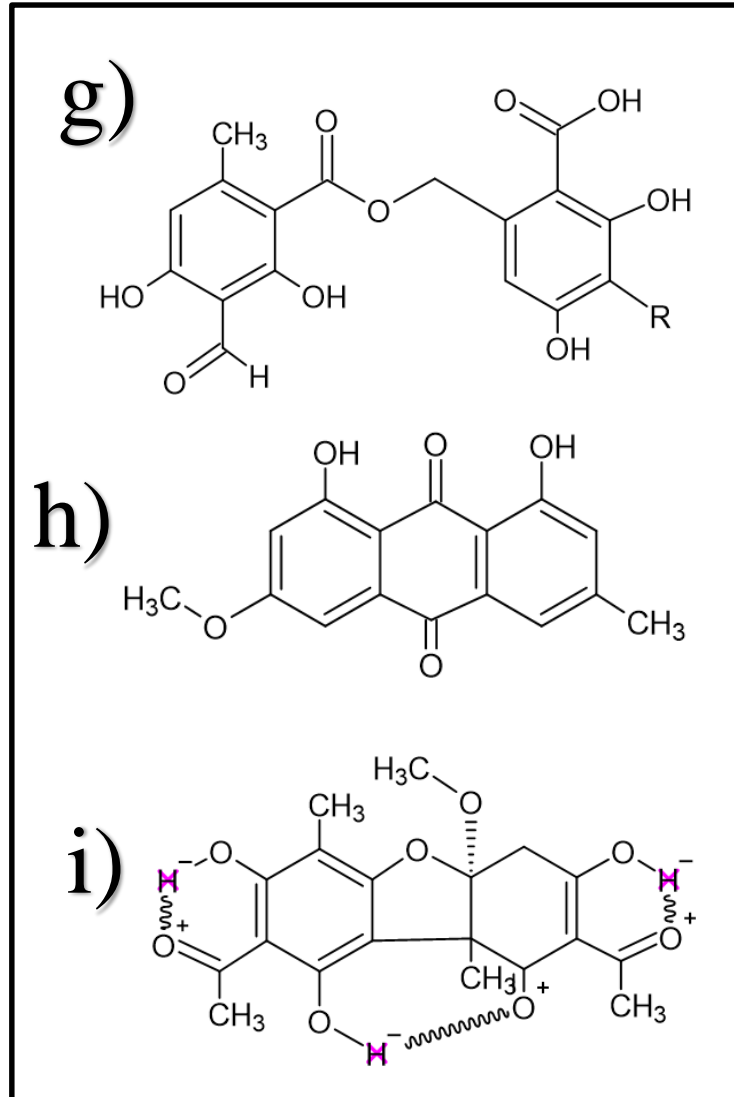


Figura 4 Compuestos químicos presentes en el género *Oropogon*: g) Ésteres Bencílicos, h) Parietina (antraquinona), i) ácido placodiólico (tipo ácido úsnico).

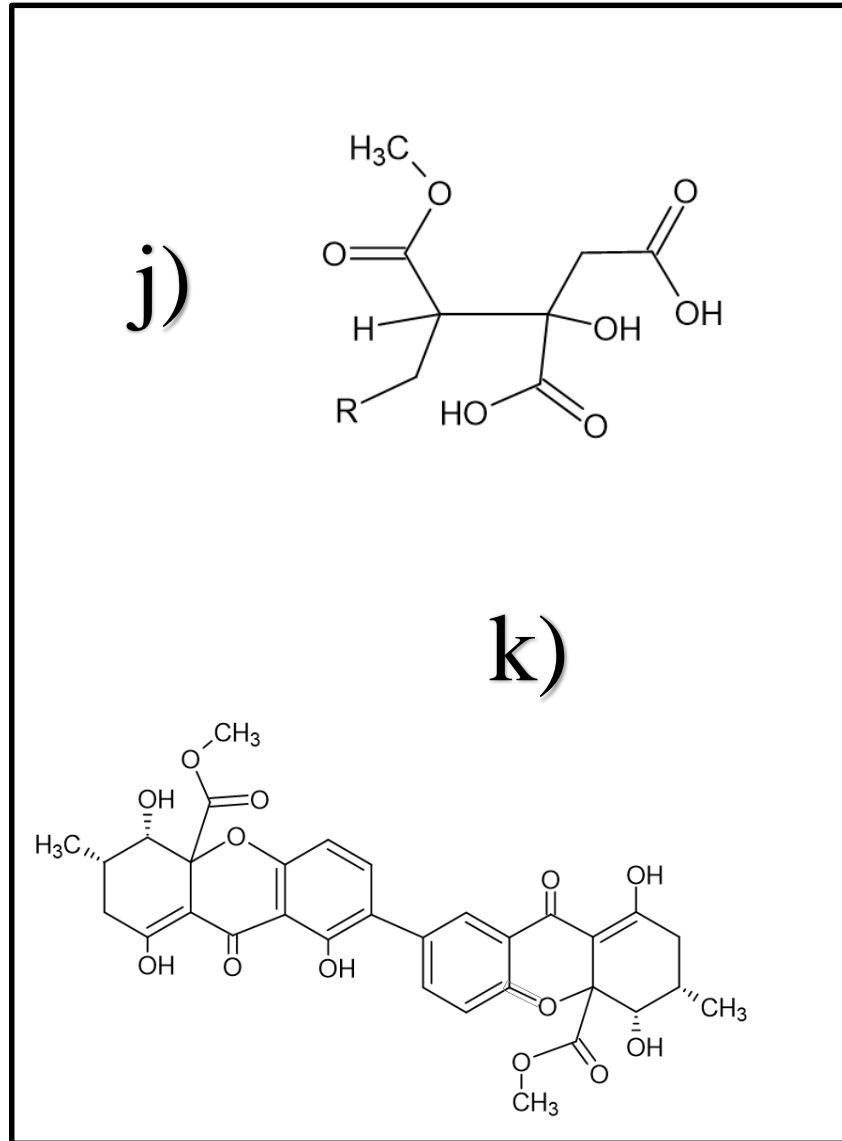


Figura 5 Compuestos químicos presentes en el género *Oropogon*: j) ácido caperático (ácido graso), k) ácido secalónico A nisantraquinona.

1.2 ASPECTOS BOTÁNICOS

1.2.1 Características generales del género *Oropogon*

MORFOLOGÍA

Tabla 1 Clasificación botánica del género *Oropogon*

Reino	<i>Hongos</i>
División	<i>Ascomycota</i>
Clase	<i>Lecanoromycetes</i>
Orden	<i>Lecanorales</i>
Familia	<i>Alectoriaceae/Parmeliaceae</i>
Genero	<i>Oropogon Th. Fr.</i>

El hábitat, así como las características morfológicas siendo de difícil descripción no permite utilizar un lenguaje preciso para el género *Oropogon*.

Contrastando el género *Alectoroides* (Ahmadjian, 1993), este distinguió cinco formas de crecimiento distintivas, de estos solo dos características estaban claramente definidos y así ocurren en el género *Oropogon*: cespitoso y pendiente.

Relativas variaciones en los patrones de ramificación presentes en el género *Oropogon*, han demostrado que tienen principalmente isodicotomías (dicotomías isotómicas) y la diferencia principal está en la frecuencia de las anocotomías (dicotomías anisotómicas), que en la mayoría de las especies son raras o prácticamente ausentes. El color como ninguna otra característica es de difícil interpretación.

Generando una clasificación subjetiva del color, aspecto que agrava la nomenclatura del color cuya variabilidad es innata e inducida por los taxones.

Esto parece cierto en géneros como el *Oropogon* en el que predominan los marrones y los negros. Sin embargo, la experiencia permite discernir diferencias en el rango de color entre especies, como la especie *Oropogon loxensis* y *Oropogon pendulus*.

Dentro las claves, hemos intentado evadir el color para usarlo solo en las dicotomías últimas o penúltimas (plasticidad, médula y talo), y allí como caracteres suplementarios.

Todos los miembros del género tienen una forma de crecimiento fruticoso. La más obvia es el carácter marrón y muriforme que separa *Oropogon* del resto de la familia.

1.2.2 Características generales de la especie *Oropogon Pendulus*

Talo colgante, hasta 38 cm o raramente 45 cm de largo; ramificada isódica, pero con ocasionales dicotomías anisódicas, entrenudos en su mayoría de 8 a 20 mm de largo, pero comúnmente de hasta 25 mm y raramente de hasta 37 mm, ramas principales de hasta 0,5 mm u ocasionalmente hasta 0,7 mm de diámetro; tostado - marrón a marrón u ocasionalmente marrón oscuro, generalmente más o menos uniforme; dispersas y discretas, estrechas y en su mayoría perforadas. talo interior hueco, la médula relativamente delgada pero uniforme (aunque difícil de discernir en las ramas de pequeño diámetro); médula hifal adpresa, blanca (Esslinger, 1980).

Apotecio frecuente (presente en aproximadamente el 79% de las colecciones examinadas), de hasta 3 mm de diámetro, plana a ligeramente cóncava, a veces se convierte en convexo reflejo, el margen completo a débilmente crenado, a veces con pseudocífilas blancas, rara vez desarrollando espinas pequeñas; himenio 124-150 (micrómetros) de espesor, subhimenio 56-85 (micrómetros) de espesor; esporas (75-) 81-101 (-112) (micrómetros) de largo, (23-) 26-36 (micrómetros) de ancho, espora ausente en esporas maduras (Esslinger, 1980).

Existe una confusión en las claves dicotómicas entre la especie *Oropogon Pendulus* y *Oropogon Sperlingii*, los cuales tienen cierta similitud que causa un problema de identificación dicotómica (clave dicotómica) (Esslinger, 1980).

Clasificación de la especie *Oropogon Pendulus*. (Esslinger, 1980) Tabla 2.

Tabla 2 Clasificación botánica de la especie *Oropogon Pendulus*

Reino	<i>Hongos</i>
División	<i>Ascomycota</i>
Clase	<i>Lecanoromycetes</i>
Orden	<i>Lecanorales</i>
Familia	<i>Parmeliaceae</i>
Genero	<i>Oropogon Th. Fr.</i>
Especie	<i>Oropogon Pendulus (Esslinger)</i>

Oropogon Pendulus Esslinger, sp. nov.- Tipo: México. Oaxaca: montañas norte de la ciudad de Oaxaca, encima de Donaji, 3050 metros sobre el nivel del mar, diciembre 1974, Beharrel 601 (holotipo: ¡US!; isotipo; TLE!). (Esslinger, 1980).

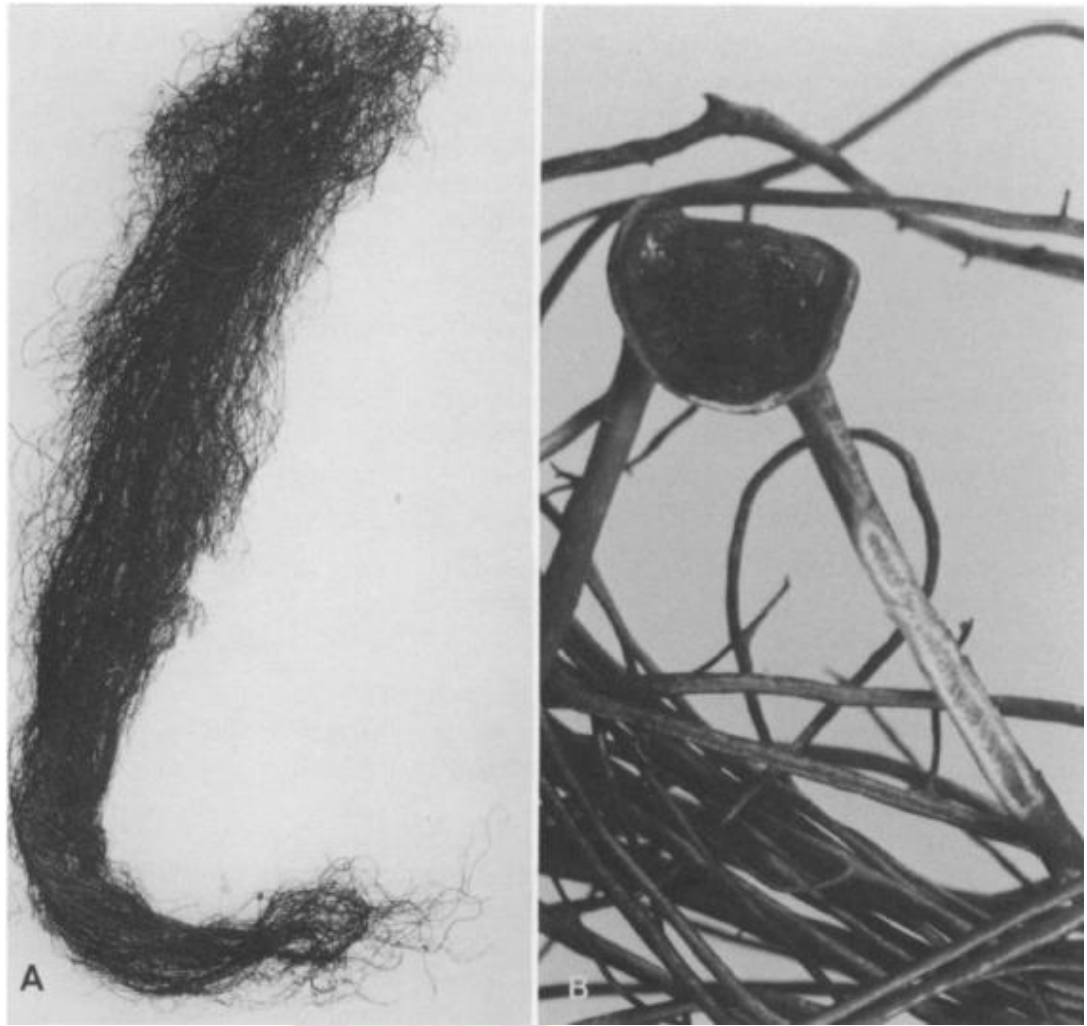


Figura 6 Fotografía *Oropogon Pendulus*, Beharrel 601 (US, holotipo). A. Hábitat, x0.4.

B. Médula hueca, x14.



Figura 7 *Oropogon pendulus*

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivos General.

Desarrollar las técnicas, métodos de separaciones y aislamiento de los compuestos químicos presentes en la especie *Oropogon pendulus*.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Contribuir al conocimiento científico sobre la especie *Oropogon Pendulus*.
- b) Elucidación estructural de la o las moléculas por Resonancia Magnética Nuclear (RMN), presentes en la especie *Oropogon pendulus*.



3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Muestra Liquen

El liquen *Oropogon Pendulus* fue recolectado en la localidad de Pongo muy cerca de Unduavi, a 3669 msnm (Figura 10), el 14 de agosto de 2019 (clima cálido y seco, temperatura de 22°C, sin humedad), el 17 de agosto de 2019 (clima lluvioso y húmedo, temperatura de 28°C), el 14 de febrero de 2020 (clima húmedo, temperatura de 25°C), en el departamento de La Paz, Provincia Sud Yungas.

La especie recolectada fue identificada y clasificada dicotómicamente con el nombre de *Oropogon pendulus*, perteneciendo al género *Oropogon*, la clasificación fue realizada por la Botánica Rosácela Meneses experta botánica del Herbario Nacional localizado en el campus Universitario de la zona de Cota Cota.

3.2 Metodología de extracción y separación

El material fue secado a temperatura ambiente en los laboratorios de la Carrera de Ciencias químicas de la Universidad Mayor de San Andrés, obteniéndose 506,120 g de muestra seca, procediéndose luego al cortado de los talos a tamaños pequeños.

Se realizó la extracción con Éter de petróleo (40 – 60°C) a temperatura ambiente por maceración de 48 horas (2 días). Los extractos obtenidos fueron concentrados en un rotaevaporador.

Fue el IKA RV 10 Control Manual/IKA HB 10 Control, tomando una revolución por minuto de 120/669 mbar (524,3 mmHg) /450 bar (337,5 mmHg). [datos del equipo rotaevaporador].

Recibiendo un caudal de 2 – 3 [L/h], y con un intervalo de temperatura $\Delta T = 0,11 - 0,20$, la temperatura de destilación estaba comprendida entre $T = 74,9^{\circ}\text{C}$ a $T = 79,9^{\circ}\text{C}$, dándonos una relación de 85%/15% (extracto/solvente).

Para el aislamiento del metabolito secundario del extracto etéreo, se procedió a la realización de cromatografías en columna y después en capa fina, utilizando como soporte sólido Sílica Gel y Alúmina, y como eluente EtOH, AcEtO y CH₂Cl₂, sucesivamente (Figura 11).

Luego de realizada la extracción Etérea, ésta fue sometida a otro proceso de extracción sólido – líquido en AcEt y EtOH, obteniéndose dos extractos.

De la solución etanólica concentrada se obtuvo una sustancia de pastosa y de color anaranjado, la cual al ponerla en contacto con el agua producía precipitado sólido, frágil e insoluble.

Al extracto etéreo se añadió EtOH, con la que se procedió a la extracción líquido – líquido, obteniéndose 1,508 g. de una sustancia sólida.

El cromatograma fue revelado con luz ultravioleta de 285 (nanómetros), y posteriormente revelado con ácido sulfúrico al 10% v/v.

3.3 Purificación

Todas las extracciones anteriores fueron sometidas a 3 extracciones líquido – líquido con EtOH y AcEt, de los cuales se obtuvo el compuesto MG – 1 (polvo blanquecino) éste fue cristalizado en DMSO (dimetilsulfóxido).

3.4 Elucidación Estructural

La elucidación estructural se hizo utilizando los espectros RMN – ¹H, RMN – ¹³C, RMN – COSY. Los espectros fueron obtenidos en el equipo (300 MHz, Marca Bruker con software topspin 3.0).

Datos técnicos equipo de RMN (Resonancia Magnética Nuclear):

Equipo: Bruker, Campo: 300 MHz, Consola: Avance I, Probes: SEI (Selectiva inversa), PABBO (Broad Band Automática), Cambiador automático de muestras: de 16 posiciones, Núcleos: ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P , ^{11}B , ^{15}N , ^{29}Si , ^{119}Sn , Técnicas: 1D (^1H , ^{13}C , Dept, Noe, Fasegel, Tocsy, Noesypr, WS, Heteronúcleos) 2D (COSY; HSQC, HMBC, DOSY, ROESY, etc), software topspin 3.0.

3.5 Materiales y Métodos

Los materiales utilizados fueron:

- ✓ Matraz Erlen Meyer
- ✓ Embudo de separación
- ✓ Vaso de precipitación (100 mL, 200 mL y 500 mL)
- ✓ Pipetas Pasteur
- ✓ Balón de vidrio (para concentrar) (500 mL)
- ✓ Pipetas graduadas (2 mL, 5 mL y 10 mL)
- ✓ Bidones de 5 L (maceración)
- ✓ Pinza
- ✓ Soporte universal
- ✓ Nuez
- ✓ Embudo de filtración
- ✓ Papel filtro
- ✓ Viales pequeños
- ✓ Hornilla

Los métodos utilizados fueron: extracción sólido – líquido, filtración y purificación. Así mismo mencionar las cromatografías, análisis instrumental, solubilidad. Para la pesada se utilizó una balanza electrónica propia del laboratorio. **Balanza electrónica** Gram modelo FH-100. **Especificaciones técnicas:** Capacidad de 200 g, incertidumbre de 0,001 g, tamaño del plato de 120 mm de diámetro, unidades de pesada en g, ct, dwt, lb, y oz, alimentación: 220V, temperatura de trabajo: $+0^\circ / +30^\circ$, Puerto de salida: estándar, incluye vitrina para-vientos, calibración externa.



Figura 8. Mapa de ubicación del Hábitat. *Oropogon pendulus* Provincia Sud Yungas.

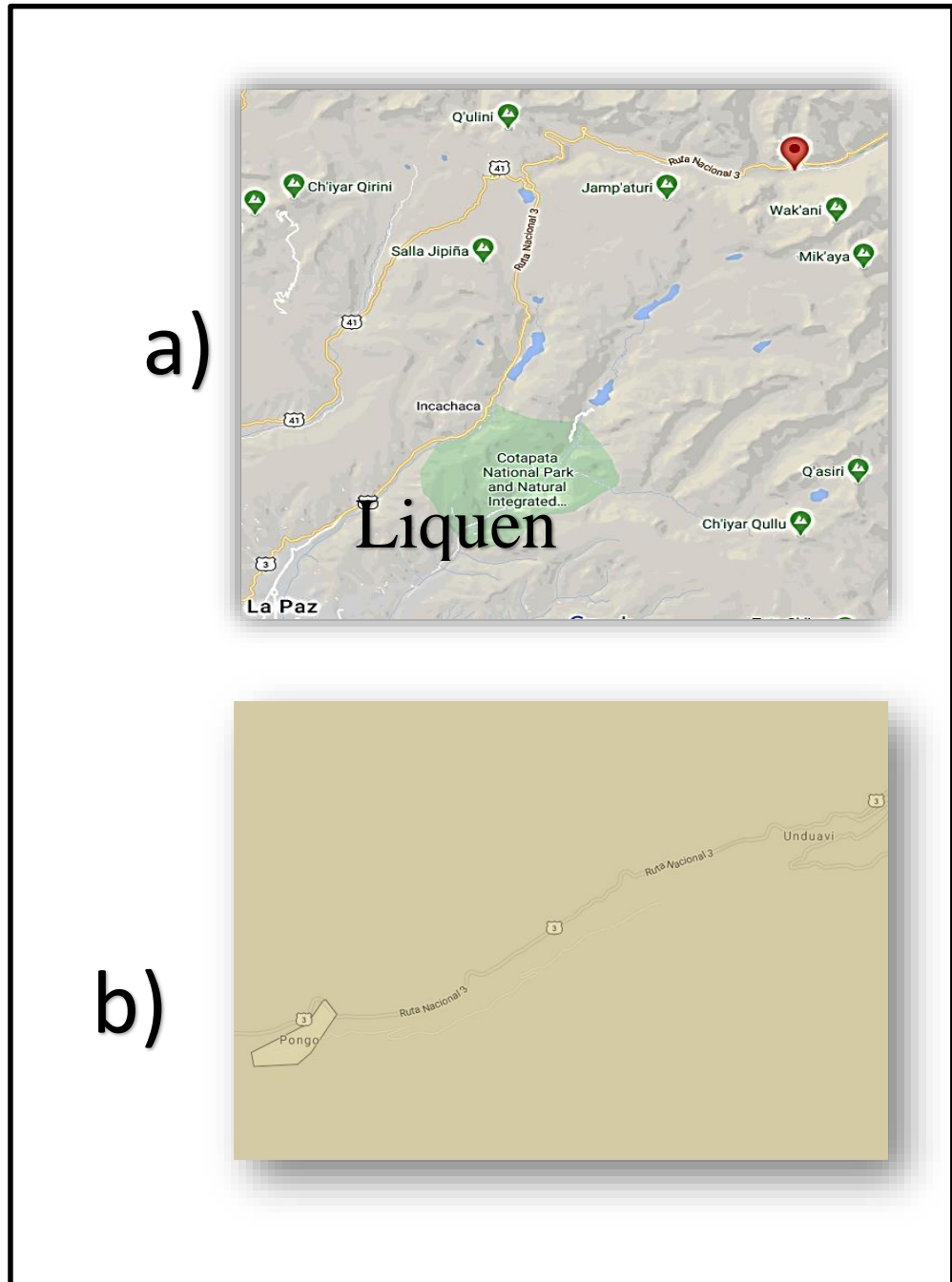


Figura 9 a) Ubicación de la especie *Oropogon pendulus*, localidad de Pongo en el Dpto. de La Paz; b) La localidad de Pongo cerca de la localidad de Unduavi.

Liquen

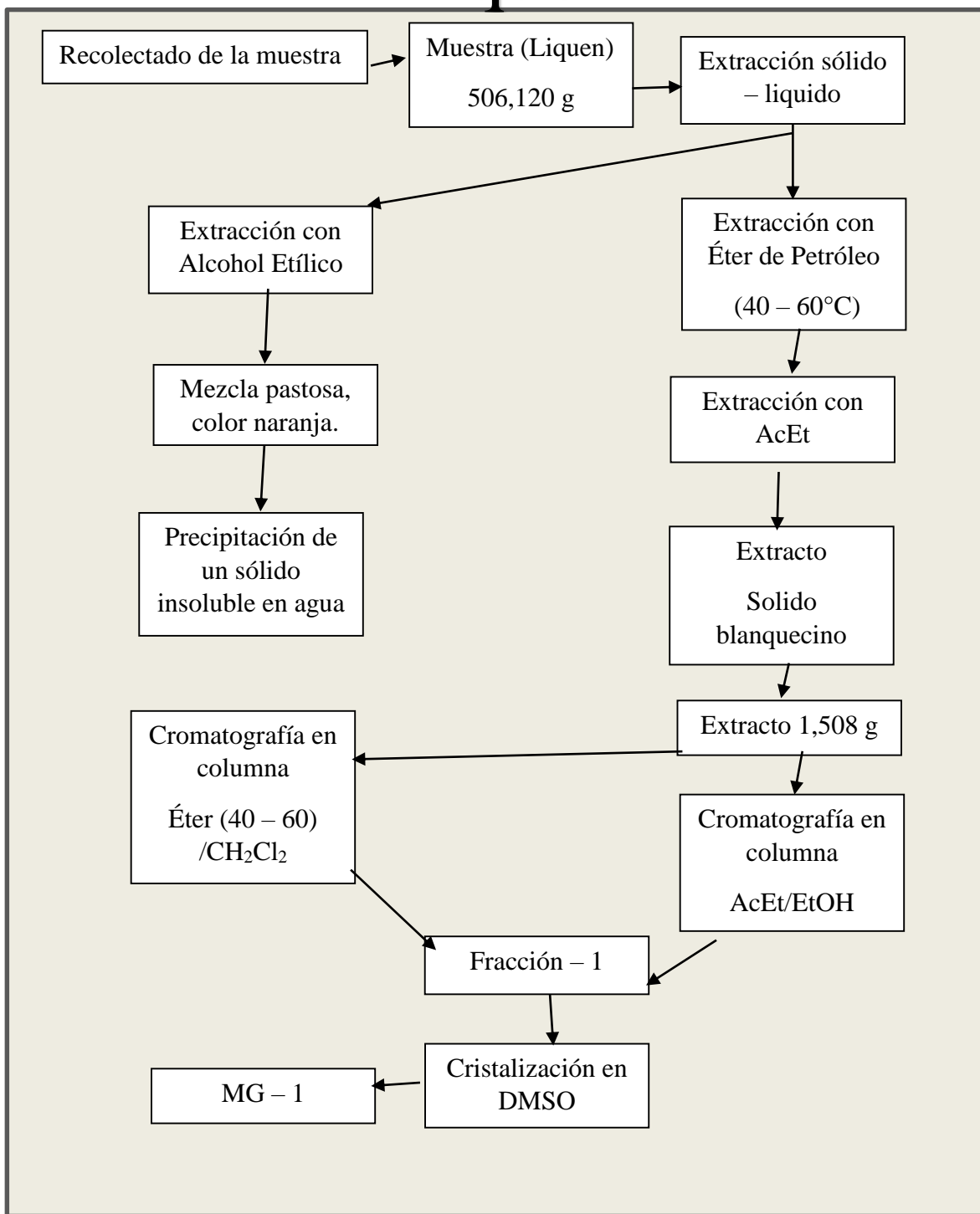


Figura 10 Esquema del proceso experimental y separación del metabolito MG - 1 de la especie *Oropogon Pendulus*

4. DISCUSION Y RESULTADOS

3.1 Caracterización Estructural del compuesto MG – 1.

Sustancia sólida blanquecina aislada de los extractos con éter y acetato de etilo, el rendimiento es 0,29-% (1,508 g).

$$\%_{(sólido\ blanquecino)} = \frac{m_{sólido\ blanquecino}}{m_{Liquen}} * 100 \%$$

$$\%_{(sólido\ blanquecino)} = 0,29 \%$$

Donde:

$$m_{sólido\ blanquecino} = 1,508\ g$$

$$m_{Liquen} = 506,120\ g$$

3.1.1 Características Generales

Características físicas del compuesto MG – 1.

Tabla 3 Características físicas del compuesto MG – 1.

Propiedades	MG – 1
Aspecto	Polvo blanquecino
Solubilidad	AcEt, Éter de petróleo (40 – 60 °C)
Cristalización	DMSO (dimetilsulfóxido)
Rf (EtOH)	0,45
Rf (AcEt/EtOH/ 2/1 vv)	0,6
Rf (Éter/CH ₂ Cl ₂ / 1/1 vv)	0,76

3.1.2 Datos y Estudio Espectroscópico

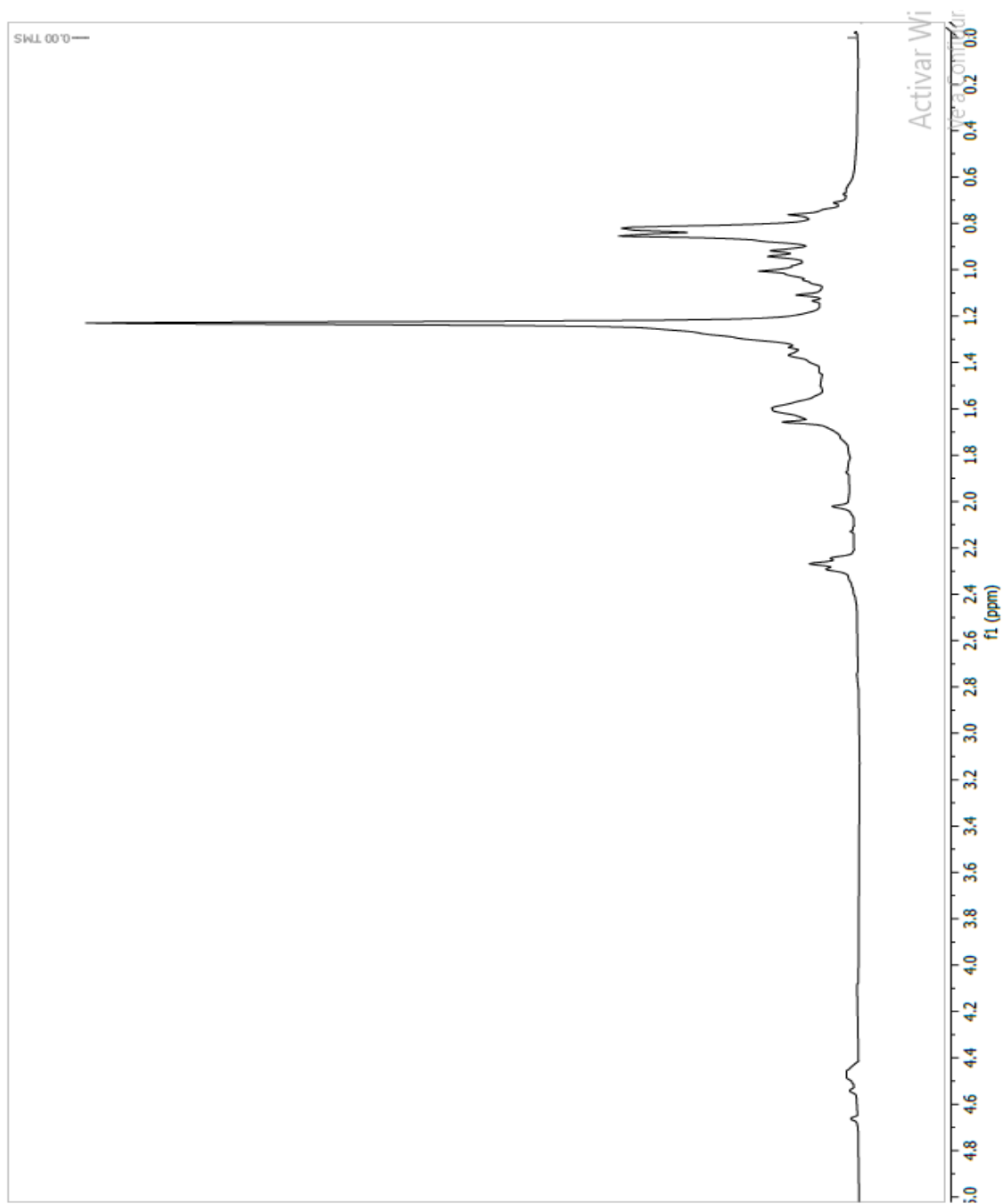
i) Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear

Señales del espectro de RMN – ^1H (Espectro 1 y Espectro 2) y las asignaciones respectivas.

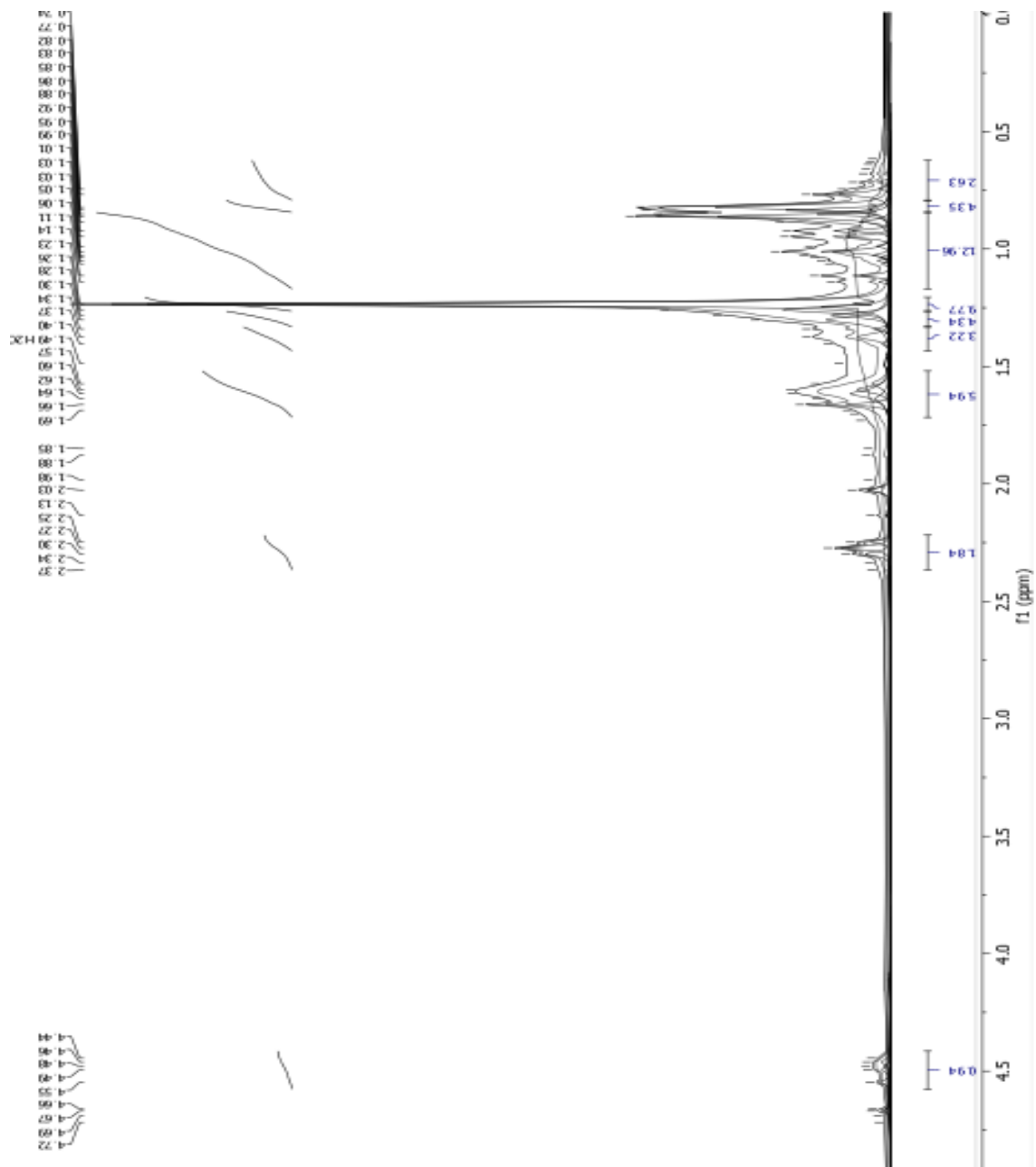
Tabla 4 Datos Espectroscópicos de RMN – ^1H del compuesto MG – 1

Señal (ppm)	Multiplicidad	Asignación
0,62	Singulete	CH_3
0,66	Doblete	CH
0,74	Triplete	CH_2 ó CH
0,85	Quintuplete	CH_2 ó CH
0,92	Singulete	CH_3
0,95	Singulete	CH_3
1,01	Sextuplete	CH_2 ó CH
1,11	Singulete	CH_3
1,14	Singulete	CH_3
1,26	Cuadruplete	CH_2 ó CH
1,37	Triplete	CH_2 ó CH
1,62	Sextuplete	CH_2 ó CH
2,27	Cuadruplete	CH_2 ó CH
4,49	Quintuplete	CH_2 ó CH

El análisis del espectro de RMN – ^1H (Espectro 1) del compuesto MG – 1 presenta 5 señales de singuletes, los cuales tienen un desplazamiento químico en el rango de $\delta = 0,62 - 1,14$ ppm mostrando una correspondencia a 5 grupos metilos, así también 8 señales de multipletes comprendidos en el rango de $\delta = 0,74 - 4,49$ ppm los cuales se refieren a grupos CH y CH_2 . Así mismo se muestra un doblete a 0,66 ppm. Resaltando la señal de 4,49 ppm perteneciente al protón del grupo funcional alcohólico (Espectro 2).



Espectro 1 RMN – ^1H del compuesto MG – 1.



Espectro 2 RMN – ¹H del compuesto MG – 1 con la asignación de señales y respectivas integrales.

Asignando una señal a cada pico (Espectro 2), ^1H RMN (300 MHz, CDCl_3) δ 4.49 – 4.42 (m, 2H), 2.27 (q, $J = 9.4, 7.4$ Hz, 5H), 1.62 (q, $J = 7.3, 6.9$ Hz, 13H), 1.37 (d, $J = 10.3$ Hz, 9H), 1.26 (d, $J = 6.1$ Hz, 12H), 1.01 (d, $J = 7.1$ Hz, 27H), 0.85 (m, 19H), 0.66 (s, 2H).

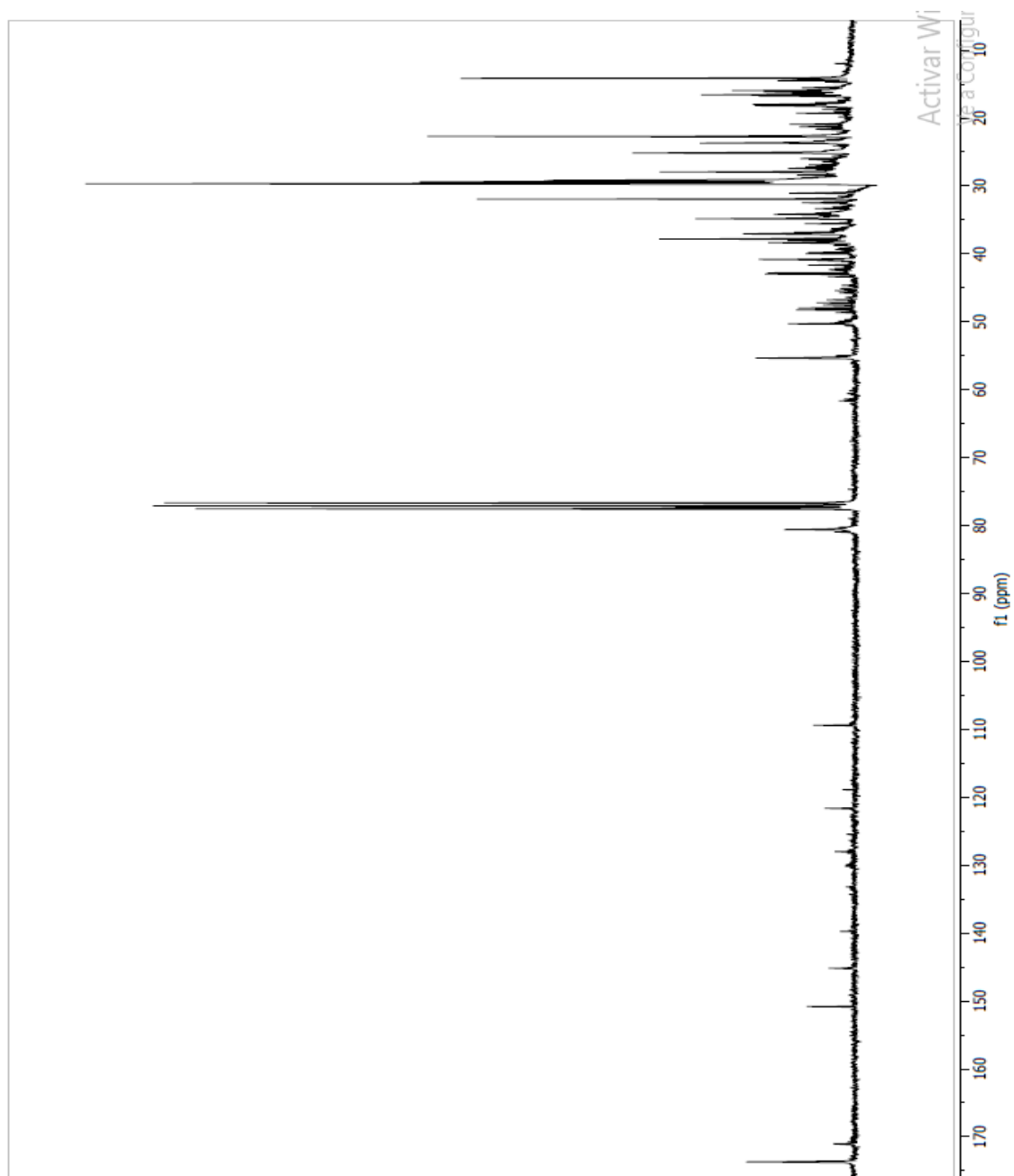
Así mismo se presenta todas las señales de las señales relevantes en coherencia a los multipletes presentados en la Tabla 4, ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 4.72, 4.69, 4.67, 4.66, 4.55, 4.49, 4.48, 4.46, 4.44, 2.37, 2.34, 2.30, 2.27, 2.25, 2.13, 2.03, 1.98, 1.88, 1.85, 1.73, 1.70, 1.69, 1.66, 1.64, 1.62, 1.60, 1.57, 1.49, 1.40, 1.37, 1.34, 1.30, 1.28, 1.26, 1.23, 1.14, 1.11, 1.06, 1.05, 1.03, 1.03, 1.01, 0.99, 0.95, 0.92, 0.88, 0.86, 0.85, 0.83, 0.82, 0.77, 0.74, 0.72, 0.68, 0.66, 0.64, 0.63, 0.62.

El experimento del Carbono – 13 (RMN – ^{13}C) en referencia, (Espectro 4) determina la presencia de 19 átomos de carbono.

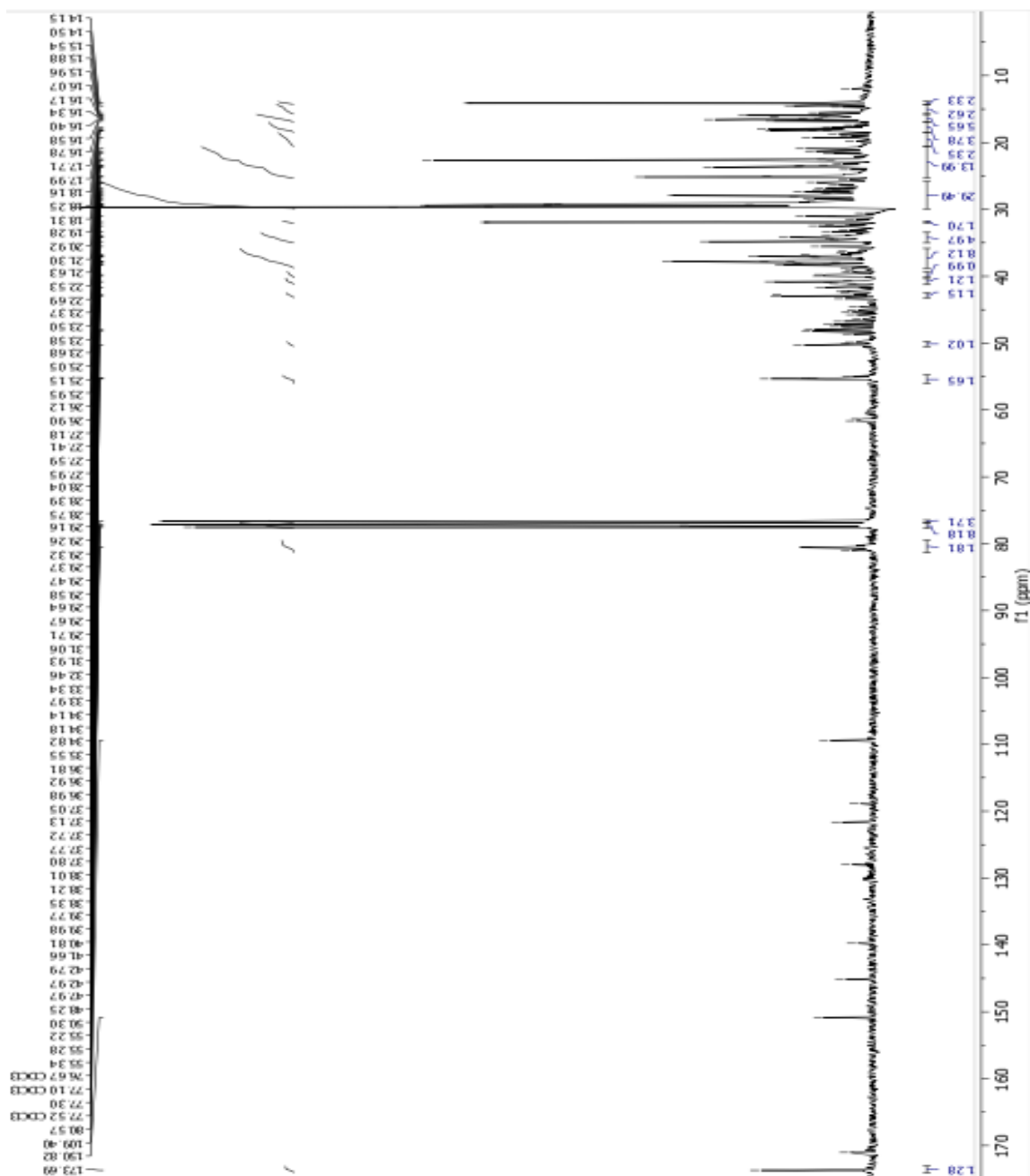
Señales del espectro de RMN del carbono 13.

Tabla 5 Datos Espectroscópicos del espectro RMN – ^{13}C del compuesto MG – 1.

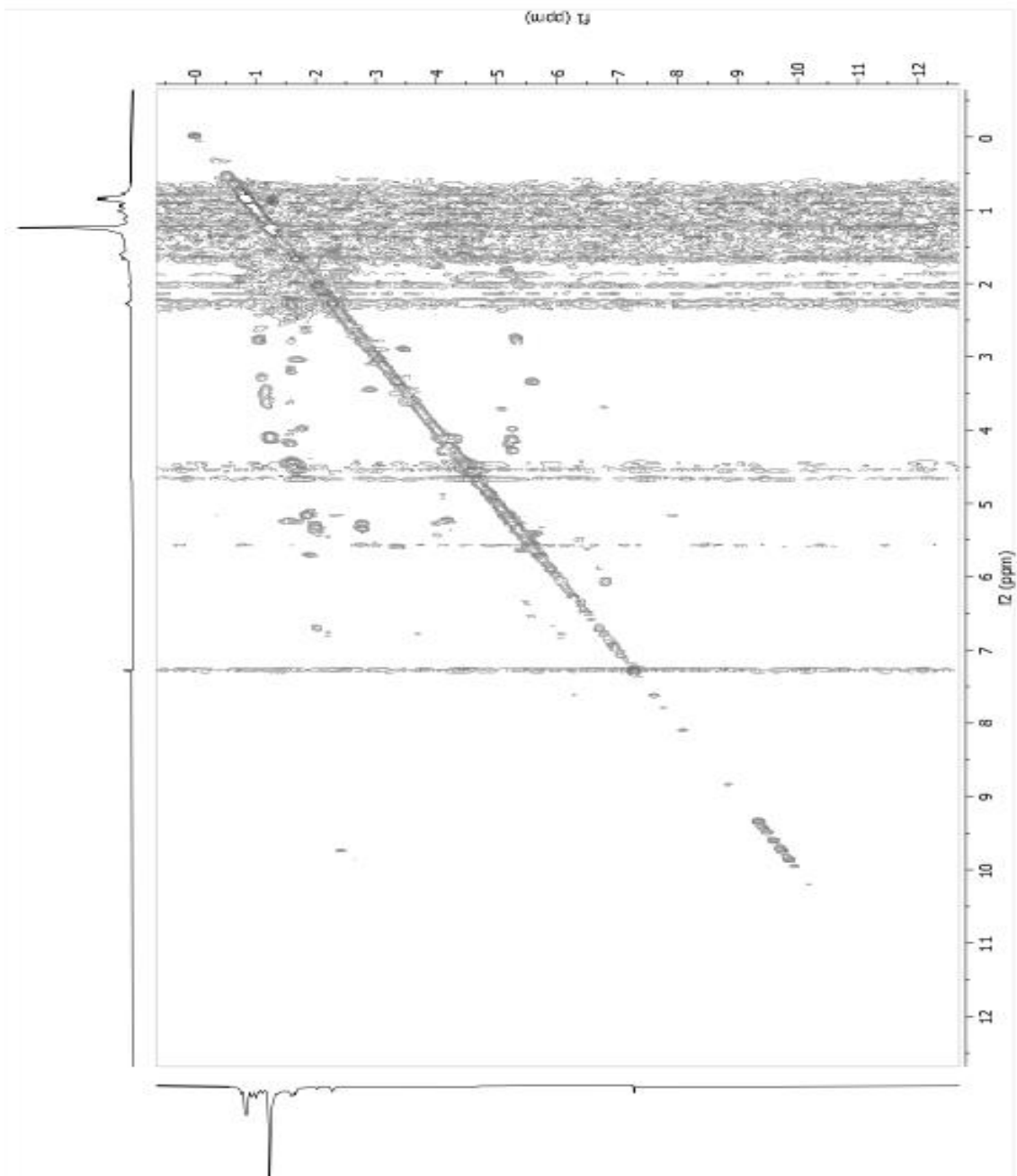
Señal (ppm)
14,15
15,96
16,78
18,16
19,28
23,68
27,95
32,46
34,18
37,72
39,77
40,81
42,97
50,30
55,34
76,67
77,52
80,57
173,69



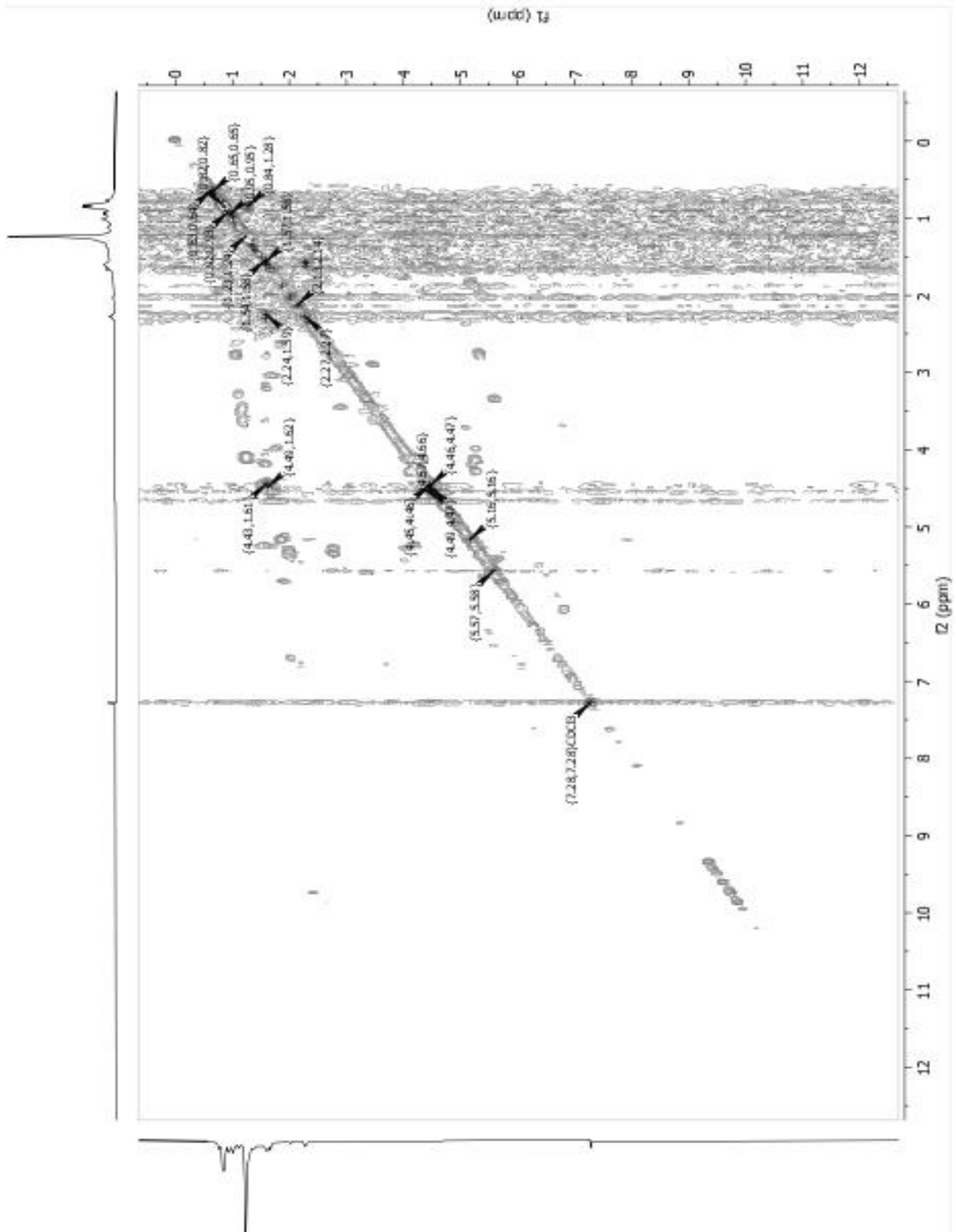
Espectro 3 RMN – ^{13}C del compuesto MG – 1.



Espectro 4 RMN – ¹³C del compuesto MG – 1 normalizado con sus respectivas asignaciones de señales.



Espectro 5 RMN – COSY del compuesto MG – 1, bidimensional



Espectro 6 RMN – COSY del compuesto MG – 1, asignado y normalizado.

Tomando las señales del espectro RMN de ^{13}C , se obtiene 19 Carbonos, y del espectro de RMN – ^1H así como del espectro RMN – COSY el compuesto MG – 1, muestra la presencia de 34 hidrógenos y estos acoplados a carbonos como muestra el Espectro 6.

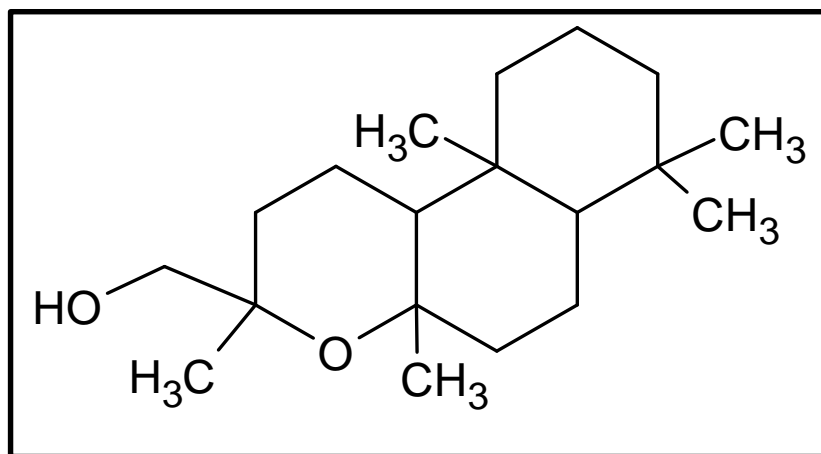


Figura 11 Estructura del 3 – (1 – hidroximetil) – 3,4a,7,7,10a – pentametil – Nafto – [2,1 – b] – pirano.

Los datos de la estructura correspondiente a la Figura 8 correlacionan con el espectro computarizado de referencia. Se utilizó el sistema Hantzsch – Widman para la nomenclatura y notación del compuesto químico.

Tabla 6. Datos de RMN – ¹³C experimentales relacionados con el reporte computarizado del compuesto 3 – (1 – hidroximetil) – 3,4a,7,7,10a – pentametil – Nafto – [2,1 – b] – pirano.

Datos Experimentales (ppm)	Datos Computarizados (ppm)
14,15	14,35
15,96	16,44
16,78	19,02
18,16	19,04
19,28	20,09
23,68	24,01
27,95	27,89
32,46	33,14
34,18	34,66
37,72	39,19
39,77	39,49
40,81	39,54
42,97	41,74
50,30	53,18
55,34	56,09
76,67	76,40
77,52	75,46
80,57	79,13

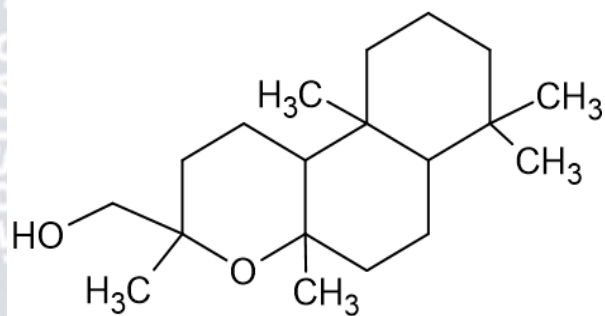
En referencia a la señal 173,69 ppm que se encuentra como una señal fuerte y que no correlaciona con señal alguna del espectro de carbono 13, posiblemente se deba a la presencia de alguna impureza.

La relativa diferencia de valores que se ven en la Tabla 6 se debe a posibles efectos de interacción con las impurezas, producidas durante los procesos de separaciones y purificaciones.

Los valores experimentales del compuesto orgánico MG – 1 fueron comparados con los datos computarizados del Programa MestReNova.

5. CONCLUSIONES

- I. Se desarrolló la técnica de la extracción sólido – líquido para el aislamiento del compuesto químico presente en el Liquen *Oropogon pendulus*.
- II. Se contribuyó a los datos técnicos botánicos de la especie *Oropogon Pendulus* (Tabla 2), por otra parte, se contribuyó al conocimiento químico (Tabla 3).
- III. Se elucidó la estructura química del compuesto orgánico aislado mediante RMN, obteniendo la molécula de nombre: 3 – (1 – hidroximetil) – 3,4a,7,7,10a – pentametil – Nafto – [2,1 – b] – pirano, utilizando el sistema Hantzsch – Widman, presente en la especie *Oropogon pendulus* en una proporción del 0,29 % (p/p).



6. BIBLIOGRAFÍA

AHMADJIAN. (1993). *The Lichen photobiont* . Handbook.(pág. 202). New England.

ANGELA CANSECO, R. A. (Junio de 2006). Liqueños como bioindicadores.(pág 97)
Artículo científico. *SciELO*. Obtenido de
www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1683-0789200600010&Ing=es&nrm=iso

ASAHINA, H. (1952). *Photobiont and Lichen, Mushrooms. The fungal partner*.(pág 347)
In Handbook of Lichenology. New England.

ESSLINGER, T. (1989). Systematic Botany Monographs. En T. Esslinger, *Systematic Botany Monographs*, Handbook Vol. 28, Systematics of Oropogon (Alectoriaceae) in the New World. (pág. 111).

FEÉ, F. (1824). *The Lichen in life. Biodiversity of lichens, including a worldwide analysis of checklist data based*. Handbook and Book.(pág 789) New York.

FRIES, B. (1861). *Thallus morphology and anatomy*. In Lichen biology Handbook. (pág 46)New England: Cambridge University Press.

SCHMITT, I. (2011). *Fruiting body evolution in the Ascomycota: a molecular perspective integrating lichenized and nonlichenized groups*. Handbook and Book.(pág 12) New England.

7. APÉNDICE

Alga	Planta acuática que vive en la superficie o el fondo de las aguas dulces o saladas: <i>algunas especies de algas son comestibles.</i>
Apotecia	Receptáculo de los líquenes que encierra los corpúsculos reproductores.
Bioindicador	Organismo vivo que se utiliza para determinar y evaluar el índice de contaminación de un lugar, especialmente de la atmósfera o el agua.
Cespitoso	Arbustivo y con mechones, el talo rara vez más del doble de ancho y generalmente sin un solo tallo o rama principal identificable.
Cianobacteria	Filo del dominio Bacteria que comprende las bacterias capaces de realizar fotosíntesis oxigénica. Son los únicos procariontes que llevan a cabo ese tipo de fotosíntesis, por ello también se les llamo oxifotobacterias.
Citotóxico	Agente o sustancia que es tóxica frente a otras células, puede dañar o matar células o tejidos.
Dicotomía	Bifurcación, división en dos. División de un concepto o una materia teórica en dos aspectos, especialmente cuando son opuestos o están muy diferenciados entre si.
Espora	Corpúsculo reproductor de las plantas criptógamas y líquenes.
Extracto	Sustancia que se extrae de otra: sustancia concentrada que se obtiene de una planta, liquen, semilla u otra cosa por diversos procedimientos.
Ficobionte	Parte algal de un liquen
Hábitat	Conjunto de factores físicos y geográficos que inciden en el desarrollo de un individuo, una población, una especie o grupo de especies determinados. Entorno o conjunto de factores geográficos relativos a la vida del organismo, como el emplazamiento, la forma.
Hongo	Organismo vegetal que pertenece al reino de los hongos.
Macerar	Dejar sumergida una sustancia sólida en un líquido durante un tiempo para extraer de ella las partes solubles.
Micobionte	Componente fúngico de los líquenes

Morfología	Parte de la biología que trata de la forma de los seres vivos y de su evolución.
Morfotipo	Grupo de organismos que no puede diferenciarse a simple vista o con herramientas sencillas, como una lupa de mano, en sus taxones respectivos (normalmente, o esperablemente, son especies del mismo género o subgénero).
Pendiente (Colgante)	Colgando verticalmente esencialmente de la base, el talo a menudo se vuelve muchas veces más largo que ancho y se compone de numerosas ramas largas y paralelas.
Pseudocífelas	Estructuras presentes en hongos liquenizados que actúan como pequeños poros en la superficie externa del liquen y que permiten el intercambio de gases entre el exterior y la capa gonidial.
Simbiosis	Asociación íntima de organismos de especies diferentes para beneficiarse mutuamente en su desarrollo vital.
Talo	Conjunto de la raíz, el tallo y las hojas de las plantas metáfitas. También es la estructura propia de las algas y algunas plantas, que consta de tres elementos básicos: haptera, estipe y laminillas.
Taxones	Grupo de una clasificación científica.
Tipificación	Clasificación en tipos o clases de una realidad o un conjunto de cosas.

