

IDENTIFICAÇÃO DOS TRITERPENOS DE *MICONIA ALBICANS* TRIANA ATRAVÉS DE ANÁLISE POR MICROCOMPUTADOR*

Patricia A. T. Macari, Vicente de P. Emerenciano e Zenaide M.G.S. Ferreira
Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 05508 São Paulo – SP – Brasil

From the wood of *Miconia albicans* Triana (Melastomataceae) was isolated the mixture of methylic esters of ursolic and oleanolic acid, the methylic ester of arjunolic acid, sitosterol and the 3- β -D-glucopyranosil sitosterol. The chemical constituents were separated and purified by chromatography procedures and identified through spectroscopic methods and computer analysis.

INTRODUÇÃO

A família Melastomataceae^{1,2} possui 244 gêneros e 3.360 espécies, sendo 900 espécies de *Miconia*.

Estudos realizados sobre este gênero³⁻ relatam a acumulação de alumínio e outros nutrientes inorgânicos. A análise química⁸ de duas variedades de *Miconia theazans* (var. *longifolia* e *nilleflora*) coletadas no alto da Serra de Paranapiacaba, mostrou a predominância de substâncias alifáticas muito polares, sendo observada também a presença de fosfatos (aproximadamente 1% em peso) no extrato hidroalcoólico da variedade *nilleflora*.

Do extrato da madeira⁹ de *Miconia* sp foram isolados 3-pentil-5-metoxi-1,4-benzoquinona (primina) e 2-metoxi-6-pentil-1,4-diidroxi-benzeno (miconidina).

A identificação dos triterpenos de *Miconia albicans* Triana foi feita com auxílio de computador, através de um sistema¹⁰ que tem por finalidade identificar, por meio de um processo de confrontação, os deslocamentos químicos de RMN de ¹³C de substâncias presentes em um banco de dados com os das substâncias presentes em uma mistura.

No banco de dados estão armazenados os deslocamentos químicos e multiplicidades de cada carbono de 250 triterpenos, divididos entre vários esqueletos.

A confrontação dos sinais pode ser feita com uso de multiplicidades e deslocamentos químicos (opção 0) ou somente com uso do deslocamento (opção 1). Nos dois casos é dado um intervalo (Δ) para os deslocamentos em torno de 1 ppm, a fim de se evitar erros devidos a pequenas modificações conformacionais, efeitos de solventes ou erros experimentais, podendo ainda ser usado um segundo desvio com valor diferente do primeiro em certas faixas. Por exemplo, para minimizar efeito do solvente em carbonos hidroxilados, pode-se fixar na faixa de 67 a 87 ppm um intervalo (Δ) maior que o usado para confrontação dos outros sinais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma mistura (1 + 2) obtida da purificação do extrato diclorometânico apresenta uma banda larga entre 2.500 e 3.500 cm^{-1} na região do IV. Devido à sua pouca solubilidade em solventes orgânicos foi metilada.

* Parte 2 na série "Utilização de microcomputador em análise de Terpenóides". Para parte 1, veja ref. 12.

Tabela 1. Deslocamentos químicos de RMN ¹³C (20 MHz, CDCl₃).

Carbono	1a	2a	3a
1	32,7	38,5	46,7
2	27,3	27,3	68,9
3	78,9	78,9	79,2
4	38,9	38,7	42,7
5	55,3	55,3	48,2
6	18,4	18,3	18,2
7	33,0	32,7	32,3
8	39,5	39,3	39,3
9	47,6	47,6	47,5
10	37,1	37,1	38,1
11	23,3	23,1	23,0
12	125,5	122,4	122,0
13	138,1	143,8	143,8
14	41,7	41,7	
15	28,2	27,7	27,6
16	24,2	23,3	23,6
17	48,1	46,7	46,1
18	52,9	41,3	41,2
19	39,1	45,9	45,8
20	37,7	30,7	30,7
21	30,7	33,9	33,8
22	36,6	32,4	32,2
23	28,2	28,1	68,9
24	15,6	15,6	13,0
25	15,7	15,4	17,0
26	16,9	16,9	16,8
27	23,6	25,9	26,1
28	178,1	177,9	177,9
29	14,9	33,0	33,1
30	21,2	23,6	23,5
OCH ₃ 4	51,3	51,3	51,5

O espectro de RMN de ¹³C (Tabela 1) da mistura metilada apresenta 45 sinais, entre eles dois atribuíveis a carbonos carbonílicos (178,1 e 170,0 ppm) e quatro atribuíveis a carbonos olefínicos (143,7; 138,1; 125,5 e 122,3 ppm). As evidências iniciais sugeriam tratar-se de 2 triterpenos pentacíclicos insaturados¹², da série olean-12-eno e urs-12-eno.

Os 45 deslocamentos foram introduzidos no computador (opção 1, $\Delta = + 1,5$ ppm) sendo imposto como requisito que somente fossem listadas as substâncias que tivessem no míni-

mo 28 sinais coincidentes. O programa relacionou 7 substâncias com esqueleto oleano e 4 com esqueleto ursano.

Triterpeno	C não atribuídos	Índice de semelhança
3 β -acetoxi-olean-18-eno	C-3 e C-19	0,8233
3 β -30-diidroxi-olean-12-en-28-oato de metila	C-3 e C-30	0,8624
2 α , 3 β -diidroxi-olean-12-en-28-oato de metila	C-2 e C-3	0,8751
2 α , 3 α -diidroxi-olean-12-en-28-oato de metila	C-2	0,8872
3 β -acetoxi-olean-12-eno	C-3	0,8485
3 β -hidroxi-olean-12-en-28-oato de metila	-	0,9241
3 β -hidroxi-olean-12-eno	C-30	0,8762
3-oxo-urs-12-en-28-oato de metila	C-3 e C-24	0,8675
3 β -acetoxi-urs-12-eno	C-3	0,8247
3 β -acetoxi-urs-12-en-28-oato de metila	C-3 e C-6	0,8548
3 β -hidroxi-urs-12-en-28-oato de metila	-	0,8948

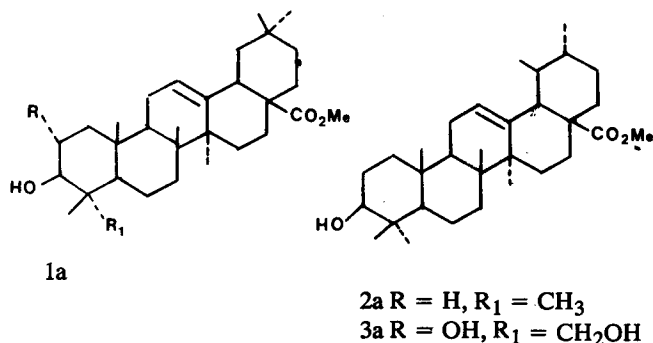
Dos triterpenos relacionados, somente 2 tinham os 30 sinais coincidentes, podendo ser identificados como parte da mistura isolada: o 3 β -hidroxi-olean-12-en-28-oato de metila (2) e 3 β -hidroxi-urs-12-en-28-oato de metila (1).

A identificação do ácido arjunólico (3) foi feita de maneira semelhante. Devido à insolubilidade em solventes orgânicos e banda larga entre 3100 e 3600 cm⁻¹ na região do IV, a substância foi metilada.

No espectro de RMN de ¹³C (Tabela 1) são observados 31 sinais, sendo um atribuível a carbono carbonílico (178,3 ppm), dois a carbonos olefínicos (143,8 e 122,0 ppm), três a carbonos hidroxilados (79,2, 68,9 e 68, 9 ppm) e um a metoxila (51,5 ppm). Os deslocamentos químicos dos carbonos sp² indicam esqueleto oleanano e, tomando como modelo o éster metílico do ácido oleanólico, é possível fazer a atribuição dos carbonos dos anéis B, C, D e E, sendo que a diferença entre os dois se encontra no anel A. Foi tentado o mesmo procedimento usado para a mistura (opção 0, $\Delta = + 1$ ppm); mas nenhuma substância do banco possuía mais que 20 sinais coincidentes, não sendo possível a identificação.

Como a identificação do esqueleto já havia sido feita, foram separados os sinais atribuídos aos anéis C, D e E, sendo fornecidos ao computador 13 sinais (opção 0, $\Delta = + 4$ ppm). A única substância do banco que apresentou esses 13 sinais coincidentes foi o ácido 2 α ,3 β ,23-triidróxi-urs-12-eno, sendo que esses deslocamentos foram atribuídos aos carbonos do anel A e B. Como o esqueleto já estava definido, podem-se juntar as partes das duas análises, ou seja, esqueleto oleano com hidroxila ligada ao carbono 2, 3 e 23, chegando-se à estrutura do ácido arjunólico (3).

Verificação posterior mostrou que os dados de RMN de ¹³C do ácido arjunólico não estavam presentes no banco, tornando por isso a análise direta (como a feita para a mistura) impossível.



PARTE EXPERIMENTAL

A madeira de *Miconia albicans* Triana (4,25 kg) foi coletada na Reserva Ecológica – Fazenda Campininha (Mogi-Guaçu) S. Paulo, em agosto de 1987.

Após secagem, a madeira foi moída (2,25 kg) e extraída com hexano-diclorometano. Após concentração obtiveram-se 6,1 g do extrato hexânico e 6,1 g de extrato diclorometânico.

O extrato hexânico foi submetido a partição com MeOH/H₂O 9:1, obtendo-se 3 g de material solúvel em metanol. Dessa porção solúvel isolaram-se 569,5 mg de sitosterol.

Do extrato diclorometânico, após várias cromatografias em coluna de sílica usando-se como eluente mistura de hexano-acetato de etila em grau crescente de polaridade, isolaram-se uma mistura (1 e 2) de difícil separação, o ácido arjunólico (3) e 3-0- β -D-glicosil-sitosterol (4). Devido à pouca solubilidade das substâncias isoladas, procedeu-se à metilação com diazometano, obtendo-se a mistura (1a e 2a) e o ácido arjunólico metilado (3a).

O 3-0- β -D-glicopiranosil sitosterol (4) (0,10 g) foi acetilado com uma mistura de piridina-anidrido acético, obtendo-se o 3-0- β -D-glicopiranosil-sitosterol-tetraacetilado (4a) (0,15 g).

Sitosterol

IV: $\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$ (cm⁻¹): 3433 (OH); 2960; 2936 (CH₂CH₂).

E.M. CG/MS 70 eV m/z (int. rel.): 414 (M⁺); 396 (34,4); 381 (31,5); 329 (47,1); 255 (36,1); 231 (25,4); 213 (49,0); 161 (42,7); 160 (25,8); 93 (54,2); 43 (100).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) ppm: 0,68 (s, 3H, CH₃); 0,78 (s, 3H, CH₃); 0,80 (s, 3H, CH₃); 0,83 (s, 3H, CH₃); 0,95 (s, 3H, CH₃); 0,95 (s, 3H, CH₃); 0,99 (s, 3H, CH₃); 3,5 (m, 1H, H-3); 5,2 (m, 1H, H-6).

RMN ¹³C (20 MHz, CDCl₃) ppm: 11,9 (C-18, C-29); 18,7 (C-21); 18,9 (C-27); 19,3 (C-19); 19,6 (C-26); 21,1 (C-11); 23,0 (C-28); 24,2 (C-15); 26,1 (C-23); 28,1 (C-16); 29,1 (C-25); 31,6 (C-2); 31,8 (C-7, C 8); 33,9 (C-22); 36,0 (C-20); 36,4 (C-10); 37,2 (C-1); 39,7 (C-12); 42,3 (C-13); 45,8 (C-24); 50,1 (C-9); 56,1 (C-17); 56,7 (C-14); 71,7 (C-3); 121,6 (C-6); 140,7 (C-5).

3- β -D-O-glicopiranosil sitosterol tetraacetilado

RMN ¹³C (20 MHz, CDCl₃) ppm: 11,0 (C-29); 11,9 (C-18); 18,7 (C-21); 18,9 (C-27); 19,2 (C-19); 19,7 (C-26); 20,9 (C-11); 23,0 (C-28); 24,2 (C-15); 26,1 (C-23); 28,1 (C-16); 29,1 (C-25); 29,5 (C-2); 31,8 (C-7, C-8); 34,0 (C-22); 36,0 (C-20); 36,5 (C-10); 37,2 (C-1); 38,9 (C-4); 39,7 (C-12); 42,3 (C-19); 45,8 (C-24); 50,2 (C-9); 56,1 (C-17);

56,7 (C-14); 61,9 (C6'); 68,7 (C-4'); 71,5 (C-5'); 71,7 (C-2'); 73,0 (C-3'); 80,0 (C-3); 99,6 (C-1'); 122,0 (C-6); 140,3 (C-5).

Mistura dos ésteres do ácido ursólico e oleonólico:

IV: $\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$ (cm⁻¹): 3636-3333 (OH), 2947 (CH₃, CH₂), 1722 (C=O); 1234 (C-O).

E.M. CG/MS 70 eV m/z (int. rel.)

1a: 470 (M⁺), 262 (49,7); 247 (2,3); 207 (41,2); 203 (100); 189 (20,1); 133 (22,5).

2a: 470 (M⁺), 247 (0,2); 207 (69,2); 203 (96,5); 189 (27,6); 133 (87,9).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) ppm: 0,68; 0,70; 0,74; 0,80; 0,83; 0,88; 0,91; 0,94; 0,98; 1,03 (s, 3H, CH₃); 2,2 (d, 1H, J = 14 Hz, H-18); 2,8 (dd, 1H, J = 14,0 e 5,0 Hz, H-18); 3,56 (s, 3H, OCH₃); 3,58 (s, 3H, OCH₃); 5,21 (m, 2H, H-12).

Éster metílico do ácido arjunólico

IV $\nu_{\text{max}}^{\text{film}}$ (cm⁻¹): 3620 – 3180 (OH); 1740 (C-O)

E.M. CG/MS 70 eV m/z (int. rel.): 502 (M⁺); 262 (45,1); 247 (3,4); 239 (0,05), 221 (0,5); 203 (100); 189 (19,3); 187 (13,8); 133 (25,0).

RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) ppm: 0,69 (s, 3H, CH₃); 0,17 (s, 3H, CH₃); 0,88 (s, 3H, CH₃); 0,88 (s, 3H, CH₃); 0,91 (s, 3H, CH₃); 0,97 (s, 3H, CH₃); 1,1 (s, 3H, CH₃); 2,8 (dd, 1H,

J = 14,0 e 5,0 Hz, H-18); 3,4 (m, 1H, H-3); 3,6 (s, 3H, OCH₃); 5,2 (s, 1H, H-12).

REFERÊNCIAS

1. Joly, A.B.; *Botânica*, Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo (1966).
2. Corrêa, M.P.; *Dicionário de Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*, Ministério da Agricultura – Imprensa Nacional – Rio de Janeiro (1974).
3. Chenerly, E.M.; *Kew. Bull.* (1948), 2, 173.
4. Medeiros, R.A.; Handasan, M.; *Plant Soil* (1985), 88, 433.
5. Myanishi, K.; Kellmann, M.; *Can. J. Bot.* (1986), 64, 1244.
6. Handasan, M.; *Plant. Soil* (1982), 65, 265.
7. Kellman, M.; *J. Ecol.* (1979), 67, 565.
8. Vellozo, E.S.; Stefanello, M.E.A.; Roque, N.F.; Resumos da X RESEM (1988), 54, João Pessoa.
9. Marini-Bettolo, G.B.; Delle Monache, F.; Gonçalves de Lima, O.; Barros Coelho, S.; *Gazz. Chem. Ital.* (1971), 101, 41.
10. Gastmans, J.P.; Furlan, M.; Emerenciano, V. de P.; Roque, N.F.; Bussolini A.C.; *Química Nova* (1989), 12, 25.
11. Doddrell, D.M.; Khong, P.W.; Lewis, K.G.; *Tetrahedron Lett.* (1974), 2381.
12. Emerenciano, V. de P.; Roque, N.F.; Furlan, M.; Torres, L.M.B.; *Anal. Chim. Acta.* (1990), 236, 501.