

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Estudo Fitoquímico de
***Myrcia rotundifolia* (Berg.) Legrand.**
(Myrtaceae)

Martins Dias de Cerqueira

Salvador
2002

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Estudo fitoquímico de
Myrcia rotundifolia (Berg.) Legrand. (Myrtaceae)**

Martins Dias de Cerqueira

Orientador: Prof. Dr. Frederico Guaré Cruz

Dissertação submetida ao Colegiado de Pós-graduação em Química do Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Química na área de concentração em Química Orgânica.

Salvador
2002

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Frederico Guaré Cruz
(Orientador – IQ / UFBA)

Prof. Dr. Silvio do Desterro Cunha
(IQ / UFBA)

Prof. Dr. Massuo Jorge Kato
(IQ / USP)

Homologado pelo Colegiado dos Cursos de Pós-Graduação em Química
Em ___/___/_____.

“Desde o minúsculo átomo até ao maior dos mundos, todas as coisas, animadas e inanimadas, em sua serena beleza e perfeito gozo, declaram que Deus é amor.”

Ellen Gould White

Dedico este trabalho a todos aqueles que sempre acreditaram em mim, especialmente a minha mãe *in memorium*, a meu pai, a minha amada Ruthinha e ao meu querido Maurício

AGRADECIMENTOS

Ao Deus Todo-Poderoso por tudo que Ele fez e faz em minha vida.

Ao Prof. Dr. Frederico Guaré Cruz, pela sua orientação, apoio e, principalmente pela sua amizade.

A professora Maria Lenise da Silva Guedes pela identificação botânica da espécie *Myrcia rotundifolia* e pela participação na coletas dos espécimens vegetais.

Aos colegas Floricéa, Marcus, Flávia, Josanaide, Mayara, Vanessa, Edson, Suzimone, Valter, Luís, Ilton, André, Manuela, Vânia, Luciana, Pedro e Débora pela agradável convivência, pela constante aprendizagem e pelas contribuições a este trabalho.

A Nadja pela inestimável ajuda durante este trabalho.

A todos os meus professores do curso de graduação e pós-graduação, especialmente a Anair, Nídia, Soraia, Zênis e Jorge, pelos ensinamentos acadêmicos e pela amizade.

A todos os funcionários do Instituto de Química, especialmente a Veralice, Alice, Ana, Egídia, Judite, Edna, Railda, Rose, José Carlos, Valdinei e Marcos que me proporcionam uma agradável convivência na realização dos estudos e trabalhos.

À professora Adelaide Viveiros pelos ensinamentos, apoio, confiança depositada quando ainda um calouro do curso de química, pela amizade, conselhos e, sobretudo por ser uma outra mãe para mim.

Ao meu querido irmão Maurício por sempre estar me ensinando acerca do amor e da responsabilidade.

Aos meus irmãos em Cristo pelas constantes orações.

A minha amada Ruthinha pelo companheirismo, cumplicidade, confiança e amor constantes, tão importantes para o sucesso em cada aspecto da vida.

A CAPES pelo indispensável apoio financeiro.

A Deus, o princípio e o fim de tudo.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS _____	v
LISTA DE FIGURAS _____	vi
ABREVIATURAS E SÍMBOLOS _____	ix
RESUMO _____	xii
ABSTRACT _____	xiii

1. INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos Botânicos da Família Myrtaceae _____	1
1.1.1. Aspectos Botânicos do Gênero <i>Myrcia</i> _____	4
1.2 Aspectos Químicos da Família Myrtaceae _____	6
1.2.1. Aspectos Químicos do Gênero <i>Myrcia</i> _____	21
1.3 Óleos Voláteis na Família Myrtaceae – Atividades Biológicas _____	27
1.4 Terpenos _____	30
1.4.1 Monoterpenos _____	32
1.4.2 Sesquiterpenos _____	34
1.4.3 Triterpenos _____	36

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Coleta e Identificação do Material Vegetal _____	39
2.2 Reagentes e Equipamentos _____	40
2.3 Obtenção dos Extratos _____	42
2.4 Obtenção e Análise dos Óleos Voláteis _____	44
2.5 Isolamento dos constituintes químicos da <i>Myrcia rotundifolia</i>	
2.5.1 Extrato Hexânico _____	47
2.5.1.1 Isolamento da Substância I _____	48

2.5.1.2 Isolamento da Substância II _____	49
2.5.1.3 Obtenção da Mistura das Substâncias III, IV, V e VI _____	42
2.5.2 Extrato Diclorometânico _____	51
2.5.2.1 Obtenção da Mistura das Substâncias VII e VIII _____	54
2.5.2.2 Isolamento da Substância IX _____	56
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	
3.1 Constituintes Químicos Isolados _____	58
3.1.1 Identificação e Determinação Estrutural dos Constituintes Químicos Isolados	
3.1.1.1. Identificação da Substância I: ESQUALENO _____	60
3.1.1.2. Identificação da Substância II: FRIEDELINA _____	65
3.1.1.3. Identificação das Substâncias III (β -SITOSTEROL), IV (ESTIGMASTEROL), V (LUPENONA) e VI (ÁCIDO BETULÍNICO) _____	68
3.1.1.4. Identificação das Substâncias VII (LUPEOL), VIII (β -AMIRINA) _____	73
3.1.1.5. Identificação da Substância IX (ÁCIDO ARJUNÓLICO) _____	77
3.2. Análise dos Óleos Voláteis _____	84
CONCLUSÕES _____	100
ANEXO _____	101
REFERÊNCIAS _____	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Estrutura de algumas substâncias isoladas de espécies de Myrtaceae	7
Tabela 02: Substâncias isoladas de espécies do gênero <i>Myrcia</i>	22
Tabela 03: Dados de RMN de ^{13}C do ESQUALENO [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]	62
Tabela 04: Dados de RMN de ^{13}C da FRIEDELINA [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]	66
Tabela 05: Dados de RMN de ^{13}C das Substâncias β -SITOSTEROL, ESTIGMASTEROL, ÁCIDO BETULÍNICO e LUPENONA [75 MHz, CDCl_3 , δ (ppm)]	70
Tabela 06: Dados de RMN de ^{13}C do LUPEOL e da β -AMIRINA (75 MHz / CDCl_3)	75
Tabela 07: Dados de RMN de ^{13}C do ÁCIDO ARJUNÓLICO [75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, δ (ppm)]	81
Tabela 08: Percentuais relativos e Índices de Kováts das substâncias contidas nos óleos voláteis obtidos das folhas de <i>Myrcia rotundifolia</i> , coletadas no Parque do Abaeté	85
Tabela 09: Espectros de massas e estruturas das substâncias identificadas nos óleos essenciais estudados	87

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Fotos de flores de espécies do gênero <i>Myrcia</i> _____	4
Figura 02: Folhas de <i>Myrcia rotundifolia</i> _____	4
Figura 03: Rotas biossintéticas para o IPP _____	31
Figura 04: Formação do precursor geral dos monoterpenos, o E-pirofosfato de geranila _____	32
Figura 05: Estrutura do canabinol, principal componente psicoativo da <i>Cannabis sativa</i> (maconha) _____	33
Figura 06: Estrutura de alguns monoterpenos com atividade biológica _____	33
Figura 07: Estrutura do pirofosfato de E,E-farnesila (precursor dos sesquiterpenos) _____	34
Figura 08: Estruturas de sesquiterpenos que são agentes alelopáticos _____	34
Figura 09: Estruturas de fitoalexinas sesquiterpênicas _____	54
Figura 10: Estruturas do debneiol, sesquiterpeno com atividade fungitóxica, e do gossipol, sesquiterpeno com atividade contraceptiva _____	35
Figura 11: Estrutura dos sesquiterpenos α -copaeno (caiomônio) e do τ -muurolol (sinomônio) _____	35
Figura 12: Estrutura do 2,3-epóxido de esqualeno (numa conformação favorável à ciclização) e do cicloartenol resultante da ciclização _____	36
Figura 13: Estruturas dos esteróides β -sitosterol, estigmasterol e campesterol, comuns em plantas _____	37
Figura 14: Estruturas dos triterpenos ácido betulínico, ácido morônico e cicloartenona _____	38

Figura 15: Vista do Parque Metropolitano do Abaeté _____	39
Figura 16: Esquema de preparação dos extratos diclorometânico e acetato de etila da <i>Myrcia rotundifolia</i> _____	43
Figura 17: Aparelhagem adaptada tipo Clevenger _____	44
Figura 18: Esquema de obtenção e fracionamento do extrato hexânico da <i>Myrcia rotundifolia</i> _____	47
Figura 19: Esquema de isolamento da Substância I _____	48
Figura 20: Esquema de isolamento da Substância II _____	50
Figura 21: Esquema de isolamento das Substâncias III, IV, V e VI _____	52
Figura 22: Esquema de fracionamento do extrato diclorometânico da <i>M. rotundifolia</i> _____	53
Figura 23: Esquema de isolamento das Substâncias II, VII e VIII _____	55
Figura 24: Esquema de isolamento da Substância IX _____	57
Figura 25: Estruturas das substâncias identificadas no caule de <i>M. rotundifolia</i> _____	59
Figura 26: Estrutura do ESQUALENO _____	60
Figura 27: Espectro de RMN ¹ H do ESQUALENO _____	63
Figura 28: Espectro de RMN ¹³ C do ESQUALENO _____	63
Figura 29: Espectro de DEPT 135° do ESQUALENO _____	64
Figura 30: Espectro de massas do ESQUALENO _____	64
Figura 31: Estrutura da FRIEDELINA _____	65
Figura 32: Espectro de RMN de ¹ H da FRIEDELINA _____	67
Figura 33: Espectro de RMN de ¹³ C da FRIEDELINA _____	67
Figura 34: Estruturas das Substâncias β-SITOSTEROL, ESTIGMASTEROL, ÁCIDO BETULÍNICO e LUPENONA _____	68
Figura 35: Espectro de RMN ¹ H da mistura de β-SITOSTEROL, ESTIGMASTEROL, ÁCIDO BETULÍNICO e LUPENONA _____	71

Figura 36: Espectro de RMN de ^{13}C da mistura de β -SITOSTEROL, ESTIGMASTEROL, ÁCIDO BETULÍNICO e LUPENONA	71
Figura 37: Ampliação da região de 50 à 85 ppm do espectro de RMN ^{13}C da mistura de β -SITOSTEROL, ESTIGMASTEROL, ÁCIDO BETULÍNICO e LUPENONA	72
Figura 38: Ampliação da região de 100 à 220 ppm do espectro de RMN ^{13}C da mistura de β -SITOSTEROL, ESTIGMASTEROL, ÁCIDO BETULÍNICO e LUPENONA	72
Figura 39: Estruturas das Substâncias VII e VIII	73
Figura 40: Espectro de RMN de ^1H da mistura de LUPEOL e β -AMIRINA	76
Figura 41: Espectro de RMN de ^{13}C da mistura de LUPEOL e β -AMIRINA	76
Figura 42: Estrutura do ÁCIDO ARJUNÓLICO	77
Figura 43: Espectro de RMN de ^1H do ÁCIDO ARJUNÓLICO	82
Figura 44: Espectro de RMN de ^{13}C do ÁCIDO ARJUNÓLICO	82
Figura 45: Espectro de DEPT 135 do ÁCIDO ARJUNÓLICO	83
Figura 46: Cromatograma do óleo essencial obtido das folhas de <i>Myrcia rotundifolia</i> coletada em 28/10/2001	101
Figura 47: Cromatograma do óleo essencial obtido das folhas de <i>Myrcia rotundifolia</i> coletada em 12/02/2001	101
Figura 48: Cromatograma do óleo essencial obtido das folhas de <i>Myrcia rotundifolia</i> coletada em 14/03/2002	102
Figura 49: Cromatograma do óleo essencial obtido das folhas de <i>Myrcia rotundifolia</i> coletada em 21/05/2002	102
Figura 50: Cromatograma do óleo essencial obtido das folhas de <i>Myrcia rotundifolia</i> coletada em 17/07/2002	103
Figura 51: Cromatograma do óleo essencial obtido das folhas de <i>Myrcia rotundifolia</i> coletada em 17/10/2002	103

Figura 52: Cromatograma do diclorometano utilizado na coleta das amostras de óleos essenciais das folhas de *Myrcia rotundifolia* coletadas em 28/10/2001, 14/03/2002, 21/05/2002 e 17/10/2002 _____ 104

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AcCoA – Acetilcoenzima A

AcOEt – Acetato de etila

CC – Cromatografia em coluna

CD – Camada delgada

CCDC – Cromatografia em camada delgada comparativa

CCDP – Cromatografia em camada delgada preparativa

CG – Cromatografia a gás

CG/EM – Cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas

CoA – Coenzima A

COLOC – Correlation spectroscopy via long-range couplings [Espectro de correlação heteronuclear ($^{13}\text{C} - ^1\text{H}$) a duas e três ligações (^2J , ^3J)]

d – Dupleto

DCM – Diclorometano

dd – Duplo dupleto

DEPT – Distortionless Enhancement by Polarization Transfer (Intensificação do sinal sem distorção por transferência de polarização)

DMAPP – Pirofosfato de dimetilalila

DMSO – Dimetilsulfóxido

HETCOR – Heteronuclear correlation [espectro de correlação heteronuclear ($^{13}\text{C} - ^1\text{H}$) a uma ligação (^1J)]

HMG – Hidroximetilglutaril

IPP – Isopentenyl diphosphate (difosfato de isopentenila)

MVA – ácido mevalônico

MVAP – Fosfato do ácido mevalônico

MVAPP – Difosfato do ácido mevalônico

P – Fosfato

PP – Pirofosfato

RMN – Ressonância magnética nuclear

TPP – Difosfato de tiamina

RESUMO

A presente dissertação descreve o isolamento, a identificação e a determinação estrutural de metabólitos secundários presentes nos extratos orgânicos obtidos do caule da espécie *Myrcia rotundifolia* Berg. (Myrtaceae), assim como o estudo dos óleos voláteis da mesma. A *Myrcia rotundifolia* é uma espécie que ocorre nas restingas do Parque Metropolitano do Abaeté, Salvador, que está sendo quimicamente estudada pela primeira vez.

Foram estudados os extratos orgânicos obtidos dos caules e os óleos essenciais obtidos das folhas em diferentes meses do ano. As substâncias foram isoladas dos extratos orgânicos através de fracionamentos cromatográficos usuais. Com isso, dos extratos hexânico e da fase em diclorometano obtida por partição do extrato metanólico, foram isolados e identificados os triterpenos esqualeno, friedelina e ácido arjunólico; foram identificados em mistura: os triterpenos ácido betulínico e lupenona com os esteróides β -sitosterol e estigmasterol; e os triterpenos lupeol e β -amirina.

As substâncias foram identificadas através das análises de dados espectrométricos de massas e de diversas técnicas de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e de ^{13}C .

Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação das folhas frescas. A análise dos óleos foi feita através de Cromatografia a Gás, Cromatografia a Gás acoplada a Espectrometria de Massas e pela medida dos índices de retenção das substâncias através da co-injeção de padrões de hidrocarbonetos. Observamos pouca variação na composição química dos óleos essenciais, havendo uma predominância de alguns sesquiterpenos como α -copaeno, β -cariofileno, germacreno D e δ -cadineno.

ABSTRACT

This work describes the composition of the volatile oils from leaves of *Myrcia rotundifolia* Berg. and the isolation, identification and structural elucidation of secondary metabolites from organic extracts of stems. *M. rotundifolia* is a specie found on sand dunes in Parque Metropolitano do Abaeté, Salvador, it has been studied chemically for the first time.

After usual chromatographic procedures with hexane extract and dichlorometane phase of the methanol extract were identified squalene, friedelin and arjunolic acid, a mixture of the betulinic acid, lupenone, β -sitosterol and stigmasterol, and a mixture of the lupeol and β -amirin. The identification of the compounds was accomplished by spectral analysis such as ^1H , ^{13}C NMR (including DEPT) and mass spectra.

The volatile oils were obtained from fresh leaves by hydrodistillation. The leaves were harvested in six different months of the year. The oils were analysed by gas chromatography, gas chromatography interfaced with a mass selective detector and by Kovats index calculated by co-injection with a standard saturated *n*-alkanes homologous series.

The results showed small differences in oils composition. The major constituents of the essential oils were the sesquiterpenes α -copaene, β -cariophyllene, germacrene D and δ -cadinene.