



Aplicação de RMN e Métodos Quimiométricos na Quimiotaxonomia de Líquens

Gláucia B. Alcantara (PG)^{*1}, Andersson Barison (PG)¹, Antonio G. Ferreira (PQ)¹, Neli K. Honda (PQ)², Márcia M. C. Ferreira (PQ)³

¹ Lab. de RMN, Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos, 13565-905, São Carlos/SP; ² Lab. de Pesquisa LP-2, Departamento de Química, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Cidade Universitária, 79070-900, Campo Grande/MS, ³ Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, 13083-970, Campinas/SP.

glauucia@dq.ufscar.br

Introdução

Líquens, organismos simbióticos compostos por um fungo e uma ou mais algas formando uma íntima união biológica, são encontrados nos mais variados habitats, inclusive naqueles onde as condições para a vida são extremas.

Dado à constância de composição química e ao fato de que a diferenciação morfológica nem sempre é fácil, as análises químicas de líquens para fins taxonômicos são muito empregadas. A determinação quimiotaxonômica desses organismos é comumente realizada por reações de coloração no talo, microcristalização, análises cromatográfica, por fluorescência e por espectrometria de massas¹. Alguns trabalhos empregando a RMN de ¹³C de polissacarídeos de líquens também tem mostrado a possibilidade de correlação entre espécimes de uma mesma família², no entanto, trata-se de uma técnica trabalhosa pois envolve a análise de espectros com alto grau de semelhança entre si.

A RMN aliada à quimiometria já vem sendo usada para a caracterização de plantas³. Dado ao grande número de informações contidas no espectro de RMN de ¹H de uma amostra, a quimiometria tem se mostrado uma ferramenta valiosa, demonstrando como essa pode ser usada, como uma primeira avaliação, para determinar e caracterizar plantas, permitindo reconhecer as similaridades e diferenças na composição das amostras.

No presente trabalho, duas análises de RMN de líquens foram efetuadas. Em uma, a partir de espectros de RMN HR-MAS, foram

estudadas amostras do material vegetal intacto; na outra, após efetuada a extração dos metabólitos secundários, o extrato foi analisado por RMN de líquidos.

A partir dos espectros de RMN de ¹H, foram realizadas as análises quimiométricas a fim de correlacionar os espécimes, gêneros e famílias, propondo o emprego destes para a quimiotaxonomia dos líquens.

Material e Métodos

Espectros de RMN de ¹H de onze amostras de líquens pertencentes às famílias Peltigerales e Parmeliaceae, previamente identificadas, foram analisadas em triplicata.

Na análise líquida (RMN de Líquidos), após a extração em acetona sob aquecimento brando e evaporação do solvente, o extrato foi solubilizado em DMSO-*d*₆ e analisado por RMN.

Na análise semi-sólida (RMN HR-MAS) as amostras, previamente moídas em moinho criogênico, foram analisadas diretamente por RMN em uma sonda de HR-MAS.

Após a obtenção dos espectros, o tratamento dos dados foi efetuado no programa Pirouette.

Discussão

Os espectros de RMN de ¹H dos extratos (análise líquida) apresentaram sinais característicos de seus metabólitos secundários majoritários. Através de Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de *Clusters* (HCA), foi possível discriminar os líquens quanto aos seus gêneros e espécimes (Figura 1), onde os espécimes referentes a um mesmo gênero

foram agrupados (retângulo tracejado) e discriminados dos demais gêneros estudados. No entanto, na análise líquida não foi possível a caracterização das famílias dos líquens.



Figura 1. Gráfico de Scores (PC1xPC2) das amostras de líquens da Família Parmeliaceae (análise líquida).

Na análise semi-sólida, os espectros de RMN HR-MAS de ^1H , apresentaram sinais característicos de polissacarídeos de líquens. Com a aplicação de métodos quimiométricos, observou-se uma satisfatória discriminação entre as amostras, sendo possível agora a caracterização dos líquens a níveis de famílias, gêneros e espécimes. A Figura 2 ilustra a discriminação entre as famílias Phisciaceae (em vermelho) e Parmeliaceae (em azul). Apenas uma amostra apresentou comportamento anômalo (em verde).

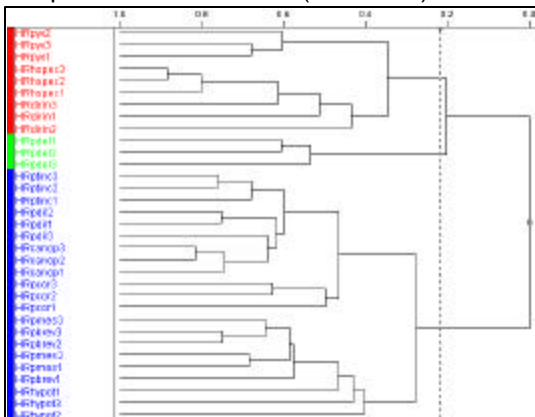


Figura 2. Gráfico de HCA de todas as amostras de líquens (análise semi-sólida).

A discriminação entre os três gêneros estudados da família Phisciaceae também foi observada (Figura 3). Além disso, na análise de seis espécimes do gênero *Parmotrema*, pertencente à família Parmeliaceae,

observou-se que por meio de PCA dos respectivos espectros de RMN HR-MAS de ^1H , foi possível a sua discriminação.

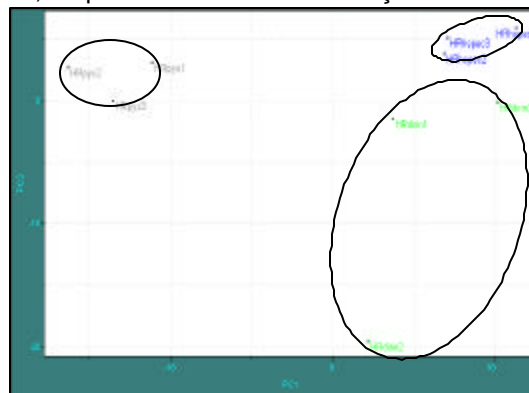


Figura 3. Gráfico de Scores (PC1xPC2) das amostras de líquens da Família Phisciaceae (análise semi-sólida).



Figura 4. Gráfico de Scores PC1xPC2 de seis espécimes de líquens do gênero *Parmotrema* (análise semi-sólida).

Conclusões

A RMN aliada a quimiometria tem se mostrado uma ferramenta útil na determinação quimiotaxonômica de líquens. Por meio da RMN de líquidos, pode-se efetuar a caracterização de gêneros e espécimes. Por RMN HR-MAS, uma técnica que permite a análise direta de materiais semi-sólidos e ainda dispensa qualquer tipo de pré-tratamento de amostra, a discriminação foi mais eficiente, separando as famílias, gêneros e espécimes diferentes.

Referências bibliográficas

- ¹ Honda, N. K. Vilegas, W. *Quím. Nova.* **1998**, 21(6): 110.
- ² Yokota, I. *et al. Carbohyd. Res.* **1979**, 96, 252.
- ³ Ward, J. L. *et al. Phytochem.* **2003**, 62, 949.