



Serviço Público Federal
Ministério da Educação



Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Instituto de Química
Programa Multi-Institucional de Doutorado em Química da
Universidade Federal de Goiás, Universidade Federal de Mato
Grosso do Sul e Universidade Federal de Uberlândia

ESTUDO QUÍMICO DAS FOLHAS DE *Trichilia silvatica*
(MELIACEAE) E DAS SEMENTES DE *Trichilia stellato-tomentosa*
(MELIACEAE)

Aloízio de Oliveira Soares

Prof. Dr. Walmir Silva Garcez

CAMPO GRANDE-MS - 2013

Unidade XI – Instituto de Química – UFMS

Cidade Universitária, s/n * Caixa Postal 549 Fone/Fax 067xx3345-7009 Fone 067xx3345-7010
79070-900 * Campo Grande (MS) *

<http://www.ufms.br> e-mail: pgquimica.propp@ufms.br



Serviço Público Federal
Ministério da Educação



Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Instituto de Química
Programa Multi-Institucional de Doutorado em Química da
Universidade Federal de Goiás, Universidade Federal de Mato Grosso
do Sul e Universidade Federal de Uberlândia

ESTUDO QUÍMICO DAS FOLHAS DE *Trichilia silvatica*
(MELIACEAE) E DAS SEMENTES DE *Trichilia stellato-tomentosa*
(MELIACEAE)

Aloízio de Oliveira Soares

Tese apresentada ao Programa Multi-Institucional de Doutorado em Química da Universidade Federal de Goiás, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e Universidade Federal de Uberlândia para obtenção do título de Doutor em Química (área de concentração: Química de Produtos Naturais).

Prof. Dr. Walmir Silva Garcez

CAMPO GRANDE-MS - 2013

Unidade XI – Instituto de Química – UFMS

Cidade Universitária, s/n * Caixa Postal 549 Fone/Fax 067xx3345-7009 Fone 067xx3345-7010
79070-900 * Campo Grande (MS) *
<http://www.ufms.br> e-mail: pgquimica.propp@ufms.br

*“Estude tudo o que quiser.
Entender é bom e aprender é necessário,
mas nunca se esqueça de que entre
o saber e o fazer há todo um mundo.
Saber é o mapa,
mas o mapa nada é sem a jornada.”*

Barbara Ramsay

*Dedico este trabalho a uma família que
aumenta (ou)!*

AGRADECIMENTOS

A Deus, infinitamente bom, que me concedeu o benefício deste aprendizado.

Ao Orientador dos trabalhos, Prof. Dr. Walmir Silva Garcez, pelas oportunidades que remontam desde a graduação, mestrado e agora no doutorado. Muito obrigado pelo apoio, incentivo, confiança e, principalmente, paciência, essenciais na formação de um ser.

À minha querida esposa, Luzinátia Ramos Soares, companheira de curso, sempre participante na minha formação incentivando-me sempre. Aos nossos filhos, Miguel e Laura, mosteiros de vida renovada e superações.

À matriarca da família Mendes Ramos, Dona Dina, apoio solícito e presteza atendida.

Aos Prof. Dr. Joaquim Corsino e Prof^a. Fernanda Rodrigues Garcez pelas contribuições em minha formação.

À Dra. Edilene Delphino Rodrigues pelo incentivo e prontidão que sempre teve para contribuir com a finalização deste trabalho.

À Msc. Luciana Marçal Ravaglia pela obtenção dos espectros de RMN.

Aos bolsistas de iniciação científica, Adrienn Gianni Leguizamon Ferreira e Ivan Wider Rezende, pela contribuição nos trabalhos de bancada.

A todos os companheiros de LP1 citados na lista de integrantes no email do Google Groups.

À FUNDECT pelo apoio financeiro.

Ao Colégio Militar de Campo Grande pela concessão desta Ação de Capacitação.

À Major Rejane Carvalho Wölfert pelo apoio nas atividades no Colégio Militar de Campo Grande quando de minha ausência.

ÍNDICE

ÍNDICE	i
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE ABREVIATURAS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE ESQUEMAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE ESPECTROS	x
1 – INTRODUÇÃO.....	1
1.1 - A FAMÍLIA MELIACEAE – SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS E SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS.....	1
1.2 - ESTUDOS COM TRICHILIAS.....	3
1.2.1 - <i>Trichilia silvatica</i>	5
1.2.2 - <i>Trichilia stellato-tomentosa</i>	5
2 – OBJETIVOS.....	6
3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	7
3.1 - SUBSTÂNCIAS OBTIDAS DAS SEMENTES DE <i>Trichilia stellato-tomentosa</i> (MELIACEAE)	7
3.1.1 - Identificação do 7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil- azadirona (1)....	7
3.1.2 - Identificação do 7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)- pentanoil-nimocinol (2).....	18
3.1.3 - Identificação do 6 α ,12 β -di-hidróxi-7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-1,2-di-hidrogedunina (3).	24
3.1.4 - Identificação do 12 α -hidróxi-7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-gedunina (4) e do 12 α -hidróxi-7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-1,2-di-hidrogedunina (5).	41
3.2 - SUBSTÂNCIAS OBTIDAS DAS FOLHAS DE <i>Trichilia silvatica</i> (MELIACEAE)	51
3.2.1 - Identificação do 2 α , 3 β , 4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona (6).....	51
3.2.2 - Identificação do 2 β , 3 β , 4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona (7).....	55
3.2.3 - Identificação do Cneorubina X (8)	59
3.2.4 - Identificação do Kolavelool (9)	64

3.2.5 - Identificação do Kolavenol (10)	68
3.2.6- Identificação do γ -tocoferol (11)	72
3.2.7 - Identificação do O- β -D-glicopiranosil- β -sitosterol (12) e do O- β -D-glicopiranosil-estigmasterol (13)	76
4 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	79
4.1 – EQUIPAMENTOS E VIDRARIA.....	79
4.2. - <i>Trichilia stellato-tomentosa</i> (MELIACEAE).....	79
4.2.1 – Material vegetal.....	79
4.2.2 - Obtenção do extrato e partições.....	79
4.2.3 - Isolamento dos constituintes químicos.....	80
4.2.3.1 - Fracionamento cromatográfico em coluna de TSTSM.....	80
4.2.4 – Resultados do fracionamento.....	81
4.2.4.1 - Fração TSTSM06.....	81
4.2.4.2 - Fração TSTSM09.....	81
4.2.4.3 - Fração TSTSM10.....	81
4.2.4.4 - Fração TSTSM11.....	81
4.3 – <i>Trichilia silvatica</i> (MELIACEAE)	82
4.3.1 – Material vegetal.....	82
4.3.2 - Obtenção do extrato e partições.....	82
4.3.3 - Isolamento dos constituintes químicos.....	82
4.3.3.1 – Fracionamento cromatográfico em coluna de TSFH.....	82
4.3.4 – Resultados do fracionamento.....	83
4.3.4.1 - Fração TSFH 05.....	83
4.3.4.1.1 – Fração TSFH 0508.....	83
4.3.4.1.1.1 - Fração TSFH 050826.....	84
4.3.4.1.1.2 - Fração TSFH 050841.....	84
4.3.4.1.2 - Fração TSFH 0510.....	84
4.3.4.1.3 - Fração TSFH 0511.....	84
4.3.4.1.3.1 - Fração TSFH 051138.....	84
4.3.4.2 - Fração TSFH 10.....	84
4.3.4.2.1 - Fração TSFH 1005.....	85

4.3.4.2.2 - Fração TSFH 1006.....	85
4.3.4.2.2.1 - Fração TSFH 100630.....	86
4.3.4.2.2.2 - Fração TSFH 100665.....	86
4.4 - ESQUEMAS.....	87
5 – CONSIDERAÇÃO FINAIS.....	94
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95

RESUMO

O estudo químico das folhas de *Trichilia silvatica* (Meliaceae) e das sementes de *Trichilia stellato-tomentosa* (Meliaceae), utilizando métodos cromatográficos e análise espectroscópica por RMN de ^1H e ^{13}C , uni e bidimensionais, levou à caracterização de treze substâncias. De *T. silvatica*, para a qual há citação de propriedades inseticidas contra *Spodoptera frugiperda*, foram isolados os diterpenos Kolavelool, Kolavenol e Cneorubina X, os esteroides O- β -D-glicopiranosil- β -sitosterol, O- β -D-glicopiranosil-estigmasterol, $2\beta,3\beta,4\beta$ -tri-hidroxipregnan-16-ona e $2\alpha,3\beta,4\beta$ -tri-hidroxipregnan-16-ona e o γ -tocoferol. De *T. stellato-tomentosa* (Meliaceae) foram isolados cinco limonoides inéditos, sendo dois derivados de azadirona [7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-azadirona e 7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-nimocinol] e três derivados da gedunina [$6\alpha,12\beta$ -di-hidróxi-7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-1,2-di-hidrogedunina, 12α -hidróxi-7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-gedunina e 12α -hidróxi-7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-1,2-di-hidrogedunina]. Destas substâncias o Kolavelool, Kolavenol e Cneorubina X, estão sendo relatadas pela primeira vez no gênero *Trichilia*. O esteroide $2\alpha,3\beta,4\beta$ -tri-hidroxipregnan-16-ona havia sido isolado anteriormente apenas de *Azadirachta indica*, enquanto $2\beta,3\beta,4\beta$ -tri-hidroxipregnan-16-ona já foi caracterizada em várias espécies de Meliaceae.

ABSTRACT

The chemical study of the leaves of *Trichilia silvatica* (Meliaceae) and the seeds of the *Trichilia stellato-tomentosa* (Meliaceae), using chromatographic methods and spectroscopic analysis of ^1H and ^{13}C NMR, one and two-dimensional, led to the characterization of thirteen substances. From the *Trichilia silvatica* (Meliaceae), to which there are insecticidal properties citations against *Spodoptera frugiperda*, were isolated the diterpenes Kolavelool, Kolavenol and Cneorubine-X, the steroids O- β -D-glucopyranosyl- β -sitosterol, O- β -D-glucopyranosyl-stigmasterol, 2β , 3β , 4β -trihydroxypregnan-16-one and 2α , 3β , 4β -trihydroxypregnan-16-one and the γ -tocopherol. From the *Trichilia stellato-tomentosa* (Meliaceae), five new limonoids were isolated, two of them derivatives of azadirone [7-deacetyl-7-(2',3'-dimethyl)pentanoyl-azadirone and 7-deacetyl-7-(2',3'-dimethyl)-pentanoyl-nimocinol], and three derivatives of gedunine [6α , 12β -dihydroxy-7-deacetyl-7-(2',3'-dimethyl)-pentanoyl-1,2-dihydrogedunine, 12α -hydroxy-7-desacetyl-7-(2',3'-dimethyl)-pentanoyl-gedunine and 12α -hydroxy-7-deacetyl-7-(2',3'-dimethyl)-pentanoyl-1,2-dihydrogedunine]. These substances, the Kolavelool, Kolavenol and Cneorubine-X, are being reported for the first time in the genus *Trichilia*. The steroid 2α , 3β , 4β -trihydroxypregnan-16-one had been isolated previously of *Azadirachta indica*, while 2β , 3β , 4β -trihydroxypregnan-16-one has been characterized in several species of Meliaceae.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

δ - Deslocamento químico em parte por milhão

$[\alpha]_D^T$ - Rotação óptica específica a T(°C)

AcOEt - Acetato de etila

C₅D₅N - Piridina deuterada

C₆D₆ - Benzeno deuterado

CDCl₃ - Clorofórmio deuterado

COSY - “Correlation spectroscopy”

d - dubleto

dd - duplo dubleto

ddd - duplo duplo dubleto

DEPT - “Distortionless Enhancement by Polarization Transfer”

HMBC - “Heteronuclear Multiple Bond Correlation”

HSQC - “Heteronuclear Single Quantum Coherence”

J - Constante de acoplamento

m - multiplete

MeOH - Metanol

NOESY - “Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy”

RMN - Ressonância Magnética Nuclear

RMN ¹³C- Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13

RMN ¹H- Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

s - singleto

t - tripleto

LISTA DE FIGURAS

1- Estrutura da Azadiractina.....	2
2- Alguns compostos encontrados no gênero <i>Trichilia</i>	4
3- Sistema 1-en-3-ona da Substância 1	12
4- Anel furano C-3 substituído da Substância 1	13
5- Estrutura da Azadirona.	13
6- Estrutura parcial da Substância 1	13
7- Estrutura do conjunto adicional de sete sinais da substância 1	14
8- Estrutura da Substância 1	16
9- Estrutura do substituinte ligado a C-7 do esqueleto carbônico da substância 2	20
10- Estrutura da Substância 2	21
11- Furano C-3 substituído da Substância 3	26
12- Anel A da substância 3	27
13- Estrutura da Gedunina (GDN).	28
14- Estrutura da 1,2-di-hidrogedunina.	28
15- Correlações de NOE observadas para H-12 α (δ 4,77) no experimento NOESY da substância 3	30
16- Posição e orientação da hidroxila em C-12 em 3	30
17- Anel A, B, C e D da substância 3	30
18- Substituinte ligado à carbonila do grupo acetila em C-7 da substância 3	31
19- Vista geral da conformação de mínima energia para 3 com 12-OH- β	32
20- Vista geral da conformação de mínima energia para 3 com 12-OH- α	33
21- Ângulos diedros e constantes de acoplamentos H-12:H11 α e H-12:H-11 β calculados a partir da conformação de mínima energia para 3 com 12-OH – α	33
22- Ângulos diedros e constantes de acoplamentos H-12:H11 α e H-12:H-11 β calculados a partir da conformação de mínima energia para 3 com 12-OH – β	34
23- Vista geral da conformação de mínima energia para 1	35
24- Ângulos diedros e constantes de acoplamentos H-12:H11 α e H-12:H-11 β calculados a partir da conformação de mínima energia para 1	35
25- Estrutura da Substância 3	36
26- Estrutura da Substância 5	44
27- Estrutura da Substância 4	45

28- Correlações válidas para o componente majoritário: substância 3	45
29- Correlações observadas no Experimento HSQC da substância 3	46
30- Estrutura da Substância 6	53
31- Estrutura da Substância 7	57
32- Estrutura da Substância 8	61
33- Estrutura da Substância 9	66
34- Estrutura da Substância 10	69
35- Estrutura da Substância 11	73
36- Estrutura da Substância 12	77
37- Estrutura da Substância 13	77

LISTA DE ESQUEMAS

1 - Obtenção do extrato etanólico (TSTS), da fase metanólica (TSTSM) e fase residual (TTSR) dos frutos de <i>Trichilia stellato-tomentosa</i> (Meliaceae).....	87
2 – Fracionamento cromatográfico em coluna de TSTSM.....	88
3 – Obtenção do Extrato Etanólico e Partições Líquido/Líquido das Folhas de <i>Trichilia silvatica</i> (Meliaceae).	89
4 – Fracionamento cromatográfico em coluna de TSFH.	90
5 – Fracionamento Cromatográfico de TSFH 0510.	91
6 – Fracionamento Cromatográfico de TSFH 10.	92
7 – Fracionamento Cromatográfico de TSFH 1006.	93

LISTA DE TABELAS

1- Dados de RMN de ^1H e algumas correlações observadas no experimento COSY- ^1H - ^1H e NOESY- ^1H - ^1H de 1 (500 MHz, CDCl_3).....	9
2- Dados de RMN de ^1H e algumas correlações observadas no experimento COSY- ^1H - ^1H do grupo substituinte na estrutura de 1	14
3- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C e as correlações observadas nos experimentos HSQC e HMBC de 1 (500/125 MHz, CDCl_3) e dados de RMN de ^{13}C da Azadirona (Rodríguez, 2003) (CDCl_3).	17
4- Algumas correções nas atribuições dos deslocamentos químicos para o do nimocinol (Siddiqui, 1986) e os da substância 2	21
5- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3) das substâncias 2 e 1 (300/75 MHz, CDCl_3) e do Nimocinol (Não informado, CDCl_3) (Sindiqui, 1986).	22
6- Dados de RMN de ^1H e algumas correlações observadas no experimento COSY- ^1H - ^1H e NOESY de 3 (500 MHz, CDCl_3)	37
7- Dados de RMN de ^1H (300 e/ou 500 MHz), de RMN de ^{13}C (75 MHz), algumas correlações observadas no experimento HMBC de 3 (500/125 MHz, CDCl_3), dados de RMN de ^{13}C da substância 1 (75 MHz, CDCl_3) e da gedunina (100 MHz, CDCl_3) (De Paula <i>et al</i> , 1997).	38
8- Dados de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) e ^1H (500 e/ou 300 MHz, CDCl_3) obtidos para as substâncias 3 , 4 e 5	47
9- Dados de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) obtidos para as substâncias 1 , 2 , 3 , 4 e 5	48
10- Dados de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) obtidos para as substâncias 1 , 2 , 3 , 4 e 5	49
11- Dados de RMN de ^1H obtidos para a substância 6 (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) e do 2 α , 3 β , 4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona (Siddiqui, 2009) (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	54
12- Dados de RMN de ^{13}C obtidos para a substância 6 ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 MHz) e do 2 α , 3 β , 4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona (Siddiqui, 2009) (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	55
13- Dados de RMN de ^1H obtidos para a substância 7 (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) e do 2 β , 3 β , 4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona (Rodrigues, 2009) (400 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	58
14- Dados de RMN de ^{13}C obtidos para a substância 7 (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) e do 2 β , 3 β , 4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona (Siddiqui, 2009) (100 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	59
15- Dados de RMN de ^1H (CDCl_3 , 300 MHz) obtidos para a substância 8 e os do Cneorubina X (Brochini, 2000) (200 MHz, CDCl_3).	63
16- Dados de RMN de ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância 8 e os do Cneorubina X (Brochini, 2000) (100 MHz, CDCl_3).	64
17- Dados de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância 9 e os do Kolavelool (Bomm, 1999) (200 MHz, CDCl_3).	67
18- Dados de RMN de ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância 9 e os do Kolavelool (Bomm, 1999) (100 MHz, CDCl_3).	68
19- Dados de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância 10 e os do Kolavenol (Nagashima, 1995) (200 MHz, CDCl_3).	71
20- Dados de RMN de ^{13}C (300 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância 10 e os do Kolavenol (Nagashima, 1995) (100 MHz, CDCl_3).	72

21 - Dados de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância 11 e os do γ -tocoferol (Baker, 1991) (não informado).	74
22 - Dados de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância 11 e os do γ -tocoferol (Baker, 1991) (não informado).	75
23 - Dados de RMN de ^{13}C obtidos para as substâncias 12 , 13 (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$), O- β -D-glicopiranosil- β -sitosterol (Saxena, 2005) e do O- β -D-glicopiranosil-estigmasterol (El-askary, 2005).	78

LISTA DE ESPECTROS

1 - RNM de ^1H da substância 1 (300 MHz, CDCl_3).	8
2 - Ampliações do espectro de RMN de ^1H da substância 1 (300 MHz, CDCl_3).	8
3 - RMN de ^{13}C da substância 1 (75 MHz, CDCl_3).....	10
4 - Experimento DEPT 135° da substância 1 (75 MHz, CDCl_3).....	10
5 - Experimento de HSQC da substância 1 (500/125 MHz, CDCl_3).	11
6 - Experimento HMBC- ^1H - ^{13}C da substância 1 (500/125 MHz, CDCl_3)....	11
7 - Experimento de COSY- ^1H - ^1H da substância 1 (500MHz, CDCl_3).....	12
8 - Experimento HMBC da substância 1 (500/125 MHz, CDCl_3).....	12
9 - Correlações observadas no experimento HMBC (500/125 MHz, CDCl_3) para os carbonos C-1' (a) e C-7 (b) da substância 1	15
10 - Experimento NOESY- ^1H - ^1H da substância 1 (500 MHz, CDCl_3).....	16
11 - RMN de ^1H de 2 (300 MHz, CDCl_3).	18
12 - RMN de ^{13}C de 2 (75 MHz, CDCl_3).	19
13 - Experimento DEPT 135° de 2 (75 MHz, CDCl_3).	19
14 - RMN de ^1H de 3 (300 MHz, CDCl_3).	24
15 - RMN de ^1H de 3 (500 MHz, CDCl_3).	24
16 - Ampliações do Espectro de RMN de ^1H de 3 (500 MHz, CDCl_3).	25
17 - RMN de ^{13}C e experimento DEPT 135° de 3 (75 MHz, CDCl_3).	26
18 - Experimento de HSQC da substância 3 (^1H : ^{13}C , 500 MHz: 125 MHz, CDCl_3).	26
19 - Experimento de HMBC da substância 3 (^1H : ^{13}C , 500 MHz: 125 MHz, CDCl_3).	27
20 - Experimento de COSY- ^1H - ^1H da substância 3 (500 MHz, CDCl_3).	29
21 - Experimento de NOESY- ^1H - ^1H da substância 3 (500 MHz, CDCl_3). ...	31
22 - Ampliação do experimento de NOESY – ^1H - ^1H da substância 3 (500 MHz, CDCl_3).	32
23 - HRESI da fração TSTSM10	41
24 - RMN de ^1H das substâncias 4 e 5 (300 MHz, CDCl_3).	42

25 - RMN de ^{13}C das substâncias 4 e 5 (75 MHz, CDCl_3).	42
26 - Experimento DEPT 135° das substâncias 4 e 5 (75 MHz, CDCl_3).....	43
27 - RMN de ^1H da substância 6 (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	51
28 - RMN de ^1H expandido da substância 6 (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).....	52
29 - RMN de ^{13}C da substância 6 (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	53
30 - Experimento DEPT 135° da substância 6 (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).....	53
31 - RMN de ^1H da substância 7 (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	56
32 - RMN de ^1H expandido da substância 7 (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).....	56
33 - RMN de ^{13}C da substância 7 (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	57
34 - RMN de ^1H da substância 8 (300 MHz, CDCl_3).	61
35 - RMN de ^{13}C da substância 8 (75 MHz, CDCl_3).	61
36 - Experimento DEPT 135° da substância 8 (75 MHz, CDCl_3).....	62
37 - RMN de ^1H da substância 9 (300 MHz, CDCl_3).	65
38 - RMN de ^{13}C da substância 9 (75 MHz, CDCl_3).	66
39 - RMN de ^{13}C e Experimento DEPT 135° da substância 9 (75 MHz, CDCl_3).	66
40 - RMN de ^1H da substância 10 (300 MHz, CDCl_3).	69
41 - RMN de ^{13}C da substância 10 (75 MHz, CDCl_3).	70
42 - RMN de ^1H da substância 11 (300 MHz, CDCl_3).	73
43 - RMN de ^{13}C da substância 11 (75 MHz, CDCl_3).	73
44 - RMN de ^1H das substâncias 12 e 13 (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	77
45 - RMN de ^{13}C das substâncias 12 e 13 (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).	78

1. INTRODUÇÃO

1.1 - A FAMÍLIA MELIACEAE – SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS E SUAS ATIVIDADES BIOLÓGICAS

A família Meliaceae é representada por 51 gêneros distribuídos pelas regiões tropicais e subtropicais com espécies representativas em ambos os hemisférios terrestres. São nativos do Brasil os gêneros *Cedrela*, *Cabralea*, *Swietenia*, *Carapa*, *Guarea* e *Trichilia*. As meliáceas são caracterizadas quimicamente pela presença de tetranortriterpenoides, conhecidos, também, como limonoides ou meliacinas (Pennington & Styles, 1975). Tais metabólitos são encontrados apenas em mais três famílias do reino vegetal: Rutaceae, Cneoraceae e Simaroubaceae (Tan & Luo, 2011). As substâncias dessa classe têm atraído, nos últimos anos, a atenção por seus efeitos inseticidas, “antifeedant”, de inibição de crescimento e de ovoposição de insetos, o que as tornam potencialmente úteis no combate a determinadas pragas agrícolas e, também, por certas atividades farmacológicas, como, por exemplo, antineoplásica, antiartrítica e anti-inflamatória (Mossini & Kemmelmeier, 2005).

A economia brasileira ainda depende, em parte significativa, do setor primário de produção (com pouco valor agregado), sendo destaque no abastecimento de produtos de origem vegetal. No efetivo controle sobre os meios desta produção está, entre outras variantes, o uso de defensivos agrícolas na forma de agrotóxicos, o que representa gastos significativos. Neste sentido, as plantas inseticidas aparecem como uma alternativa a ser utilizada no manejo integrado de pragas (Degrande, 1998). Existem plantas que podem ser utilizadas diretamente no controle de insetos, através da aplicação de pós, óleos fixos ou extratos brutos obtidos a partir de vegetais (Rodrigues *et al.*, 2008), não passando por processos industriais e por isso mesmo deixando de agregar valores na formação de preços.

Inseticidas agrícolas são substâncias químicas de ações diversas, usadas para controlar ação de predadores. Busca-se um inseticida ideal que tenha ação específica e não seja tóxico para o homem nem para a planta (Viegas Júnior, 2003). Pesquisas em fitoquímica, que resultam no isolamento e/ou identificação de substâncias químicas produzidas pela planta, fornecem além de substâncias com atividade direta, modelos de moléculas para a síntese orgânica que, através de

transformações programadas, originam outras substâncias com estas ações potencializadas podendo resultar na produção em larga escala (Viegas Júnior & Bolzani, 2006).

Atualmente, várias são as pesquisas envolvendo o estudo de plantas inseticidas, principalmente de espécies da família Meliaceae. Boa parte deste interesse se deve ao fato de a espécie *Azadirachta indica*, conhecida por *Neem*, pertencer a esta família. Desta planta, originária da Índia e que atualmente vem sendo cultivada em outros países, foi isolado o limonoide azadiractina [Figura 1], que apresenta potente ação inseticida e “antifeedant” sobre pragas agrícolas. Seus extratos, aquosos e/ou orgânicos, foram testados, apresentando efeitos praguicidas eficazes e, com impactos ambientais mínimos, funcionando, conjuntamente com outros agentes, no controle biológico em programas de manejo integrado. Economicamente, seus princípios ativos apresentam a desvantagem de terem vida residual curta, entretanto, ecologicamente não comprometem os ecossistemas onde são utilizados. Além do emprego de produtos do *Neem* em veterinária, com ação repelente e vermifugante, a torta das sementes é utilizada como suplemento alimentar, não afetando a qualidade da carne. Os extratos aquosos do *Neem* possuem ações medicinais, tais como antisséptica, curativa, antiúlcera, anti-inflamatória, antifertilidade, hipolipidêmica e hepatoprotetora. Em relação a sua toxicidade em humanos, os casos de intoxicação observados são atribuídos às quantidades excessivas consumidas, que podem causar disfunções tireoidianas e danos hepáticos (Mossini & Kemmelmeier, 2005).

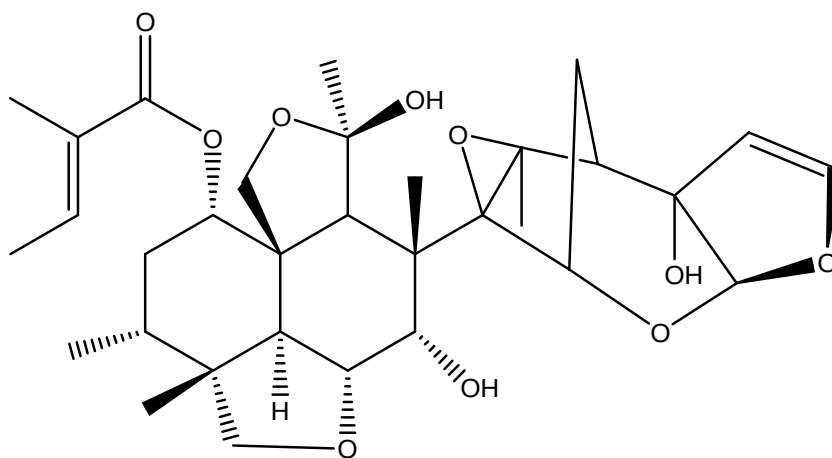


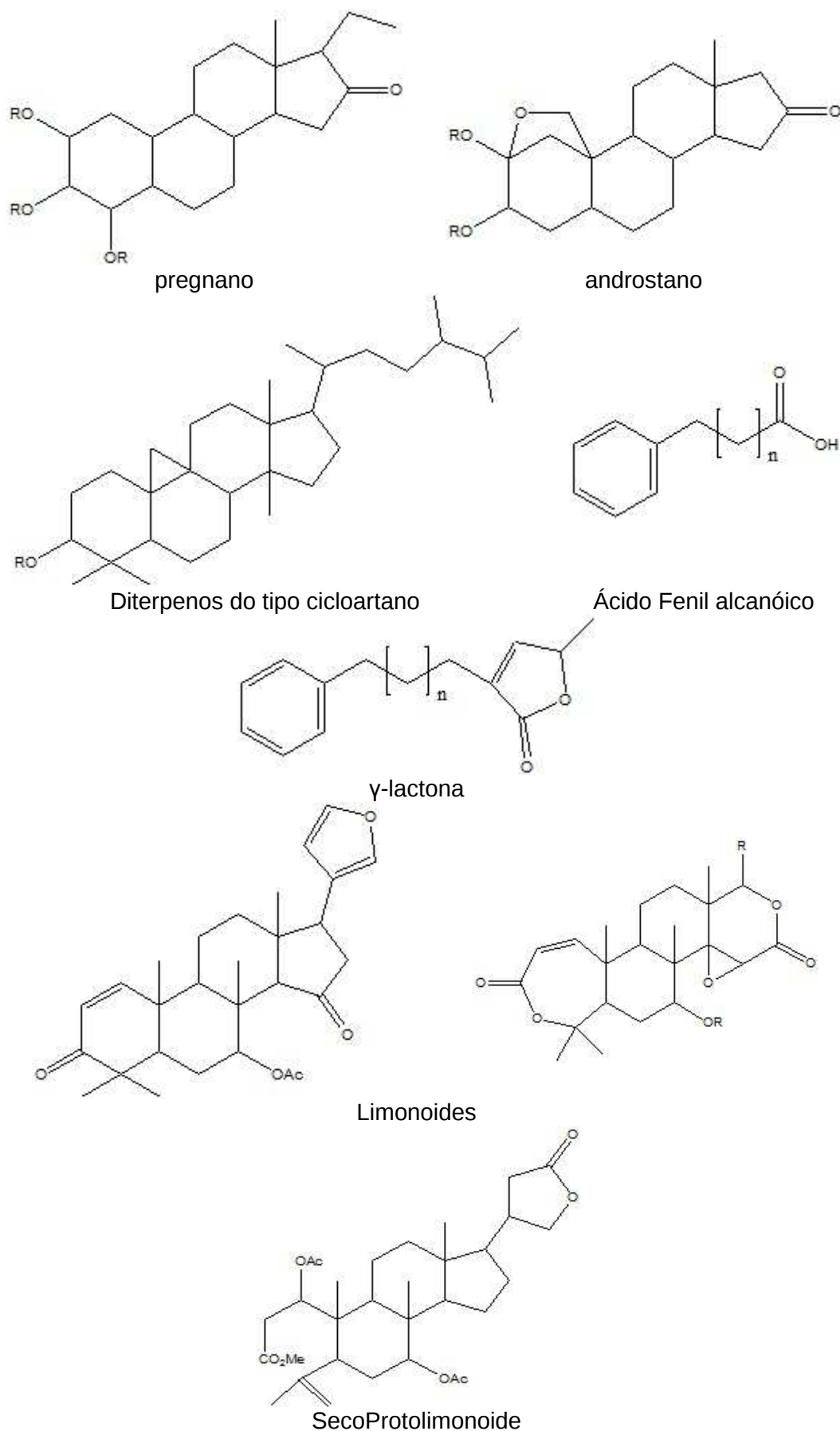
Figura 1 –Estrutura da Azadiractina

Diversas espécies de Meliaceae foram identificadas em Mato Grosso do Sul, sendo que algumas delas foram estudadas em relação a sua composição química no Laboratório de Pesquisa-1 (LP1) do Instituto de Química da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) (Garcez *et al.*, 2008, Garcez *et al.*, 2007, Garcez *et al.*, 2004, Garcez *et al.*, 2000, Garcez *et al.*, 1998, Garcez *et al.*, 1997, Garcez *et al.*, 1996).

1.2 - ESTUDOS COM TRICHILIAS

Trichilia, um dos gêneros que compõe a família Meliaceae, é constituído por aproximadamente 70 espécies e tem sido alvo de uma série de estudos fitoquímicos. A ocorrência de limonoides em plantas deste gênero é bem conhecida, os quais, por apresentarem grande diversidade estrutural e atividades biológicas significativas (Mossini & Kemmelmeier, 2005), têm atraído um considerável interesse de pesquisadores.

Nos estudos químicos realizados com este grupo de plantas foram isoladas várias classes de compostos, tais como: sesquiterpenos (Garcez *et al.*, 1997), diterpenos do tipo dolabelano (Del Carmen *et al.*, 2000), esteroides dos tipos pregnano e androstano (Pupo *et al.*, 1997), flavalignananas (Pizzolatti *et al.*, 2002), triterpenos e ácidos fenilalcanoicos (Pupo *et al.*, 1996), fenilpropanoides (Tang *et al.*, 2007) γ -lactones (Pupo *et al.*, 1998), limonoides (Rodríguez *et al.*, 2003, Garcez *et al.*: 2000, 1997; Cortez *et al.*: 1992, 1998 e 2000; Musza *et al.*, 1995), secolimonoides (Rodriguez-Hah, 1996), protolimonoides (Olugbade & Adesanya, 2000) e seco-protolimonoides (Garcez *et al.*, 1996) alguns destes apresentados na figura 2. Existem relatos sobre atividades biológicas de substâncias e/ou extratos obtidos de plantas deste gênero, tais como propriedades “antifeedant” e inseticida, comparáveis às da azadiractina (Mikolajczak & Reed, 1987, Bogorni & Vendramim, 2005, Cunha *et al.*, 2006), antimicrobiana (Aladesanmiu & Odediran, 2000), antioxidante (Germano, 2005), hepatoprotetora, antibacteriana (Germanò *et al.*, 2005) e citotóxica (Traore, 2007).

Figura 2 – Alguns compostos encontrados no gênero *Trichilia*

Estudo químico das folhas de *Trichilia silvatica* (Meliaceae) e das sementes de *Trichilia stellatomentosa* (Meliaceae).

1.2.1 - *Trichilia silvatica*

Trichilia silvatica C. DC. (Meliaceae), sinonímia *Trichilia cuspidata* C. DC., conhecida popularmente como “Catiguá-branco”, “Catiguá” ou “Rosa-branca”, é uma árvore de porte médio com altura entre 4 a 10 metros, de tronco liso com dimensões aproximadas entre 30 a 40 centímetros. Propaga-se via sementes e seus frutos são muito procurados por aves silvestres. É endêmica do Brasil, com registros de ocorrência nos estados de SC, PR, BA e Região Sudeste (Lorenzi, 2002). Os resultados obtidos com plantas deste gênero, tanto na variedade de classes de compostos como na diversificada ação biológica, tornam promissores os estudos com plantas desta espécie, podendo inclusive resultar em produtos de interesse farmacológico e/ou agroindustrial, considerando que não há relato na literatura sobre a composição química de *Trichilia silvatica*. Em um trabalho, apresentado em simpósio (Teixeira *et al.*, 2011), foram relatadas as ações da fase hexânica do extrato etanólico do caule de *T. silvatica*, que promoveu mortalidade e redução de peso em larvas de *S. frugiperda*. Desta forma, esta planta, desponta como importante opção que pode ser utilizada no controle dessa praga.

1.2.2 - *Trichilia stellato-tomentosa*

Trichilia stellato-tomentosa, conhecida popularmente como “guaranazinho” é, uma arvoreta típica da América do Sul, de ocorrência frequente em matas de galeria, semidecíduas e mata de “carandá”, sendo encontrada na Argentina, Bolívia, Brasil e Paraguai. Possui potencial ornamental e o óleo das sementes tem fins medicinais, sendo também utilizado na fabricação de sabões (Pott & Pott, 1994). Esta espécie foi citada, em um estudo realizado pelo Jardim Botânico de Nova York (Prance & Schaller, 1982), como uma das representantes da família Meliaceae, coletada na região do Pantanal. Não há relato na literatura sobre o estudo químico desta espécie e isto desperta o interesse sobre uma investigação visando, principalmente, o conhecimento de sua composição química.

2. OBJETIVOS

Estudar a composição química, em termos de metabólitos secundários, das folhas de um espécime de *Trichilia silvatica* (Meliaceae), coletadas em Dois Irmãos do Buriti-MS e das sementes de *Trichilia stellato-tomentosa* (Meliaceae), coletadas na região do Pantanal sul-mato-grossense, no município de Corumbá – MS.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir são discutidos os resultados dos estudos fitoquímicos das folhas de um espécime de *Trichilia silvatica* (Meliaceae), coletado em Dois Irmão do Buriti, MS e das sementes de um espécime de *Trichilia stellato-tomentosa* (Meliaceae) coletadas na região do Pantanal sul-mato-grossense, no município de Corumbá-MS.

Através de métodos cromatográficos (colunas cromatográficas com sílica “flash”, sílica gel 60, sephadex LH-20 e cromatografia em camada delgada analítica) foram obtidos treze compostos pertencentes a quatro classes químicas: diterpenos, esteroides, tocoferóis e limonoides.

O estudo químico das folhas de *T. silvatica* resultou na identificação de três diterpenos: kolavelool, kolavenol e cneurubina X; quatro esteroides: 2 β ,3 β ,4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona, 2 α ,3 β ,4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona, O- β -D-glicopiranosil- β -sitosterol, O- β -D-glicopiranosil-estigmasterol e do γ -tocoferol.

O estudo químico das sementes de *T. stellato-tomentosa* resultou na identificação de cinco limonoides: dois derivados da azadirona e três derivados da gedunina.

As substâncias isoladas foram identificadas com base em dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C (uni e bidimensionais) e por comparação com dados relatados na literatura, além da espectrometria de massas.

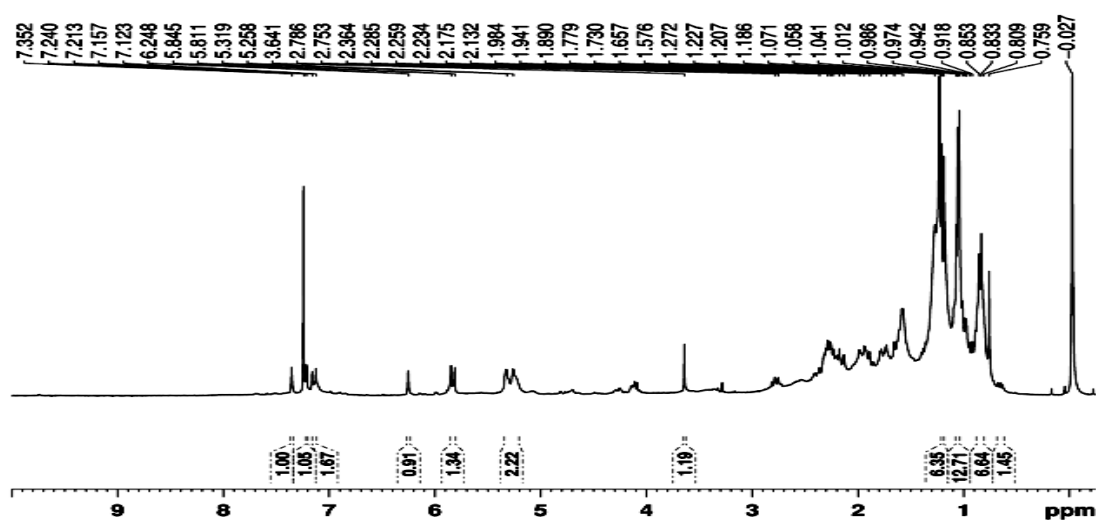
3.1 - SUBSTÂNCIAS OBTIDAS DAS SEMENTES DE *Trichilia stellato-tomentosa* (MELIACEAE)

3.1.1- Identificação do 7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoilazadirona (1)

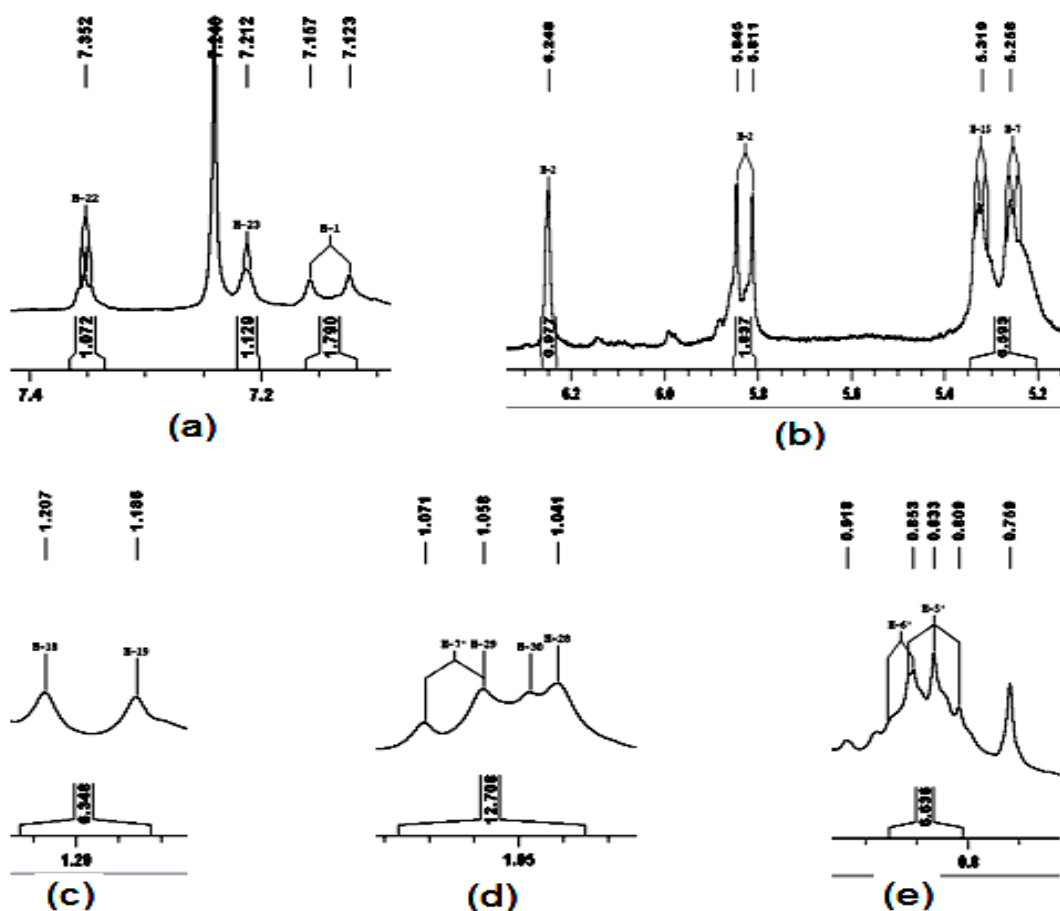
A fração TSTSM06, substância **1**, [Item 4.2.4.1, Esquema 2] apresentou-se como um sólido (11,7 mg) de coloração branca que ao ser analisada por CCDA, eluída em Hex/AcOEt (95:05) e revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou única mancha de coloração rosa.

O espectro de RMN de ^1H de **1** [Espectros 1 e 2, Tabelas 2 e 3] apresentou cinco singletos a δ 1,05, 1,06, 1,09, 1,17 e 1,18, referentes a hidrogênios de metilas quaternárias, um duplo dubleto a δ 2,78 ($J = 10,5$ e $8,0$ Hz), de um grupo CH, e sete sinais entre δ 5,20 e 7,50, relativos a um hidrogênio cada, quatro dubletos a δ 5,83 ($J = 10,2$ Hz), 6,25 ($J = 1,5$ Hz), 7,14 ($J = 10,2$ Hz) e 7,21

($J = 2,0$ Hz) e três duplos dubletos, a δ 5,25 ($J = 5,5$ e $3,6$ Hz), 5,32 ($J = 5,7$ e $3,4$ Hz) e 7,35 ($J = 2,0$ e $1,5$ Hz) [Espectros 2].



Espectro 1 – RNM de ^1H da substância 1 (300 MHz, CDCl_3).



Espectro 2 – Ampliações do espectro de RNM de ^1H da substância 1 (300 MHz, CDCl_3).

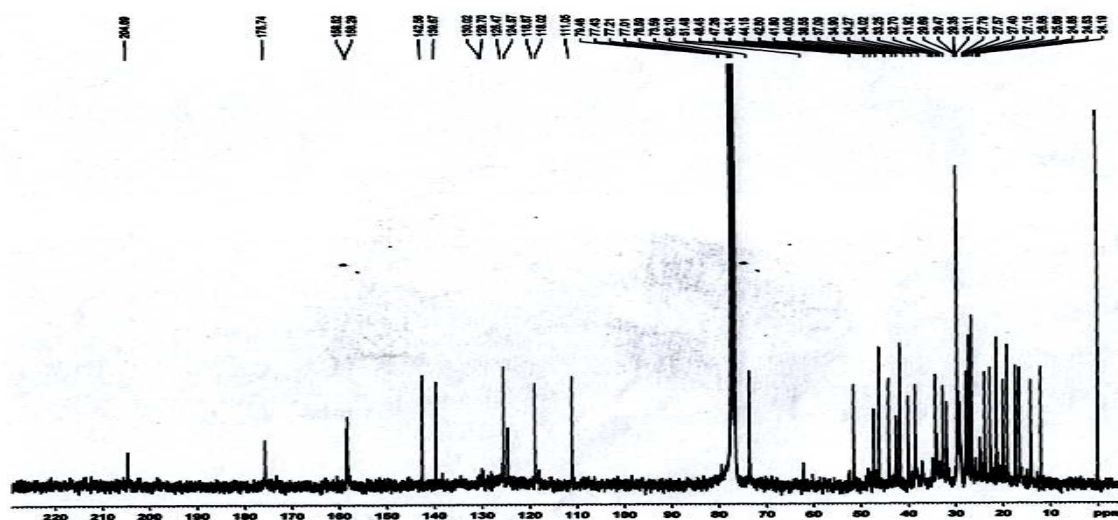
Tabela 1- Dados de RMN de ^1H e algumas correlações observadas no experimento COSY- ^1H - ^1H e NOESY- ^1H - ^1H de **1** (500 MHz, CDCl_3).

H	1		
	δ_{H} (nH; mult.; J(Hz))	COSY (H $\rightarrow$ H)	NOESY(H $\rightarrow$ H)
1	7,14 (1H; d; 10,2)	H-2	
2	5,83 (1H; d; 10,2)	H-1	
5	2,16 (1H; dd; 12,4 e 2,3)	H-6, H-7	H-28, H-2'
6	1,75 (1H; ddd; 13,3, 12,3 e 3,6) 1,96 (1H; ddd; 13,3, 5,5 e 2,3)	H-5, H-7 H-5, H-7	H-5, H-6'
7	5,25 (1H; dd; 5,5 e 3,6)	H-5, H-6a, H-6b'	H-19
9	2,18 (1H; m)	H-11a, H-11b	H-23
11	1,74 (1Ha; m), 1,99 (1Hb; m)	H-9, H-9, H-12b	- -
12	1,80 (1H; m), 1,50 (1H; m)	- H-11b	- -
15	5,32 (1H; dd; 5,7 e 3,4)	H-16a, H-16b, H-17	-
16	2,28 (1Ha; m), 1,60 (1Hb; m)	H-15, H-17 H-15, H-17	- H-18
17	2,78 (1H; dd; 10,5 e 8,0)	H-15, H-16a, H-16b	-
18	1,18 (3H; s)	-	H-16b
19	1,17 (3H; s)	-	H-7, H-29, H-30
21	6,25 (1H; d; 1,5)	H-22	-
22	7,35 (1H; dd; 2,0 e 1,5)	H-21, H-23	-
23	7,21 (1H; d; 2,0)	H-22	H-9, H-3'
28	1,06 (3H; s)	-	H-6'
29	1,09 (3H; s)	-	H-19
30	1,05 (3H; s)	-	H-18
2'	2,38 (1H; m)	H-3', H-4'a, H-6'	-
3'	2,20 (2H; m)	H-2', H-4'a, H-6', H-7'	H-23
4'	1,65 (1H; m), 2,10 (1H; m)	H-3', H-5'	- -
5'	0,83 (3H; t; 7,5)	H-4'a, H-5'	-
6'	0,86 (3H; d; 6,8)	H-2', H-3', H-7'	H-5, H-6a, H-28
7'	1,06 (3H; m)	H-4', H-6'	-

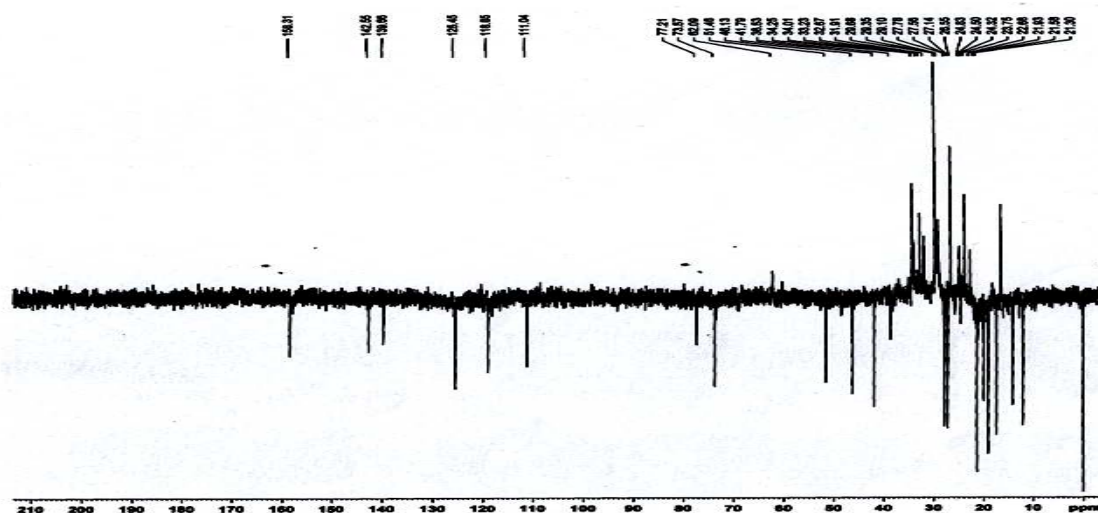
No espectro RMN de ^{13}C de **1** [Espectro 3, Tabela 3] foram observados sinais relativos a trinta e três carbonos, destacando-se um sinal relativo a carbonila (δ 204,7) e outro a carboxila (δ 175,7), oito sinais característicos de carbonos olefínicos (δ 158,5, 158,3, 142,6, 139,7, 125,6, 124,6, 118,9 e 111,1) e um relativo a carbono carbinólico (δ 73,6). Através dos dados obtidos pelos espectros de RMN de ^{13}C , DEPT 135° [Espectro 4] e/ou experimento de HSQC [Espectro 5] foi possível identificar os padrões de substituição como sendo: sete CH_3 , sete CH_2 , onze CH e oito carbonos não ligados a hidrogênio [Tabela 3]. A análise das multiplicidades e

Estudo químico das folhas de *Trichilia silvatica* (Meliaceae) e das sementes de *Trichilia stellatomentosa* (Meliaceae).

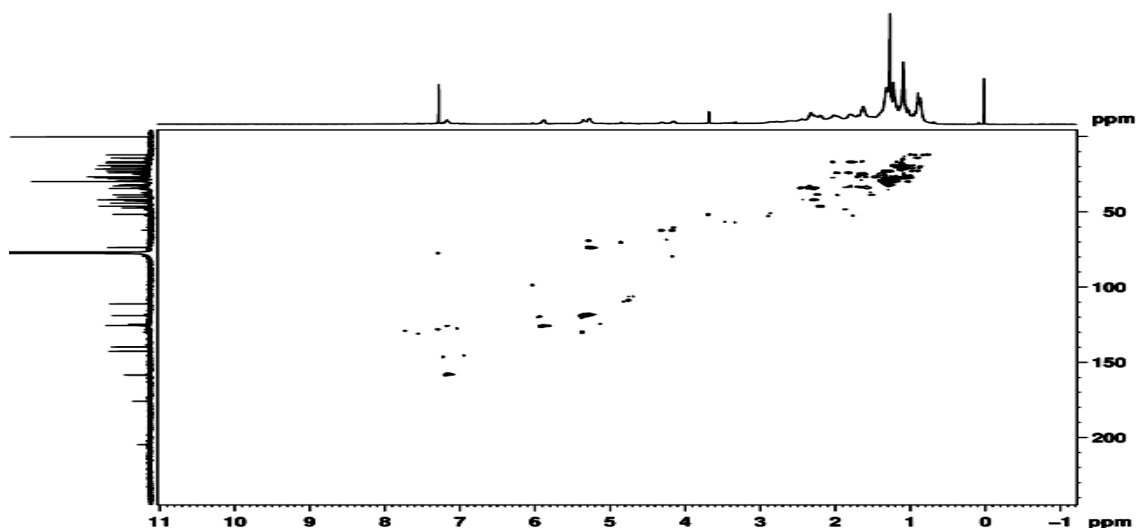
dos deslocamentos químicos dos carbonos permitiu propor a fórmula molecular $C_{33}H_{46}O_4$, que corresponde ao índice de deficiência de hidrogênio igual a 11. Estas informações, aliadas ao perfil do espectro de 1H [Espectro 1], indicaram tratar-se de um composto pentacíclico relacionado aos triterpenos.



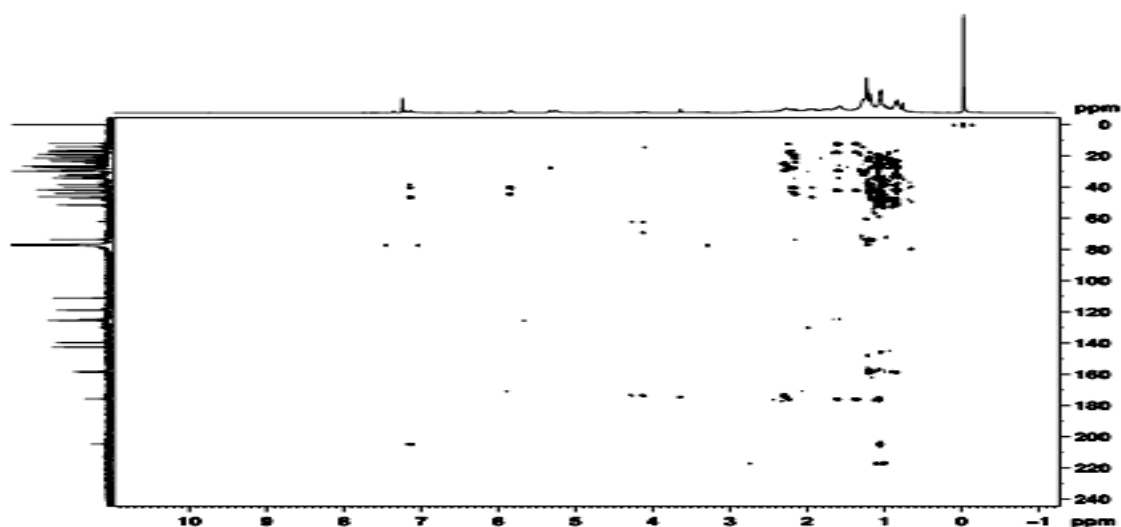
Espectro 3 – RMN de ^{13}C da substância **1** (75 MHz, $CDCl_3$).



Espectro 4 – Experimento DEPT 135° da substância **1** (75 MHz, $CDCl_3$).



Espectro 5 – Experimento de HSQC da substância **1** (500/125 MHz, CDCl_3).



Espectro 6 – Experimento $\text{HMBC-}^1\text{H-}^{13}\text{C}$ da substância **1** (500/125 MHz, CDCl_3).

A partir dos experimentos bidimensionais HSQC e HMBC [**Espectros 5 e 6**], foi possível efetuar as atribuições registradas na **Tabela 3**. As correlações observadas no experimento $\text{COSY-}^1\text{H-}^1\text{H}$ [**Espectro 7**] entre os dubletos a δ 5,83 e 7,14 (10,2 Hz) e a correlação C-H à longa distância (HMBC) [**Espectro 8**] observada entre o hidrogênio a δ 7,14 e o carbono a δ 204,7, caracterizaram um sistema 1-en-3-ona existente no anel A da substância **1** [**Figura 3**].

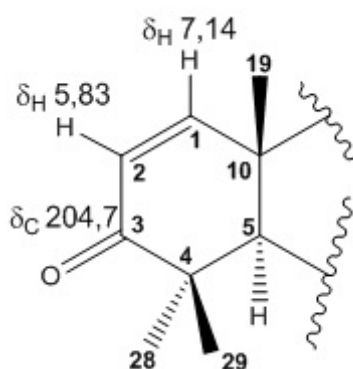
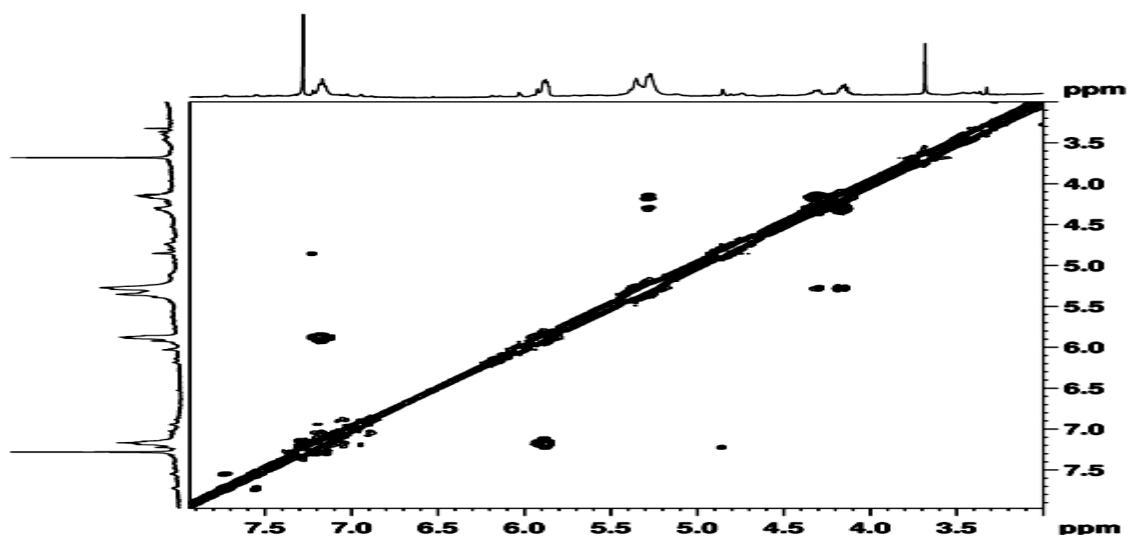
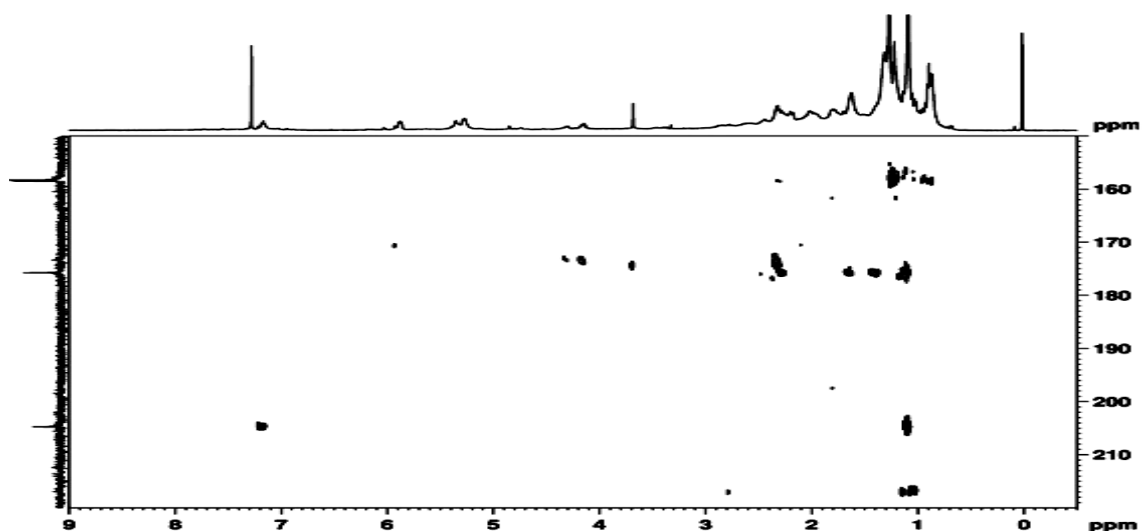


Figura 3 – Estrutura do sistema 1-en-3-ona da substância **1**



Espectro 7 - Experimento de COSY- ^1H - ^1H da substância **1** (500MHz, CDCl_3).



Espectro 8 – Experimento HMBC da substância **1** (500/125 MHz, CDCl_3).

O conjunto de sinais a δ_{C} 142,2 (CH), 139,7(CH), 124,6(C) e 111,1 (CH), no espectro de RMN de ^{13}C [**Espectro 3**], juntamente com os sinais a δ_{H} 6,25 (d, $J = 1,5$

Hz), 7,21(d, $J = 2,0$ Hz) e 7,35 (dd, $J = 2,0$ e 1,5 Hz), observados no espectro de RMN de ^1H [Espectro 1], indicaram a presença de um anel furano C-3 substituído [Figura 4]. Este grupo funcional está presente numa classe de compostos comumente encontrada em Meliaceae, os limonoides.

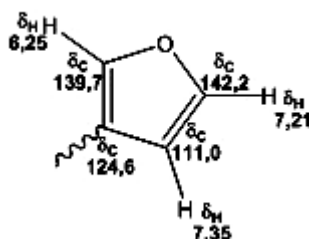


Figura 4 - Anel furano C-3 substituído da substância 1.

Considerando-se as características da substância 1 mencionadas e as possibilidades estruturais resultantes, procedeu-se a uma busca na literatura, observando-se que o esqueleto básico do limonoide azadirona [Figura 5] apresenta as características gerais definidas na estrutura da substância 1. A comparação dos dados de RMN de ^{13}C de 1 com os do referido composto, anteriormente obtido das sementes de *Trichilia havanensis* Jacq. Meliaceae (Rodríguez, 2003), mostrou uma boa correlação [Tabela 3], observando-se que o grupo acetato da azadirona não está presente em 1 [Figura 6], e que este, no entanto, apresenta uma carboxila (desprotegida de 6,7 ppm em relação à carboxila da azadirona) e mais seis sinais, além daqueles referentes ao esqueleto básico [Figura 6].

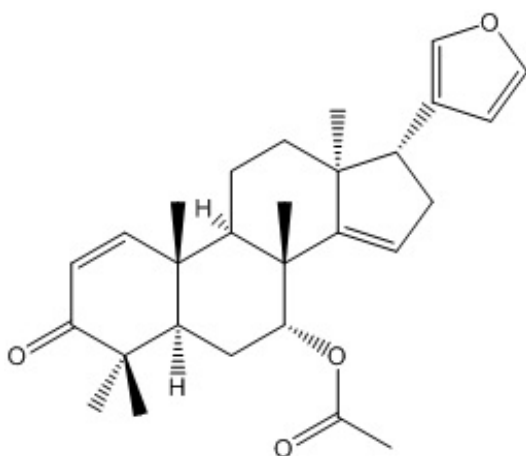


Figura 5 –
Estrutura da Azadirona

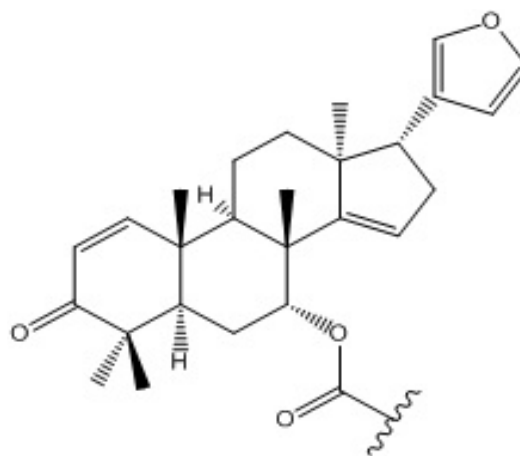


Figura 6 –
Estrutura parcial da Substância 1

No espectro RMN de ^{13}C [Espectros 3, Tabela 3], portanto, além dos sinais correspondentes ao esqueleto do limonoide, foi observado um conjunto adicional de

sete sinais, relativos a uma carboxila (δ 175,4) e a seis outros carbonos a δ 41,8-(2 x CH), 31,9-(CH₂), 17,4-(CH₃) e 12,0-(2 x CH₃). Os valores de deslocamento químico e as multiplicidades destes sinais sugerem uma estrutura parcial como mostrada a seguir [Figura 7]:

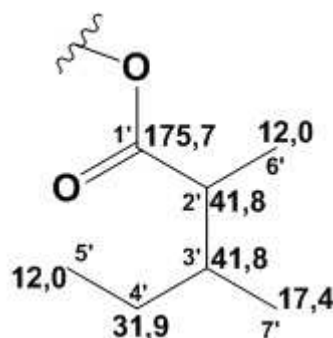


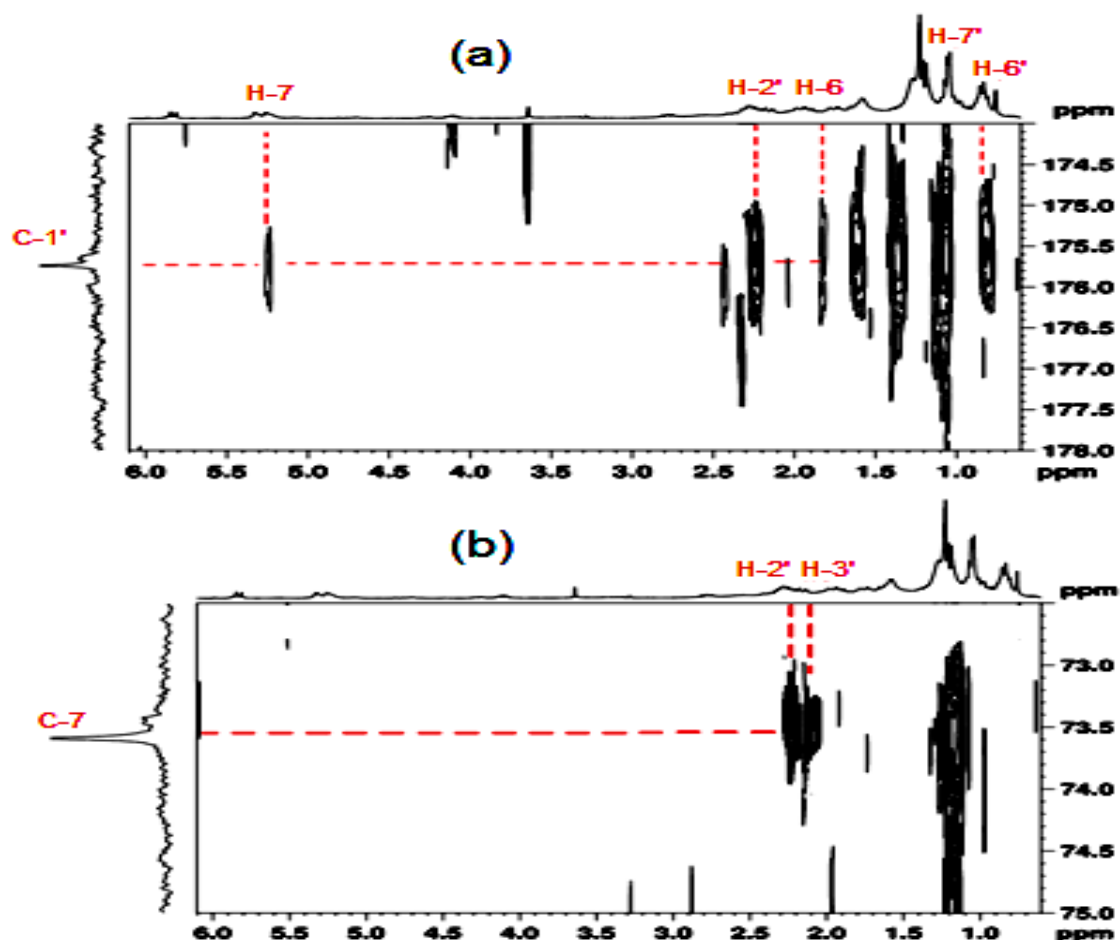
Figura 7 – Estrutura do conjunto adicional de sete sinais.

Esta proposta de estrutura parcial é compatível com as informações fornecidas pelas correlações existentes no espectro COSY ¹H-¹H de **1** [Tabela 2].

Tabela 2 – Dados de RMN¹H e algumas correlações observadas no experimento COSY-¹H-¹H do grupo substituinte na estrutura de **1**.

H	$\delta_{^1\text{H}}$ (multiplicidade, J(Hz))	Correlações COSY- ¹ H- ¹ H
2'	2,38 (m)	H-3', H-4'a, H-6'
3'	2,20 (m)	H-2', H-4'a, H-6', H-7'
4'a	1,60-1,70 (m),	H-3', H-5'
4'b	1,92-2,12 (m)	
5'	0,83 (t, 7,5)	H-4'a, H-5'
6'	0,87 (d, 6,8)	H-2', H-3', H-7'
7'	1,06 (m)	H-4', H-6'

A observação no experimento HMBC das correlações apresentadas no **Espectro 8** confirmou a conectividade do grupo substituinte em C-7: correlações dos hidrogênios H-7 (δ 5,25, dd, J = 5,5 e 2,3 Hz) e H-6 (δ 1,75, ddd J = 13,3, 12,3 e 2,3 Hz) com o carbono da carboxila (δ 175,7, C-1') [Espectro 9 (a)], e correlações dos hidrogênios H-2' (δ 2,38, m) e H-3' (δ 2,20, m) com o carbono C-7 (δ 73,6) [Espectro 9 (b)].



Espectro 9 – Correlações observadas no experimento HMBC (500/125 MHz, CDCl_3) para os carbonos C-1' (a) e C-7 (b) da substância **1**.

Assim, com base nestes argumentos, aliados às correlações expressas nas Tabelas 1, 2 e 3, pode-se propor para **1** a estrutura a seguir, que corresponde à **7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoilazadirona** [Figura 8]. Este composto difere da azadirona por ter um grupo (2,3-dimetil)-pentanoil no lugar do grupo acetil em C-7.

Esta substância não havia sido isolada ou produzida em laboratório até momento, tratando-se, portanto, de uma substância inédita.

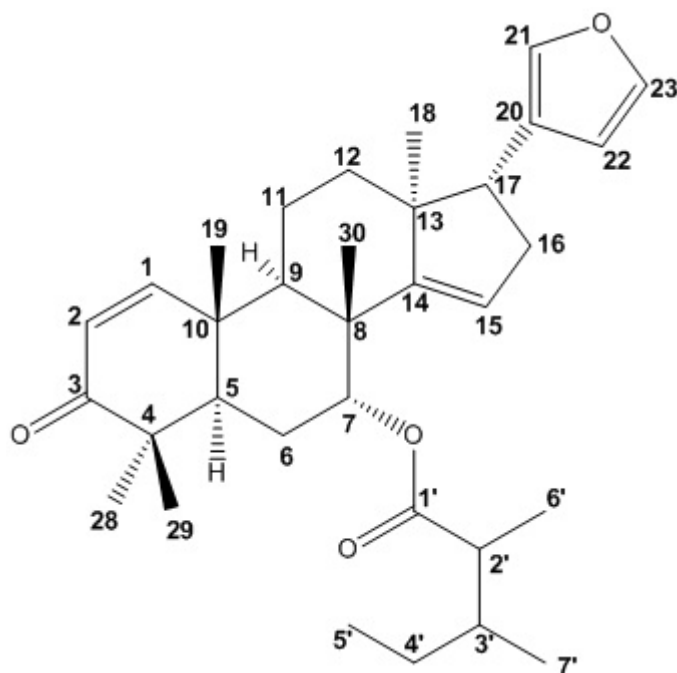
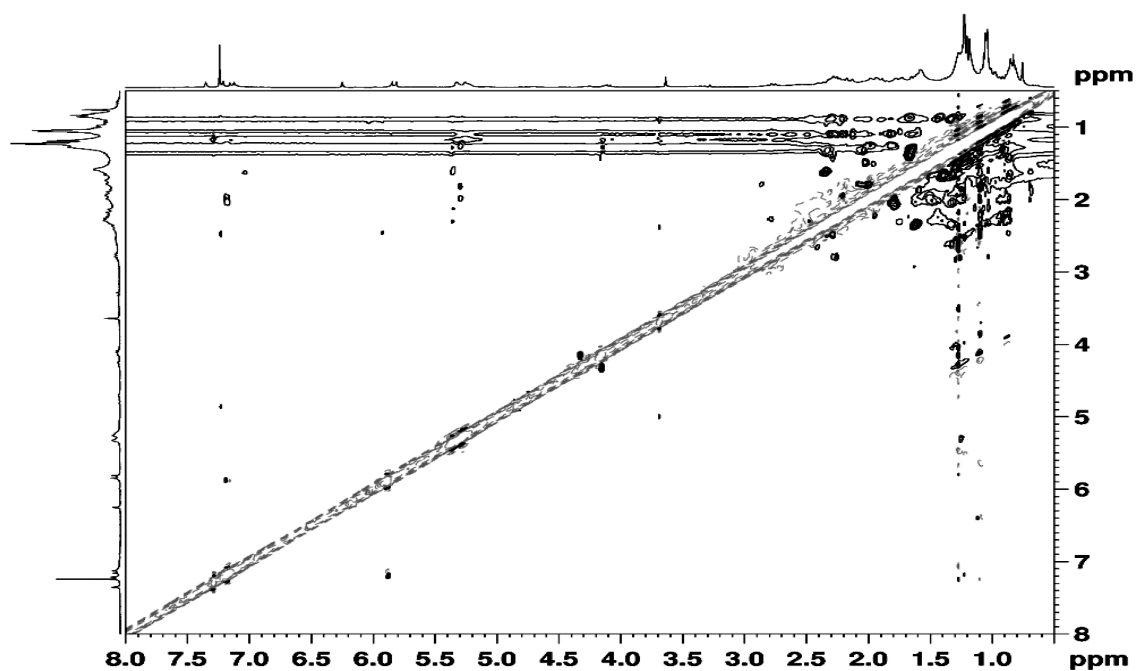


Figura 8 – Estrutura da substância 1.



Espectro 10– Experimento NOESY-¹H-¹H da substância 1 (500 MHz, CDCl₃).

Tabela 3- Dados de RMN de ^1H e ^{13}C e as correlações observadas nos experimentos HSQC e HMBC de **1** (500/125 MHz, CDCl_3) e dados de RMN de ^{13}C da Azadirona (**AZD**) (Rodríguez, 2003) (CDCl_3).

C	1			AZD
	δ_c	δ_H (nH; mult.; J(Hz))	HMBC (H→C)	δ_c
1	158,5	7,14 (1H; d; 10,2)	C-3, C5, C-10, C-9	158,0
2	125,5	5,83 (1H; d; 10,2)		126,0
3	204,7	-		204,0
4	44,1	-		44,0
5	46,1	2,16 (1H; dd; 12,4 e 2,3)	C-4, C-6, C-7, C-10, C-19, C-29	46,0
6	23,7	1,75 (1H; ddd; 13,3, 12,3 e 3,6) 1,96 (1H; ddd; 13,3, 5,5 e 2,3)	- C-5, C-8, C-10	24,0
7	73,6	5,25 (1H; dd; 5,5 e 3,6)	C-1', C-2'	74,0
8	42,6	-	-	42,0
9	38,6	2,18 (1H; m)	C-8, C-10, C-11, C-19	39,0
10	40,1	-	-	39,5
11	16,5	1,74 (1Ha; m), 1,99 (1Hb; m)	- -	16,0
12	32,7	1,80 (1H; m), 1,50 (1H; m)	- -	32,0
13	47,2	-	-	47,0
14	158,3	-	-	158,5
15	118,9	5,32 (1H; dd; 5,7 e 3,4)	C-8, C-18	120,0
16	34,3	2,28 (1Ha; m), 1,60 (1Hb; m)	C-14 C-20	34,0
17	51,5	2,78 (1H; dd; 10,5 e 8,0)	-	52,0
18	27,8	1,18 (3H; s)	C-12, C-13, C-14, C-17	27,5
19	19,1	1,17 (3H; s)	C-9, C-10	19,0
20	124,6	-	-	124,0
21	139,7	6,25 (1H; d; 1,5)	C-18	140,0
22	111,1	7,35 (1H; dd; 2,0 e 1,5)	-	111,0
23	142,6	7,21 (1H; d; 2,0)	-	142,0
28	20,0	1,04 (3H; s)	C-3, C-4, C-5	21,5
29	27,1	1,06 (3H; s)	C-3, C-4, C-6	27,0
30	21,3	1,05 (3H; s)	C-8, C-9	20,5
1'	175,7	-	-	169,0
2'	41,8	2,38 (1H; m)	C-3', C-6'	-
3'	41,8	2,20 (2H; m)	C-2', C-4', C-5'	-
4'	31,9	1,65 (1H; m), 2,10 (1H; m)	C-5'	-
5'	12,0	0,83 (3H; t; 7,5)	C-4'	-
6'	12,1	0,86 (3H; d; 6,8)	C-1', C-2'	21,6
7'	17,4	1,06 (3H; m)	C-1'- C-2', C-3', C-4'	-

*baixa intensidade

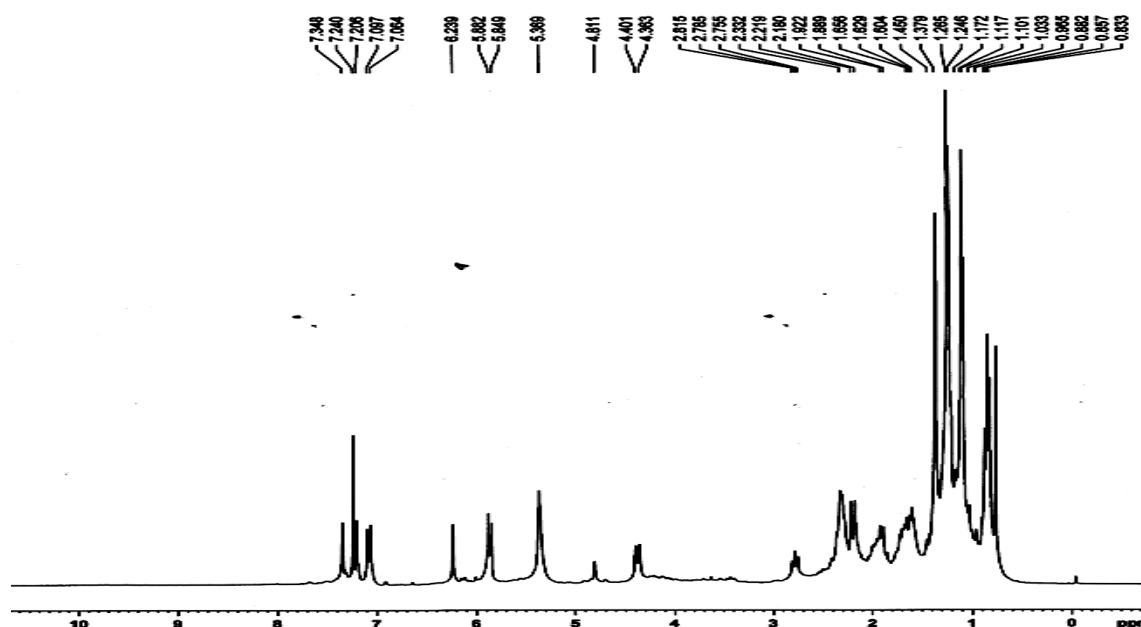
A azadirona, composto referência, foi isolada pela primeira vez de *Melia azadirachta* L. (Lavie *et al.*, 1971) e destaca-se por apresentar propriedades

inseticidas (Viegas Júnior, 2003, López-Olguin, 1998 e Mulholland, D. A., 1994). Segundo Nanduri (Nanduri, 2003), a atividade citotóxica *in vitro* da azadirona é maior que a de seu derivado sintético possuindo um grupo butanoil ($\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$) em C-7.

3.1.2 - Identificação do 7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-nimocinol (2).

A fração TSTSM09 [Item 4.2.4.2, Esquema 2], substância **2**, apresentou-se como um sólido (33,1 mg) de consistência oleosa de coloração amarela. Quando analisada por CCDA, eluída em Hex/AcOEt (75:25) e revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou uma mancha de coloração lilás.

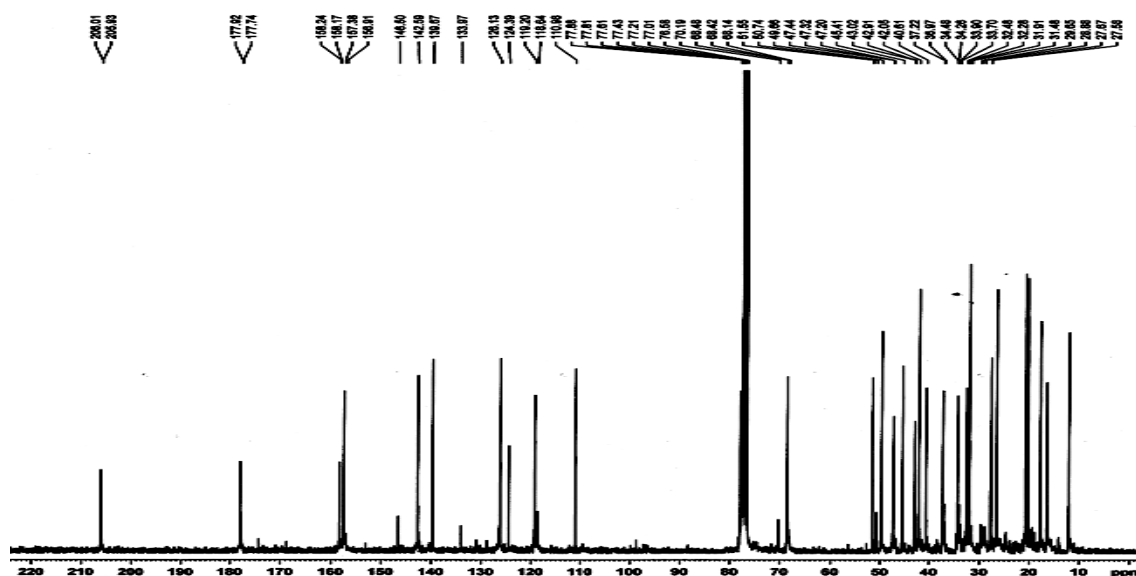
Os dados espectrais de RMN de ^1H e de ^{13}C de **2** [Espectro 11 e 12, Tabela 5] mostraram-se semelhantes aos da substância **1** [Figura 8], indicando que **2** também era um limonoide. No espectro **11** foram observados sinais relativos a hidrogênios carbinólicos a δ 4,39 (*dd*, $J = 11,4$ e $2,7$ Hz) e δ 5,37 (*d*, $J = 2,7$ Hz), sinais de hidrogênios olefínicos a δ 5,86 (*d*, $J = 10,0$ Hz), δ 6,24 (*s*), δ 7,08 (*d*, $J = 10,0$ Hz), δ 7,21 (*s*) e δ 7,35 (*dd*, $J = 1,7$ e $1,5$ Hz) e um conjunto de sinais entre δ 2,90 e δ 0,82, relativos a hidrogênios alifáticos, entre os quais destaca-se um duplo dubleto a δ 2,78 ($J = 10,5$ e $7,4$ Hz).



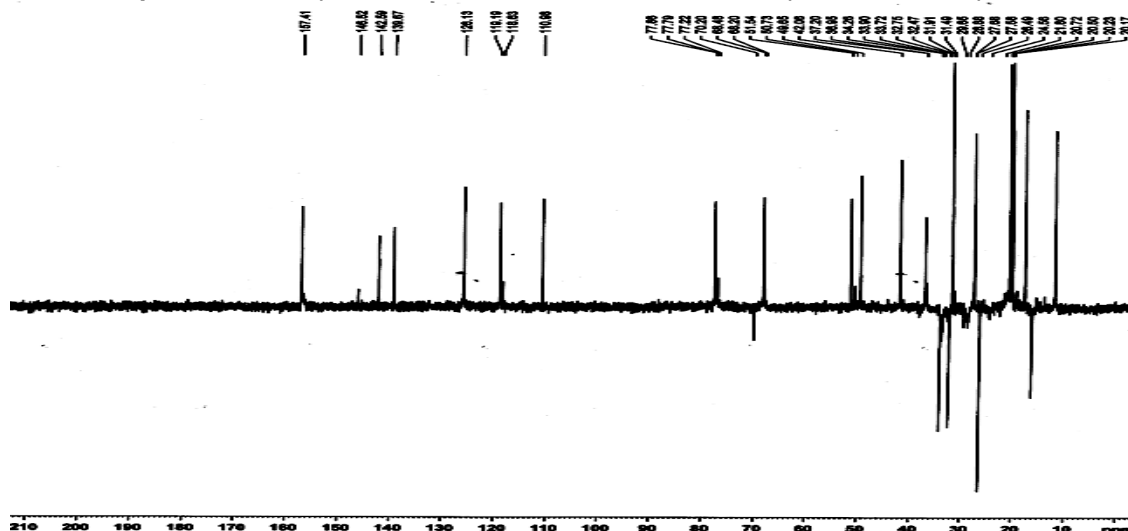
Espectro 11– Espectro de RMN de ^1H de **2** (300 MHz, CDCl_3).

No espectro RMN de ^{13}C de **2** [Espectro 12, Tabela 5] foram listados sinais para trinta e três carbonos os quais, após comparações com o experimento DEPT

135° [Espectro 13], puderam ser descritos como: dois característicos de carbonos carbonílicos (δ 206,0, 177,9); três referentes a carbonos olefínicos totalmente substituídos (δ 158,2, 157,4 e 124,4); cinco referentes a carbonos olefínicos tipo CH (δ 142,6, 139,7, 126,1, 119,2 e 110,0); dois atribuídos a carbonos carbinólicos (δ 77,9 e 68,5) e sinais correspondentes aos carbonos alifáticos, entre δ 49,7 e 12,0.



Espectro 12 – Espectro de RMN de ^{13}C da substância 2 (75 MHz, CDCl_3).



Espectro 13 – Experimento DEPT 135° da substância 2 (75 MHz, CDCl_3).

A comparação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C de 2 com os da substância 1, além de revelar uma boa correlação, revelou a presença de uma hidroxila adicional em 2 [Figura 9]. Além disto, a listagem dos dados de RMN de ^{13}C de 2 [Espectro 12, Tabela 5] mostrou a presença de sinais compatíveis com um grupo substituinte idêntico ao observado em 1, correspondentes a uma carboxila (δ 177,9), a dois CH

(δ 42,0), a um CH_2 (δ 31,9) e a três CH_3 (δ 17,8, 12,0 e 12,0), como o apresentado a seguir [Figura 10]:

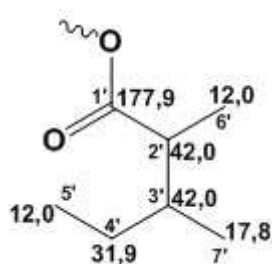


Figura 9 – Estrutura do substituinte ligado a C-7 do esqueleto carbônico da substância **2**

A comparação mencionada acima evidenciou a presença em **2**: do anel furânico; do anel A com o sistema enona; do anel ciclopentênico e, portanto, do grupo substituinte esterificado, sendo as diferenças observadas nos valores de deslocamento químico dos carbonos do anel B.

Os valores das constantes de acoplamento dos hidrogênios carbinólicos [δ 4,39 (1H; *dd*; $J = 11,4, 2,7$ Hz) e δ 5,37 (1H; *d*; $J = 2,7$ Hz)] mostram um valor em comum ($J = 2,7$ Hz), sugerindo uma localização vicinal, que poderia ser em C-6 e C-7. Os deslocamentos químicos observados são compatíveis com a localização das hidroxilas nestes carbonos, sendo o sinal a δ 68,5 atribuído a C-6 e o sinal a δ 77,9 a C-7, que corresponde a uma desproteção de 4,3 ppm em relação ao carbono correspondente de **1**. Admitindo-se esta proposta, a constante de 11,4 Hz de H-6 corresponde ao acoplamento com H-5, evidenciando uma relação *trans*-diaxial, indicando que a hidroxila de C-6 está orientada equatorialmente (α). Já a constante de acoplamento entre H-7 e H-6 (2,7 Hz) revela uma relação axial-equatorial, levando à conclusão de que o substituinte de C-7 está axialmente orientado (α).

Uma busca na literatura mostrou que a estrutura proposta para **2** é inédita, porém o esqueleto carbônico corresponde ao do limonoide nimocinol (Siddiqui, 1986). Observa-se uma boa correlação entre os valores de deslocamento químico de hidrogênios e carbonos do esqueleto básico de **2** e do nimocinol, permitindo a possibilidade de se realizar algumas correções nas atribuições.

Tabela 4 - Algumas correções nas atribuições dos deslocamentos químicos para o do nimocinol (Siddiqui, 1986) em relação aos da substância **2**.

C	δ_c	
	2	Nimocinol
4	45,4	40,5*(C-10)
8	42,9	45,4*(C-4)
10	40,6	43,1*(C-8)
18	27,7	27,1*(C-19)
19	20,2	14,0 *(Graxa)
21	139,7	142,6*(C-23)
23	142,6	139,6*(C-21)
29	27,6	20,8*(C-30)
30	20,8	27,1*(C-29)

- * valores reatribuídos

Este conjunto de dados permite, portanto, propor para **2** a estrutura a seguir, que corresponde à substância denominada de **7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-nimocinol**. Este é o primeiro relato desta substância na literatura, portanto, trata-se de um composto inédito. O nimocinol foi identificado nas folhas frescas de *Azadirachta indica* (Siddiqui, 1986).

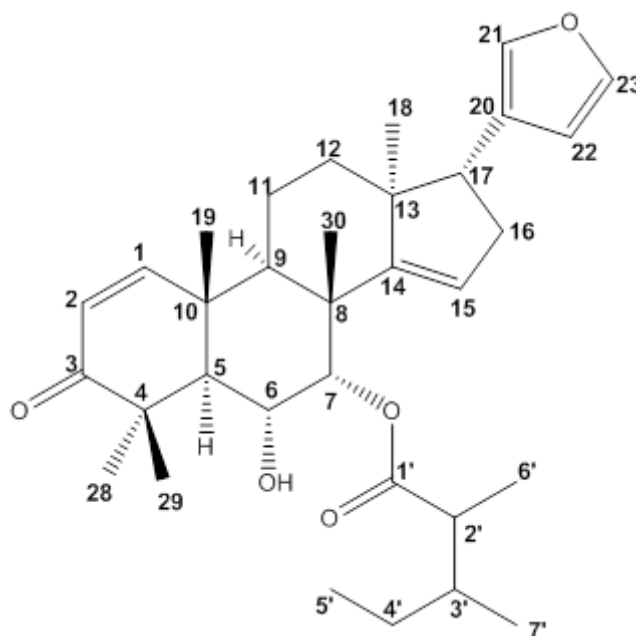


Figura 10 – Estrutura da substância **2**.

Tabela 5 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3) das substâncias **1** e **2** (300/75 MHz, CDCl_3) e do nimocinol (**NMC**) (Não informado, CDCl_3) (Siddiqui, 1986).

C	1		2		NMC	
	δ_{C}	δ_{H} (nH; <i>mult.</i> ; J(Hz))	δ_{C}	δ_{H} (nH; <i>mult.</i> ; J(Hz))	δ_{C}	δ_{H} (nH; <i>mult.</i> ; J(Hz))
1	158,5	7,14 (1H; <i>d</i> ; 10,2)	157,4	7,08 (1H; <i>d</i> ; 10,0)	157,4	7,06 (1H; <i>d</i> ; 10,0)
2	125,5	5,83 (1H; <i>d</i> ; 10,2)	126,1	5,86 (1H; <i>d</i> ; 10,0)	126,1	5,82 (1H; <i>d</i> ; 10,0)
3	204,7	-	206,0	-	206,0	-
4	44,1	-	45,4	-	40,5	-
5	46,1	2,16 (1H; <i>dd</i> ; 12,4 e 2,3)	49,6	2,20 (1H; <i>d</i> ; 11,4)	49,9	2,17 (1H; <i>d</i> ; 11,2)
6	23,7	1,75 (1H; <i>ddd</i> ; 13,3, 12,3 e 3,6) 1,96 (1H; <i>ddd</i> ; 13,3, 5,5 e 2,3)	68,5	4,39 (1H; <i>dd</i> ; 11,4, 2,7)	68,1	4,30 (1H; <i>dd</i> ; 11,2, 2,5)
7	73,6	5,25 (1H; <i>dd</i> ; 5,5 e 3,6)	77,9	5,37 (1H; <i>d</i> ; 2,7)	79,1	5,30 (1H; <i>d</i> ; 2,5)
8	42,6	-	42,9	-	45,4	-
9	38,6	2,18 (1H; <i>m</i>)	37,2	2,32 (1H; <i>dd</i> ; 11,0 e 4,0)	37,1	2,00-2,35 (; <i>m</i>)
10	40,1	-	40,6	-	43,1	-
11	16,5	1,74 (1H; <i>m</i>), 1,99 (1H; <i>m</i>)	16,4	1,50 – 1,75 (1H; <i>m</i>) 1,85 – 2,10 (1H; <i>m</i>)	16,4	2,55-2,90 (2H; <i>m</i>) 2,00-2,35 (2H; <i>m</i>)
12	32,7	1,80 (1H; <i>m</i>), 1,50 (1H; <i>m</i>)	32,4	1,60 – 1,80 (1H; <i>m</i>) 1,35 – 1,50 (1H; <i>m</i>)	32,7	2,55-2,90 (1H; <i>m</i>) 2,55-2,90 (1H, <i>m</i>)
13	47,2	-	47,3	-	47,1	-
14	158,3	-	158,2	-	158,5	-
15	118,9	5,32 (1H; <i>dd</i> ; 5,7 e 3,4)	119,2	5,37 (1H; <i>dd</i> ; 5,2, 3,9)	119,5	5,37 (1H; <i>m</i>)
16	34,3	2,28 (1H; <i>m</i>), 1,60 (1H; <i>m</i>)	34,3	2,00 - 2,30 (1H; <i>m</i>) 1,50-1,70 (1H; <i>m</i>)	34,3	2,00-2,35 (<i>m</i>) 2,00-2,35 (<i>m</i>)
17	51,5	2,78 (1H; <i>dd</i> ; 10,5 e 8,0)	51,5	2,78 (1H; <i>dd</i> ; 10,5 e 7,4)	51,6	2,00-2,35 (<i>m</i>)

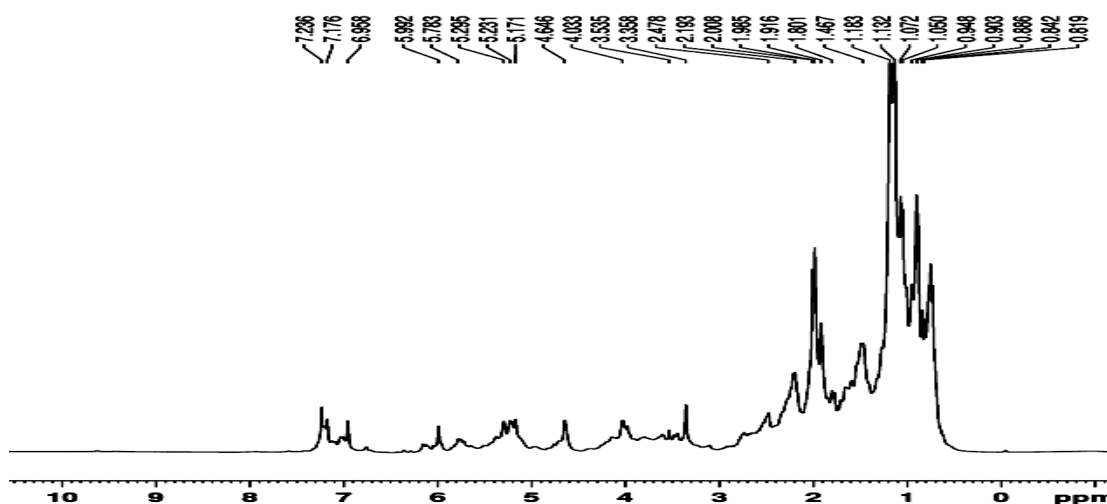
Tabela 5 - Dados de RMN de ^1H e ^{13}C (300/75 MHz, CDCl_3) das substâncias **1** e **2** (300/75 MHz, CDCl_3) e do nimocinol (**NMC**) (Não informado, CDCl_3) (Siddiqui, 1986).

C	1		2		NMC	
	δ_{C}	δ_{H} (nH; <i>mult.</i> ; J(Hz))	δ_{C}	δ_{H} (nH; <i>mult.</i> ; J(Hz))	δ_{C}	δ_{H} (nH; <i>mult.</i> ; J(Hz))
18	27,8	1,18 (3H; s)	27,7	1,12 (3H; s)	27,1	1,07 (3H; s)
19	19,1	1,17 (3H; s)	20,2	1,26 (3H; s)	14,0	1,21 (3H; s)
20	124,6	-	124,4	-	124,4	-
21	139,7	6,25 (1H; <i>d</i> ; 1,5)	139,7	6,24 (1H; <i>s</i>)	142,6	7,30 (1H; <i>m</i>)
22	111,1	7,35 (1H; <i>dd</i> ; 2,0 e 1,5)	110,0	7,35 (1H; <i>dd</i> ; 1,7; 1,6)	110,9	6,22 (1H; <i>m</i>)
23	142,6	7,21 (1H; <i>d</i> ; 2,0)	142,6	7,21 (1H; <i>s</i>)	139,6	7,18 (1H; <i>m</i>)
28	20,0	1,04 (3H; s)	20,7	1,10 (3H; s)	20,8	1,18 (3H; s)
29	27,1	1,06 (3H; s)	27,6	1,12 (3H; s)	20,8	1,25 (3H; s)
30	21,3	1,05 (3H; s)	20,8	1,13 (3H; s)	27,1	1,35 (3H; s)
1'	175,7	-	177,9	-	172,0	
2'	41,8	2,38 (1H; <i>m</i>)	42,0	2,35 (1H; <i>m</i>)	-	
3'	41,8	2,20 (1H; <i>m</i>)	42,1	2,29 (1H; <i>m</i>)	-	
4'	31,9	1,65 (1H; <i>m</i>)	31,9	2,70 – 2,85 (1H; <i>m</i>)	31,9	
		2,10 (1H; <i>m</i>)				
5'	12,0	0,83 (3H; <i>t</i> ; 7,5)	11,9	0,88 (3H; <i>t</i> ; 6,9)	-	1,97 (3H; s)
6'	12,1	0,86 (3H; <i>d</i> ; 6,8)	12,0	0,84 (3H; <i>d</i> ; 7,4)	-	
7'	17,4	1,06 (3H; <i>m</i>)	17,8	1,23 (1H; <i>d</i> ; 7,0)	-	

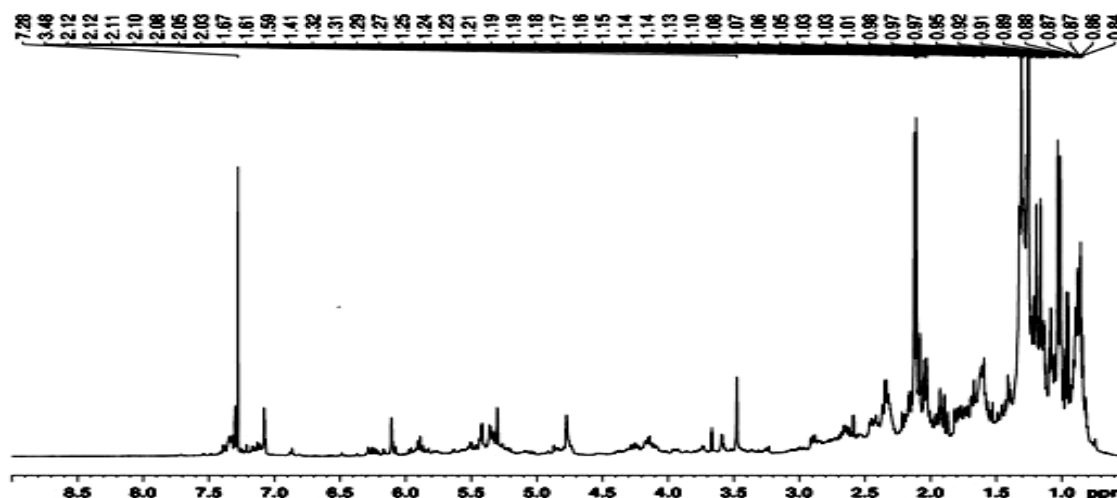
3.1.3 - Identificação do 6 α ,12 β -di-hidróxi-7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-1,2-di-hidrogedunina (3)

A fração TSTSM11 [Item 4.2.4.3, Esquema 2], substância **3**, apresentou-se como um material de consistência oleosa (50,3 mg) e coloração amarela. Quando analisada por CCDA, eluída em Hex/AcOEt (75:25) e revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou uma mancha de coloração marrom.

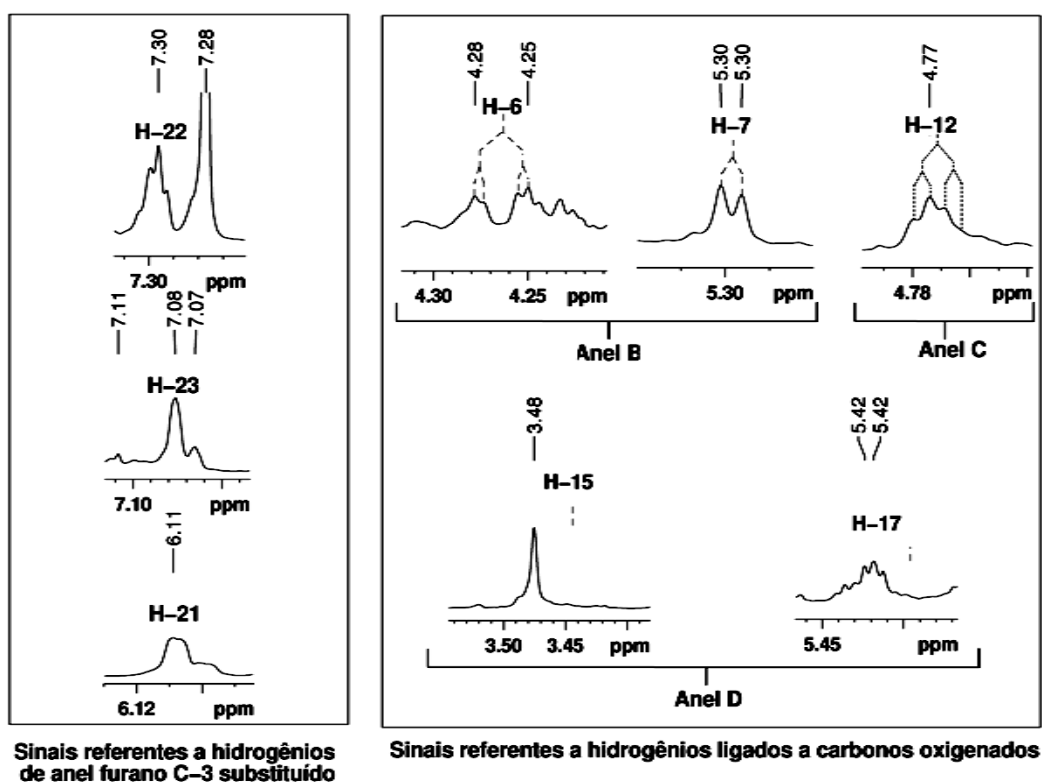
Entre os dados de RMN de ^1H [Espectros 14, 15 e 16, Tabelas 6 e 7] desta fração destacam-se cinco sinais na região entre δ 3 e 6: δ 3,48 (s), δ 4,26 (dd; $J = 11,2$ e $2,8$ Hz), δ 4,77 (dd; $J = 5,6$ e $3,0$ Hz), δ 5,30 (d; $J = 2,8$ Hz) e δ 5,42 (s), todos proporcionais a um hidrogênio cada, e três sinais sugestivos de anel furânico C-3 substituído a δ 6,10 (d; $J = 1,5$ Hz), δ 7,08 (d; $J = 2,0$ Hz) e δ 7,30 (dd; $J = 2,0$ e $1,4$ Hz) [Espectros 16].



Espectro 14— Espectro de RMN de ^1H de **3** (300 MHz, CDCl_3).



Espectro 15 – Espectro de RMN de ^1H de **3** (500 MHz, CDCl_3)



Espectro 16 – Ampliações do Espectro de RMN de ^1H de **3** (500 MHz, CDCl_3)

No espectro RMN de ^{13}C [**Espectro 17**, **Tabela 7**] foram observados trinta e três sinais, os quais correspondem a uma carbonila e duas carboxilas (δ 215,8, 169,6 e 175,1), quatro carbonos olefínicos (δ 142,2, 140,6, 122,4 e 111,8), cinco carbonos carbinólicos (δ 67,8, 70,7, 74,9, 75,0 e 80,8) e a um conjunto de carbonos alifáticos entre δ 55,5 e 11,6. Através dos dados obtidos nos espectros RMN de ^{13}C , DEPT 135° [**Espectro 17**] e/ou experimento de HSQC [**Espectro 18**] foi possível identificar os padrões de substituição de todos os carbonos, como sendo: oito CH_3 , cinco CH_2 , onze CH e nove C [**Tabela 7**].

Os sinais observados no espectro de RMN de ^1H [**Espectros 14, 15 e 16**] e mencionados acima, juntamente com sinais observados no espectro de RMN de ^{13}C a δ 142,2 (CH), 140,6 (CH), 122,4 (C) e 111,8 (CH), indicaram a presença de um anel furano C-3 substituído [**Figura 11**].

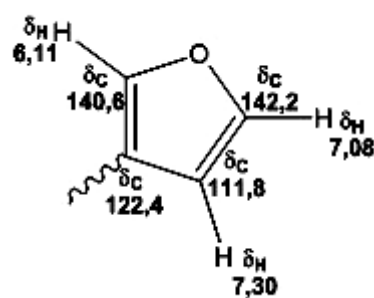
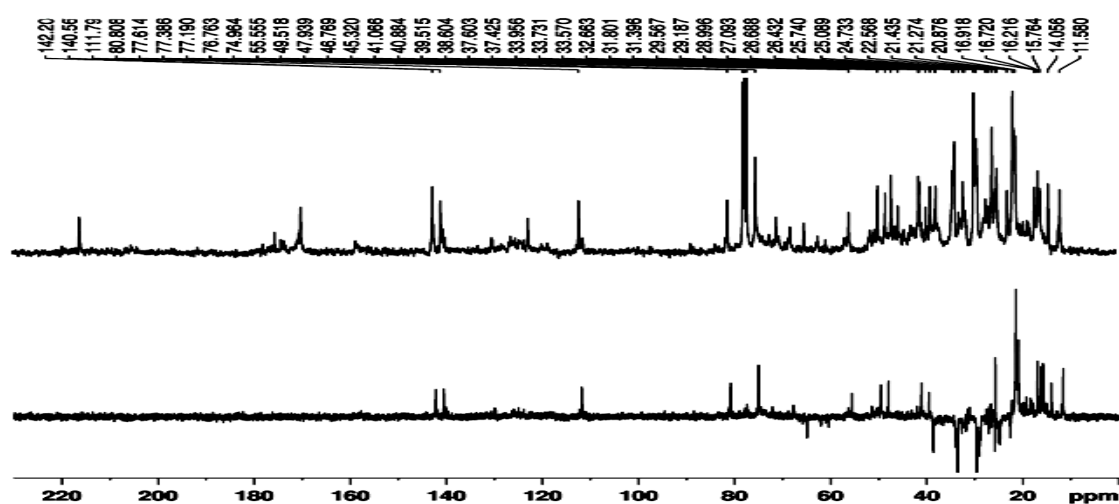
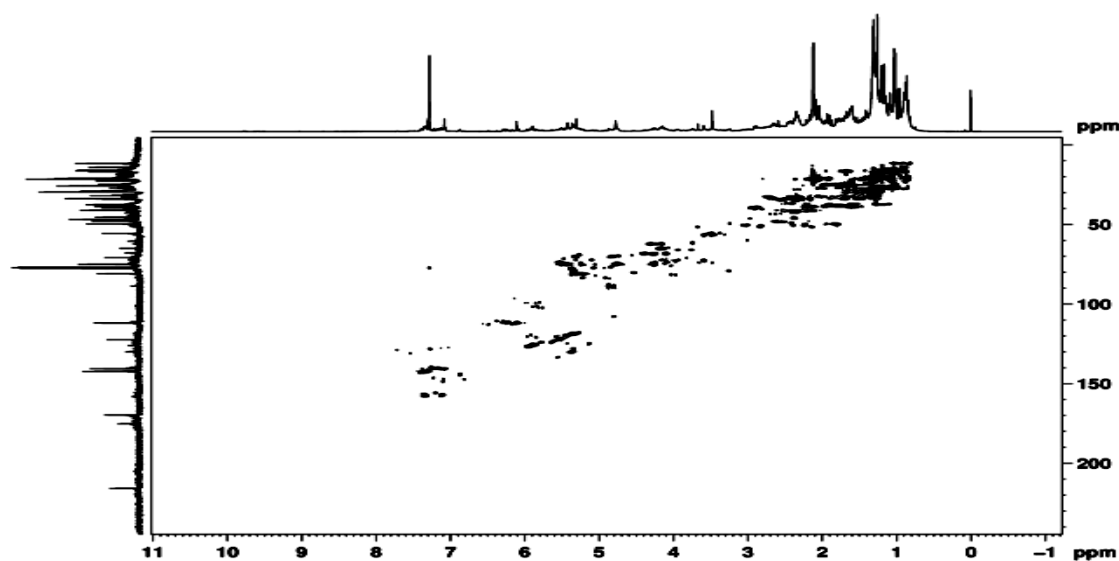


Figura 11 - Furano C-3 substituído da substância **3**

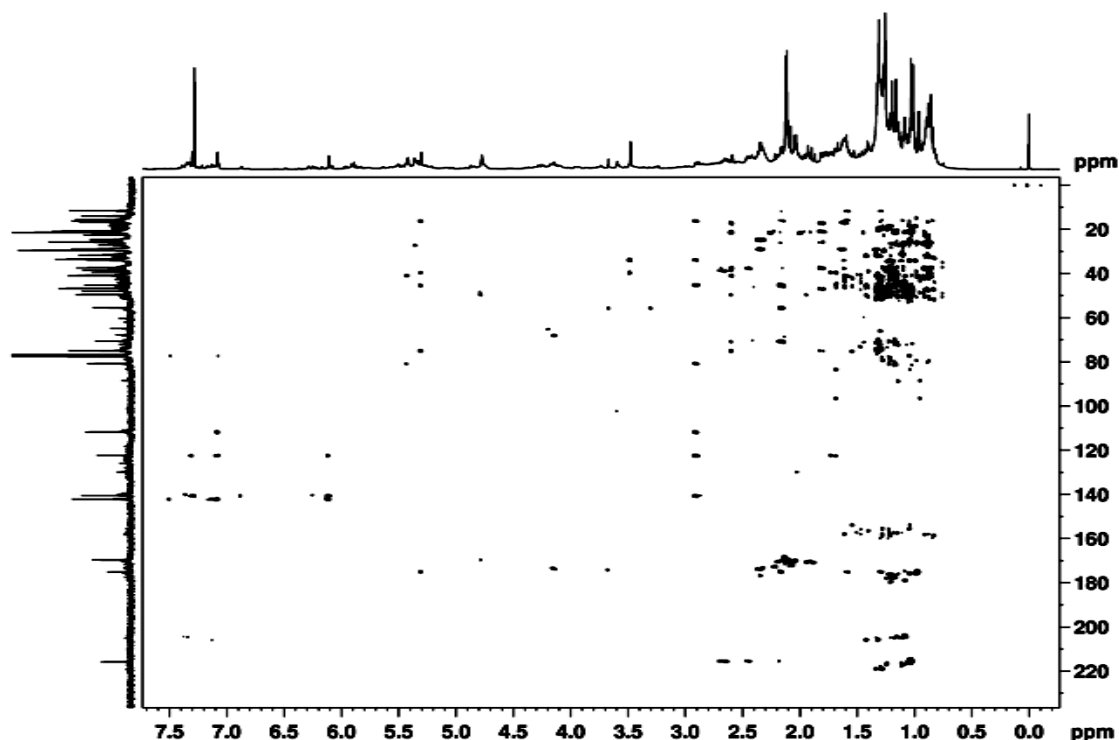
Estas informações, aliadas ao perfil do espectro de RMN de ^1H de **3** [Espectro 14], sugeriram tratar-se, também, de um limonoide.



Espectro 17 – RMN de ^{13}C e DEPT 135° da substância **3** (75 MHz, CDCl_3)



Espectro 18 – Experimento de HSQC da substância **3** (^1H : ^{13}C , 500 MHz: 125 MHz, CDCl_3)



Espectro 19 – Experimento de HMBC da substância **3** (^1H : ^{13}C , 500 MHz: 125 MHz, CDCl_3)

Admitindo-se que o sinal a δ 215,7, referente a uma cetona não conjugada, corresponda a C-3, o anel A de **3** apresenta ligação simples C-1/C-2, e não a ligação dupla presente nos compostos **1** e **2**, podendo-se, neste caso, atribuir os sinais a δ 38,6 e 33,6 para C-1 e C-2, respectivamente, como mostrado a seguir [Figura 12].

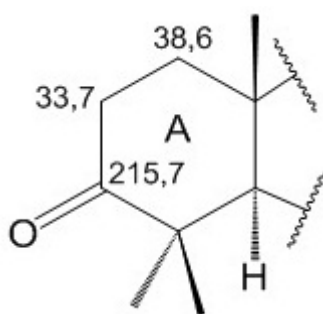


Figura 12 - Anel A da substância **3**

A análise do espectro de RMN de ^{13}C [Espectro 3.1.3.1] mostra a existência de duas carboxilas na estrutura de **3** (δ 169,6 e 175,1), levando à proposta preliminar de que a carboxila adicional em relação às substâncias **1** e **2** se localize no anel D, na forma de uma lactona. Sendo verdadeira esta hipótese, a substância **3** seria um seco-limonoide, com esqueleto do tipo da gedunina (De Paula *et al*, 1997) [Figura

3] Como o anel A de **3** não apresenta ligação dupla entre C-1 e C-2, o esqueleto desta substância corresponde ao da 1,2-di-hidrogedunina (CAS Registry Number: 2629-11-0) [Figura 14]. A literatura mostra que a gedunina (GDN) contém um grupo epóxido em C-14/C-15 (δ_C 69,7 e 56,8) e dois carbonos carbinólicos em C-7 e C-17 (δ_C 73,2 e 78,2).

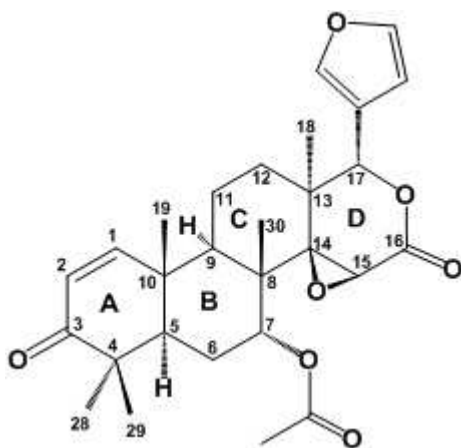


Figura 13

Estrutura da Gedunina (GDN)

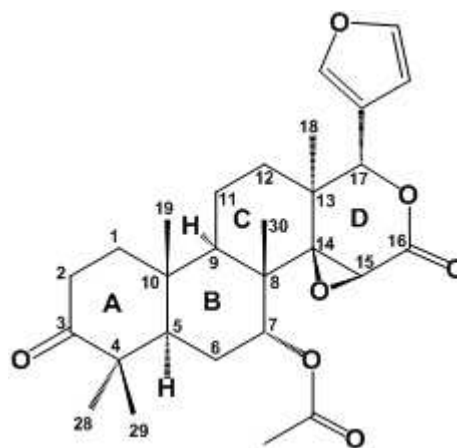
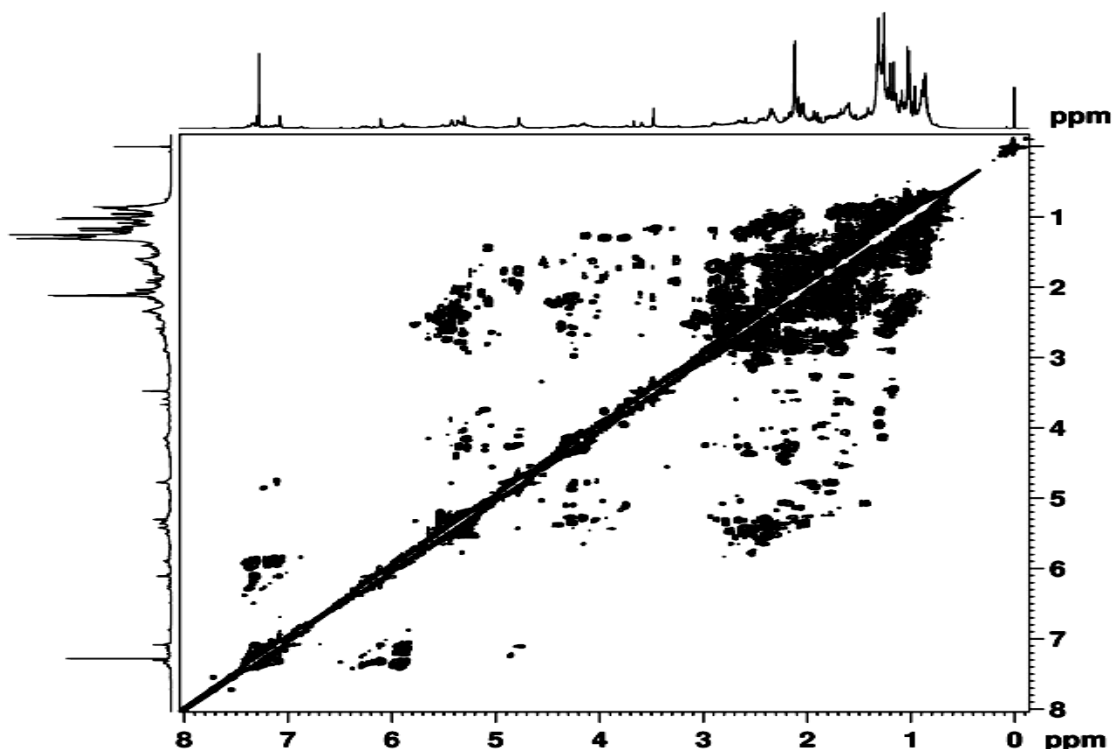


Figura 14

Estrutura da 1,2-di-hidrogedunina

O espectro de RMN de ^{13}C de **3** apresenta cinco sinais na região de carbonos carbinólicos, podendo um deles corresponder a C-17 (lactona). Admitindo-se que o sinal δ 70,7 (C) seja atribuído a C-14 e que o sinal de metino a δ 55,5 corresponda a C-15, pode-se propor a existência do grupo epóxido em C-14/C-15. Restam, portanto, três carbonos metínicos carbinólicos não atribuídos.

Os experimentos HSQC [Espectro 18] e COSY ^1H - ^1H [Espectro 20] forneceram significativas informações, conforme registrado nas Tabelas 6 e 7. Através destes experimentos observa-se que os carbonos relativos aos sinais a δ 80,8 (δ_H 5,30, *d*, $J = 2,8, \text{Hz}$) e 67,8 (δ_H 4,26, *dd*, $J = 11,2$ e $2,8, \text{Hz}$) são vicinais e compatíveis com a localização em C-7 e C-6, respectivamente.



Espectro 20 – Experimento de COSY- ^1H - ^1H da substância **3** (500 MHz, CDCl_3).

O experimento HMBC, por sua vez [**Espectro 19, Tabela 7**], mostra uma correlação entre o hidrogênio a δ 5,30 (H-7) e o carbono carboxílico a δ 175,1, evidenciando que há um grupo esterificado em C-7. A constante de acoplamento entre H-5 e H-6 (11,2 Hz) é compatível com uma relação *trans*-diaxial, indicando que a hidroxila de C-6 está orientada equatorialmente (α), enquanto a constante de acoplamento entre H-7 e H-6 ($J = 2,8$ Hz) revela uma relação axial-equatorial, levando à conclusão de que o substituinte de C-7 está axialmente orientado (α).

A atribuição da última posição oxidada [δ_{C} 75,0; δ_{H} 4,77, 1H, (*dd*; $J = 5,6$ e 3,0 Hz)] foi definida como sendo em C-12 em virtude das correlações observadas no experimento HMBC entre o referido hidrogênio e C-14 e C-17. A orientação da hidroxila de C-12 em **3** foi definida como sendo β em virtude das correlações observadas no experimento NOESY [**Figura 15**], destacando-se as correlações entre H-12 e os hidrogênios da metila C-18 [**Espectro 21 e 22**].

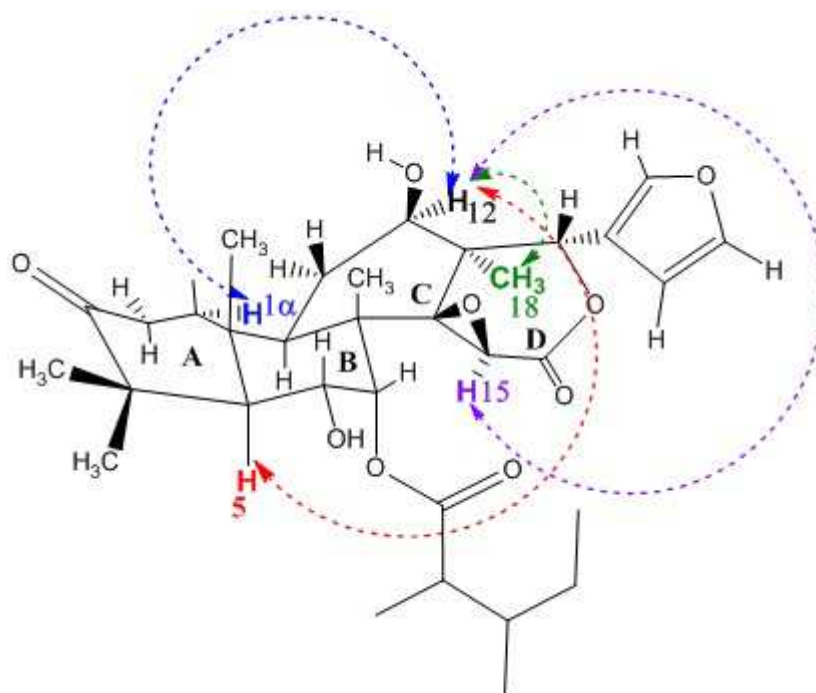


Figura 15 - Correlações de NOE observadas para H-12 β (δ 4,77) no experimento NOESY da substância **3**.

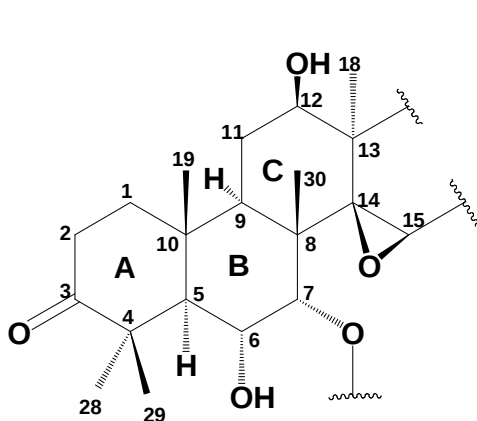


Figura 16

Posição e orientação da hidroxila em C-12 na substância **3**.

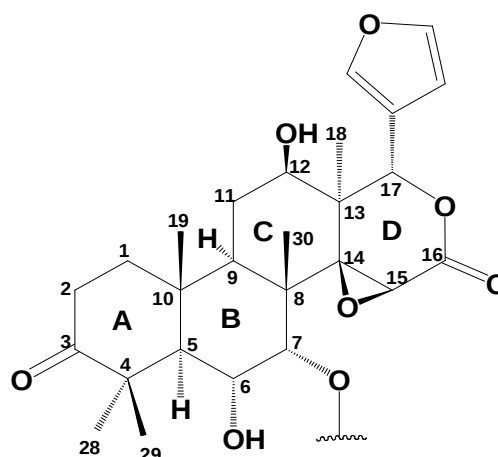


Figura 17

Anel A, B, C e D da substância **3**.

Ainda no espectro de RMN de ^{13}C [Espectro 17] foram observados seis sinais adicionais em relação aos carbonos do esqueleto da gedunina: a δ 41,1 (CH), 41,1 (CH), 31,8 (CH₂), 16,9 CH₃, 11,7 (CH₃) e 11,6(CH₃). Ao comparar estes dados com os do grupo substituinte das substâncias **1** e **2**, verifica-se que **3** possui o mesmo substituintes das substâncias **1** e **2** [Figura 18].

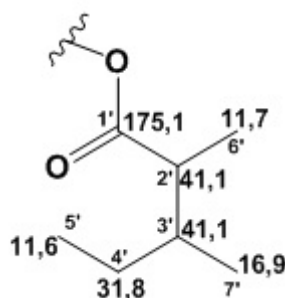
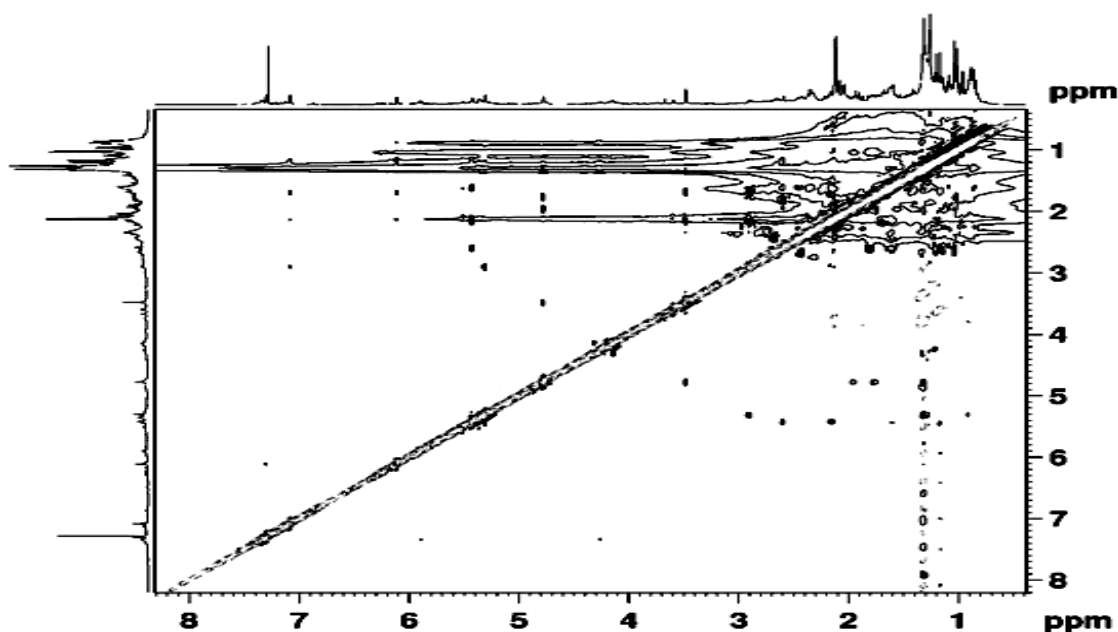


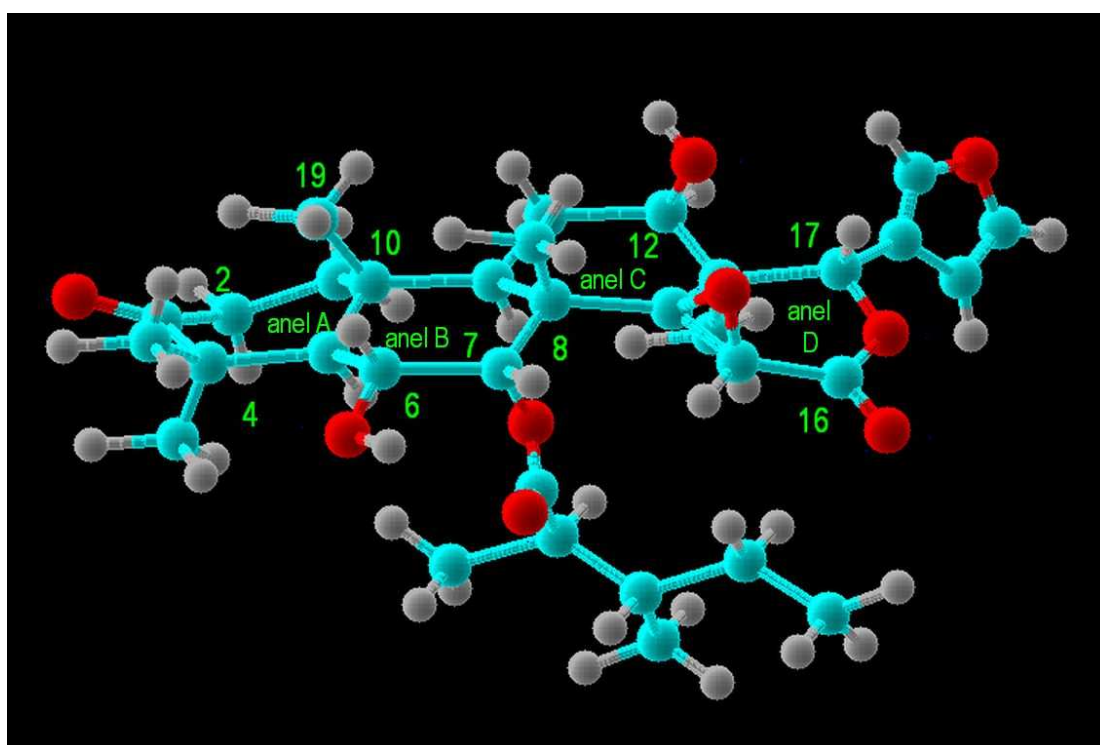
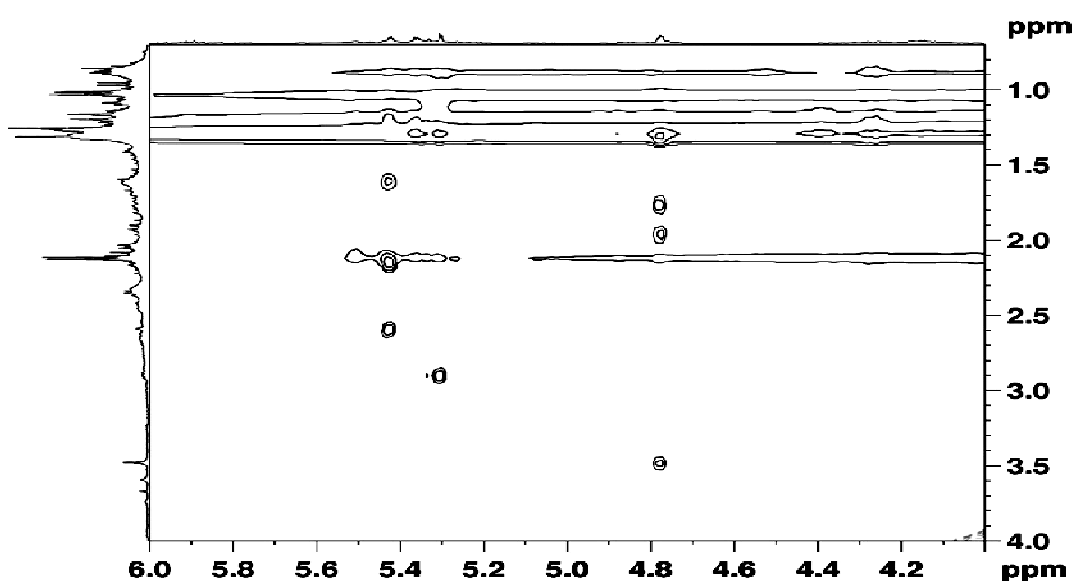
Figura 18 - Substituente ligado à carbonila do grupo acetila em C-7 da substância 3.

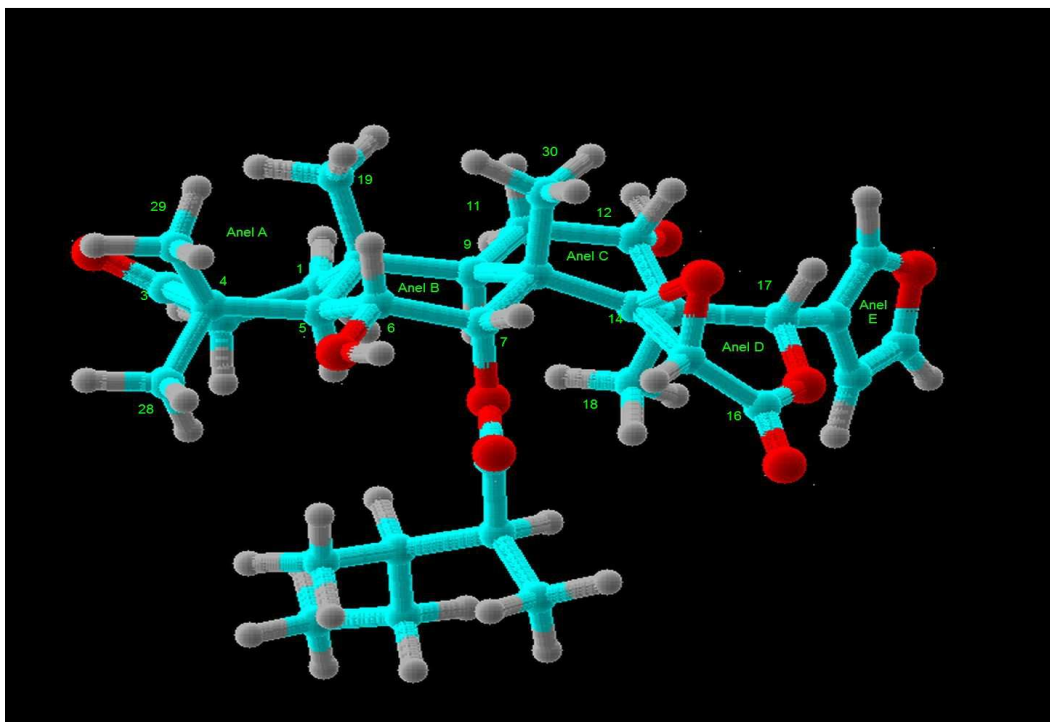
Através das correlações observadas no experimento HMBC entre H-6 (δ_H 4,26, *dd*, $J = 11,2$ e $2,8$ Hz) e C-1' (δ_C 175,1-C) e entre H-7 (δ_H 5,30, *d*, $J = 2,8$ Hz) e C-2' (δ_C 41,1-CH) e C-1' (δ_C 175,1-C) pode-se concluir que da mesma forma que em **1** e **2** o grupo substituinte de **3** também se encontra ligado ao oxigênio de C-7.

Utilizando programa PCMODEL[®] Versão 7.5 da Serena[®] Software foram realizados cálculos da conformação de mínima energia para a substância **3** [Figura 19], e também para seu isômero com C-12OH- α [Figura 20], a qual evidencia a impossibilidade de correlação por NOE entre H-12 β e os hidrogênios da metila C-18.

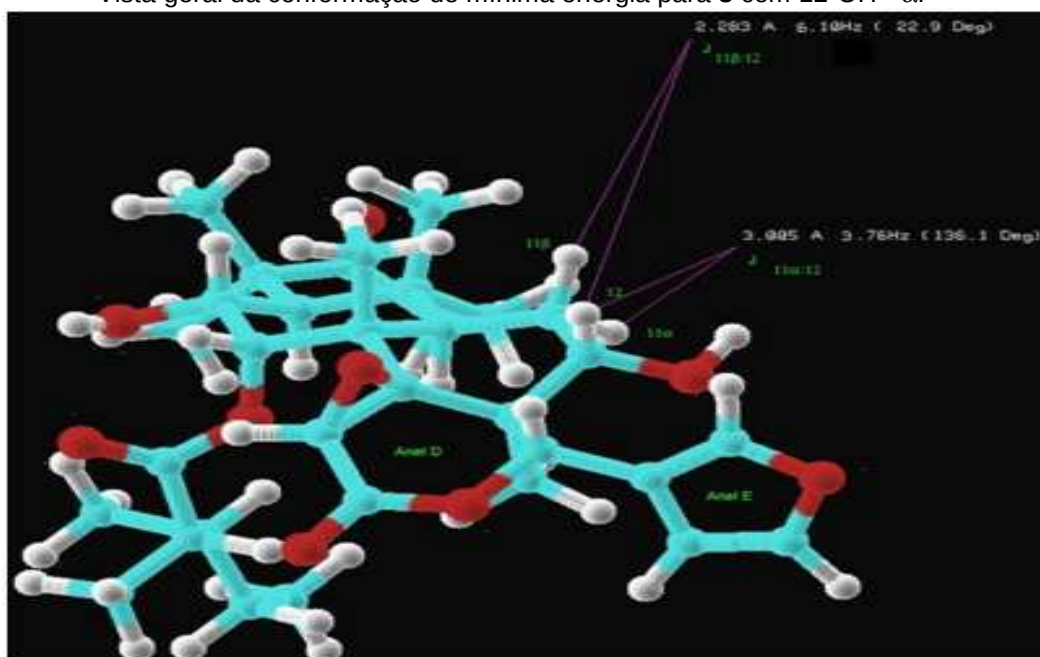


Espectro 21 – Experimento de NOESY- ^1H - ^1H da substância **3** (500 MHz, CDCl_3)

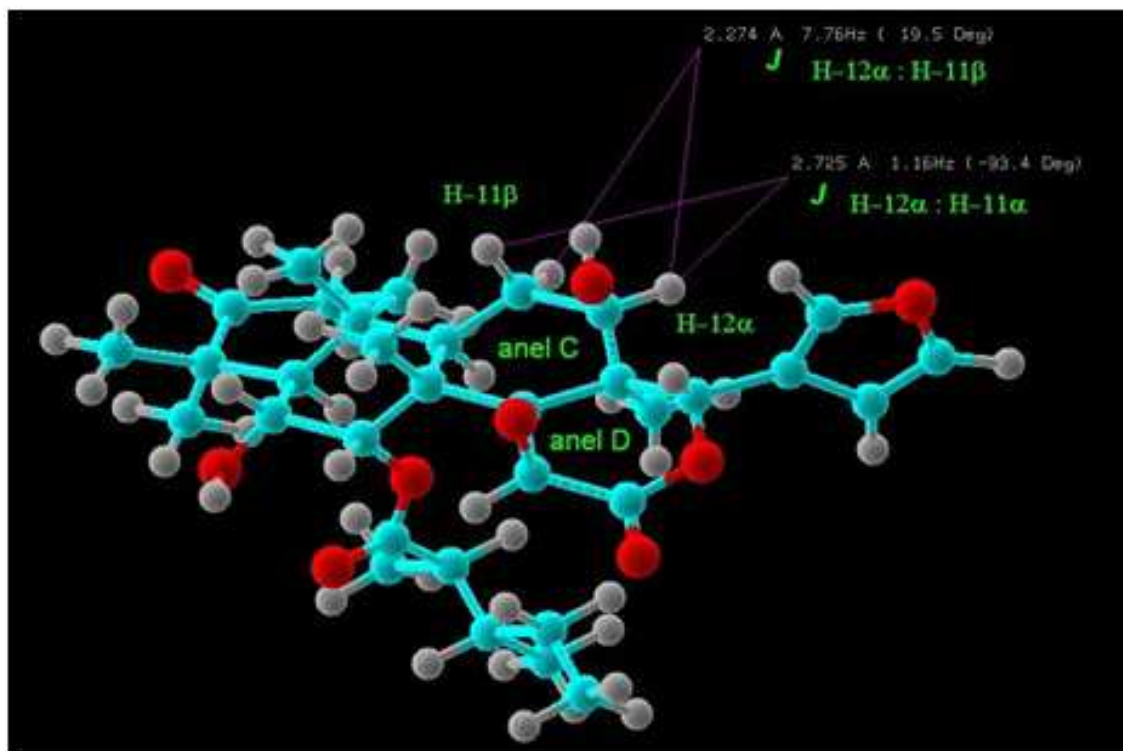


**Figura 20**

Vista geral da conformação de mínima energia para **3** com 12-OH - α .

**Figura 21**

Ângulos diedros e constantes de acoplamentos H-12:H-11 α e H-12:H-11 β calculados a partir da conformação de mínima energia para **3** com 12-OH - α

**Figura 22**

Ângulos diedros e constantes de acoplamentos H-12:H11 α e H-12:H-11 β calculados a partir da conformação de mínima energia para **3** com 12-OH - β

A partir desta conformação pode-se verificar que apenas o anel B está na conformação cadeira, justificando os valores de acoplamento (J) para os hidrogênios presentes neste anel (H-5, H-6 e H-7). Cabe destacar que o anel C encontra-se em conformação barco justificando os pequenos valores J para o H-12 (5,6 e 3,0 Hz), decorrentes do acoplamento deste hidrogênio com H-11 α e H-11 β . O programa PCMODEL permite determinar o ângulo diedro entre H-12 e H-11 α ou H-11 β , a partir destes ângulos pôde-se determinar valor de J entre tais hidrogênios na estrutura da conformação de mínima energia calculada: $J_{\text{H-12/H11}\alpha}$ calculado igual a 3,76 Hz e $J_{\text{H-12:H-11}\beta}$ calculado igual a 6,10 Hz. Por comparação, verifica-se que os dados experimentais de J para H-12 (5,6 e 3,0 Hz) são bem próximos dos valores calculados, fortalecendo a proposta para a estereoquímica de C-12. Este mesmo cálculo foi realizado para **1** obtendo-se o mesmo resultado quanto à conformação dos anéis B e C [Figura 23 e 24].

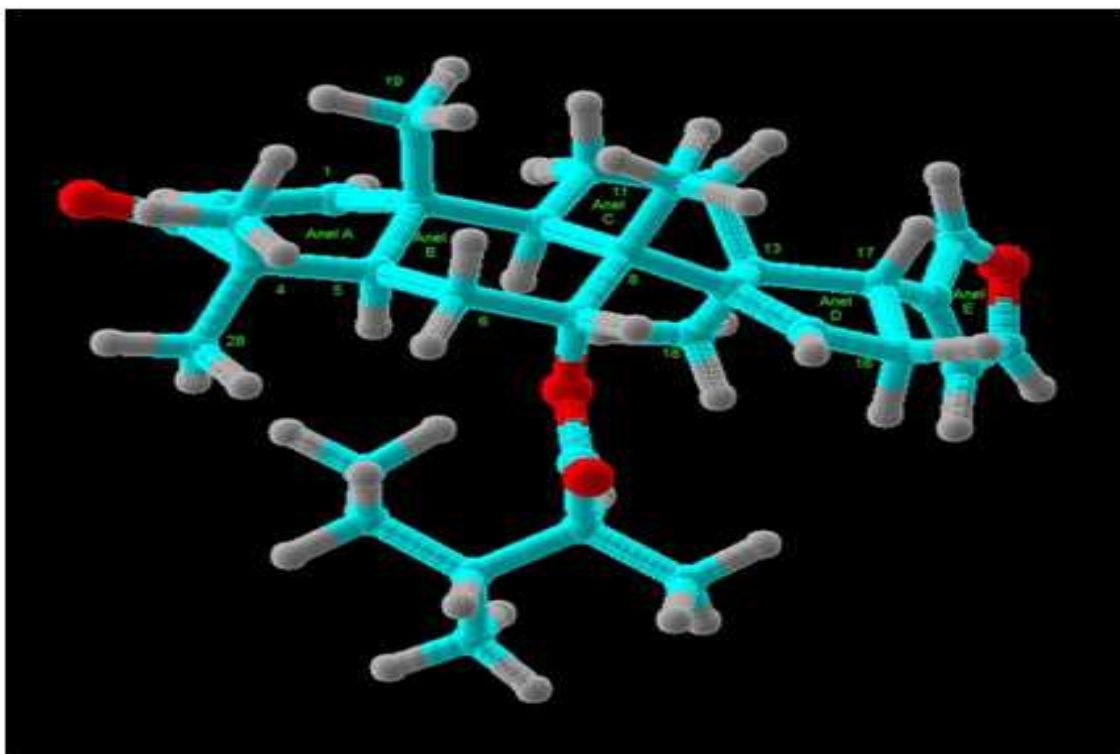


Figura 23 - Vista geral da conformação de mínima energia para **1**

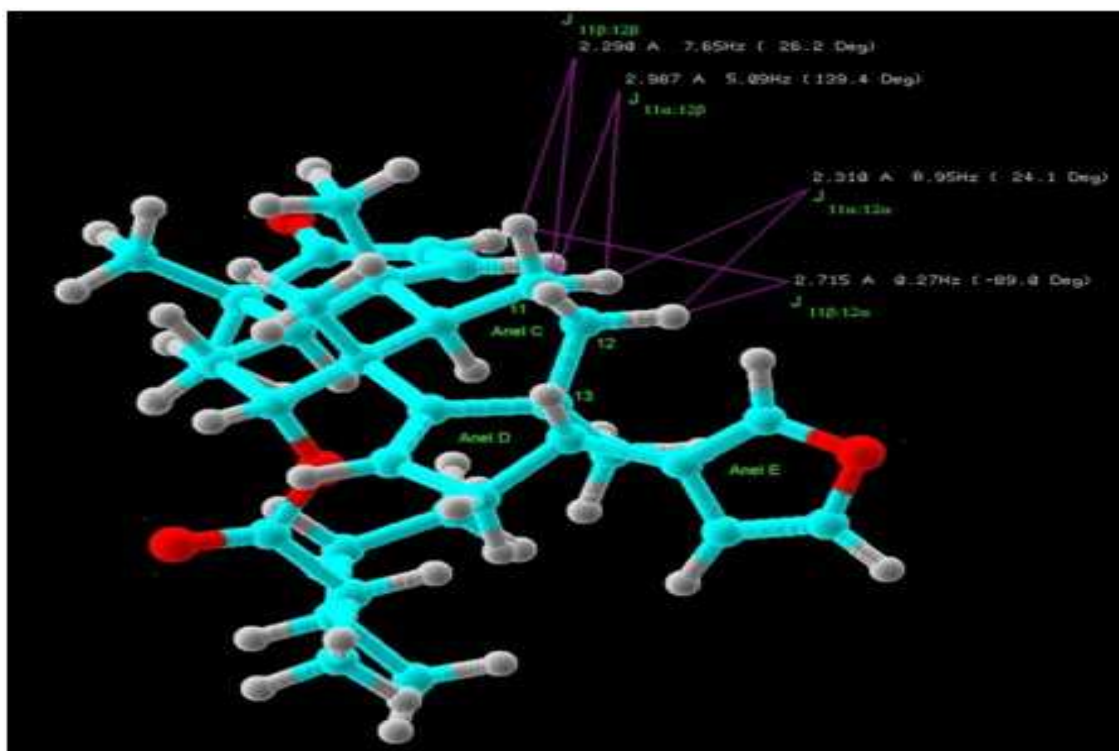


Figura 24 –

Ângulos diedros e constantes de acoplamentos H-12:H11 α e H-12:H-11 β calculados a partir da conformação de mínima energia para **1**

Este conjunto de dados permite, portanto, propor para **3** a estrutura a seguir que corresponde a substância denominada de **6 α ,12 β -di-hidróxi-7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil 1,2-di-hidrogedunina [Figura 25].**

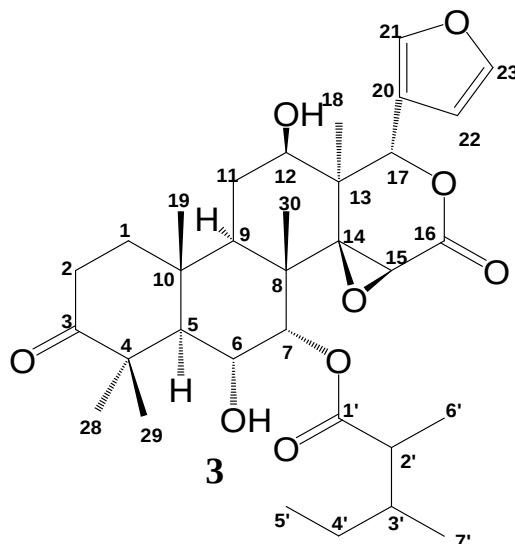


Figura 25 – Estrutura da substância **3**

Tabela 6- Dados de RMN de ^1H e algumas correlações observadas no experimento COSY- ^1H - ^1H e NOESY de **3** (500 MHz, CDCl_3).

H	3		
	δ_{H} (nH; mult.; J(Hz))	COSY	NOESY
1	1,59 (1H β ; <i>ddd</i> ; 14,0; 8,0; 3,0)	H-2 α , H-2 β	-
	2,16 (1H α ; <i>ddd</i> ; 14,0; 11,0; 7,0)	H-2 β	-
2	2,65 (1H β ; <i>ddd</i> ; 14,0; 11,0; 7,0)	H-1 α	-
	2,45 (1H α ; <i>ddd</i> ; 14,0; 8,0; 3,0)	H-1 β	-
5	2,21 (1H; <i>d</i> ; 11,2)	H-6	-
6	4,26 (1H; <i>dd</i> ; 11,2; 2,8)	H-5, H-7	-
7	5,30 (1H; <i>d</i> ; 2,8)	H-6	H-6, H-15, H-19, H-30
9	2,60 (1H; <i>dd</i> ; 11,0; 4,0)	H-11 α , H-11 β	
11	1,29 (1H β ; <i>ddd</i> ; 14,0; 8,0; 4,0)	H-9	H-18, H-15, H-5, H-1 α
	1,55 (1H α ; <i>ddd</i> ; 14,0; 11,0; 8,0)	H-9	
12	4,77 (1H; <i>dd</i> ; 5,6 e 3,0 Hz)		
15	3,47 (1H; <i>s</i>)	-	H-7, H-2'
17	5,42 (1H; <i>s</i>)	-	H-9
18	1,31 (3H; <i>s</i>)	-	H-3'
19	1,08 (3H; <i>s</i>)	-	H-7
21	6,10 (1H; <i>d</i> ; 1,5)	H-21, H-22	H-4', H-5'
22	7,30 (1H; <i>dd</i> ; 2,0 e 1,5)	H-21	H-2', H-3', H-4'
23	7,08 (1H; <i>d</i> ; 2,0)	H-21	H-2', H-3'
28	1,01 (3H; <i>s</i>)		
29	1,03 (3H; <i>s</i>)		
30	1,16 (3H; <i>s</i>)		
2'	2,33 (1H; <i>dq</i> ; 13,0; 7,0)	H-4', H-3', H-6'	H-15
3'	2,20 (1H; <i>m</i>)	H-2', H-4',	H-23, H-3'
4'	2,10 (1H; <i>m</i>)		-
	1,67 (1H; <i>m</i>)	H-2', H-3', H-5', H-7'	-
5'	0,86 (3H; <i>t</i> ; 7,4)		
6'	0,89 (3H; <i>d</i> ; 7,0)	H-2'	-
7'	1,25 (3H; <i>t</i> ; 7,0)	H-4', H-5'	-

Tabela 7 - Dados de RMN de ^1H (300 e/ou 500 MHz), de RMN de ^{13}C (75 MHz), algumas correlações observadas no experimento HMBC de **3** (500/125 MHz, CDCl_3), dados de RMN de ^{13}C da substância **1** (75 MHz, CDCl_3) e da gedunina (**GDN**)(100 MHz, CDCl_3 , De Paula *et al*, 1997).

C	3			1	GDN
	δ_c	δ_H (nH; mult.; J(Hz))	HMBC (H $\rightarrow$ C)	δ_c	δ_c
1	38,6	1,59 (1H β ; <i>ddd</i> ; 14,0; 8,0; 3,0) 2,16 (1H α ; <i>ddd</i> ; 14,0; 11,0; 7,0)	C-2, C-3, C-5 C-2, C-3, C-5, C10	158,5	157,0
2	33,6	2,65 (1H β ; <i>ddd</i> ; 14,0; 11,0; 7,0) 2,45 (1H α ; <i>ddd</i> ; 14,0; 8,0; 3,0)	C-1, C-3, C-4, C10 C-1, C-3	125,5	125,9
3	215,8	-	-	204,7	204,0
4	46,8	-	-	44,1	44,0
5	49,5	2,21 (1H; <i>d</i> ; 11,2)	C-6, C-4, C-19, C-28	46,1	46,0
6	67,8	4,26 (1H; <i>dd</i> ; 11,2; 2,8)	C-7, C-1'	23,7	23,2
7	80,8	5,30 (1H; <i>d</i> ; 2,8)	C-6, C-8, C-3', C-1'	73,6	73,2
8	40,9	-	-	42,6	42,6
9	48,0	2,60 (1H; <i>dd</i> ; 11,0 e 4,0)	C-1, C-5, C-8, C-10, C-11, C-12, C-14, C-30	38,6	39,5
10	37,4	-	-	40,1	40,0
11	22,6	1,29 (1H β ; <i>ddd</i> ; 14,0; 8,0; 4,0) 1,55 (1H α ; <i>ddd</i> ; 14,0; 11,0; 8,0)	C-9, C-12, C-14	16,5	14,9
12	75,0	4,77(1H; <i>dd</i> ; 5,6 e 3,0Hz)	C-14, C-17, C-18	32,7	25,9
13	45,3	-	-	47,2	38,7
14	70,7	-	-	158,3	69,7
15	55,5	3,47 (1H; <i>sl</i>)	C-7, C-8, C-13, C-14, C-16	118,9	56,8
16	169,6	-	-	34,3	167,4
17	74,9	5,42 (1H; <i>s</i>)	C-12, C-14, C-16, C-18	51,5	78,2
18	21,4	1,31 (3H; <i>s</i>)	C-13, C-14, C15	27,8	17,7
19	21,3	1,08 (3H; <i>s</i>)	C-1, C-2, C-5, C-11, C-30	19,1	19,7
20	122,4	-	-	124,6	120,4
21	140,6	6,10 (1H; <i>d</i> ; 1,5)	C-13, C-20, C-22, C-23	139,7	143,1
22	111,8	7,30 (1H; <i>dd</i> ; 2,0 e 1,5)	C-13, C-20, C-21, C-23,	111,1	109,8
23	142,2	7,08 (1H; <i>d</i> ; 2,0)	C-20, C-21, C-22	142,6	141,2
28	25,7	1,01 (3H; <i>s</i>)	C-3, C-5	20,0	27,1
29	20,9	1,03 (3H; <i>s</i>)	C-3, C-4, C-5	27,1	21,2
30	21,4	1,16 (3H; <i>s</i>)	C-7, C-8, C-11, C-14, C-19	21,3	18,3
1'	175,1	-	-	175,7	169,9
2'	41,1	2,33 (1H; <i>dq</i> ; 13,0; 7,0)	C-1', C-6'	41,8	-
3'	41,1	2,20 (1H; <i>m</i>)	C-1', C-4', C-6', C-7	41,8	-
4'	31,8	2,10 – 2,19 (1H; <i>m</i>) 1,64 – 1,72 (1H; <i>m</i>)	C-2', C-3'	31,9	-
5'	11,6	0,86 (3H; <i>t</i> ; 7,4)	C-2', C-3', C-4'	12,0	21,0
6'	11,7	0,89 (3H; <i>d</i> ; 7,0)	C-2', C-7'	12,1	-
7'	16,9	1,25 (3H; <i>t</i> ; 7,0)	C-2', C3'	17,4	-

A gedunina foi isolada das cascas do caule de *Azadirachta indica* (Meliaceae) e nos testes biológicos apresentou atividade antimalárica (*in vitro*) mais ou menos equivalente à substância padrão quinina (Khalid, 1989). Foi isolada também a partir da casca de *Xylocarpus granatum* J. König (Meliaceae), e nos testes biológicos realizados apresentaram níveis moderados de atividade antineoplásica, mas os pesquisadores recomendaram que a estrutura do limonoide pudesse ser utilizada como um modelo para a geração de outros compostos modificados que venham a melhorar esta atividade (UDDIN et al., 2007). O mesmo artigo ainda relata outras atividades para a gedunina como: inseticida; inibidora de acetilcolinesterase; mosquicida; antifúngicas e antialérgica. Derivados sintéticos da gedunina, com substituintes em C-7, foram testados como inibidor de proteínas, através da via Hsp90-dependente, a inibição dessa via consiste em um dos tipos de mecanismos de atividade anticâncer. Nesse contexto de inibição, derivados sintéticos da gedunina mostraram-se eficientes contra células cancerígenas de mama humana (SKBR3) e de adenocarcinoma (MCF-7) (Brandt et al., 2008).

Além disso, Brandt et al. (2008) observaram que o produto natural apresentou maior atividade quando comparado aos derivados, no entanto a partir dos derivados sintéticos foram observadas funcionalidades importantes para a atividade antiproliferativa. Alguns pontos substituídos da estrutura da gedunina foram identificados e o grupo acetoxila na posição C-7 parece aumentar a citotoxicidade contra células cancerígenas de mama de camundongo (FM3A) (Tanaka et al., 2012).

Em outro estudo utilizando amostra de um óleo comercial de *Carapa guianensis* (Meliaceae) e das raízes e folhas de *Cedrela fissilis* Vell (Meliaceae), foram isolados e identificados os limonoides do tipo gedunina e alguns de seus derivados que foram submetidos a ensaios de atividade sobre formigas *Atta sexdens rubropilosa* e apresentaram atividade inseticida moderada (Ambrozin et al., 2006).

Outro derivado, a deoxigedunina, imita as atividades biológicas do mediador neurotrófico BDNF, esse mediador atua nos processos de regeneração de fibras nervosas lesadas, através ativação do receptor TrkB, portanto essa característica proporciona uma poderosa ferramenta terapêutica para o tratamento de diversas doenças neurológicas (Jang et al., 2010).

A gedunina e a fotogedunina, que foram isolados e identificados nos frutos de *Xylocarpus granatum* (Meliaceae), demonstraram significativa atividade

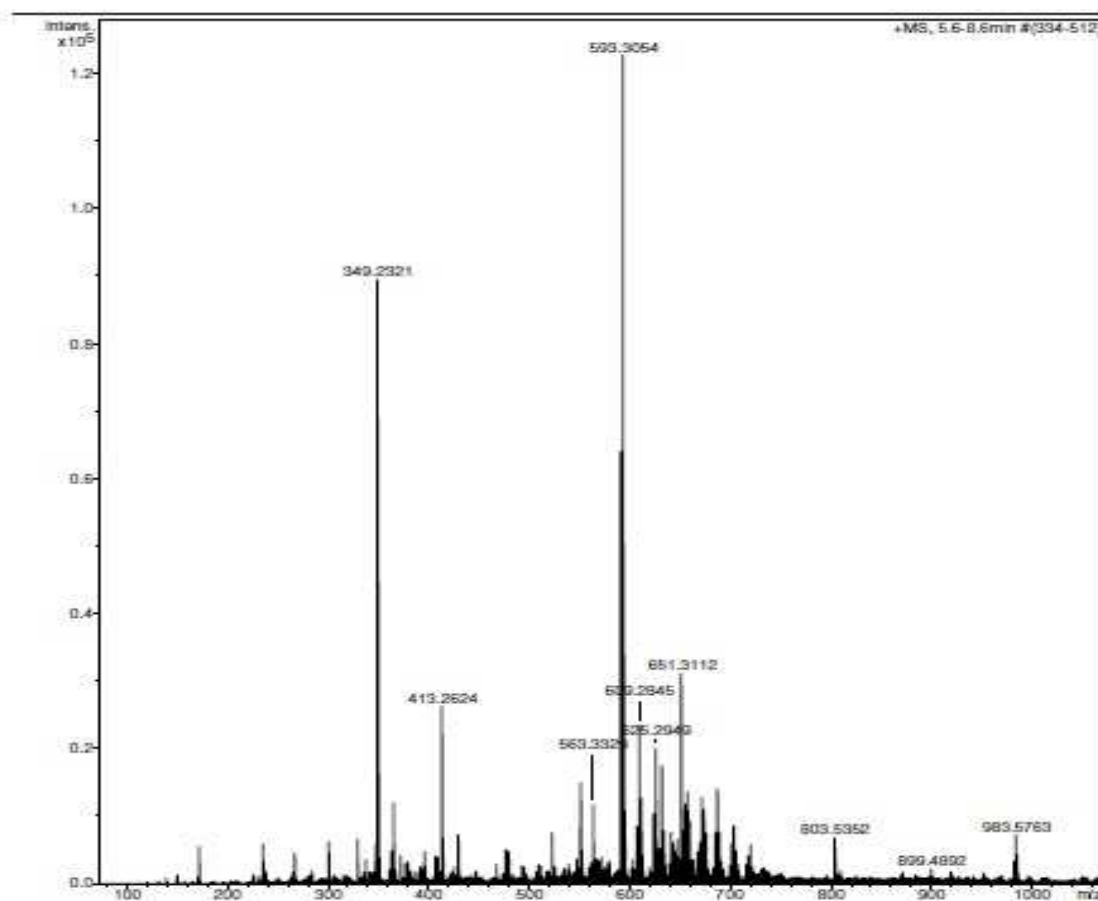
antissecretora e protetora da mucosa em ratos com úlcera gástrica, sugerindo que estas podem atuar como um potente agente terapêutico contra a úlcera péptica (Lakshmi *et al.*, 2010). Também foi isolada de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) e apresentaram atividade sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), a traça-do-tomateiro, alongando o desenvolvimento larval e reduzindo a sobrevivência dessa fase (Cunha *et al.*, 2008).

Apesar da forma 1,2-di-hidrogenada da gedunina ter menor ocorrência como produto natural, nesta fração esta substância ocorre como componente majoritário. Tanto na forma hidrogenada ou não, com a hidroxila como substituinte em C-12 e o substituinte 1,2-dimetil-pentanoil em C-7, este derivado da gedunina é inéditos na literatura.

3.1.4. - Identificação da 12 α -hidróxi-7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-gedunina (4) e da 12 α -hidróxi-7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-1,2-di-hidro-gedunina (5)

A fração TSTSM10 [Item 4.2.4.3, Esquema 2], contendo a mistura das substâncias 4 e 5, apresentou-se como um sólido (45,0 mg) de coloração branca e quando analisada por CCDA, eluída em Hex/AcOE t(8:2) e revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou uma mancha de coloração roxa.

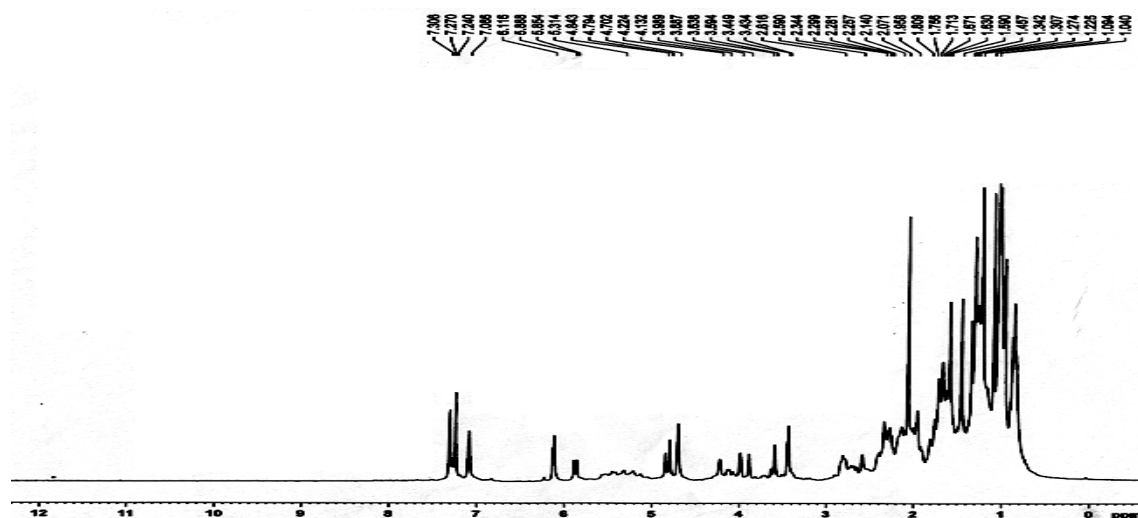
As análises por espectrometria de massa com ionização por electrospray de alta resolução (HRESI) apresentou um pico pseudomolecular em m/z 593,3054, que foi racionalizado para a $M+Na^+$ (calculado: 593,3078, diferença de 4 ppm), sendo M correspondente à fórmula molecular $C_{33}H_{46}O_8$ [Espectro 23].



Espectro 23 – HRESI da fração TSTSM10.

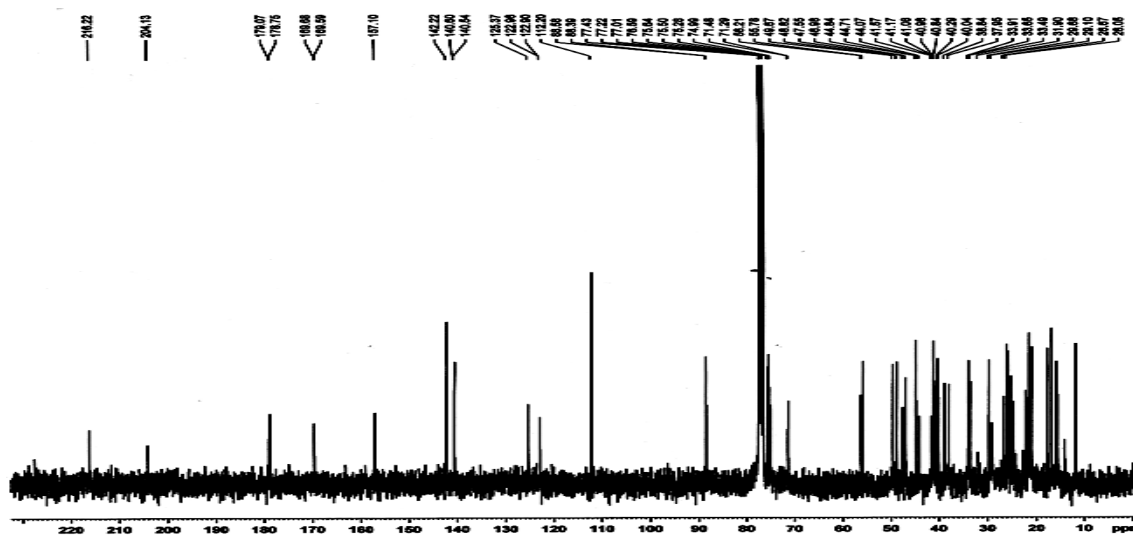
O espectro de RMN de 1H desta fração [Espectro 24, Tabela 8] apresentou um conjunto de sinais próximos a δ 1,0, típico de uma substância com natureza triterpênica. Apresentou, também, sinais nas regiões referentes a hidrogênios

ligados a carbonos oxigenados e olefínicos semelhantes aos observados no espectro de RMN ^1H da substância **3**.

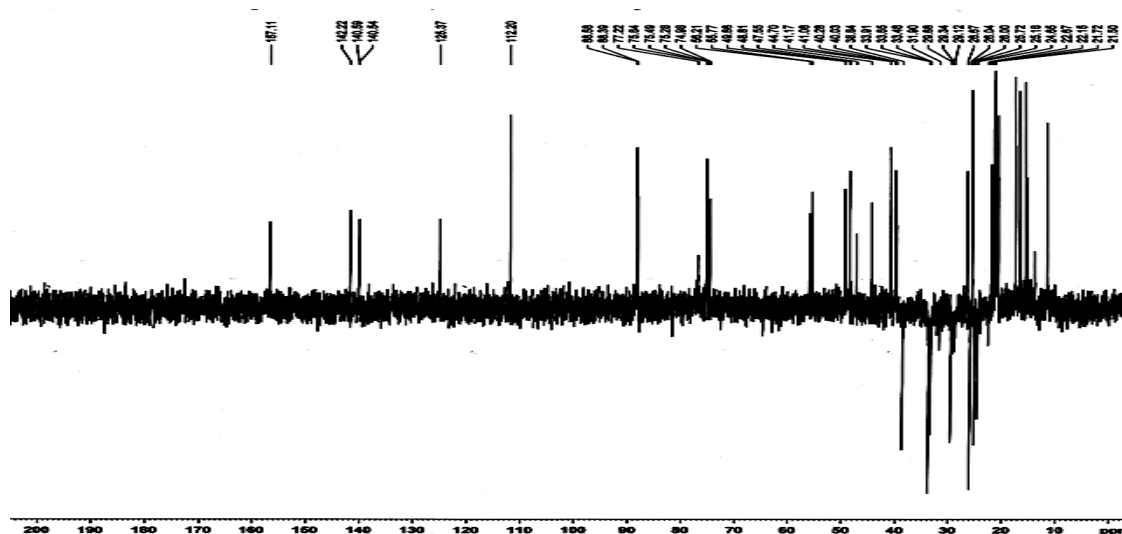


Espectro 24 - RMN ^1H das substâncias **4** e **5** (300 MHz, CDCl_3).

No espectro RMN ^{13}C [Espectro 25, Tabela 9] foram observados sessenta e seis sinais que constituíam dois grupos muito semelhantes de trinta e três carbonos cada: os de maior intensidade correspondem à substância **5** e os de menor intensidade à substância **4**.



Espectro 25 - RMN ^{13}C das substâncias **4** e **5** (75 MHz, CDCl_3)



Espectro 26 – Experimento DEPT 135° das substâncias **4** e **5** (75 MHz, CDCl_3)

Dos trinta e três sinais de **5**, observados no espectro RMN ^{13}C [**Espectro 25, Tabela 8**] e comparado ao experimento DEPT 135° [**Espectro 26**], um corresponde a carbonila (δ 216,2), dois a carboxilas (δ 178,7, 169,7), quatro a carbonos olefínicos (δ 142,2, 140,5, 123,0 e 112,2) e cinco a carbonos carbinólicos (δ 88,6, 75,6, 75,5, 71,3 e 55,8), além de um conjunto de sinais entre δ 55,8 e 11,8, correspondentes a carbonos com núcleos mais protegidos. Estes se apresentaram muito semelhantes aos sinais observados no espectro RMN ^{13}C de **3**.

Desta forma, o anel A de **5** também não tem a ligação dupla C-1/C-2 e os sinais a δ 38,3, 33,8 puderam ser atribuídos para C-1 e C-2. Ainda no espectro de RMN ^{13}C de **5** [**Espectro 25, Tabela 8**] foi observado uma proteção de 41,7 ppm para C-6, quando comparado com os dados de RMN ^{13}C de **3**, compatível com ausência da hidroxila neste carbono. Os demais dados de RMN ^{13}C de **5** [**Espectro 25, Tabela 8**] e seus dados de RMN de ^1H apresentaram uma boa correlação com parte dos sinais da substância **3** e da gedunina. A comparação dos sinais de RMN ^{13}C destas substâncias é compatível com a ausência de hidroxila em C-6 e a presença de uma hidroxila em C-12. No entanto, o deslocamento químico atribuído a C-12 (δ 88,6) é desprotegido de 13,6 ppm em relação ao mesmo carbono de **3**.

A análise dos experimentos bidimensionais do composto **3** revelou que nesta amostra havia uma contaminação com as substâncias **4** e **5**. Desta forma, além das correlações intensas observadas para a substância **3** foi possível observar algumas correlações para as substâncias **4** e **5**. Estas correlações são mostradas nas Figuras **28** e **29**. As correlações observadas no experimento HSQC são compatíveis com a

localização da hidroxila em C-12, enquanto o experimento NOESY não mostra as correlações, observadas para o composto **3**, de H-12 com H-18, H-15 e H-5. Estas considerações levaram à proposta de que a configuração de C-12 no composto **5** é diferente daquela observada para o composto **3**, sendo que esta inversão de configuração seria a responsável pela diferença de deslocamento químico de C-12 entre as estas substâncias.

Deste modo, a substância **5** foi identificada como sendo a **12 α -hidróxi-7-desacetil-7-(2', 3'-dimetil)-pentanoil-1,2-di-hidrogedunina**, sendo este o seu primeiro relato na literatura.

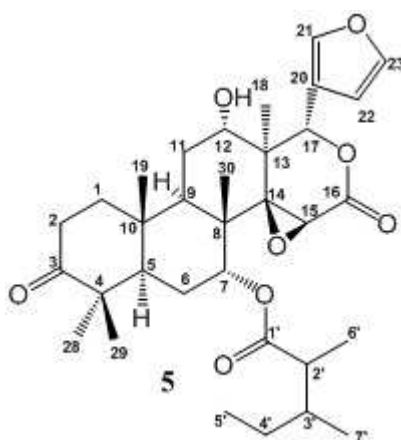


Figura 26 – Estrutura da substância **5**

Já, dos trinta e três sinais de **4**, observados no espectro RMN ^{13}C [Espectro **25**, Tabela **8**] e comparados ao experimento DEPT 135° [Espectro **26**], um corresponde a carbonila conjugada (δ 204,1), dois a carboxilas (δ 179,1, 169,6), seis a carbonos olefínicos (δ 157,1, 142,2, 140,6, 126,4, 122,9 e 112,2) e cinco a carbonos carbinólicos (δ 88,4, 75,3, 75,0, 71,4 e 56,2), além de um conjunto de sinais correspondentes a carbonos alifáticos (entre δ 56,2 e 11,8).

Os dados de RMN ^{13}C e de ^1H de **4** apresentam uma boa correlação quando comparados com os da substância **5**, evidenciando uma diferença estrutural apenas no anel A que indicaram a presença de um sistema enona em **4**, conforme observado nas substâncias **1** e **2**. [Tabela **9**]. Assim, a substância **4** foi identificada como sendo a **12 α -hidróxi-7-desacetil-7-(2', 3'-dimetil)-pentanoil-gedunina**, sendo este um composto inédito na literatura.

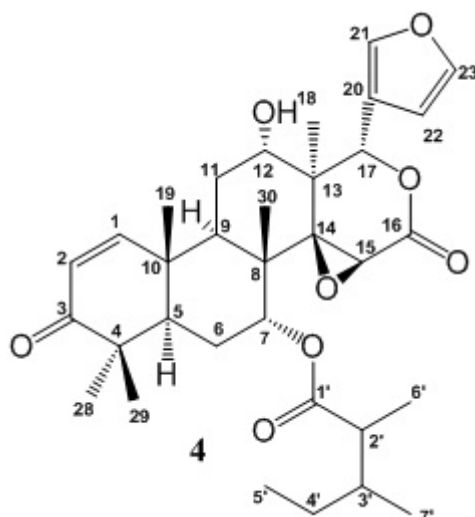
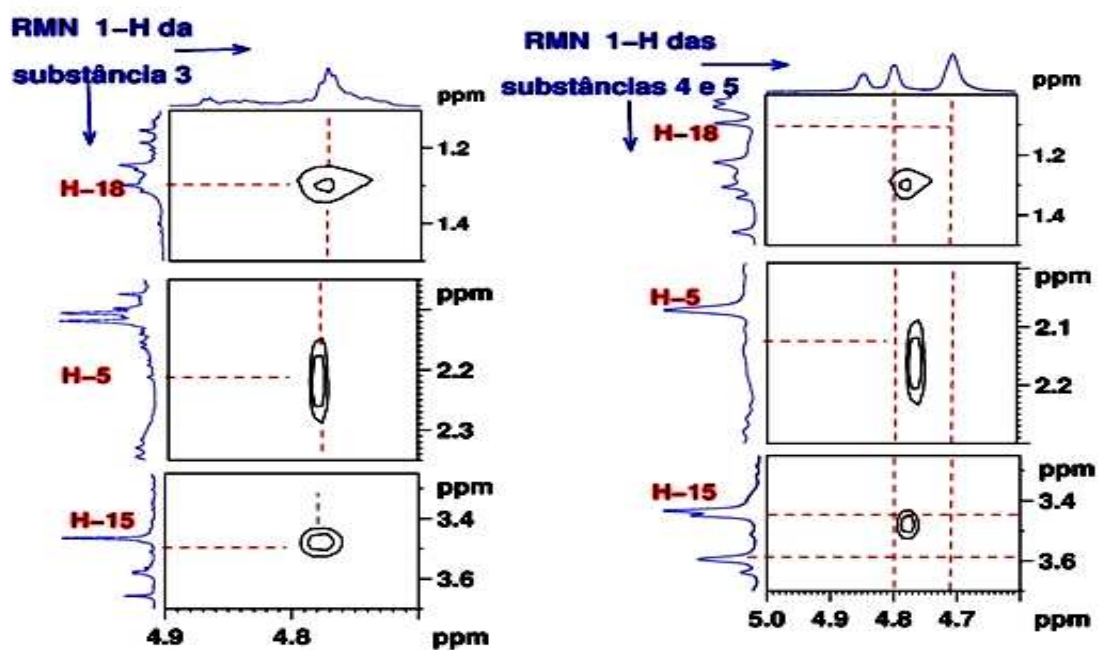


Figura 27 – Estrutura da substância 4



Obs. Correlações de NOE observadas no experimento NOESY para amostra TSTSM10 (mistura 3, 4 e 5)

Figura 28 - Correlações intensas observadas para a substância 3 e algumas correlações para as substâncias 4 e 5.

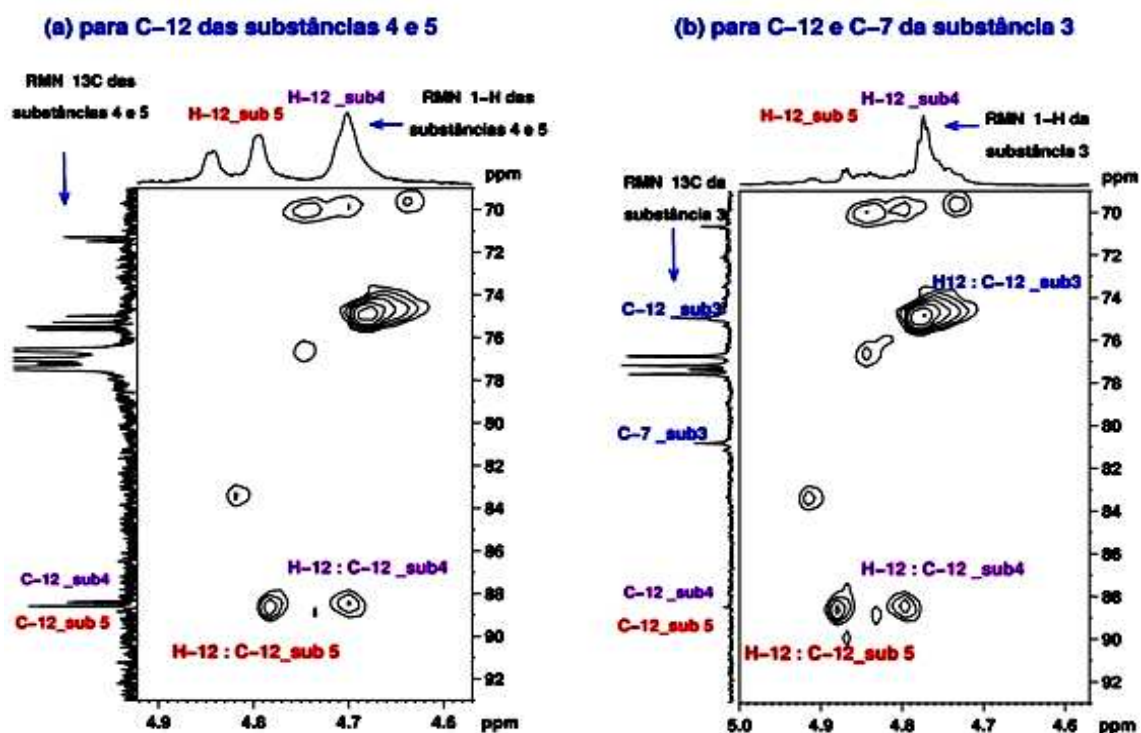


Figura 29 - - Correlações observadas no experimento HSQC compatíveis com a localização da hidroxila em C-12.

Tabela 8 - Dados de RMN de ^{13}C (CDCl_3 , 75 MHz) obtidos para **3**, **4** e **5** e de RMN de ^1H (500 e/ou 300 MHz, CDCl_3) obtidos para as substâncias **4** e **5**.

C	δ_{C}			δ_{H} (nH; mult.; J(Hz))	
	3	4	5	4	5
1	38,6	157,1	38,8	7,26 (1H; d; 10,2)	1,60 – 1,80 (1H β ; m) 2,02-2,20 (1H α ; m)
2	33,6	125,4	33,9	5,87 (1H; d; 10,2)	2,80 (1H β ; ddd; 14,2; 10,8; 4,3) 2,45 (1H α ; ddd; 14,2; 8,3; 3,4)
3	215,8	204,1	216,2	-	-
4	46,8	44,1	47,0	-	-
5	49,5	44,7	48,8	2,27 (1H; dd; 12,3 e 4,3)	2,18 (1H; dd; 11,3 e 4,8)
6	67,8	26,0	26,1	1,75-1,90 (1H; m) 1,90 -2,15 (1H; m)	1,75-1,90 (1H; m) 1,90 -2,15 (1H; m)
7	80,8	75,0	75,6	5,42 (1H; dd; 5,4 e 2,8)	5,32 (1H; d; 4,1)
8	40,9	41,0	40,8	-	-
9	48,0	47,5	49,7	2,39 (1H; dd; 11,0 e 3,2)	2,41 (1H; dd; 11,0 e 5,0)
10	37,4	41,6	37,9	-	-
11	22,6	24,7	25,2	1,70-1,82 (1H α ; m), 1,93-2,05 (1H β ; m)	1,70-1,82 (1H α ; m) 1,93-2,05 (1H β ; m)
12	75,0	88,4	88,6	4,70 (1H; s)	4,70 (1H; s)
13	45,3	44,8	44,8	-	-
14	70,7	71,5	71,3	-	-
15	55,5	56,2	55,8	3,44 (1H, s)	3,43 (1H; s)
16	169,6	169,6	169,7	-	-
17	74,9	75,3	75,5	4,84 (1H; s)	4,79 (1H; s)
18	21,4	21,7	21,4	1,09 (3H; s)	1,09 (3H; s)
19	21,3	21,4	21,5	1,04 (3H; s)	1,04 (3H; s)
20	122,4	122,9	123,0	-	-
21	140,6	140,6	140,5	6,12 (1H; s)	6,12 (1H; s)
22	111,8	112,1	112,2	7,31 (1H; s)	7,31 (1H; s)
23	142,2	142,2	142,2	7,09 (1H; s)	7,09 (1H; s)
28	25,7	26,7	25,7	0,97 (3H; s)	0,97 (3H; s)
29	20,9	22,1	21,4	1,00 (3H; s)	1,00 (3H; s)
30	21,4	21,1	20,9	1,02 (3H; s)	1,02 (3H; s)
1'	175,1	179,1	178,8	-	-
2'	41,1	41,1	41,2	2,34 (1H; m)	2,34 (1H; m)
3'	41,1	41,1	40,3	2,14 (1H; m)	2,14 (1H; m)
4'	31,8	33,6	33,5	2,10 – 2,19 (1H; m) 1,64 – 1,72 (1H; m)	2,10 – 2,19 (1H; m) 1,64 – 1,72 (1H; m)
5'	11,6	11,8	11,7	0,86 (3H; t; 6,6)	0,86 (3H; t; 6,6)
6'	11,7	11,8	11,7	0,90 (3H; d; 7,4)	0,90 (3H; d; 7,4)
7'	16,9	17,7	16,8	1,22 (3H; m)	1,22 (3H; m)

Tabela 9 - Dados de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) obtidos para as substâncias **1**, **2**, **3**, **4** e **5**.

C	δ_{C}				
	1	2	3	4	5
1	158,5	157,4	38,6	157,1	38,8
2	125,5	126,1	33,6	125,4	33,9
3	204,7	206,0	215,8	204,1	216,2
4	44,1	45,4	46,8	44,1	47,0
5	46,1	49,6	49,5	44,7	48,8
6	23,7	68,5	67,8	26,0	26,1
7	73,6	77,9	80,8	75,0	75,6
8	42,6	42,9	40,9	41,0	40,8
9	38,6	37,2	48,0	47,5	49,7
10	40,1	40,6	37,4	41,6	37,9
11	16,5	16,4	22,6	24,7	25,2
12	32,7	32,4	75,0	88,4	88,6
13	47,2	47,3	45,3	44,8	44,8
14	158,3	158,2	70,7	71,5	71,3
15	118,9	119,2	55,5	56,2	55,8
16	34,3	34,3	169,6	169,6	169,7
17	51,5	51,5	74,9	75,3	75,5
18	27,8	27,7	21,4	21,7	21,4
19	19,1	20,2	21,3	21,4	21,5
20	124,6	124,4	122,4	122,9	123,0
21	139,7	139,7	140,6	140,6	140,5
22	111,1	110,0	111,8	112,1	112,2
23	142,6	142,6	142,2	142,2	142,2
28	20,0	20,7	25,7	26,7	25,7
29	27,1	27,6	20,9	22,1	21,4
30	21,3	20,8	21,4	21,1	20,9
1'	175,7	177,9	175,1	179,1	178,8
2'	41,8	42,0	41,1	41,1	41,2
3'	41,8	42,1	41,1	41,1	40,3
4'	31,9	31,9	31,8	33,6	33,5
5'	12,0	11,9	11,6	11,8	11,7
6'	12,1	12,0	11,7	11,8	11,7
7'	17,4	17,8	16,9	17,7	16,8

Tabela 10 - Dados de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) obtidos para os limonoides **1**, **2**, **3**, **4** e **5**.

H	δ_{H} (nH; <i>mult.</i> ; J(Hz))				
	1	2	3	4	5
1	7,14 (1H; <i>d</i> ; 10,2)	7,08 (1H; <i>d</i> ; 10,0)	1,59 (1H β ; <i>ddd</i> ; 14,0; 8,0; 3,0) 2,16 (1H α ; <i>ddd</i> ; 14,0; 11,0; 7,0) 2,65 (1H β ; <i>ddd</i> ; 14,0; 11,0; 7,0) 2,45 (1H α ; <i>ddd</i> ; 14,0; 8,0; 3,0)	7,26 (1H; <i>d</i> ; 10,2)	1,60 - 1,80 (1H β ; <i>m</i>) 2,02 - 2,20 (1H α ; <i>m</i>) 2,80 (1H β ; <i>ddd</i> ; 14,2; 10,8; 4,3) 2,45 (1H α ; <i>ddd</i> ; 14,2; 8,3; 3,4)
2	5,83 (1H; <i>d</i> ; 10,2)	5,86 (1H; <i>d</i> ; 10,0)	2,21 (1H; <i>d</i> ; 11,2)	5,87 (1H; <i>d</i> ; 10,2)	2,18 (1H; <i>dd</i> ; 11,3 e 4,8)
5	2,16 (1H; <i>dd</i> ; 12,4 e 2,3)	2,20 (1H; <i>d</i> ; 11,4)	4,26 (1H; <i>dd</i> ; 11,2; 2,8)	2,27 (1H; <i>dd</i> ; 12,3 e 4,3)	1,75 - 1,90 (1H; <i>m</i>) 1,90 - 2,15 (1H; <i>m</i>)
6	1,75 (1H; <i>ddd</i> ; 13,3, 12,3 e 3,6) 1,96 (1H; <i>ddd</i> ; 13,3, 5,5 e 2,3)	4,39 (1H; <i>dd</i> ; 11,4, 2,7)	5,30 (1H; <i>d</i> ; 2,8)	1,75 - 1,90 (1H; <i>m</i>) 1,90 - 2,15 (1H; <i>m</i>)	5,32 (1H; <i>d</i> ; 4,1)
7	5,25 (1H; <i>dd</i> ; 5,5 e 3,6)	5,37 (1H; <i>d</i> ; 2,7)	2,60 (1H; <i>dd</i> ; 11,0 e 4,0)	5,42 (1H; <i>dd</i> ; 5,4 e 2,8)	2,41 (1H; <i>dd</i> ; 11,0 e 5,0)
9	2,18 (1H; <i>m</i>)	2,32 (1H; <i>dd</i> ; 11,0 e 4,0)	1,29 (1H; β ; <i>ddd</i> ; 14,0; 8,0; 4,0) 1,55 (1H; α ; <i>ddd</i> ; 14,0; 11,0; 8,0)	2,39 (1H; <i>dd</i> ; 11,0 e 3,2)	1,70 - 1,82 (1H α ; <i>m</i>), 1,93 - 2,05 (1H β ; <i>m</i>)
11	1,74 (1H; <i>m</i>) 1,99 (1H; <i>m</i>)	1,50 - 1,75 (1H; <i>m</i>) 1,85 - 2,10 (1H; <i>m</i>)	4,77 (1H; <i>dd</i> ; 5,6 e 3,0)	1,70 - 1,82 (1H α ; <i>m</i>) 1,93 - 2,05 (1H β ; <i>m</i>)	4,70 (1H; <i>sl</i>)
12	1,80 (1H; <i>m</i>) 1,50 (1H; <i>m</i>)	1,60 - 1,80 (1H; <i>m</i>) 1,35 - 1,50 (1H; <i>m</i>)	3,47 (1H; <i>sl</i>)	4,70 (1H; <i>sl</i>)	3,43 (1H; <i>sl</i>)
15	5,32 (1H; <i>dd</i> ; 5,7 e 3,4)	5,37 (1H; <i>dd</i> ; 5,2, 3,9)	-	3,44 (1H; <i>sl</i>)	-
16	2,28 (1H; <i>m</i>) 1,60 (1H; <i>m</i>)	2,00 - 2,30 (1H; <i>m</i>) 1,50-1,70 (1H; <i>m</i>)	5,42 (1H; <i>s</i>)	4,84 (1H; <i>sl</i>)	4,79 (1H; <i>s</i>)
17	2,78 (1H; <i>dd</i> ; 10,5 e 8,0)	2,78 (1H; <i>dd</i> ; 10,5 e 7,4)	1,31 (3H; <i>s</i>)	1,09 (3H; <i>s</i>)	1,09 (3H; <i>s</i>)
18	1,18 (3H; <i>s</i>)	1,12 (3H; <i>s</i>)	1,08 (3H; <i>s</i>)	1,04 (3H; <i>s</i>)	1,04 (3H; <i>s</i>)
19	1,17 (3H; <i>s</i>)	1,26 (3H; <i>s</i>)	6,10 (1H; <i>d</i> ; 1,5)	6,12 (1H; <i>sl</i>)	6,12 (1H; <i>sl</i>)
21	6,25 (1H; <i>d</i> ; 1,5)	6,24 (1H; <i>sl</i>)	7,30 (1H; <i>dd</i> ; 2,0 e 1,5)	7,31 (1H; <i>sl</i>)	7,31 (1H; <i>sl</i>)
22	7,35 (1H; <i>dd</i> ; 2,0 e 1,5)	7,35 (1H; <i>dd</i> ; 1,7; 1,6)			

Tabela 10 - Dados de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) obtidos para os limonoides **1**, **2**, **3**, **4** e **5**.

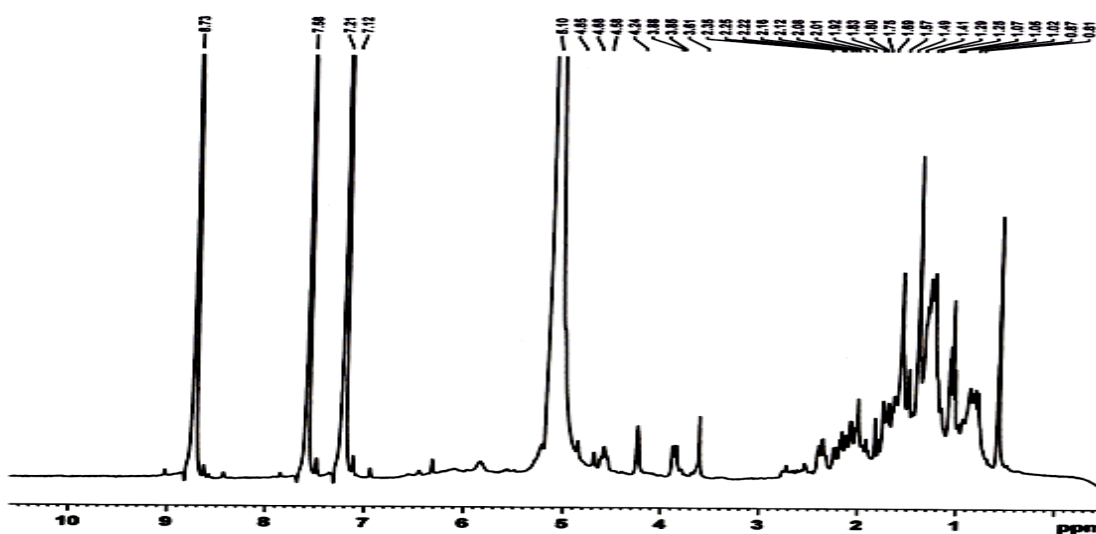
H	δ_{H} (nH; <i>mult.</i> ; J(Hz))				
	1	2	3	4	5
23	7,21 (1H; <i>d</i> ; 2,0)	7,21 (1H; <i>s</i>)	7,08 (1H; <i>d</i> ; 2,0)	7,09 (1H; <i>s</i>)	7,09 (1H; <i>s</i>)
28	1,04 (3H; <i>s</i>)	1,10 (3H; <i>s</i>)	1,01 (3H; <i>s</i>)	0,97 (3H; <i>s</i>)	0,97 (3H; <i>s</i>)
29	1,06 (3H; <i>s</i>)	1,12 (3H; <i>s</i>)	1,03 (3H; <i>s</i>)	1,00 (3H; <i>s</i>)	1,00 (3H; <i>s</i>)
30	1,05 (3H; <i>s</i>)	1,13 (3H; <i>s</i>)	1,16 (3H; <i>s</i>)	1,02 (3H; <i>s</i>)	1,02 (3H; <i>s</i>)
2'	2,38 (1H; <i>m</i>)	2,35 (1H; <i>m</i>)	2,33 (1H; <i>dq</i> ; 13,0; 7,0)	2,34 (1H; <i>m</i>)	2,34 (1H; <i>m</i>)
3'	2,20 (1H; <i>m</i>)	2,29 (1H; <i>m</i>)	2,20 (1H; <i>m</i>)	2,14 (1H; <i>m</i>)	2,14 (1H; <i>m</i>)
4'	1,65 (1H; <i>m</i>)	2,70 – 2,85 (1H; <i>m</i>)	2,10 - 2,19 (1H; <i>m</i>)	2,10 - 2,19 (1H; <i>m</i>)	2,10 - 2,19 (1H; <i>m</i>)
	2,10 (1H; <i>m</i>)		1,64 - 1,72 (1H; <i>m</i>)	1,64 - 1,72 (1H; <i>m</i>)	1,64 - 1,72 (1H; <i>m</i>)
5'	0,83 (3H; <i>t</i> ; 7,5)	0,88 (3H; <i>t</i> ; 6,9)	0,86 (3H; <i>t</i> ; 7,4)	0,86 (3H; <i>t</i> ; 6,6)	0,86 (3H; <i>t</i> ; 6,6)
6'	0,86 (3H; <i>d</i> ; 6,8)	0,84 (3H; <i>d</i> ; 7,4)	0,89 (3H; <i>d</i> ; 7,0)	0,90 (3H; <i>d</i> ; 7,4)	0,90 (3H; <i>d</i> ; 7,4)
7'	1,06 (3H; <i>m</i>)	1,23 (3H; <i>d</i> ; 7,0)	1,25 (3H; <i>t</i> ; 7,0)	1,22 (3H; <i>m</i>)	1,22 (3H; <i>m</i>)

3.2 - SUBSTÂNCIAS OBTIDAS DAS FOLHAS DE *TRICHILIA SILVATICA* (MELIACEAE)

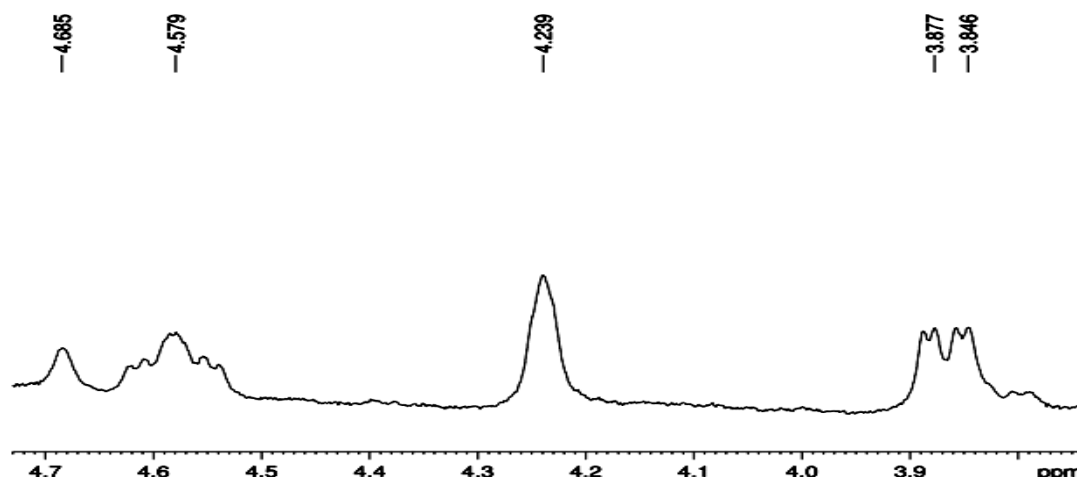
3.2.1 - Identificação do 2 α ,3 β ,4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona (6)

A fração TSFH 100630 [Item 4.3.4.2.2.1, Esquema 7] apresentou-se como um sólido branco (2,3 mg) e quando analisada por CCDA, eluída com CHCl₃/MeOH (85:15) e revelada em solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou uma única mancha de coloração rósea.

O espectro de RMN de ¹H de **6** [Espectro 27 e 28, Tabela 11] apresentou um conjunto de sinais entre δ 0,50 e 2,90, característicos de substâncias de natureza terpênica. Neste, foi possível observar dois singletos a δ 1,41 e 0,58 e um triplete a δ 1,05, referentes a três metilas, e sinais de hidrogênios carbinólicos a δ 4,58 (*ddd*, $J = 9,4, 9,1, 4,0$ Hz), 3,87 (*dd*, $J = 9,1; 3,4$ Hz) e 4,24 (*sl*). Estes dados indicam que os dois primeiros hidrogênios (δ 4,58 e 3,87) podem ser vicinais ($J = 9,1$ Hz) e possuem orientação axial e o terceiro esta equatorialmente orientado.



Espectro 27 – RMN de ¹H da substância **6** (300 MHz, C₅D₅N).



Espectro 28 –RMN de ^1H expandido da substância **6** (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$).

O espectro de RMN de ^{13}C de **6** [Espectro 29] apresentou sinais referentes a vinte e um carbonos, os quais, com auxílio do experimento DEPT 135° [Espectro 3.2.1.4], foram definidos como sendo correspondentes a três metilas, sete metilenos, oito metinos e três carbonos não ligados a hidrogênios. Entre estes, se destacam o sinal relativo a um carbono de carbonila cetônica a δ 219,0 e três sinais atribuídos a carbonos metínicos carbinólicos a δ 68,7, 76,0 e 78,7 [Tabela 12]. Estes dados são compatíveis com a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{O}_4$ e, portanto, com um esqueleto carbônico tetracíclico. Esta constatação, aliada à presença de vinte e um carbonos na estrutura de **6** e as considerações de ordem quimiossistemática, sugeriram que **6** poderia se tratar de um esteroide tipo pregnano tri-hidroxilado, contendo um grupo cetônico. A presença de um grupo etila, verificada no espectro de RMN de ^1H pelo sinal de metila como tripleto a δ 1,05, eliminou a possibilidade desta carbonila se encontrar em C-20. Com base nestas observações, verificou-se que há uma boa correlação entre os dados de RMN de ^1H e de ^{13}C de **6** com os do esteroide $2\alpha,3\beta,4\beta$ -tri-hidroxipregnan-16-ona, levando à conclusão de que **6** se trata do mesmo composto [Figura 30].

Tabela 11 - Dados de RMN de ^1H obtidos para a substância **6** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 300 MHz) e do $2\alpha,3\beta,4\beta$ -tri-hidroxipregnan-16-ona (**2AP**) (Siddiqui, 2009) ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400MHz)

C	δ_{H} (nH; mult.; J(Hz))	
	6	2AP
1	-	1,37 (1H; m)
	2,38 (1H; dd; 12,1, 4,0)	2,38 (1H; m)
2	4,58 (1H; ddd; 9,4, 9,1, 4,0)	4,55 (1H; ddd; 9,4, 9,4, 4,3)
3	3,87 (1H; dd; 9,1; 3,4)	3,84 (1H; dd; 9,4, 3,6)
4	4,24 (1H; sl)	4,22 (1H; dd; 3,6, 2,7)
5	1,29 (1H; m)	1,28 (1H; m)
	2,08 (1H; m)	2,08, (1H; m)
6	1,49 (1H; m)	1,52 (1H; m)
	0,87 (1H; m)	0,95 (1H; m)
7	1,60 (1H; m)	1,62 (1H; m)
8		1,45 (1H; m)
9		0,83 (1H; m)
10	-	-
11		1,57 (1H; m)
		1,30 (1H; m)
12		1,32 (1H; m)
		1,95 (1H; m)
13	-	-
14		1,33 (1H; m)
15		2,21 (1H; m)
		1,77 (1H; m)
16		-
17		1,61 (1H; m)
18	0,58 (3H; s)	0,57 (3H; s)
19	1,41 (3H; s)	1,38 (3H; s)
20		1,02 (1H; m)
		1,62 (1H; m)
21	1,05 (3H; t; 7,5)	1,05 (3H; t; 7,4)

Tabela 12 - Dados de RMN de ^{13}C obtidos para a substância **6** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 75 MHz) e do 2α , 3β , 4β -tri-hidroxi-pregnan-16-ona (**2AP**) (Siddiqui, 2009) ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz)

C	δ_{C}		C	δ_{C}	
	6	2AP		6	2AP
1	46,8	46,8	11	20,7	20,5
2	68,7	68,7	12	38,4	38,1
3	78,7	78,8	13	42,4	42,1
4	76,0	75,9	14	50,7	50,5
5	49,7	49,6	15	38,8	38,5
6	26,1	26,0	16	219,0	218,4
7	33,0	32,8	17	65,4	65,1
8	34,3	34,0	18	13,7	13,4
9	55,8	55,5	19	16,5	16,3
10	38,0	37,5	20	18,2	18,0
			21	13,9	13,6

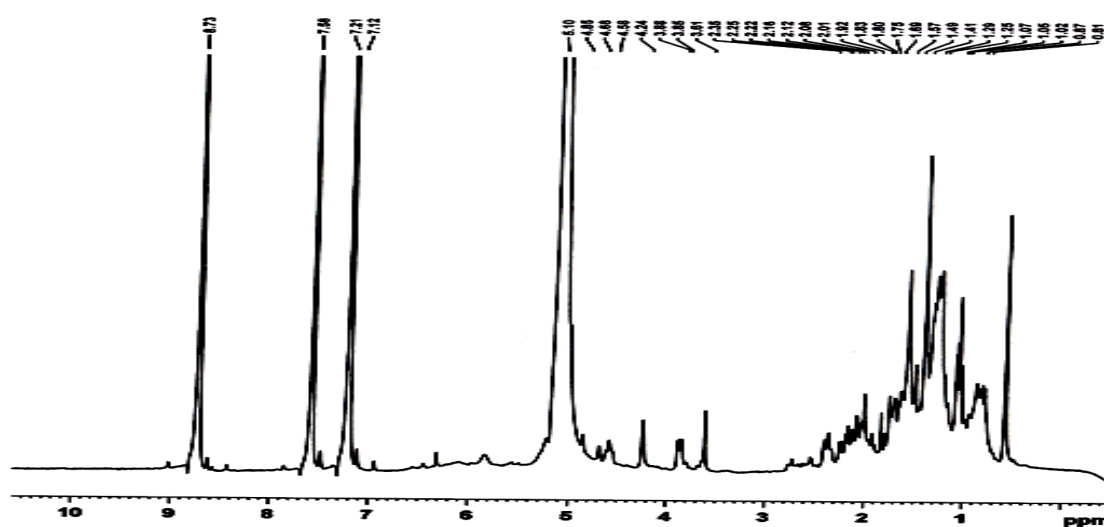
O $2\alpha,3\beta,4\beta$ -tri-hidroxi-pregnan-16-ona foi identificado pela primeira, e única, vez em estudo fitoquímico do cerne de *Azadirachta indica* (Meliaceae) por Siddiqui e col. em 2009, outros dois isômeros tri-hidroxi-lados, o $2\alpha,3\alpha,4\beta$ e o $2\beta,3\beta,4\beta$, possuem descrições anteriores.

3.2.2 - Identificação do $2\beta,3\beta,4\beta$ -tri-hidroxi-pregnan-16-ona (7).

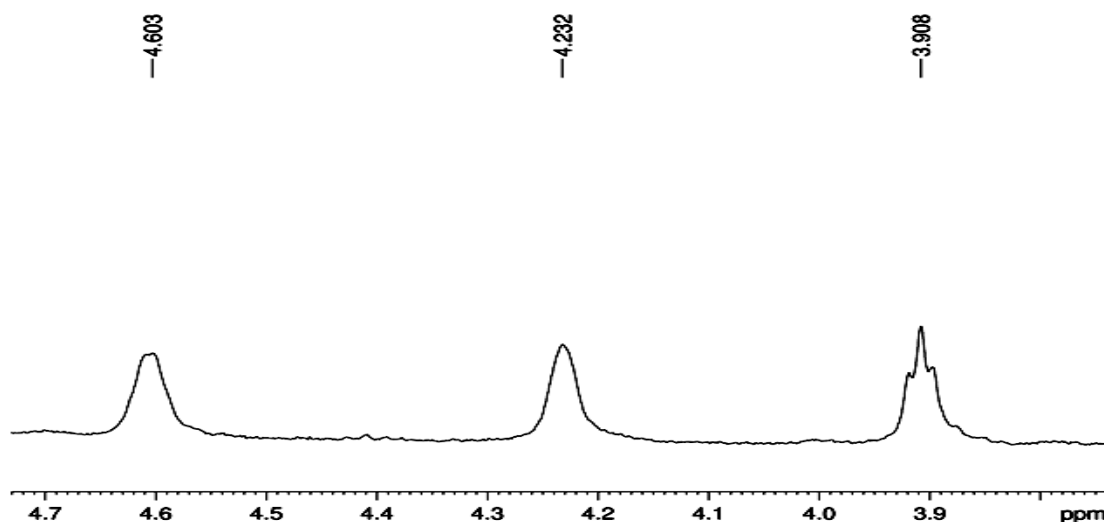
A fração TSFH 100665 (5,3 mg) [Item 4.3.4.2.2.2, Esquema 7] de consistência sólida e coloração branca foi analisada por CCDA eluída com $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (85:15) a qual foi revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentando uma única mancha de coloração rósea.

A substância **7** apresentou características espectroscópicas semelhantes às de **6**, sendo que a análise dos dados, principalmente de RMN de ^{13}C [Espectro 33, Tabela 14], levou à conclusão de se tratavam de substâncias isoméricas. Diferenças significativas foram observadas nos deslocamentos químicos dos carbonos do anel A, principalmente nos carbinólicos (δ 72,4, 72,5 e 76,9) e nas multiplicidades dos respectivos hidrogênios. Os valores das constantes de acoplamento dos hidrogênios carbinólicos indicam a ausência de relação *trans*-diaxial entre eles, cujas multiplicidades aparecem como dois singletos largos e um tripleto de 3,3 Hz. Os

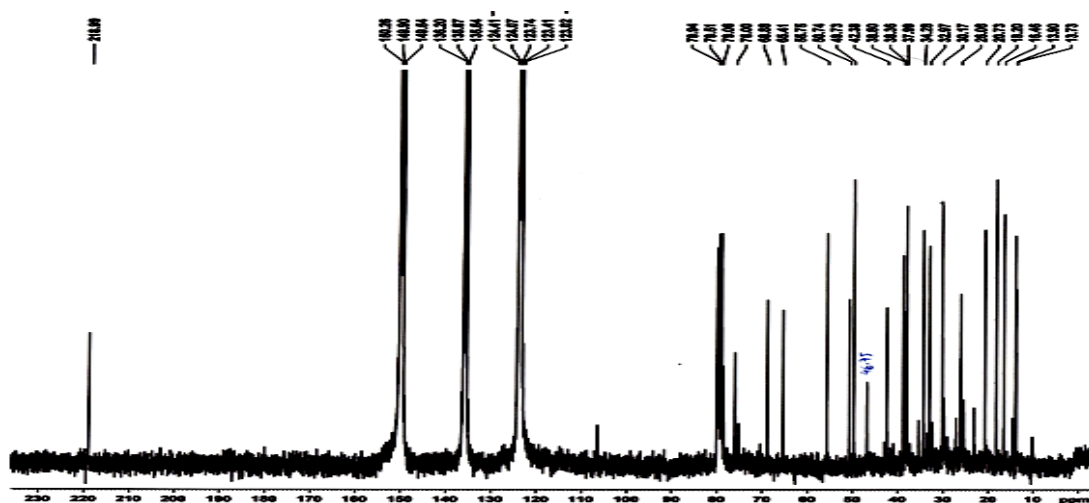
dados de RMN de ^1H [Espectro 31, Tabela 13] e ^{13}C de **7** mostraram-se compatíveis com os do esteroide 2 β ,3 β ,4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona [Figura 31], que difere de **6** apenas pela configuração de C-2. Nesta substância as hidroxilas se orientam em axial (C-2), equatorial (C-3) e axial (C-4), o que é compatível com as multiplicidades observadas para os respectivos hidrogênios [Espectro 32, Tabela 13].



Espectro 31 – RMN de ^1H da substância **7** (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)



Espectro 32 – RMN de ^1H expandido da substância **7** (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)



Espectro 33 – RMN de ^{13}C da substância 7 (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

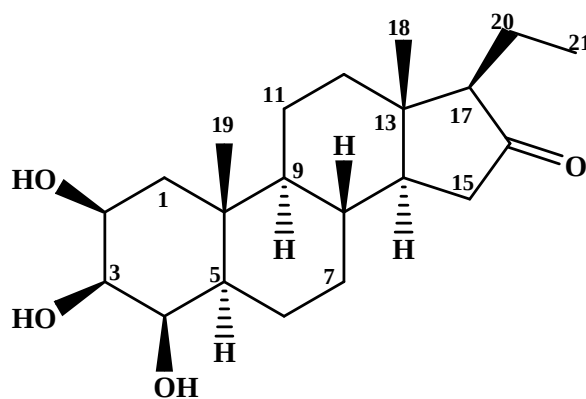


Figura 31 – Estrutura da substância 7

Tabela 13 - Dados de RMN de ^1H obtidos para a substância **7** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 75 MHz) e do 2 β ,3 β ,4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona (**2BP**)(Rodrigues, 2009) ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 400 MHz).

C	δ_{H} (nH; mult.; J(Hz))	
	7	2BP
1	2,36 (1Ha; <i>dd</i> ; 14,4, 2,4) 1,31 (1Hb; <i>m</i>)	2,36 (1H, <i>dd</i> ; 14,0, 3,0) 1,30 (1H; <i>m</i>)
2	4,58 (1H; <i>sl</i>)	4,57 (1H; <i>sl</i>)
3	3,88 (1H; <i>t</i> ; 3,3)	3,88 (1H; <i>t</i> ; 3,0)
4	4,21 (1H; <i>sl</i>)	4,30 (1H; <i>s</i>)
5	1,26 (1H; <i>m</i>)	1,25 (1H; <i>m</i>)
6	1,52 (2H; <i>m</i>)	1,50 (2H; <i>m</i>)
7	1,59 (1Ha; <i>sl</i>)	1,60 (1H; <i>m</i>) 1,09 (1H; <i>m</i>)
8		1,64 (1H; <i>m</i>)
9		0,75 (1H; <i>td</i> ; 10,4, 2,5)
10	-	-
11	2,19 (1Ha; <i>m</i>)	1,24 (1H; <i>m</i>) 2,16 (1H; <i>m</i>)
12		1,25 (1H; <i>m</i>) 1,80 (1H; <i>m</i>)
13	-	-
14		1,35 (1H; <i>m</i>) 1,80(1H; <i>m</i>)
15	2,21 (1Ha; <i>dd</i> ; 18,0, 7,2)	2,21 (1H; <i>dd</i> ; 18,0, 7,6)
16	-	-
17		1,68 (1H; <i>m</i>)
18	0,60 (3H; <i>s</i>)	0,61 (3H; <i>s</i>)
19	1,64 (3H; <i>s</i>)	1,64 (3H; <i>s</i>)
20	1,82 (1H; <i>m</i>)	1,10 (1H; <i>m</i>) 1,80 (1H; <i>m</i>)
21	1,06 (3H; <i>t</i> ; 7,4)	1,07 (3H; <i>t</i> ; 7,2)

Tabela 14 - Dados de RMN de ^{13}C obtidos para a substância **7** ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 75 MHz) e do 2 β ,3 β ,4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona(**2BP**) (Siddiqui, 2009) ($\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$, 100 MHz).

C	δ_c		C	δ_c	
	7	2BP		7	2BP
1	44,1	44,6	12	37,8	38,2
2	72,4	72,8	13	41,9	42,2
3	72,5	72,9	14	50,1	56,3
4	76,9	77,2	15	38,2	38,3
5	49,8	50,2	16	218,8	218,5
6	26,2	26,6	17	65,8	65,2
7	32,3	32,8	18	13,2	13,5
8	33,7	34,1	19	17,1	17,5
9	56,3	56,8	20	17,7	18,1
10	35,3	37,7	21	13,3	13,7
11	20,0	20,4			

A 2 β ,3 β ,4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona já foi isolada de diversas espécies, tais como: *Azadirachta indica* (Meliaceae) (Luo *et al.*, 2000a; Siddiqui *et al.*, 2009), *Cipadessa baccifera* (Meliaceae) (Luo *et al.*, 2000b), e *Munronia henryi* (Meliaceae) (Qi *et al.*, 2003) e no gênero *Trichilia* nas seguintes espécies: *T. quadrijuga* (Rodrigues *et al.*, 2009); *T. clausenii* (Pupo *et al.*, 1997) e *T. schomburgkii* (Ketwaru *et al.*, 1993).

3.2.3 - Identificação do Cneorubina X (8).

A fração TSFH 050841 [Item 4.3.4.1.1.2, Esquema 4] apresentou-se como um sólido (3,5 mg) de coloração branca; quando analisada por CCDA, eluída em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (9:1) e revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou uma única mancha de coloração rósea.

O espectro de RMN de ^1H de **8** [Espectro 34, Tabela 15] mostrou a presença de quatro singletos, relativos a hidrogênios de metilas, a δ 1,01, 1,28 1,58 e 1,66, dois sinais relativos a hidrogênios vinílicos terminais, em δ 4,68 e 4,65, um tripleto de hidrogênio olefínico, em δ 5,08. Ainda foi possível observar sinais característicos de anel ciclopropânico em δ 0,44 (*dd*; $J = 9,0$ e $9,6$ Hz) e δ 0,67 (*m*), possibilitando caracterizar o esqueleto aromadendrano.

No espectro RMN de ^{13}C de **8** [Espectro 35, Tabela 16] foram observados sinais relativos a vinte carbonos, destacando-se os sinais característicos de dois carbonos vinílicos (δ 106,2 e 153,5); um carbinólico (δ 81,6-C) e uma metila olefínica (δ 25,8). Pela análise do espectro DEPT 135° [Espectro 33] foi possível identificar o carbono quaternário a δ 24,3, característico do anel ciclopropânico, além de identificar os padrões de substituição destes vinte carbonos como sendo: quatro CH_3 ; sete CH_2 ; cinco CH e quatro C . Com estes dados foi possível calcular a fórmula molecular de **8** como sendo $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{O}$, o índice de deficiência de hidrogênios ($\text{IDH} = 5$) e definir que se trata de um substância com duas ligações duplas e três ciclos. Estes dados permitiram propor que se trata de um diterpeno com as seguintes características quais sejam: três ciclos, sendo um destes um ciclopropano, duas insaturações, sendo que uma delas contém um metileno, e uma hidroxila terciária.

A análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C de **8** mostraram que havia grande semelhança com os de sesquiterpenos com esqueleto aromadendrano, anteriormente isolados de folhas de *Guarea guidonia* (Meliaceae). Esta observação levou à proposta de que o substância **8** era constituído de uma estrutura de aromadendrano possuindo uma unidade isoprênica adicional. A estrutura básica do aromadendrano corresponde à do espatulenol e observou-se uma boa correlação entre os dados de RMN de ^{13}C desta substância e os de **8**. A unidade isoprênica adicional, que se constituiria na continuidade da cadeia isoprênica, estaria ligada a uma das metilas do anel ciclopropânico. A busca no *Scifinder* mostrou que esta estrutura corresponde à de uma substância pouco comum isolada anteriormente das folhas de *Guarea guidonia* (Brochini, 2000) e de *Ptaeroxylon obliquum* (Mulholland, 2000), denominado Cneorubina X. Os dados espectrais (RMN de ^1H e ^{13}C) da substância **8** são compatíveis com os observados para a Cneorubina X [Figura 32]. No entanto, este é o primeiro relato do isolamento desta substância em plantas do gênero *Trichilia*.

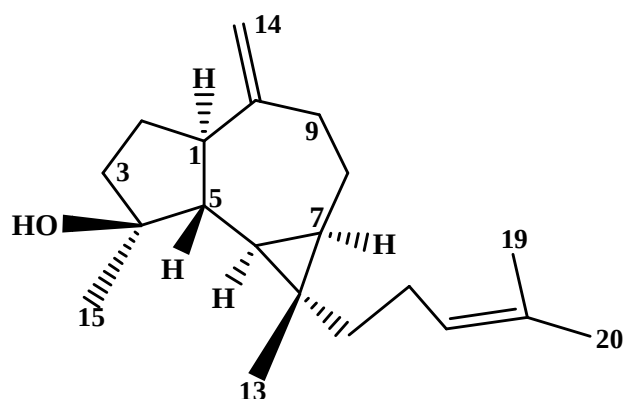
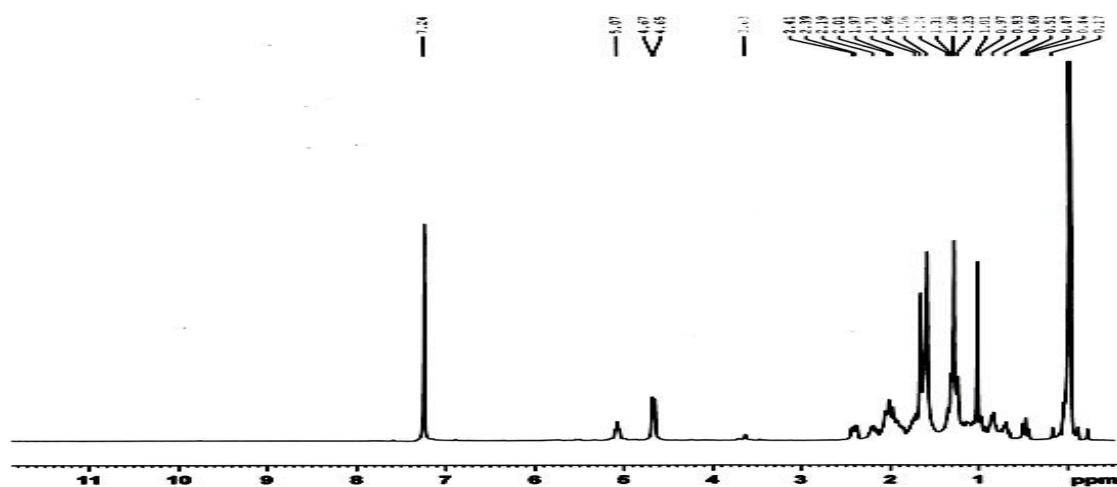
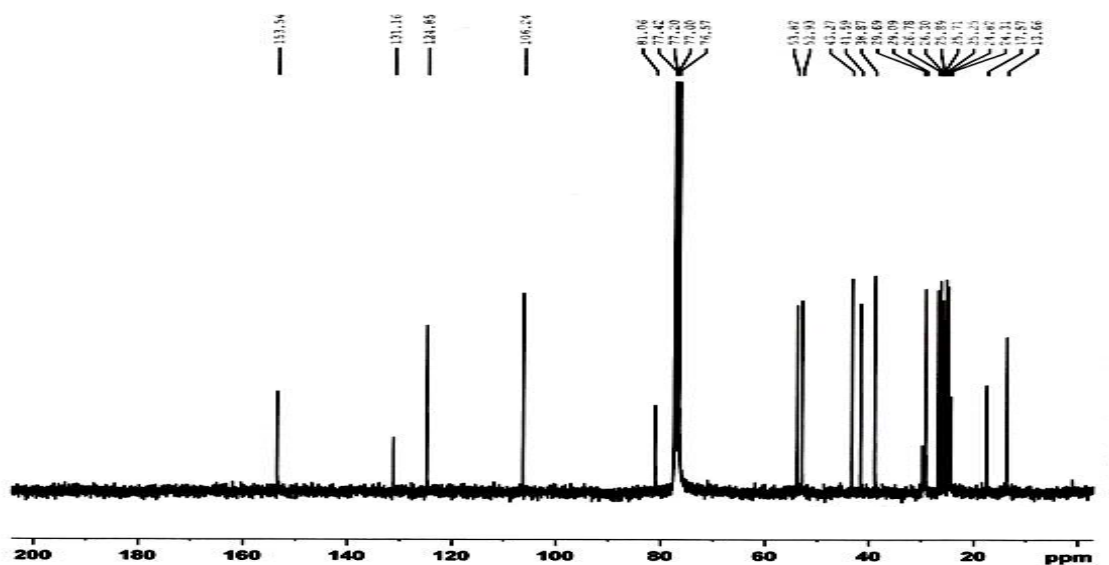
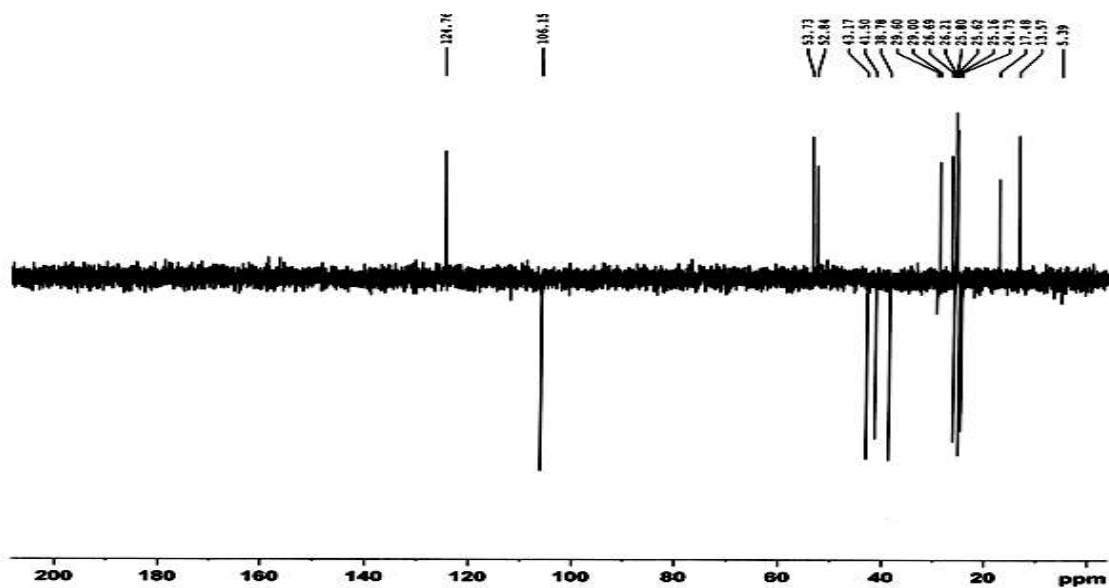


Figura 32 – Estrutura da substância 8.

Espectro 34 – RMN de ¹H da substância 8 (300 MHz, CDCl₃)Espectro 35 – RMN de ¹³C da substância 8 (75 MHz, CDCl₃)



Espectro 36 – Experimento DEPT 135° da substância **8** (75 MHz, CDCl_3).

Tabela 15 - Dados de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância **8** e os do Cneorubina X (**CNX**)(Brochini, 2000) (200 MHz, CDCl_3).

C	δ_{H} (nH; mult.; J(Hz))	
	8	CNX
1	2,20 (1H; <i>td</i> ; 10,0, 6,4)	2,19
2		
3		
4	-	-
5	1,31 (1H; <i>t</i> ; 10,0)	1,32
6	0,48 (1H; <i>dd</i> ; 11,0, 10,0)	0,48
7	0,70 (1H; <i>ddd</i> ; 11,0, 10,0, 6,1)	0,71
8	0,82 (1H; <i>dddd</i> ; 13,0, 10,0, 7,0, 6,1)	0,90
	2,02 (1H; <i>tl</i> ; 13,0)	2,01
9	2,41 (2Ha,b; <i>ddd</i> ; 13,2, 6,5, 1,2)	2,40
10	-	-
11	-	-
12		1,03
		1,37
13	1,01 (3H; <i>s</i> ; H-13)	1,02
14	4,65 (1Ha; <i>dd</i> ; 2,1, 1,4)	4,65
	4,68 (1Hb; <i>dd</i> ; 2,1, 1,8)	4,68
15	1,28 (3H; <i>s</i>)	1,28
16		2,09
17	5,08 (1H; <i>t.hept</i> ; 6,8, 1,3)	5,10
18	-	-
19	1,58 (3H; <i>s</i>)	1,59
20	1,66 (3H; <i>s</i>)	1,66

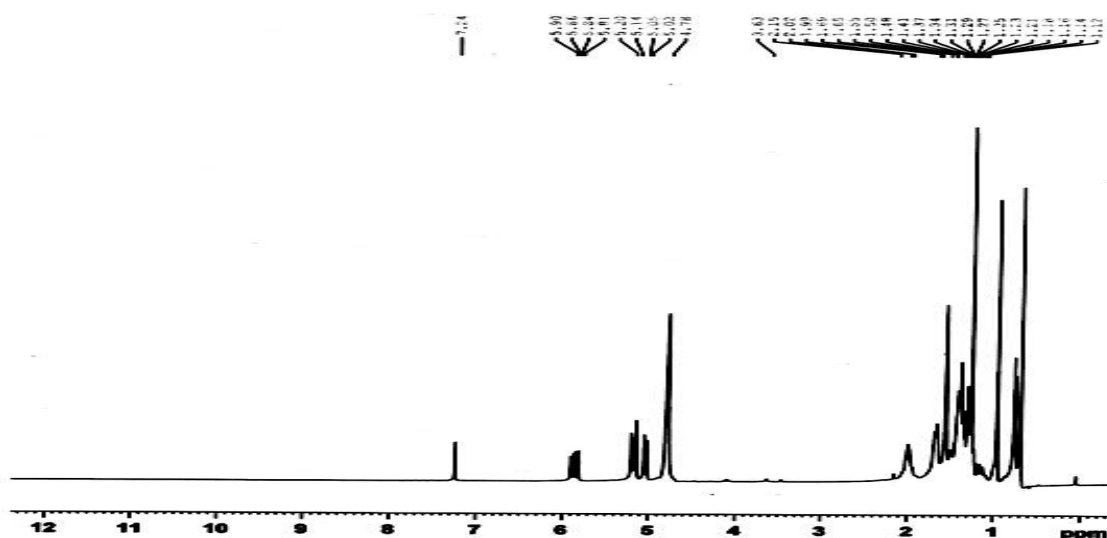
Tabela 16 - Dados de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância **8** e os do Cneorubina X (**CNX**) (Brochini, 2000) (200 MHz, CDCl_3).

C	δ_c		C	δ_c	
	8	CNX		8	CNX
1	52,9	52,9	11	24,3	24,5
2	26,3	26,3	12	43,3	43,2
3	41,6	41,6	13	13,7	13,6
4	81,1	81,0	14	106,2	106,2
5	53,8	53,8	15	25,7	25,7
6	29,1	29,1	16	25,3	25,2
7	26,8	26,8	17	124,8	124,8
8	24,8	24,8	18	131,2	131,1
9	38,9	38,9	19	17,6	17,6
10	153,5	153,5	20	25,9	25,9

3.2.4 - Identificação do kolavelool (9).

A fração TSFH 050826 [Item 4.3.4.1.1.1, Esquema 4] apresentou-se como um sólido (10,7 mg) de coloração branca e quando analisada por CCDA, eluída em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (9:1) e revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou uma única mancha de coloração rósea.

O espectro de RMN de ^1H de **9** [Espectro 37, Tabela 17] indicou a presença de quatro singletos a δ 0,69, 0,96, 1,25 e 1,55, relativos a hidrogênios de metilas, um dubleto a δ 0,76 ($J = 5,9$ Hz), relativo a hidrogênios de outra metila, três conjuntos de sinais atribuídos a um sistema ABX de vinila: três duplo dubletos a δ 5,86 ($J = 17,2$ e 10,8 Hz), 5,17 ($J = 17,2$ e 1,2 Hz) e 5,03 ($J = 10,8$ e 1,2 Hz), além de um dubleto largo, relativo a hidrogênio olefínico, a δ 5,15 (m).



Espectro 37 – RMN de ^1H da substância **9** (300 MHz, CDCl_3)

No espectro RMN de ^{13}C de **9** [Espectro 38, Tabela 18] foram observados sinais relativos a vinte carbonos, entre os quais destacam-se os sinais característicos de dois carbonos vinílicos (δ 145,1 e 111,9), outros dois olefínicos (δ 144,4 e 120,3) e um carbinólico (δ 73,3). Através dos dados obtidos pelos espectros de RMN de ^{13}C e DEPT 135° de **9** [Espectro 38 e 39] foram identificados os padrões de substituição destes vinte carbonos como sendo: cinco CH_3 ; sete CH_2 ; quatro CH e quatro C . Com estes dados foi possível propor a fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}$, calcular o índice de deficiência de hidrogênios ($\text{IDH} = 4$) e definir que se trata de um substância com duas insaturações e dois ciclos. As considerações destas características, quais sejam: vinte carbonos, dois ciclos, duas insaturações, um grupo vinila terminal e uma hidroxila, levou à proposta preliminar de que se tratava de um diterpeno bicíclico. Consultando a literatura observou-se que o esqueleto de **9** poderia ser do tipo labdano ou clerodano. Através da comparação dos dados da literatura, observou-se que há uma boa correlação entre os valores de RMN de ^{13}C de **9** com os do Kolavelool (Pacheco *et al.*, 2009), permitindo, assim, a identificação desta substância. O sinal a δ 19,2, atribuído ao C-19, define que a configuração na junção dos anéis é *trans*, conforme comparação com os dados de RMN de ^{13}C dos estereoisômeros da decalina. No entanto, a estereoquímica do C-13 e a configuração absoluta da substância **9** ainda não foram estabelecidas [Figura 33].

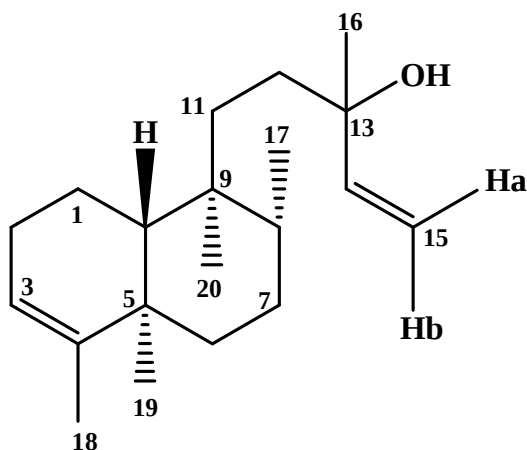


Figura 33 – Estrutura da substância 9.

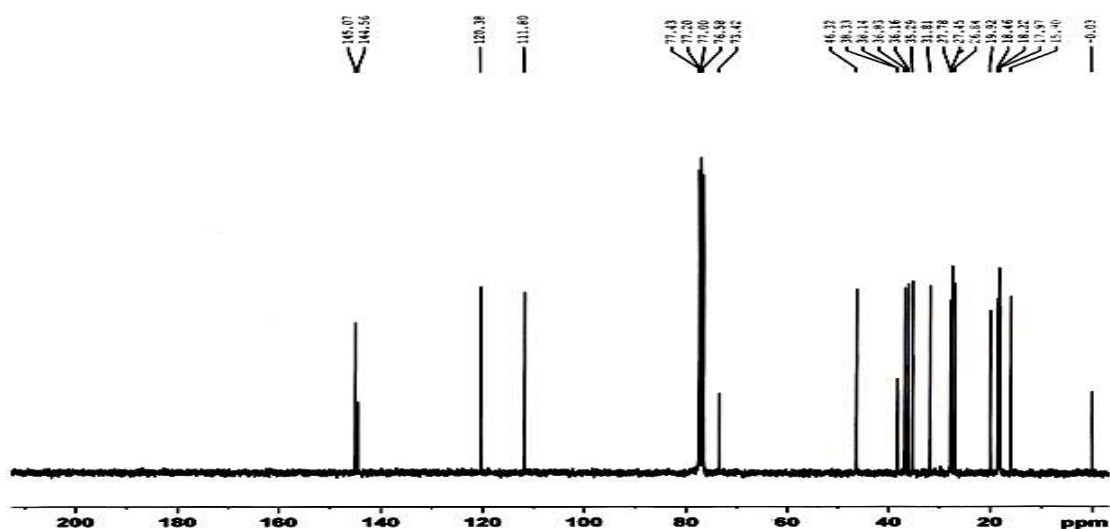
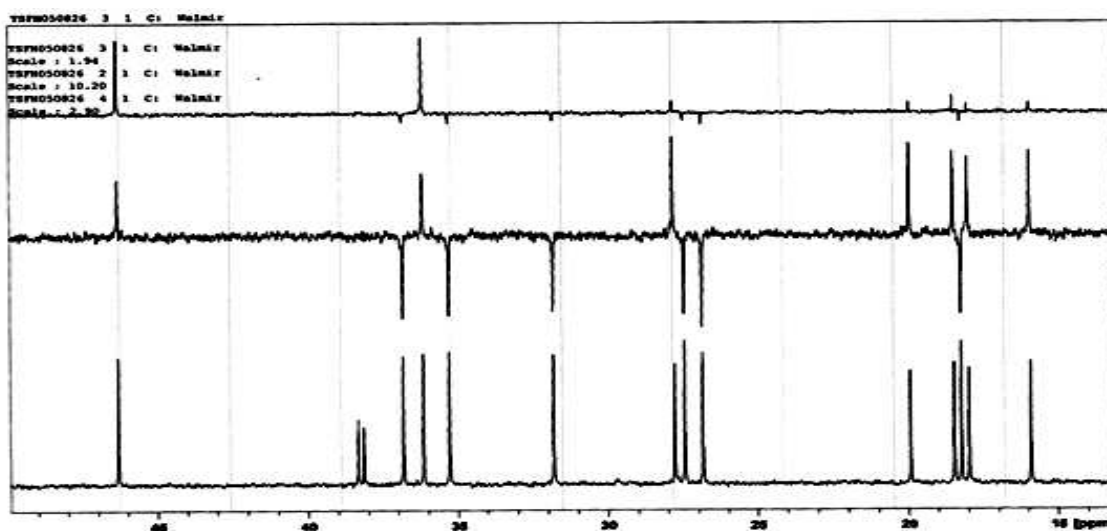
Espectro 38 – RMN de ^{13}C da substância 9 (75 MHz, CDCl_3).Espectro 39 – RMN de ^{13}C e Experimento DEPT 135° da substância 9 (75 MHz, CDCl_3).

Tabela 17 - Dados de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância **9** e os do Kolavelool (**KOL**) (Bomm, 1999) (200 MHz, CDCl_3).

C	$\delta_{\text{H}}(\text{nH}; \text{mult.}; \text{J}(\text{Hz}))$	
	9	KOL
1	1,67 (1Heq; <i>dt</i> ; 12,8, 3,6)	
	1,32 (1Hax; <i>m</i>)	
2	1,97 (2Heq,ax; <i>m</i>)	
3	5,15 (1H; <i>m</i>)	5,16 (1H; <i>s</i>)
4	-	
5	-	
6	1,67 (1Heq; <i>dt</i> ; 12,8, 3,6)	
	1,41 (1Hax; <i>m</i>)	
7	1,30 (2Ha,b; <i>m</i>)	
8	1,50 (1H; <i>m</i>)	
9	-	
10	1,40 (1H; <i>m</i>)	
11	1,17 (2Ha,b; <i>m</i>)	
12	1,37 (2Ha,b; <i>m</i>)	
13		
14	5,86 (1H; <i>dd</i> ; 17,2, 10,8)	5,84 (1H; <i>dd</i> ; 17,2, 10,8)
15	5,17 (1H; <i>dd</i> ; 17,2, 1,2)	5,07 (1H; <i>dd</i> ; 17,2, 1,5)
	5,03 (1Hb; <i>dd</i> , 10,8, 1,2)	4,99 (1H; <i>dd</i> ; 10,8, 1,5)
16	1,25 (3H; <i>s</i>)	1,24 (3H; <i>s</i>)
17	0,76 (3H; <i>d</i> , 5,9)	0,75 (3H; <i>d</i> ; 5,9)
18	0,69 (3H; <i>s</i>)	0,68 (3H; <i>s</i>)
19	0,96 (3H; <i>s</i>)	0,95 (3H; <i>s</i>)
20	1,55 (3H; <i>d</i> , 1,4)	1,54 (3H; <i>d</i> ; 1,5)

Tabela 18 Dados de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância **9** e os do Kolavelool (**KOL**) (Nagashima, 2001) (150 MHz, CDCl_3)

C	δ_c		C	δ_c	
	9	KOL		9	KOL
1	18,1	18,2	11	31,8	31,8
2	27,7	27,8	12	35,2	35,3
3	120,3	120,4	13	73,3	73,3
4	144,4	144,6	14	145,1	145,1
5	38,3	38,3	15	111,9	111,8
6	36,1	36,2	16	27,4	27,5
7	26,8	26,9	17	15,8	15,9
8	36,8	36,9	18	18,3	18,5
9	38,1	38,2	19	19,2	19,9
10	46,3	46,3	20	17,8	18,0

3.2.5 - Identificação do Kolavenol (10).

A fração TSFH 0510 [Item 4.3.4.1.2, Esquema 4] quando analisada por CCDA, eluída em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (9:1) e revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou diversas manchas, mas a mais intensa apresentou coloração rósea.

O espectro de RMN de ^1H de **10** [Espectro 40, Tabela 19] apresentou cinco singletos entre δ 0,69 e 1,65, relativos a hidrogênios de metilas, sendo dois destes característicos de metilas olefínicas (δ 1,55 e 1,65). Apresentou também, sinais relativos a hidrogênios olefínicos entre δ 4,50 e 6,00 e um tripleto a δ 4,12 ($J = 6,0$ Hz), relativo a dois hidrogênios carbinólicos.

No espectro RMN de ^{13}C de **10** [Espectro 41, Tabela 20] foram observados diversos sinais, demonstrando que a fração consistia de uma mistura de substâncias e os sinais de maior intensidade foram atribuídos à substância majoritária. Assim, foram relacionados sinais relativos a vinte carbonos. Destes, quatro são de carbonos olefínicos (δ 145,1, 140,9, 123,1 e 120,4) e um de carbono carbinólico (δ 59,4). Este conjunto de sinais indicou tratar-se de um diterpeno com duas ligações duplas. Da mesma maneira que para o substância **9**, foram admitidos dois esqueletos como possibilidades iniciais: labdano ou clerodano. Os sinais a aproximadamente δ 145,1

e 120,4 são característicos de carbonos de ligação dupla C3-C4 de diterpenos com esqueleto do tipo clerodano (Pacheco *et al.*, 2009). Buscando na literatura substâncias com características estruturais semelhantes às observadas em **10** e comparando seus dados espectrais (RMN de ^{13}C) observou-se uma grande semelhança com os da substância cleroda-3,13-dien-15-ol (Kolavenol) (Monti, 1999) [Figura 34], indicando tratar-se do mesmo composto.

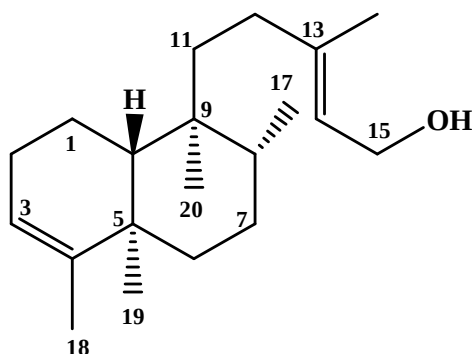
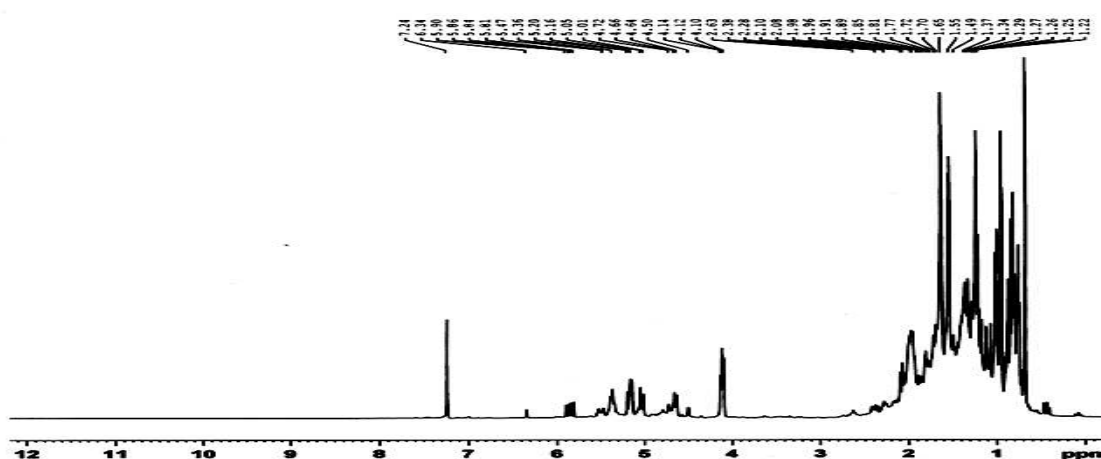
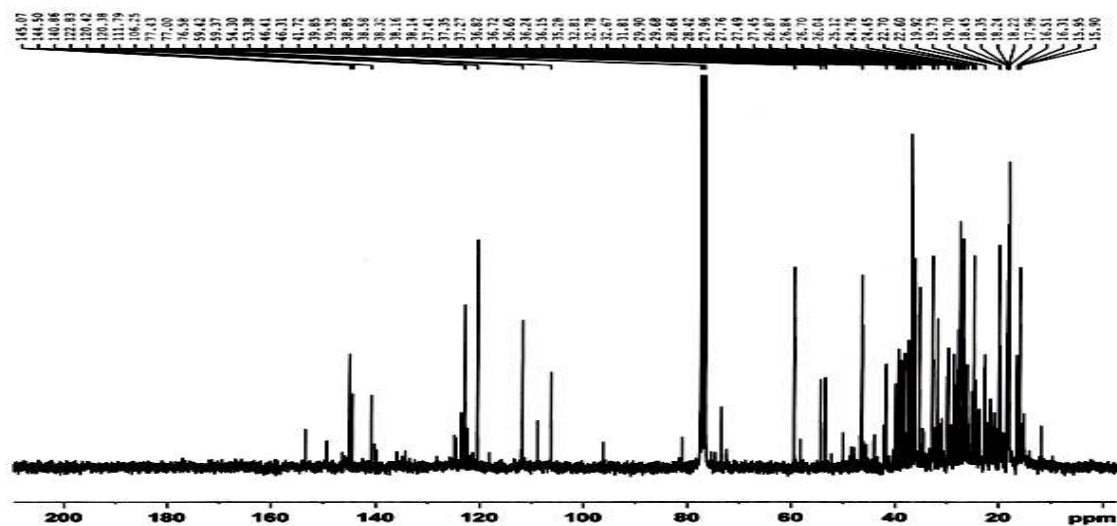


Figura 34 – Estrutura da substância **10**



Espectro 40 – RMN de ^1H da substância **10** (300 MHz, CDCl_3).



Espectro 41 – RMN de ^{13}C da substância **10** (75 MHz, CDCl_3).

Tabela 19 - Dados de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância **10** e os de um diastereoisômeros do Kolavenol (**KON**) (Freiburghaus, 1998) (400 MHz, CDCl_3).

C	δ_{H} (nH; mult.; J(Hz))	
	10	KON
1		1,65 (1H)
		-
2	2,05 (2H; m)	2.03 (1H)
3	5,16 (1H; m)	5.16 (1H; d; 1,0)
4	-	-
5	-	-
6		1.43 (1H)
		1.28 (1H; d; 14.3)
7		1.94 (1H; d; 14.3)
8	1,69 (1H; m)	1.59 (1H; d; 7.1)
9	-	-
10		1.41 (1H)
11	1,17-1,30 (2H; m)	1.95 (2H)
12	1,82 (1Ha; td; 12,5, 6,4)	1.13 (1Ha)
	1,71 (1Hb; td; 12,5, 6,0)	1.53 (1Hb)
13		-
14	5,37 (1H; ddd; 6,5, 5,3, 1,2)	5.43 (1H; dd; 7.0, 1.3)
15	4,12 (2H; dd; 6,3, 4,6)	4.15 (2H; dd; 7.0, 7.0)
16	1,64 (3H; s)	1.69 (3H, d, 1.3)
17	0,84 (3H; d; 6,7)	0.94 (3H)
18	1,56 (3H; d; 2,0)	1.58 (3H)
19	0,97 (3H; s)	1.05 (3H)
20	0,69 (3H; s)	0.92 (3H; d; 0.8)

Tabela 20 - Dados de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância **10** e os do Kolavenol (**KNL**) (Monti, 1999) (100 MHz, CDCl_3)

C	$\delta (^{13}\text{C})$		C	$\delta (^{13}\text{C})$	
	10	KNL		10	KNL
1	18,3	18,4	11	36,7	36,6
2	26,9	27,0	12	32,8	32,9
3	120,4	120,5	13	141,0	140,9
4	144,5	144,6	14	122,8	123,1
5	38,2	38,3	15	59,5	59,5
6	36,8	36,9	16	16,5	16,5
7	27,5	27,6	17	16,0	16,0
8	36,2	36,6	18	18,4	18,5
9	38,6	38,7	19	19,9	20,0
10	46,4	46,5	20	18,0	18,1

3.2.6 - Identificação do γ -tocoferol (**11**)

A fração TSFH 0511 (1,2 mg) [Item 4.3.4.1.3.1, Esquema 5] quando analisada por CCDA, eluída em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (85:15) e revelada em solução saturada de Sulfato de Cério IV, apresentou uma única mancha de coloração rósea.

O espectro de RMN de ^1H de **11** [Espectro 42, Tabela 21] indicou a presença quatro singletos, sendo um relativo a hidrogênio de anel aromático (δ 6,35), um a hidrogênio carbinólico (δ 4,21) e dois a hidrogênios de metilas ligadas a anel aromático (δ 2,11 e 2,09), além de um tripleto característico de hidrogênio ligado a carbono metilênico [2H (δ 2,65; $J = 7,3$ Hz)].

A análise do espectro RMN de ^{13}C de **11** [Espectro 43, Tabela 22] levou à listagem de vinte e oito sinais. Destes, seis são relativos a carbonos de anel aromático pentassubstituído (δ 146,2, 145,8, 125,8, 121,6, 118,3 e 112,1) e os demais encontram-se na faixa entre δ 40,0 e 11,9. A comparação destes com os dados da literatura (Baker, 1991) permitiu identificar a substância **11** como sendo o γ -tocoferol.

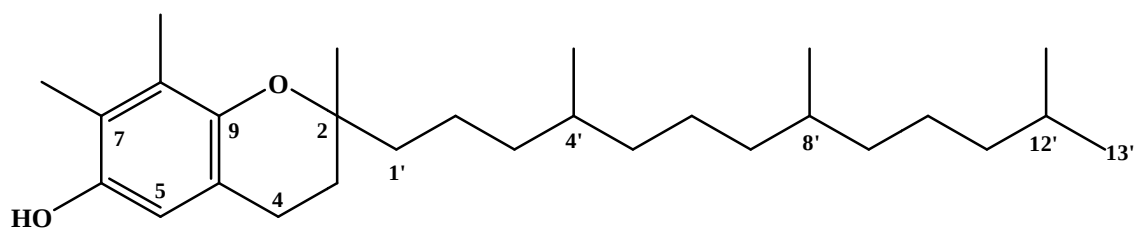


Figura 35 – Estrutura da substância 11.

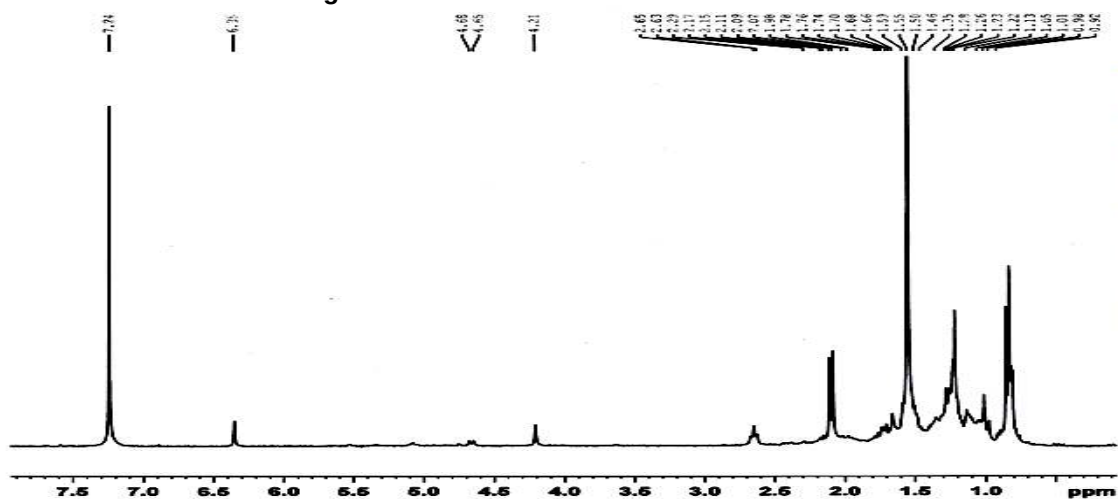
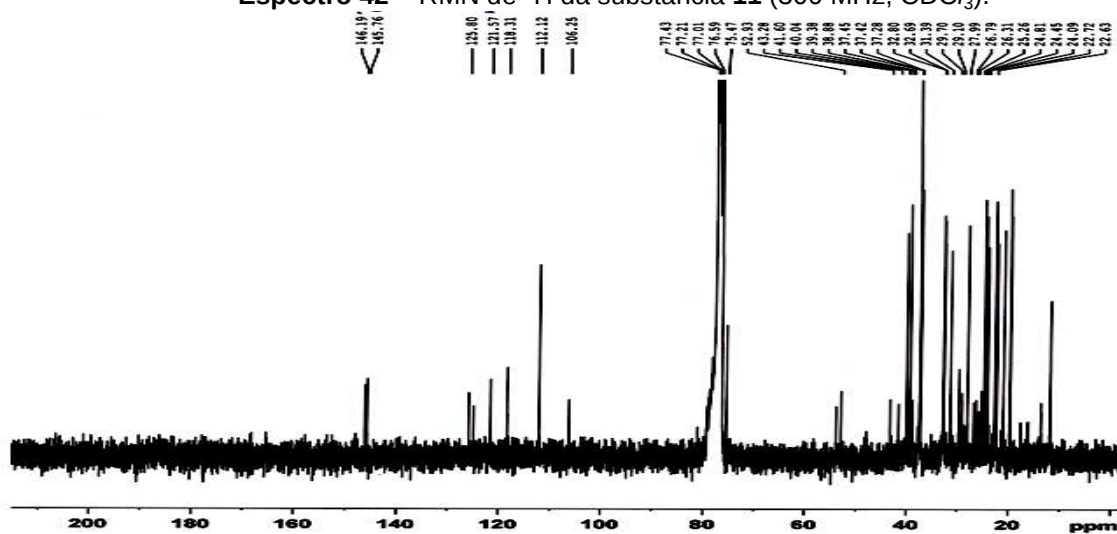
Espectro 42 – RMN de ^1H da substância 11 (300 MHz, CDCl_3).Espectro 43 – RMN de ^{13}C da substância 11 (75 MHz, CDCl_3).

Tabela 21 - Dados de RMN de ^1H (300 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância **11** e os do γ -tocoferol (γTF) (Baker, 1991) (condições não informadas).

C	δ_{H} (nH; mult.; J(Hz))	
	11	γTF
3 CH	1,66 (2H; m)	1,80
4 CH ₂	2,65 (2H; t; 7,3)	2,67
5 CH	6,35 (1H; s)	6,37
C1'-H's	1,50 (2H; m)	1,50
C2'-H's	1,50 (2H; m)	1,30
C3'-H's	1,50 (2H; m)	1,40
C4'-H	1,50 (2H; m)	1,40
C5'-H's	1,50 (2H; m)	1,40
C6'-H's	1,50 (2H; m)	1,30
C7'-H's	1,50 (2H; m)	1,10
C8'-H	1,50 (2H; m)	1,40
C9'-H's	1,50 (2H; m)	1,40
C10'-H's	1,50 (2H; m)	1,30
C11'-H's	1,23-1,28 (2H; m)	1,20
C12'-H	1,50 (2H; m)	1,50
C13'-H's	0,84 (3H; d; 6,7)	0,85
C2-CH ₃	1,22 (3H; s)	1,24
C7-CH ₃	2,11 (3H; s)	2,13
C8-CH ₃	2,09 (3H; s)	2,11
C4'-CH ₃	0,84 (3H; d; 6,7)	0,84
C8'-CH ₃	0,82 (3H; d; 6,7)	0,83
C12'-CH ₃	0,84 (3H; d; 6,7)	0,88
C6-OH	4,21 (1H; s)	4,25

Tabela 22 - Dados de RMN de ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) obtidos para a substância **11** e os do γ -tocoferol (γTF) (Baker, 1991) (condições não informadas).

C	$\delta (^{13}\text{C})$		C	$\delta (^{13}\text{C})$	
	11	γTF		11	γTF
2	75,5	75,5	6'	24,5	24,5
3	31,4	31,4	7'	37,3	37,3
4	22,3	22,3	8'	32,8	32,8
5	112,1	112,1	9'	37,4	37,4
6	146,2	146,2	10'	24,8	24,8
7	121,6	121,6	11'	39,4	39,4
8	125,8	125,8	12'	28,0	28,0
9	145,8	145,8	13'	22,6	22,6
10	118,3	118,3	$\text{CH}_3\text{-C}_2$	24,1	24,1
1'	40,0	40,1	$\text{CH}_3\text{-C}_7$	11,9	11,9
2'	21,0	21,0	$\text{CH}_3\text{-C}_8$	11,9	11,9
3'	37,5	37,5	$\text{CH}_3\text{-C}_4'$	19,6	19,7
4'	32,7	32,7	$\text{CH}_3\text{-C}_8'$	19,8	19,8
5'	37,3	37,3	$\text{CH}_3\text{-C}_{12}'$	22,7	22,7

O γ -tocoferol faz parte da composição química da vitamina E que possui ação anti-oxidante e propriedade antiinflamatória. Também faz parte da composição química do extrato etanólico da raiz de *Copernicia prunifera* (Arecaceae) (Ayres *et al.*, 2007). Estudos em humanos e animais indicam que as concentrações plasmáticas de γ -tocoferol são inversamente associadas com a incidência de doenças cardiovasculares e câncer de próstata (Jiang *et al.*, 2001).

3.2.7- Identificação do O- β -D-glicopiranosil- β -sitosterol (12) e do O- β -D-glicopiranosil-estigmasterol (13).

A fração TSFH 1005 [Item 4.3.4.2.1, Esquema 6] apresentou-se como um sólido branco (2,4 mg) que, quando analisada por CCDA, eluída em $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (85:15) e revelada em solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou uma única mancha de coloração rósea.

O espectro de RMN de ^1H [Espectro 44] apresentou singletos entre δ 0,62 e 1,05 referentes a metilas, característicos de triterpeno ou esteroide, um multipletto a δ 4,00 correspondente a hidrogênio carbinólico e sinais característicos de hidrogênios olefínicos a δ 5,05 (*dd*, $J = 15,0$ e $9,0$ Hz), 5,20(*dd*, $J = 15,0$ e $9,0$ Hz) e 5,37 (*s*).

O espectro de RMN de ^{13}C [Espectro 45, Tabela 23] apresentou vários sinais com intensidades diferentes indicando que a fração analisada tratava-se de uma mistura. Na região dos carbonos olefínicos observou-se quatro sinais sendo que os de maior intensidade estavam a δ 140,8 e 121,8 e os de menor intensidade a δ 138,8 e 129,4. Este conjunto de sinais é característicos para o stigmasterol, substância 13 [Figura 37], hipótese confirmada pela comparação com os dados espectrais de RMN de ^{13}C obtidos na literatura (Habib *et al.*, 2007). Os sinais δ 140,8 e 121,8 também caracterizam o β -sitosterol, substância 12 [Figura 36], que também pôde ser identificado na mistura, pois ainda restavam no espectro de RMN de ^{13}C sinais não atribuídos. O espectro de RMN de ^{13}C apresentava ainda os sinais a δ 102,48, δ 78,5, δ 78,4, δ 75,2 δ 71,6 δ 62,7 que incorporado aos sinais na região entre δ 3,50 e 5,00 apresentados no espectro de RMN de ^1H indicaram a presença de uma estrutura glicosídica que foi determinada β -D-glicose por apresentar sinal a δ 4,35 (*t*, $J = 6,00$ Hz) característico do hidrogênio anomérico. Assim pode-se identificar na mistura o O- β -D-glicopiranosil- β -sitosterol (12) e o O- β -D-glicopiranosil-estigmasterol (13).

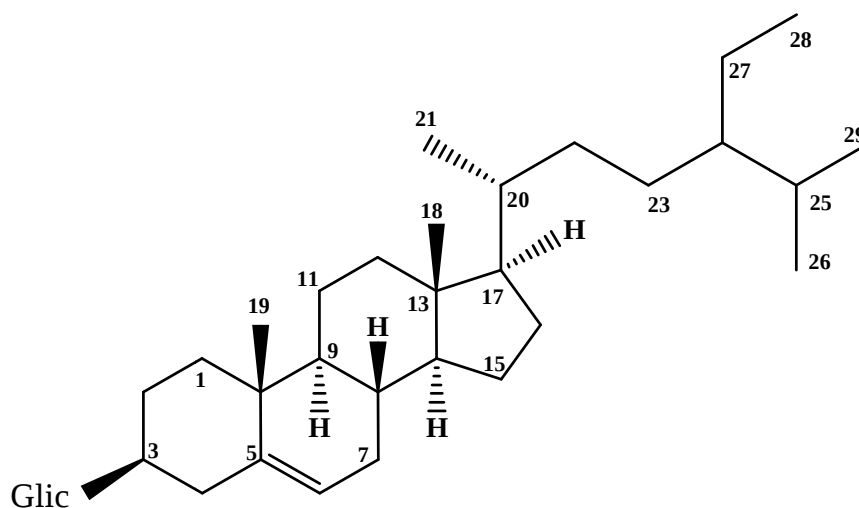


Figura 36 – Estrutura da substância 12

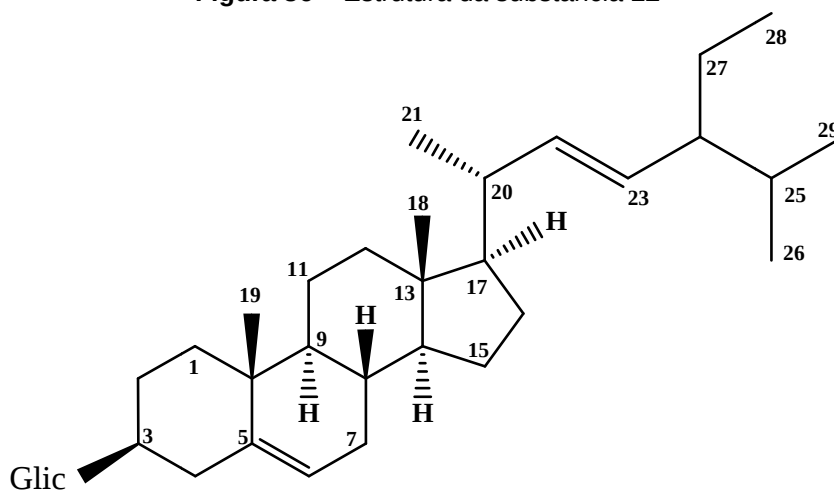
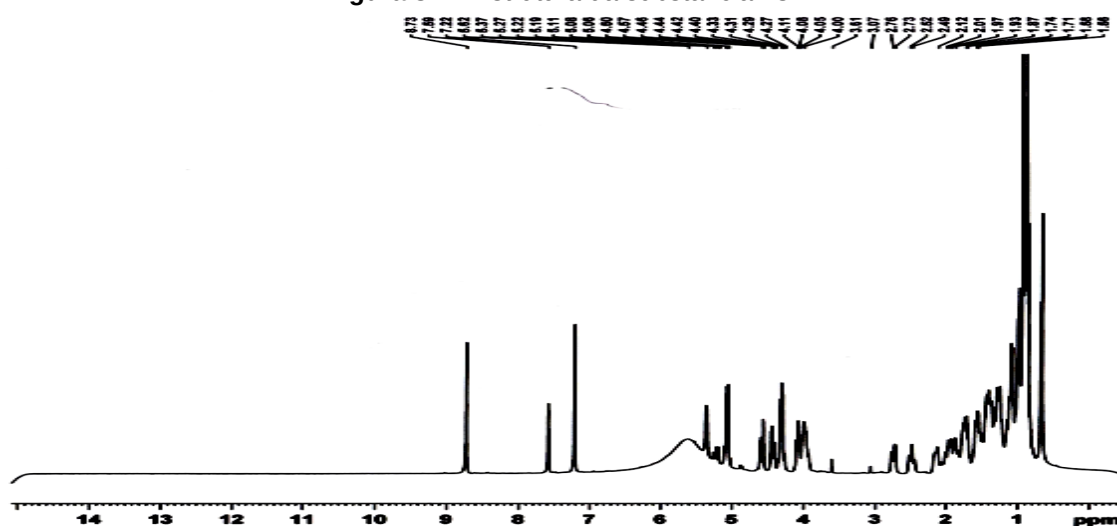
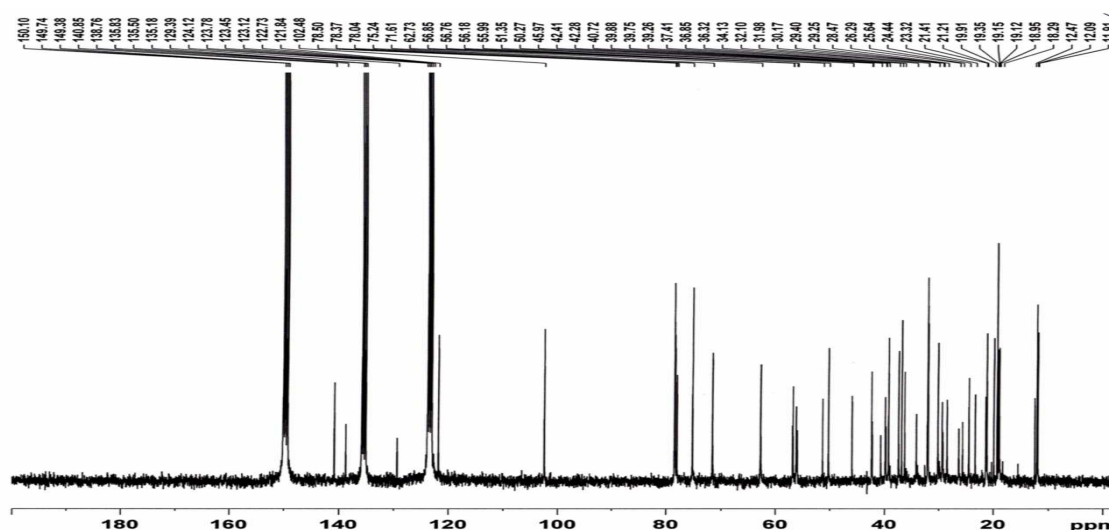


Figura 37 – Estrutura da substância 13

Espectro 44 – RMN de ^1H da mistura das substâncias 12 e 13 (300 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)



Espectro 45 – RMN de ^{13}C da mistura das substâncias **12** e **13** (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$)

Tabela 23 - Dados de RMN de ^{13}C obtidos para as substâncias **12**, **13** (75 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$), do O- β -D-glicopiranosil- β -sitosterol (**BST**) (Saxena, 2005) e do O- β -D-glicopiranosil-estigmasterol (**EMT**) (El-Askary, 2005) (125 MHz, C_6D_6)

C	$\delta (^{13}\text{C})$				C	$\delta (^{13}\text{C})$			
	12	BST	13	EMT		12	BST	13	EMT
1	36,9	37,0	39,3	39,2	19	19,4	19,2	19,2	19,3
2	30,2	29,5	32,0	29,3	20	36,2	36,0	40,0	36,7
3	78,5	79,9	78,5	79,6	21	19,0	18,6	21,2	19,1
4	39,3	38,7	42,4	40,4	22	34,1	34,0	138,8	138,8
5	140,9	140,2	140,9	141,1	23	25,6	26,0	129,4	129,9
6	121,8	121,9	121,8	122,4	24	45,7	45,7	51,3	46,6
7	32,0	31,4	32,0	32,4	25	29,2	29,2	32,0	29,8
8	32,1	32,2	32,1	32,5	26	19,9	19,6	21,4	20,0
9	50,3	51,5	50,3	51,9	27	19,0	18,1	19,0	19,6
10	37,4	36,6	36,8	37,3	28	23,3	23,0	24,4	23,6
11	21,2	21,0	21,2	21,6	29	11,9	11,8	12,5	12,4
12	39,8	39,6	39,8	40,3	1'	102,5	103,9	102,5	103,9
13	42,4	42,2	42,3	42,8	2'	75,2	75,2	75,2	75,2
14	56,8	56,6	56,9	57,5	3'	78,4	78,6	78,4	78,6
15	24,4	24,2	24,4	25,8	4'	71,6	71,7	71,6	71,7
16	28,5	28,1	29,4	26,8	5'	78,5	78,7	78,5	78,7
17	56,2	55,9	56,0	56,7	6'	62,7	62,8	62,7	62,8
18	12,1	11,6	12,1	12,2					

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 - EQUIPAMENTOS E VIDRARIAS

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , obtidos na UFMS, foram registrados em aparelho da marca Bruker, sendo os espectros de RMN de ^1H sob um campo de 300 MHz e os de RMN de ^{13}C , a 75 MHz, já os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C , obtidos na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, foram registrados em aparelho da marca Bruker – Modelo DRX-500, sendo os espectros de RMN de ^1H sob um campo de 500 MHz e os de RMN de ^{13}C , a 125 MHz, com amostras dissolvidas nos solventes indicados. Os deslocamentos químicos foram apresentados em unidades δ (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).

Os solventes, usados no processo de extração, foram evaporados com auxílio de evaporador rotatório, sob pressão reduzida.

Nas colunas de fracionamento foram utilizada sílica 60 (70 – 230 mesh, Merck), sílica “flash” (230 – 400 mesh, Merck) e Sephadex LH-20 (Pharmacia). As placas analíticas (CCDA) (2,5 x 7,5 cm, 0,5 g) foram preparadas com sílica gel G (Merck) ou cromatofolhas (Merck). As revelações das placas cromatográficas foram feitas através de nebulização com solução saturada de sulfato de Cério IV em H_2SO_4 2N e aquecimento, ou pela exposição à luz ultravioleta (366 e 254 nm).

4.2. - *TRICHILIA STELLATO-TOMENTOSA* (MELIACEAE)

4.2.1 – MATERIL VEGETAL

Os frutos de *Trichilia stellato-tomentosa* (Meliaceae) foram coletados na região do Pantanal no município de Corumbá – MS. O trabalho de identificação teve o apoio do botânico Dr. Arnildo Pott (DBI/UFMS).

4.2.2 - OBTENÇÃO DO EXTRATO E PARTIÇÕES

As sementes frescas (106,8 g), após separação das polpas, foram maceradas e submetidas a extração com etanol. Após filtragem a solução resultante foi concentrada sob pressão reduzida, fornecendo o extrato etanólico bruto, denominado TSTS.

Ao extrato etanólico bruto (TSTS) das sementes, contido em um erlenmeyer, foi acrescentado excesso de metanol, resultando em um sistema com duas fases: solúvel (TSTSM, 3,1 g) e não solúvel em metanol (TSTSR) [Esquema 1].

4.2.3 - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS

4.2.3.1 - FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO EM COLUNA DE TSTSM

A fração TSTSM (3,1 g) foi submetida a uma coluna cromatográfica (4,0 X 35,0 cm), com 181,7 g de Sílica gel 70-230 mesh, eluída com Hex/AcOEt/MeOH em gradiente crescente de polaridade [Quadro - 4.2.3.1.1, Esquema 2]. Deste processo foram obtidas 20 frações, denominadas TSTSM01 a TSTSM20.

Quadro 4.2.3.1.1 - Demonstrativo do fracionamento cromatográfico da fração TSTSM, relacionando o número da fração com a composição centesimal da mistura de solventes e algumas massas.

Frações	% da mistura de solventes			Massa (mg)
	Hex	AcOEt	MeOH	
1	95	5	-	
2	94	6	-	
3	93	7	-	
4	92	8	-	
5	91	9	-	
6	90	10	-	11,7
7	89	11	-	
8	88	12	-	
9	87	13	-	33,1
10	87	13	-	45,0
11	80	20	-	50,3
12	70	30	-	
13	60	40	-	
14	50	50	-	
15	-	100	-	
16	-	9	1	
17	-	8	2	
18	-	7	3	
19	-	50	50	
20	-	-	100	

4.2.4 – RESULTADOS DO FRACIONAMENTO

4.2.4.1 - FRAÇÃO TSTSM06

A fração TSTSM06 (11,7 mg) de consistência oleosa e coloração amarela, quando submetida a CCDA e eluída com Hex/AcOEt (9:1), apresentou uma única mancha de coloração rósea ao ser revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV. Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C indicaram tratar-se do limonoide do 7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil- azadirona (**1**).

4.2.4.2 - FRAÇÃO TSTSM09

A fração TSTSM09 (33,1 mg) de consistência sólida e coloração amarela, quando submetida a CCDA e eluída com Hex/AcOEt (75:25), apresentou única mancha de coloração lilás ao ser revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV. Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C indicaram tratar-se do limonoide 7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-nimocinol (**2**).

4.2.4.3 - FRAÇÃO TSTSM10

A fração TSTSM10 (45,0 mg) de consistência sólida e coloração amarela, quando submetida a CCDA e eluída com Hex/AcOEt (8:2), apresentou única mancha de coloração roxa ao ser revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV. Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C indicaram tratar-se de uma mistura contendo os limonoides 12 α -hidróxi-7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-gedunina (**4**) e do 12 α -hidróxi-7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-1,2-di-hidrogedunina (**5**).

4.2.4.4 - FRAÇÃO TSTSM11

A fração TSTSM11 (50,3 mg) de consistência sólida e coloração amarela, quando submetida a CCDA e eluída Hex/AcOEt (8:2), apresentou única mancha de coloração marrom, ao ser revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV. Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C indicaram tratar-se do limonoide 6 α ,12 β -di-hidróxi-7-desacetil-7-(2',3'-dimetil)-pentanoil-1,2-di-hidro-gedunina (**3**).

4.3 – *TRICHILIA SILVATICA* (MELIACEAE)

4.3.1 – MATERIAL VEGETAL

As folhas de *Trichilia silvatica* foram coletadas, no município de Dois Irmãos do Buriti-MS. O trabalho de identificação teve o apoio da MSc. Ubirazilda M. Resende. A exsicata 11218 deste espécime encontra-se depositada no Herbário CGMS, da UFMS.

4.3.2 - OBTENÇÃO DO EXTRATO E PARTIÇÕES

As folhas (1050,0 g) foram secas, moídas e submetidas à extração com etanol. Após filtragem a solução resultante foi concentrada sob pressão reduzida, fornecendo o extrato etanólico bruto (125,1g). Este extrato foi dissolvido em 1000 mL de MeOH/H₂O (9:1) e em seguida submetido a partição com hexano (Hex), obtendo-se as fases hexânica (TSFH, 36,3 g) e a residual [Esquema 3].

4.3.3 - ISOLAMENTO DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS

4.3.3.1 – FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO EM COLUNA DE TSFH.

A fração TSFH (36,3 g) foi submetida à coluna cromatográfica (6,0 X 30,0 cm) com sílica gel (70-230 mesh) e eluída com Hex/AcOEt em gradiente de polaridade crescente [Quadro 4.3.3.1.1, Esquema 4]. Deste processo foram coletadas 14 frações de 200 mL cada, denominadas de TSFH-01 a TSFH-14.

Quadro 4.3.3.1.1 - Demonstrativo do fracionamento cromatográfico da fase hexânica das folhas de *T. silvatica* relacionando o número da fração com a composição centesimal da mistura de solvente.

Frações	% da mistura de solventes		
	Hex	AcOet	MeOH
01	100	-	-
02	90	10	-
03	80	20	-
04	70	30	-
05	50	50	-
06	-	100	-
07	-	100	-
08	-	100	-
09	-	100	-
10	-	100	-

Frações	% da mistura de solventes		
	Hex	AcOet	MeOH
11	-	-	100
12	-	-	100
13	-	-	100
14	-	-	100

4.3.4 – RESULTADOS DO FRACIONAMENTO

4.3.4.1 - FRAÇÃO TSFH-05

A fração TSFH-05 (11,6 g) apresentou, quando analisado em CCDA e revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV, várias manchas indicando uma mistura de substâncias. Parte desta (1,0 g) foi submetida à cromatografia em coluna com Sephadex LH-20, eluída com Clorofórmio e obtendo-se 36 frações, de 10 mL cada, que foram denominadas de TSFH-0501 a TSFH-0536 [Esquema 4].

4.3.4.1.1 – FRAÇÃO TSFH-0508

A fração TSFH-0508 (180,0 mg) foi submetida a cromatografia em coluna (3,0 X 40,0 cm) com sílica “flash” (200 – 400 Mesh), eluída com Hex/AcOEt em gradiente de polaridade crescente [Quadro 4.3.4.1.1]. Deste processo obteve-se 80 frações, de 10 mL cada, denominadas de TSFH 050801 a TSFH 050880 [Esquema 4].

Quadro 4.3.4.1.1 - Demonstrativo do fracionamento cromatográfico de TSFH 0508 relacionando o número da fração com a composição centesimal do solvente.

Intervalo das Frações	% da mistura dos solventes	
	Hexano	AcOEt
01 – 10	95	05
11 – 23	93	07
24 – 29	92	08
30 – 45	90	10
46 – 57	85	15
58 – 65	80	20
66 – 80	-	100

4.3.4.1.1.1 - FRAÇÃO TSFH-050826

A fração TSFH-050826 (10,7 mg) quando analisada por CCDA e revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou uma única mancha de coloração rósea. Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C indicaram tratar-se do diterpeno kolavelool (**9**).

4.3.4.1.1.2 - FRAÇÃO TSFH-050841

A fração TSFH-050841 (3,4 mg) quando analisada por CCDA e revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou uma única mancha de coloração rósea. Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C indicaram tratar-se do diterpeno Cneurubina X (**8**).

4.3.4.1.2 - FRAÇÃO TSFH-0510

A fração TSFH-0510 (44,5 mg) quando analisada por CCDA e revelada com solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou diversas manchas, mas a mais intensa apresentou coloração rósea. Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C indicaram tratar-se do diterpeno Kolavenol (**10**).

4.3.4.1.3 - FRAÇÃO TSFH-0511

A fração TSFH-0511 (12,9 mg) foi submetida à coluna cromatográfica (3,5 X 50,0) com sílica “flash” (400 – 200 mesh) e eluída com $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (99,9:0,1). Deste processo obteve-se 72, frações com 10 mL cada, denominadas de TSFH-051101 a TSFH-051172 [Esquema 5].

4.3.4.1.3.1 - FRAÇÃO TSFH 051138

A fração TSFH-051138 (4,2 mg) quando analisada por CCDA e revelada em solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou uma única mancha de coloração rósea. Os dados de RMN de ^1H e ^{13}C indicaram tratar-se da substância γ -tocoferol (**11**).

4.3.4.2 - FRAÇÃO TSFH 10

A fração TSTFH10 (1,1 g) foi submetida à coluna cromatográfica (5,0 X 30,0 cm) com Sephadex LH-20, eluída com $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (1:1), obtendo-se 42 frações, com 20 mL cada, denominadas de TSFH-1001 a TSFH-1042 que após análise por

CCDA foram reunidas por similaridade de R_f em 7 frações [Quadro 4.3.4.2.1, Esquema 6].

Quadro 4.3.4.2.1 - Demonstrativo dos intervalos das frações reunidas por similaridade de R_f, obtidas de TSFH-10, suas novas denominações e algumas massas.

Intervalo de frações	Massa (mg)
01 (10 – 10)	266,7
02 (15 – 20)	
03 (21 – 24)	
04 (23 – 29)	
05 (30 – 37)	
06 (38 – 40)	
07 (41 – 42)	

4.3.4.2.1 - FRAÇÃO TSFH-1005

A fração TSFH-1005 (266,7 mg) quando analisada por CCDA e revelada em solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou única mancha de coloração rósea. Os dados de RMN de ¹H e ¹³C indicam tratar-se de uma mistura contendo O-β-D-glicopiranosil-β-sitosterol e O-β-D-glicopiranosil-estigmasterol (**12** e **13**).

4.3.4.2.2 - FRAÇÃO TSFH-1006

Parte da fração TSFH-1006 (63,2 mg) foi submetida à coluna cromatográfica (5,0 X 35,0 cm) com sílica “flash” (200 – 400 Mesh) e eluída com CHCl₃/MeOH em gradiente de polaridade crescente [Quadro 4.3.4.2.2, Esquema 7]. Deste processo, obteve-se 130 frações, de 10 mL cada, denominadas de TSFH-104001 a TSFH-1040130.

Quadro 4.3.4.2.2 - Demonstrativo da cromatografia de TSFH-1040 relacionando o número da fração com a composição centesimal do solvente.

Nº Frações	% da mistura de solvente	
	CHCl ₃	MeOH
01 – 20	95	05
21 – 38	94	06

Nº Frações	% da mistura de solvente	
	CHCl ₃	MeOH
39 – 55	93	07
56 – 66	92	08
67 – 88	90	10
89 – 106	80	20
107 – 130	70	30

4.3.4.2.2.1 - FRAÇÃO TSFH-100630

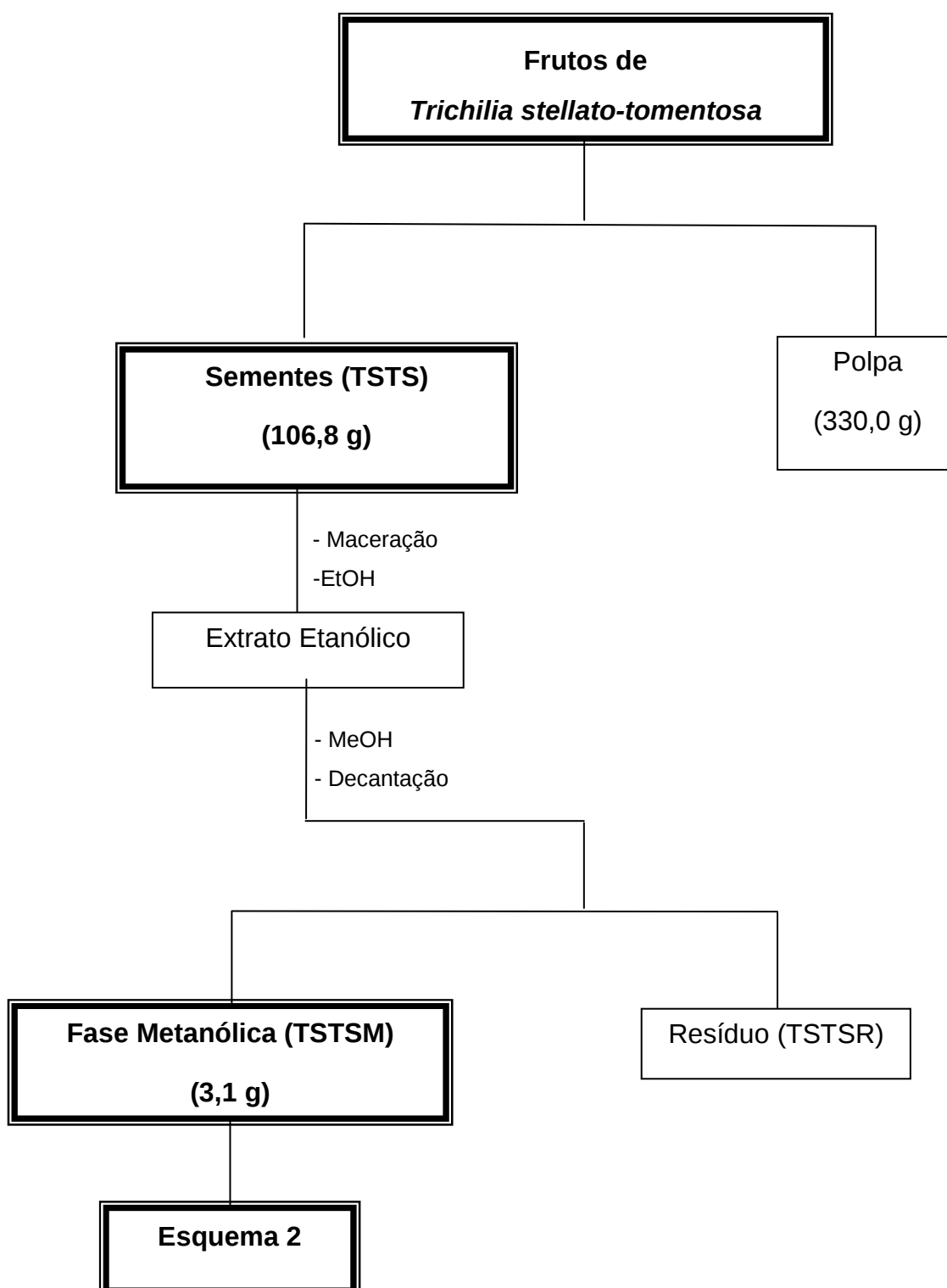
A fração TSFH-100630 (4,6 mg) quando analisada por CCDA e revelada em solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou uma única mancha de coloração rósea. Os dados de RMN de ¹H e ¹³C indicaram tratar-se do pregnano 2 α , 3 β , 4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona (**6**).

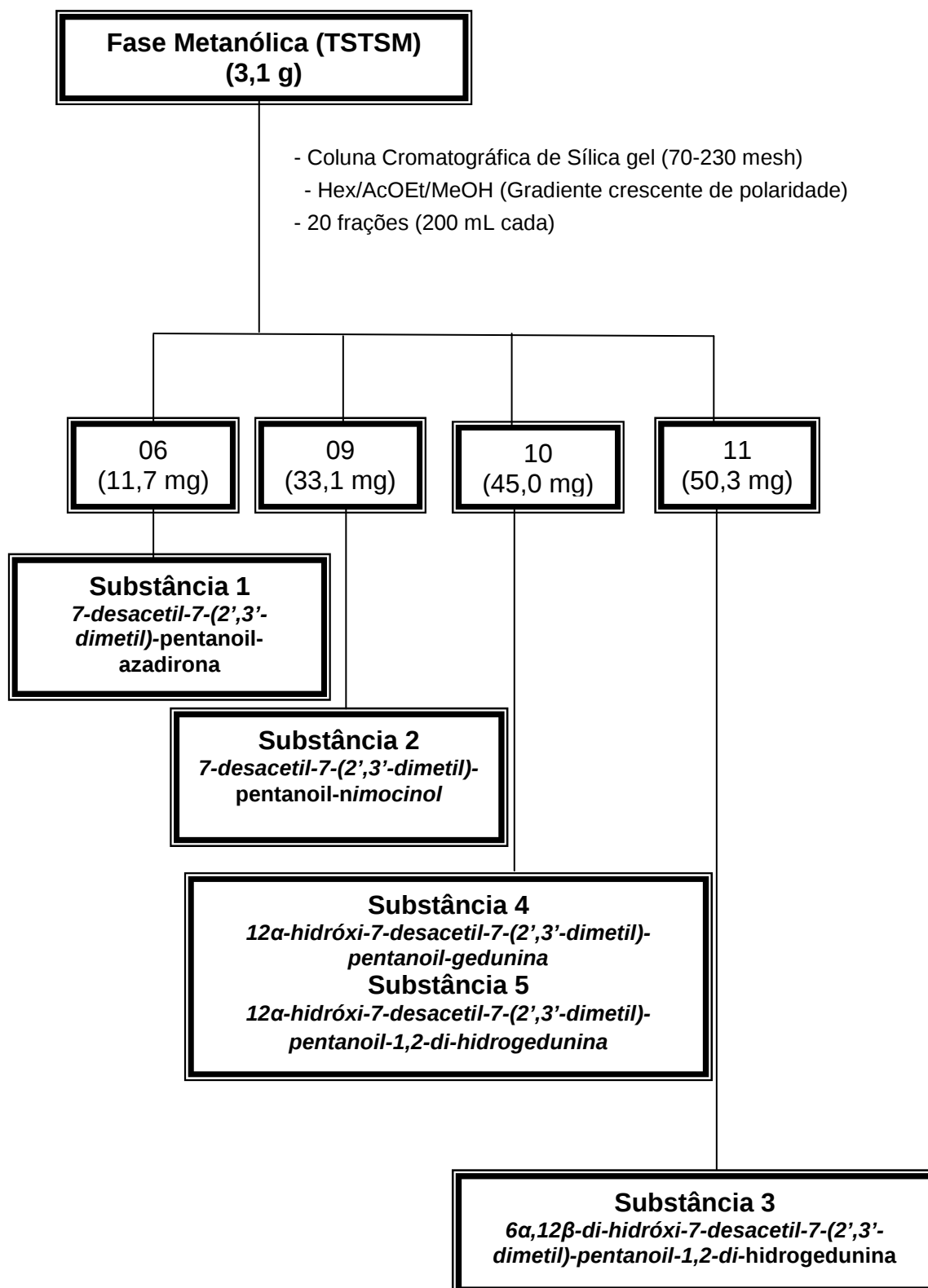
4.3.4.2.2.2 - FRAÇÃO TSFH-100665

A fração TSFH-100665 (3,6 mg) quando analisada por CCDA e revelada em solução saturada de sulfato de Cério IV, apresentou uma única mancha de coloração rósea. Os dados de RMN de ¹H e ¹³C indicaram tratar-se do pregnano 2 β , 3 β , 4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona (**7**).

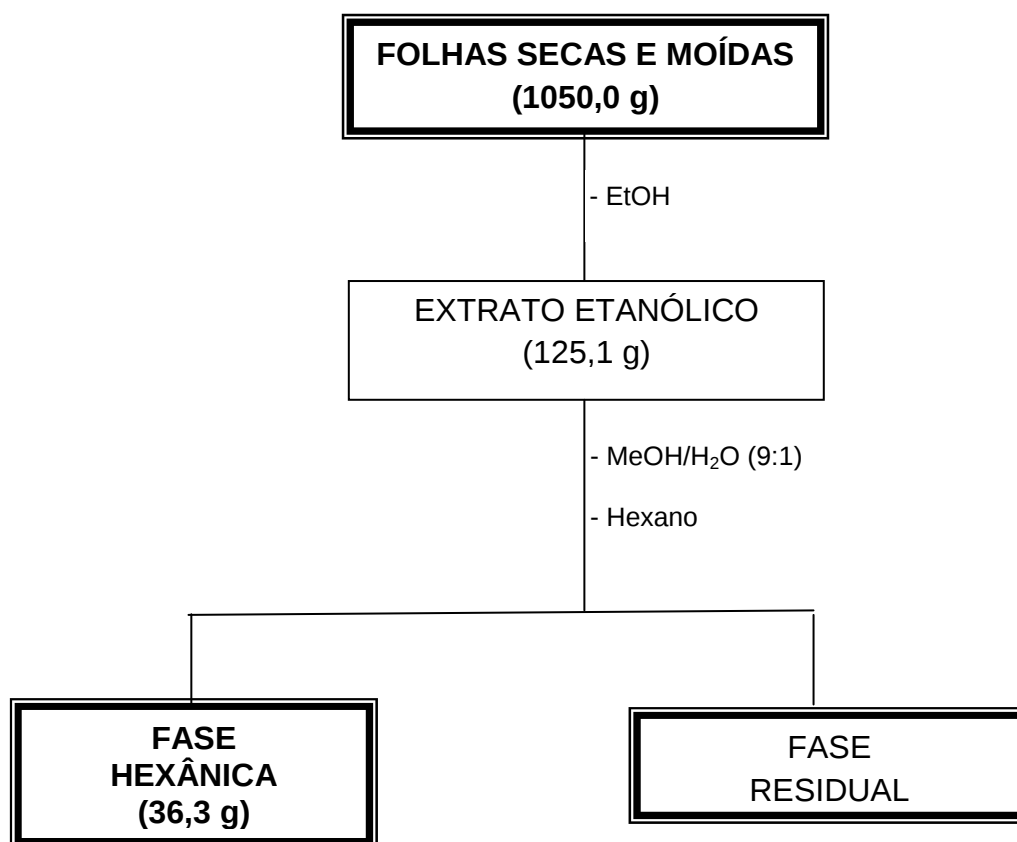
4. 4 – ESQUEMAS

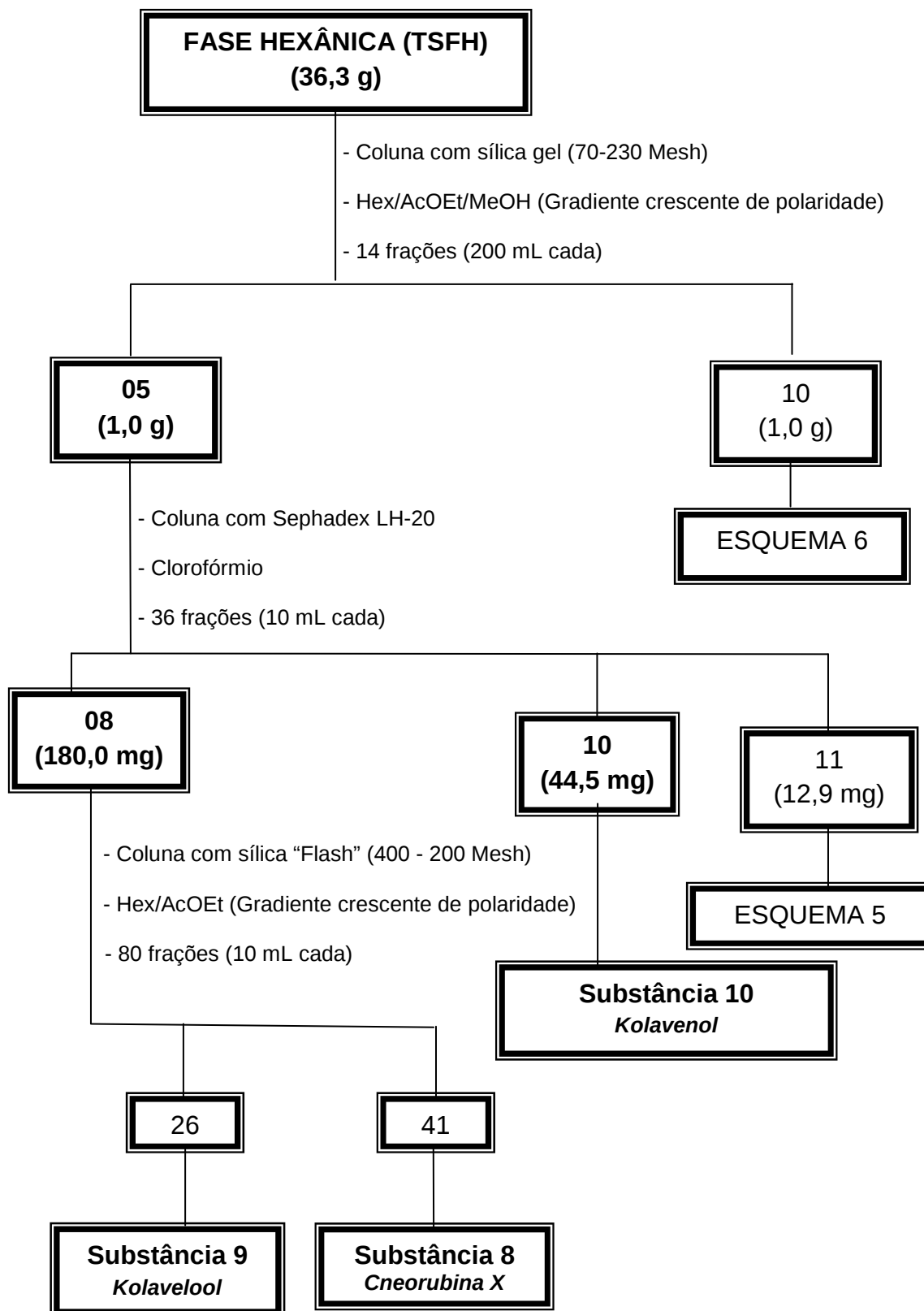
ESQUEMA 1 – Obtenção do extrato etanólico (TSTS), da fase metanólica (TSTSM) e fase residual (TSTSR) dos frutos de *Trichilia stellato-tomentosa* (Meliaceae).

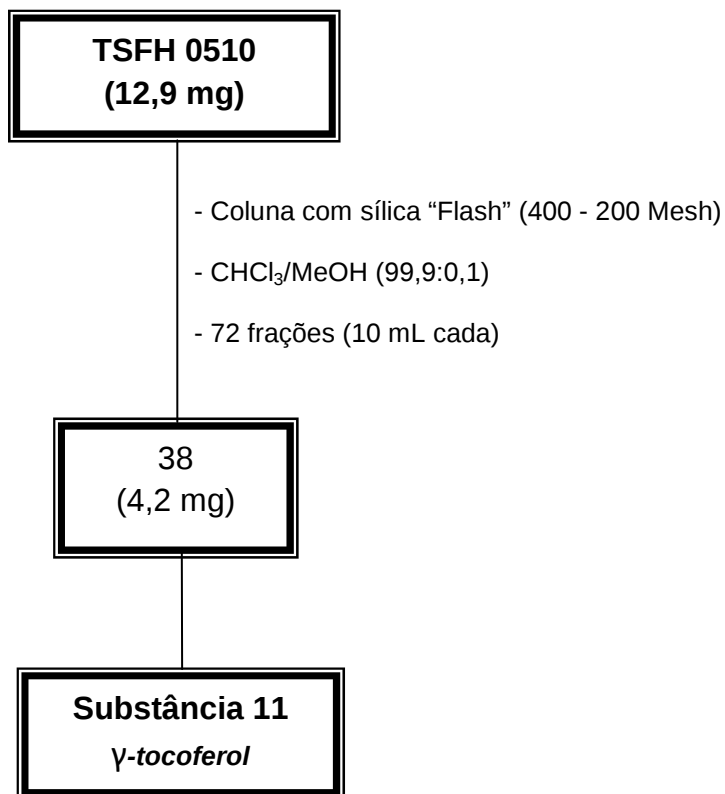


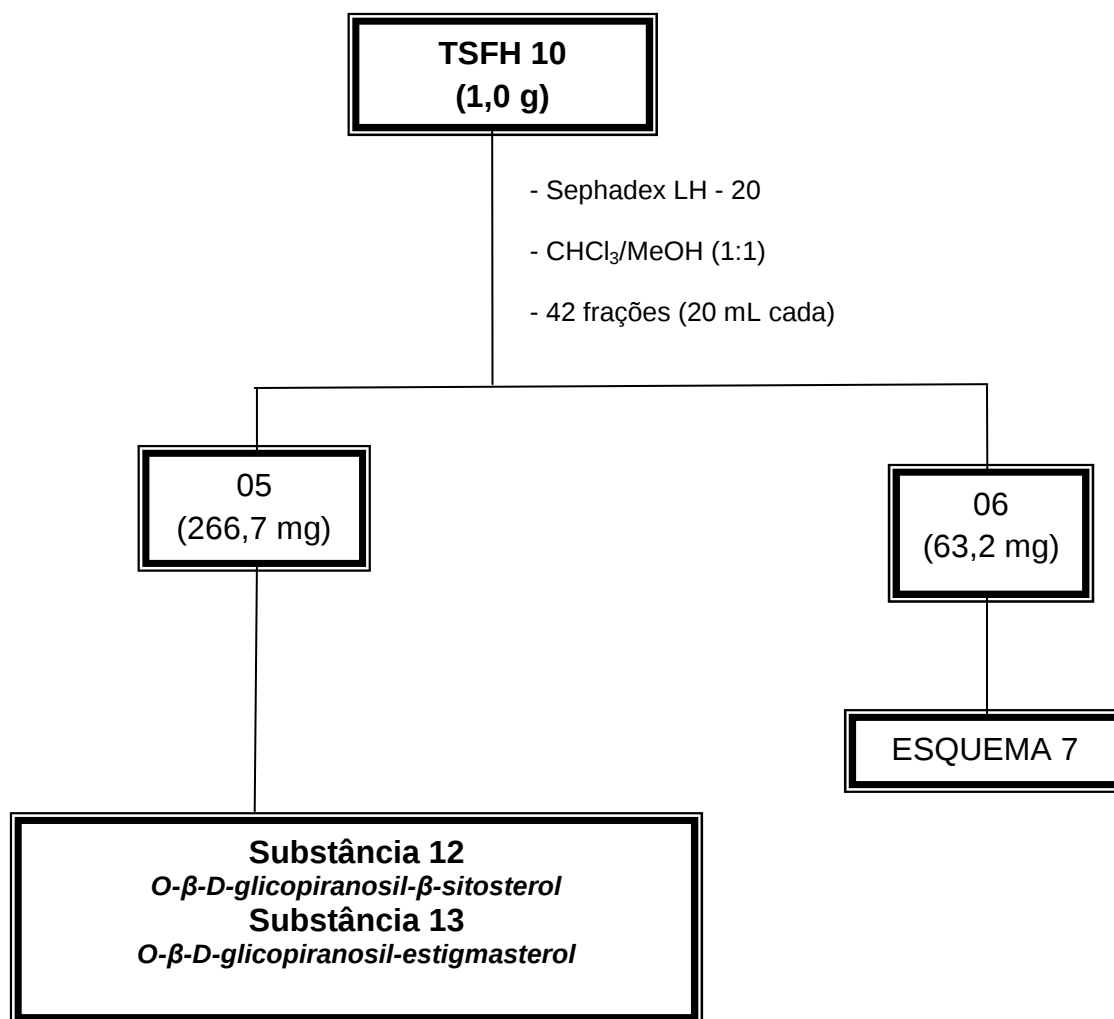
ESQUEMA 2 – Fracionamento cromatográfico em coluna de TSTSM.

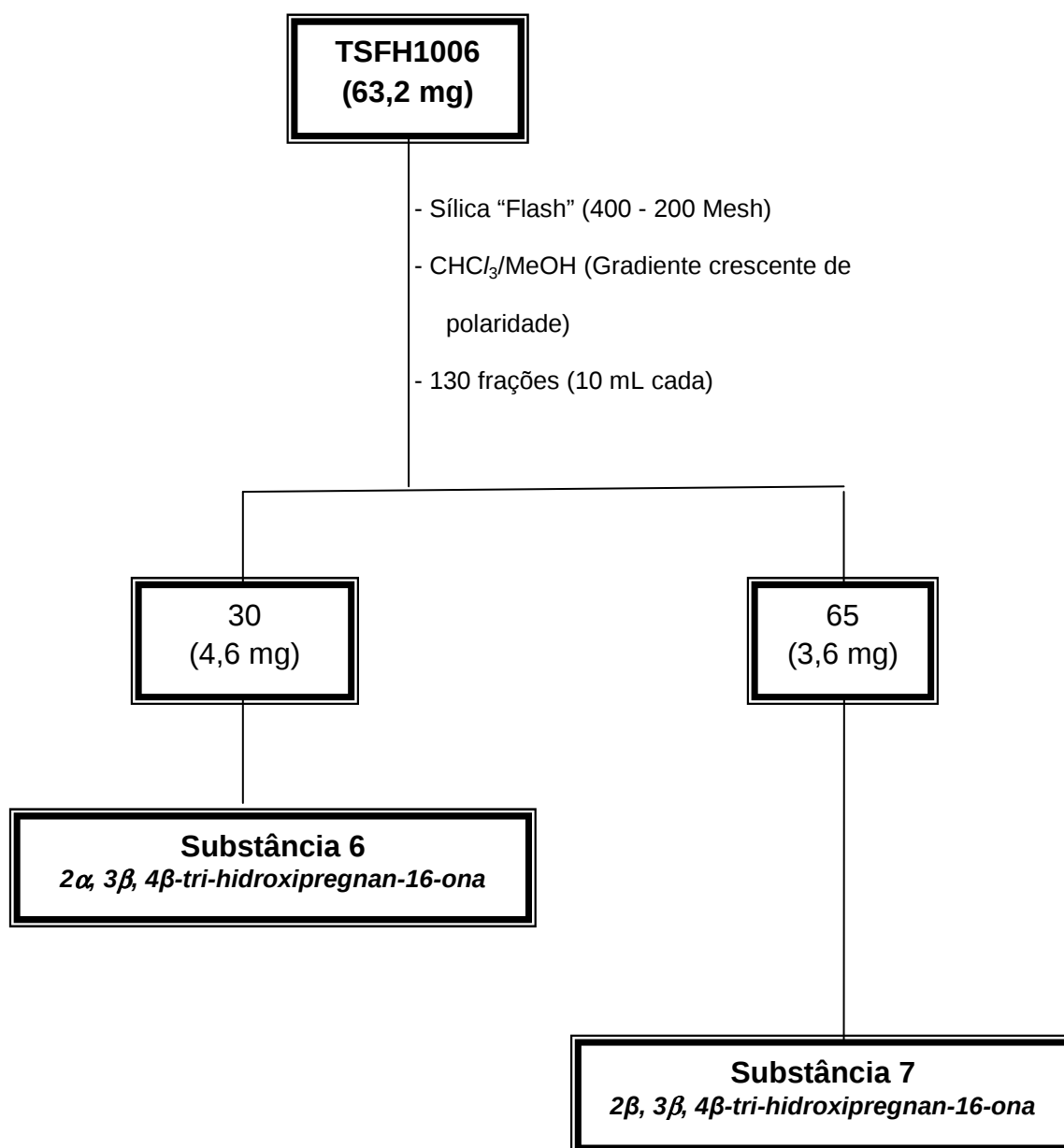
ESQUEMA 3 - Obtenção e partição líquido/líquido do extrato etanólico das folhas de *Trichilia silvatica* (Meliaceae).



ESQUEMA 4 - Fracionamento cromatográfico em coluna de TSFH.

ESQUEMA 5 - Fracionamento cromatográfico de TSFH-0510.

ESQUEMA 6 - Fracionamento cromatográfico de TSFH-10.

ESQUEMA 7 – Fracionamento cromatográfico de TSFH-1006.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No estudo químico da fase hexânica das folhas de *Trichilia silvatica* (Meliaceae) e da fase metanólica dos frutos de *Trichilia stellato-tomentosa* (Meliaceae) foram utilizados métodos cromatográficos e espectroscopia de RMN de ^1H e ^{13}C (uni e bidimensionais).

Da fase hexânica das folhas de *Trichilia silvatica* (Meliaceae) foram identificados isolados ou em mistura oito substâncias, sendo três diterpenos (kolavelool, kolavenol e cneurubina x), quatro esteroides (O- β -D-glicopiranosil- β -sitosterol, O- β -D-glicopiranosil-estigmasterol, 2 β ,3 β ,4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona e 2 α ,3 β ,4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona) e um γ -tocoferol. Destas substâncias o kolavelool, kolavenol e cneurubina x, já foram identificadas em Meliaceae, estão sendo relatadas pela primeira vez no gênero *Trichilia*. Os esteroides O- β -D-glicopiranosil- β -sitosterol e O- β -D-glicopiranosil-estigmasterol são substâncias comuns em plantas, mas os isômeros 2 β ,3 β ,4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona e 2 α ,3 β ,4 β -tri-hidroxipregnan-16-ona encontram-se em menor ocorrência. O γ -tocoferol, também, tem baixa ocorrência em detrimento aos outros isômeros α , β e δ -tocoferol.

Os resultados obtidos com a fase hexânica das folhas de *Trichilia silvatica* tornam promissores os estudos posteriores, pois foi identificada uma variedade de metabólitos e não há relato na literatura sobre a composição química desta espécie. Os testes de atividade contra *Spodoptera frugiperda* realizados com esta fase, demonstraram potente ação.

Da fase metanólica das sementes de um espécime de *Trichilia stellato-tomentosa* (Meliaceae) foram identificados, isolados ou em mistura, cinco limonoides inéditos (dois derivados de azadirona e outros três derivados da gedunina). Os esqueletos referências, já descritos em meliáceas e em trichilias, azadirona, nimocinol e gedunina apresentam atividades citotóxica, inseticida e antimalárica, respectivamente.

6 - REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

- ALADESANMIU, A.J.; ODEDIRAN, S.A. (2000). **Antimicrobial activity of *Trichilia heudelotti* leaves.** *Fitoterapia*, **71**(2): 179.
- AMBROZIN, A. R. P.; LEITE, A. C.; BUENO, F. C.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; BUENO, O. C.; SILVA, M. F. G. F.; PAGNOCCA, F. C.; HEBLING, M. J. A.; BACCI JR, M. (2006). **Limonoids from Andiroba Oil and *Cedrela fissilis* and their Insecticidal Activity.** *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **17**(3): 542.
- AYRES, M. C. C.; BRANDÃO, M. S.; VIEIRA-JÚNIOR, G. M.; MENOR, J. C. A. S.; SILVA, H. B.; SOARES, M. J. S.; CHAVES, M. H. (2008). **Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*.** *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, **18**(1): 90.
- BAKER, J. K.; MYERS, W. (1991). **One-Dimensional and Two-Dimensional ^1H and ^{13}C -Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Analysis of Vitamin E Raw Material or Analytical Reference Standards.** *Pharmaceutical Research*, **8**(6): 763.
- BOGORNÍ, P. C.; VENDRAMIM, J. D. (2005). **Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia spp.* sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho.** *Neotropical Entomology*, **34**: 311.
- BOMM, M. D.; ZUKERMAN-SCHPECTOR, J.; LOPES, L. M. X. (1999). **Rearranged (4 $\rightarrow$ 2)-abeo-clerodane and clerodane diterpenes from *Aristolochia chamissonis*.** *Phytochemistry*, **50**: 455.
- BRANDT, G. E. L.; SCHMIDT, M. D.; PRISINZANO, T. E.; BLAGG, B. S. J. (2008). **Gedunin, a Novel Hsp90 Inhibitor: Semisynthesis of Derivatives and Preliminary Structure-Activity Relationships.** *Journal of Medicinal Chemistry*, **51**: 20.
- BROCHINI, C. B.; ROQUE N. F. (2000). **Two New Cneorubin Related Diterpenes from the Leaves of *Guarea guidonia* (Meliaceae).** *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **4**(11): 361.
- CORTEZ, D. A. G.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; DA SILVA, M. F. G. F.; FERREIRA, A. G.; CASS, Q. B.; PIRANI, J. R. (1998). **Meliacin butenolides from *Trichilia stipulata*.** *Phytochemistry*, **49**(8): 2493.

- CORTEZ, D. A. G.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; DA SILVA, M. F. G. F.; FERREIRA, A. G. (2000). **A limonoid from *Trichilia estipulata*. *Phytochemistry*, **55**(7): 711.**
- CORTEZ, D. A. G.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; DA SILVA, M. F. G. F. & FERREIRA, A. G. (1992). **Limonoids from *Trichilia hirta*. *Phytochemistry*, **31**(2): 625.**
- CUNHA, U. S.; VENDRAMIM, J. D.; ROCHA, W. C.; VIEIRA, P. C. (2006). **Frações de *Trichilia pallens* com atividade inseticida sobre *Tuta absoluta*. *Revista da Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **41**(11): 1579.**
- CUNHA, U. S.; VENDRAMIM, J. D.; ROCHA, W. C.; VIEIRA, P. C. (2008). **Bioatividade de Moléculas Isoladas de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology*, **37**(6): 709.**
- DE PAULA, J. R.; VIEIRA, I. J. C.; DA SILVA, M. F. G. F.; FO, E. R.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; PINHEIRO, A. L.; VILELA, E. F. (1997). **Sesquiterpenes, triterpenoids, limonoids and flavonoids of *Cedrela odorata* graft and speculations on the induced resistance against *Hypsipyla grandella*. *Phytochemistry*, **44** (8), 1449.**
- DEGRANDE, P. E. **Guia prático de controle das pragas do algodoeiro**. Dourados: UFMS, 1998, **60**.
- DEL CARMEN, R. M.; TOSCANO, R. A.; ARNASON, J.; OMAR, S.; CERDA-GARCÍA-ROJAS, C. M.; MATA, R. (2000). **Structure, conformation and absolute configuration of new antifeedant dolabellanes from *Trichilia trifolia*. *Tetrahedron*, **56**(29): 5085.**
- EL-ASKARY, H. I. (2005). **Terpenoids from *Cleome droserifolia* (Forssk.) Del. *Molecules*, **10**, 971.**
- FREIBURGHHAUS, F.; STECK, A.; PFANDER, H.; BRUN, R. (1998). **Bioassay-guided isolation of a diastereoisomer of kolavenol from *Entada abyssinica* active on *Trypanosoma brucei rhodesiense*. *Journal of Ethnopharmacology*, **61**: 179.**
- GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; SILVA, A. F. G. DA; BAZZO, R. C.; RESENDE, U. M. (2004). **Terpenoid Constituents from Leaves of *Guarea kunthiana*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **15**(5): 767.**

- GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; MAHMOUD, T. S.; FIGUEIREDO, P. O.; RESENDE, U. M. (2007). **Novos Constituintes Químicos das Cascas do caule de *Tabebuia heptaphylla***. *Química Nova*, **30**: 1887.
- GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; POTT, V. J. E. D. ; ROQUE, N. F. (1996). **Seco-protolimonoids from *Trichilia elegans* ssp. *elegans***. *Phytochemistry*, **42**(5): 1399.
- GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; ROQUE, N. F.; CASTELLANO, E. E.; ZUCKERMAN-SCHPECTOR, J. (2000). **7-beta-oxygenated limonoids from *Trichilia elegans* ssp. *elegans***. *Phytochemistry*, **55**(7): 733.
- GARCEZ, F. R.; NUNES, C. V.; GARCEZ, W. S.; ALMEIDA, R. M.; ROQUE, N. F. (1998). **Sesquiterpenes, limonoid, and coumarin from the wood bark of *Guarea guidonia***. *Planta Medica*, **64**(1): 79.
- GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; RAMOS, L.; CAMARGO, M. J. (1997). **Sesquiterpenes from *Trichilia catigua***. *Fitoterapia*, **68**(1): 87.
- GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; SOARES, L. R. (2008). **16,17-Seco- and 2,3:16,17-di-Seco-pregnanes from *Guarea guidonia***. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **19**: 1073.
- GERMANÒ, M. P.; D'ANGELO, V.; SANOGO, R.; CATANIA, S.; ALMA, R.; DE PASQUALE, R.; BISIGNANO, G.(2005). **Hepatoprotective and antibacterial effects of extracts from *Trichilia emetica* Vahl. (Meliaceae)**. *Journal of Ethnopharmacology*, **96**(1-2): 227.
- HABIB, M. R.; NIKKON, F.; RAHMAM, M.; HAQUE, M. E.; KARIM, M. R. (2007). **Isolation of Stigmasterol and β -Sitosterol from methanolic Extract of Root Bark of *Calotropis gigantean*(Linn)**. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **10**(22): 4174.
- JANG, S. W.; LIU, X.; CHAN, C. B.; FRANCE, S. A.; SAYEED, I.; TANG, W.; LIN, X.; XIAO, G.; ANDERO, R.; CHANG, Q.; RESSLER, K. J.; YE, K. (2010). **Deoxygedunin, a Natural Product with Potent Neurotrophic Activity in Mice**. *PLoS One*, **5**(7): e11528.
- JIANG, Q.; CHRISTEN, S.; SHIGENAGA, M. K.; AMES, B. N. (2001). **μ -Tocopherol, the major form of vitamin E in the US diet, deserves more attention**. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **74**: 714.

- KETWARU, P.; KLASS, J.; TINTO, W. F.; McLEAN, S.; REYNOLDS, W. (1993). **Pregnane Steroids From *Trichilia schomburgkii*. *Journal of Natural Products*, 56(3): 430.**
- KHALID, S. A.; DUDDECK, H.; GONZALEZ-SIERRA, M. (1989). **Isolation And Characterization Of An Antimalarial Agent Of The Neem Tree *Azadirachta indica*. *Journal of Natural Products*, 52(5): 922.**
- LAKSHMI, V.; SINGH, N.; SHRIVASTVA, S.; MISHRA, S. K.; DHARMANI, P.; MISHRA, V.; PALIT, G. (2010). **Gedunin and Photogedunin of *Xylocarpus granatum* show significant anti-secretory effects and protect the gastric mucosa of peptic ulcer in rats. *Phytomedicine*, 17: 569.**
- LAVIE, D.; LEVY, E. C.; JAIN, M. K. (1971). **Limonoids of biogenetic interest from *Melia azadirachta* L.. *Tetrahedron*, 27: 3927.**
- LÓPEZ-OLGUÍN, J. (1998). **Atividade de produtos de *Trichilia havanensis* (Jacq.) e *Scutellaria alpina* subesp. javalambrensis (Pau), sobre *Leptinotarsa decemlineata* (Say) e *Spodoptera exigua* (Hübner). Tese de Doutorado, Universidade Politécnica de Madri.**
- LORENZI, H. (2002) **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil, Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, vol.2.**
- LUO, X. D.; WU, S. H.; MA, Y. B.; WU, D. G. (2000a). **A new triterpenoid from *Azadirachta indica*. *Fitoterapia*, 71: 668.**
- LUO, X. D.; WU, S. H.; MA, Y. B.; WU, D. G. (2000b). **Components of *Cipadessa baccifera*. *Phytochemistry*, 55: 867.**
- MIKOLAJCZAK, K. L.; REED, D. K. (1987). **Extractives of seeds of the Meliaceae: Effects on *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), *Acalymma vittatum* (F.), and *Artemia salina* Leach. *Journal of Chemical Ecology*, 13(1): 99.**
- MONTI, H.; TILIACOS, N.; FAURE, R. (1999). **Copaiba oil: isolation and characterization of a new diterpenoid with the dinorlabdane skeleton. *Phytochemistry*, 40(51): 1013.**
- MOSSINI, S. A. G.; KEMMELMEIER, C. (2005). **A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos Usos. *Acta Farmacêutica. Bonaerense*, 24 (1): 139.**

MULHOLLAND, D. A.; OSBORNE, R.; ROBERTX, S. L.; TAYLOR, D. A. H. (1994). **Limonoids and triterpenoid acids from the bark of *Entandrophragma delevoyi*, *Phytochemistry*, **37**(5): 1417.**

MULHOLLAND, D.; MAHOMED, H. (2000). **Isolation of Cneorubin X, an unusual diterpenoid from *Ptaeroxylon obliquum* (Ptaeroxylaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, **28**: 713.**

MUSZA, L. L.; KILLAR, L. M.; SPEIGHT, P.; BARROW, C. J.; GILLUM, A. M.; COOPER, R. (1995). **Minor limonoids from *Trichilia rubra*. *Phytochemistry*, **39**(3): 621.**

NAGASHIMA, F.; SUZUKI, M.; TAKAOKA, S.; ASAKAWA, Y. (2001). **Sesqui- and diterpenoids from the Japanese liverwort *Jungermannia infusca*. *Journal of Natural Products*, **64**, 1309.**

NANDURI, S.; THUNUGUNTLA, S. S. R.; NYAVANANDI, V. K.; KASU, S.; KUMAR, P. M.; RAM, P. S.; RAJAGOPAL, S.; KUMAR, R. A.; DEEVI, D. S. (2003). **Biological Investigation and Structure–Activity Relationship Studies on Azadirone from *Azadirachta indica* A. Juss. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **13**: 4111.**

OLUGBADE, T. A.; ADESANYA, S. A. (2000). **Prieurianoside, a protolimonoid glucoside from the leaves of *Trichilia prieuriana*. *Phytochemistry*, **54**(8): 867.**

PACHECO, A. G.; OLIVEIRA, P. M. DE; PILÓ-VELOSO D.; ALCÂNTARA, A. F. C. (2009). **¹³C-NMR Data of Diterpenes Isolated from *Aristolochia* Species. *Molecules*, **14**: 1245.**

PENNINGTON, T. D.; STYLES, B. T. (1975). **A generic monograph of the *Meliaceae*. *Blumea*, **22**:419.**

PIZZOLATTI, M. G.; VENSON, A. F.; SMÂNIA JR, A.; SMÂNIA, E. F. A.; BRAZ-FILHO, R. (2002). **Two epimeric flavalignans from *Trichilia catigua* (Meliaceae) with antimicrobial activity. *Zeitschrift für Naturforschung C*, **57**: 483.**

POTT, A.; POTT, V. J. (1994). **Plantas do Pantanal**, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal, Corumbá, MS.

PRANCE, G., SCHALLER, G.B. (1982). **Preliminary study of some vegetation types of the Pantanal, Mato Grosso, Brazil. *Brittonia*, **34**, 228.**

- PUPO, M. T.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. SILVA, M. F. G. F. (1997). **Androstane e pregnane 2- β ,19-hemiketal steroids from *Trichilia claussonii*. *Phytochemistry*, **45**(7): 1495.**
- PUPO, M. T.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. G. F. (1996). **A cycloartane triterpenoid and ω -phenyl alkanolic and alkenolic acids *Trichilia claussonii*. *Phytochemistry*, **42**(3): 795.**
- PUPO, M. T.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. G. F. (1998). **γ -Lactones from *Trichilia claussonii*. *Phytochemistry*, **48**(2): 307.**
- QI, S. H.; WU, D. G.; MA, Y. B.; LUO X. D. (2003). **The Chemical Constituents of *Munronia henryi*. *Journal of Asian Natural Products Research*, **5**(3): 215.**
- RAJAGOPALANB, R.; VENKATESWARLU, A. (2003). **Biological Investigation and Structure–Activity Relationship Studies on Azadirone from *Azadirachta indica* A. Juss. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **13**: 4111.**
- RODRIGUES, B.; CABALLERO, C.; ORTEGO, F.; CASTAÑERA, P. (2003). **A New Tetranortriterpenoid from *Trichilia havanensis*. *Journal of Natural Products*, **66**: 452.**
- RODRIGUES, S. R.; COUTINHO, G. V.; GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; ZANELLA, D. P. F. (2008). **Atividade inseticida de extratos etanólicos de plantas sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Agrarian*, **1**(1): 133.**
- RODRIGUES, V. F.; CARMO, H. M.; OLIVEIRA, R. R.; BRAZ FILHO, R.; MATHIAS, L.; VIEIRA, I. J. C. (2009). **Isolation of Terpenoids from *Trichilia quadrijugata* (Meliaceae) by Droplet Counter-Current Chromatography. *Chromatographia*, **70**(7/8): 1191.**
- RODRÍGUEZ, B. (2003). **Spectral Assignments and Reference Data. *Magnetic Resonance in Chemistry*, **41**: 206.**
- RODRIGUEZ-HAHN, L.; CÁRDENAS, J.; ARENAS, C. (1996) **Trichavensin, a puerarin derivative from *Trichilia havanensis*. *Phytochemistry*, **43**(2): 457.**
- SAXENA, V. K.; ALBERT, S. (2005). **β -Sitosterol-3-O- β -D-xylopyranoside from the flowers of *Tridax procumbens* Linn. *Journal of Chemical Sciences*, **117**(3): 263.**

- SIDDIQUI, B. S.; ALI, S. K.; ALI, S. T.; AHMED, F. (2009). **Pregnane steroids from the heartwood of *Azadirachta indica***. *Turkish Journal of Chemistry*, **33**: 501.
- SIDDIQUI, S.; FAIZI, S.; MAHMOOD, T.; SIDDIQUI, B. S. (1986) **Two New Insect Growth Regulator Meliacins From *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae)**. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions*, **1**: 1021.
- TAN, Q. G.; LUO, X. D. (2011). **Meliaceous Limonoids: Chemistry and Biological Activities**. *Chemical Reviews*, **111**: 7437.
- TANAKA, Y.; SAKAMOTO, A.; INOUE, T.; YAMADA, T.; KIKUCHI, T.; KAJIMOTO, T.; MURAOKA, O.; SATO, A.; WATAYA, Y.; KIM, H. S.; TANAKA, R. (2012). **Andirolides H-P from the flower of andiroba (*Carapa guianensis*, Meliaceae)**. *Tetrahedron*, **68**: 3669.
- TANG, W.; HIOKI, H.; HARADA, K.; KUBO, M.; FUKUYAMA, Y. (2007). **Antioxidant Phenylpropanoid-Substituted Epicatechins from *Trichilia catigua***. *Journal of Natural Products*, **70**(12): 2010.
- TEIXEIRA, F. F.; RODRIGUES, S. R.; GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R. (2011). **XII Simpósio de Controle Biológico, São Paulo, Brasil**. Em [http : // seb .org .br / eventos /SINCONBIOL 2011 /PDF /PT0901. pdf](http://seb.org.br/eventos/SINCONBIOL2011/PDF/PT0901.pdf), acessado em 25/03/2013.
- TRAORE, M.; ZHAI, L.; CHEN, M.; OLSEN, C. E.; ODILE, N.; PIERRE, G. I.; BOSCO, O. J.; ROBERT, G. T.; CHRISTENSEN, S. B. (2007). **Cytotoxic kurubasch aldehyde from *Trichilia emetica***. *Natural Product Research*, **21**(1): 13.
- UDDIN, S. J.; NAHAR, L.; SHILPI, J. A.; SHOEB, M.; BORKOWSKI, T.; GIBBONS, S.; MIDDLETON, M.; BYRES, M.; SARKER, S. D. (2007). **Gedunin, a Limonoid from *Xylocarpus granatum*, Inhibits the Growth of CaCo-2 Colon Cancer Cell Line *In Vitro***. *Phytotherapy Research*, **21**: 757.
- VIEGAS JR, C. (2003). **Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos**. *Química Nova*, **26**(3): 390.
- VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S., BARREIRO, E. J. (2006). **Os produtos naturais e a química medicinal moderna**. *Química Nova*, **29**(2): 326.