

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

INVESTIGAÇÃO QUÍMICA DAS FOLHAS E GALHOS DE *Guarea convergens*
(MELIACEAE)

Willian Hayasida

MANAUS

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

WILLIAN HAYASIDA

INVESTIGAÇÃO QUÍMICA DAS FOLHAS E GALHOS DE *Guarea convergens*
(MELIACEAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito final para a obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, área de concentração em Química de Produtos Naturais.

Orientadora: Dra. Maria da Paz Lima

Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia

MANAUS

2011

Ficha Catalográfica
(Catalogação realizada pela Biblioteca Central da UFAM)

Hayasida, Willian

412i

Investigação química das folhas e galhos de *Guarea convergens* (Meliaceae) / Willian Hayasida. - Manaus: UFAM, 2011.

122 f.: il. color.

Dissertação (Mestrado em Química) — Universidade Federal do Amazonas, 2011.

Orientadora: Prof^a. Dra. Maria da Paz Lima

1. Fitoquímica 2. Cromatografia 3. Carrapeta-verdadeira (planta)
I. Lima, Maria da Paz (Orient.) II. Universidade Federal do Amazonas
III. Título

CDU 581.19:582.752.3(043.3)

WILLIAN HAYASIDA

INVESTIGAÇÃO QUÍMICA DAS FOLHAS E GALHOS DE *Guarea convergens*
(MELIACEAE)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito final para a obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA, área de concentração em Química de Produtos Naturais.

BANCA EXAMINADORA

Dra. Maria da Paz Lima, Presidente
Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia

Dr. Antonio Gilberto Ferreira
Universidade Federal de São Carlos

Dr. Massayoshi Yoshida
Centro de Biotecnologia da Amazônia

MANAUS

2011

AGRADECIMENTOS

À **Dra. Maria da Paz Lima**, agradeço, por todo conhecimento, paciência e tempo dedicado a mim, sua orientação baseada na amizade, confiança e na paixão que nos contagiava pela química de produto natural e estudo de plantas, e assim espero conseguir seguir como exemplo de pessoa humana e dedicada.

À **minha família**, em especial aos **meus pais** que se esforçam a cada dia para me dar todas as ferramentas e condições e contribuem para meu crescimento. Além do amor, carinho, amizade, preocupação e incentivos que muito me ajudou.

Às novas amigadas criadas nesta etapa da minha vida, **Ariane, Darlene, Loretta, Lyege, Mauro, Marla e Renan**, pelo companheirismo e apoio mútuo no laboratório 19. Aos grandes companheiros de estudos **Hector, Richardson e Erika**.

Ao **Antonio Sergio e Katia Hellany**, os amigos que sempre estiveram ao meu lado principalmente nesta jornada que exigia total dedicação, tempo e maturidade, eles sempre deram palavras de incentivos nos momentos de fraqueza, me guiando ao caminho correto.

Ao **Dr. Antônio Gilberto Ferreira**, da UFSCar, por todos os experimentos de RMN.

Aos **professores** da Banca.

À **Capes**, pela auxílio financeiro através da bolsa e da passagem aérea para divulgação do trabalho em eventos.

Obrigado á todos, que contribuíram com esta realização.

RESUMO

A família Meliaceae possui cerca de 50 gêneros e aproximadamente 700 espécies, geralmente arbóreas de ocorrência nas regiões Pantropicais. Os metabólitos predominantes na família são os triterpenos com esqueletos cicloartano, damarano, tirucalano e apotirucalano além dos triterpenos degradados (limonóides e esteróides). O gênero *Guarea* apresenta cerca de 50 espécies, no entanto os estudos químicos são limitados a dez espécies cujos relatos são de sesquiterpenos, diterpenos e triterpenos (cicloartano, tirucalano, lanostano e apotirucalano), além dos limonóides. Apesar da ocorrência de aproximadamente 30 espécies de *Guarea* no Amazonas, existem poucos relatos sobre os estudos químicos, o que nos estimulou a seleção de *G. convergens* ocorrente no Amazonas. Assim, folhas e galhos coletados na Reserva Florestal Adolfo Ducke foram submetidos à maceração para obtenção dos extratos orgânicos. O fracionamento cromatográfico dos extratos CH₂Cl₂ e MeOH de folhas resultou no isolamento dos triterpenos com esqueleto apotirucalano, 24R-acetoxi-25-hidroxi-3,7-oxo-apotirucala-14-en-21,23-olideo (**1**) e 7 α ,24R,25-trihidroxi-3-oxo-apotirucala-14-en-21,23-olideo (**4**) e dos esteróides do tipo ergostano, ergosta-5,24-dieno-3 β ,4 β ,22S-triol (**2**) e ergosta-5,24-dieno-3 β ,7 α ,21-triol (**3**). As substâncias **1**, **3** e **4** estão sendo relatadas pela primeira vez. Nos extratos dos galhos, além de β -sitosterol (**5**) foram isolados os triterpenos do tipo tirucalano, melianona (**6**) e melianodiol (**7**). Esse é o primeiro estudo químico da espécie *G. convergens* cujos compostos isolados e identificados fornecem contribuições para o conhecimento da quimiosistemática da ordem Rutales.

Palavras-chave: Reserva Ducke, Meliaceae, *Guarea convergens*, triterpenoides, RMN

ABSTRACT

The Meliaceae family comprises has about 50 genus and approximately 700 species, generally arboreus, occurring in regions Pantropical. The predominant metabolites in the family are triterpenoids with cycloartane, dammarane, tirucallane and apotirucallane skeleta, further degraded triterpenoids (limonoids and steroids). The genus *Guarea* possesses about 50 species however chemical studies are limited to ten species, whose reports are sesquiterpenes, diterpenes and triterpenes (cycloartane, tirucallane lanostane and apotirucallane), further limonoids. Although the occurrence of approximately 30 species of *Guarea* in Amazon have few relates on chemical studies, this acted as stimulus for our investigation about *Guarea convergens* T.D. occurrent in Amazon. Thus, leaves and branches collected in the Adolpho Ducke Forest Reserve were submitted to maceration to obtain the organic extracts. The chromatographic fractionning of the CH₂Cl₂ and MeOH leaves extracts led to the isolation of apotirucallane triterpenes: the 24R-acetoxy,25-hydroxy-3,7-dioxo-apotirucalla-14-en-21,23-olide (**1**) and the 7 α ,24R,25-trihydroxy-3-oxo-apotirucalla-14-en-21,23-olide (**4**), steroids: ergosta-5,24-diene-3 β ,4 β ,22S-triol (**2**) and ergosta-5,24-diene-3 β ,7 α -21-triol (**3**). The compounds **1**, **3** and **4** are being reported for first time. The CH₂Cl₂ branches extract yielded a mixture of steroids (β -sitosterol and stigmasterol, **5**) and the tirucallane triterpenes namely melianone (**6**) and melianodiol (**7**). This is the first chemical study effected with species *G. convergens* whose isolated and identified compound provide contributions to knowledge of the chemosystematic of the Rutales order.

Keywords: Reserva Ducke, Meliaceae, *Guarea convergens*, triterpenoids, NMR

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Regiões Pantropicais de ocorrência de Meliaceae	13
Figura 2. Cladograma com a classificação botânica de Sapindales proposta pelo APG	16
Figura 3. Limonóide de <i>azadirachta indica</i> com atividade inseticida	18
Figura 4. Derivados de gedunina isolados de <i>C. guianensis</i> com atividade contra <i>A. sexdens</i>	18
Figura 5. <i>Guarea convergens</i> coletada na Reserva Florestal Adolpho Ducke	50
Figura 6. Espectro de RMN de ^1H (400MHz, MeOD) da substância 2 e ampliação do espectro nas regiões de δ 5,65-0,90	70
Figura 7. Espectro de COSY (400 MHz, MeOD) da substância 2	71
Figura 8. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) da substância 2 e ampliação do espectro na região de δ 60-10	72
Figura 9. Espectro de HSQC (400/100 MHz, MeOD) da substância 2	73
Figura 10. Espectro de HMBC (400/100 MHz, MeOD) da substância 2	74
Figura 11. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) e da substância 3 e ampliação do espectro nas regiões de δ 4,75- 3,40 e δ 1,05-1,0	75
Figura 12. Espectro de COSY (400 MHz, MeOD) da substância 3	76
Figura 13. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) e ampliação do espectro na região de δ 40-12 da substância 3	77
Figura 14. Espectro de HSQC (400/100 MHz, MeOD) da substância 3	78
Figura 15. Espectro de HMBC (400/100 MHz, MeOD) da substância 3	79
Figura 16. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da mistura de substâncias 5a,b e ampliação do espectro nas regiões de δ 5,36-4,98	80
Figura 17. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância 1 e ampliação do espectro nas regiões de δ 5,0-4,7 e 3,0-1,0	88
Figura 18. Espectro de COSY (400 MHz, CDCl_3) da substância 1	89
Figura 19. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância 1 e ampliação do espectro na região de δ 80-10	90

Figura 20. Espectro de HSQC (400/100 MHz, CDCl ₃) da substância 1	91
Figura 21. Espectro de HMBC (400/100 MHz, CDCl ₃) da substância 1	92
Figura 22. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) da substância 4 e ampliação do espectro nas regiões de δ 5,6-4,3 e δ 4,1-3,3	93
Figura 23. Espectro de COSY (400 MHz, CDCl ₃) da substância 4	94
Figura 24. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) da substância 4 e ampliação do espectro na região de δ 80-10	95
Figura 25. Espectro de HSQC (400/100 MHz, CDCl ₃) da substância 4	96
Figura 26. Espectro de HMBC (400/100 MHz, CDCl ₃) da substância 4	97
Figura 27. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) da substância 6 e ampliação do espectro nas regiões de δ 4,0-2,7	102
Figura 28 . Espectro de COSY (400 MHz, CDCl ₃) da substância 6	103
Figura 29. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) da substância 6 e ampliação do espectro na região de δ 39-32	104
Figura 30. Espectro de HSQC (400/100 MHz, CDCl ₃) da substância 6	105
Figura 31. Espectro de HMBC (400/100 MHz, CDCl ₃) da substância 6	106
Figura 32. Espectro de RMN de ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) da substância 7 e ampliação do espectro nas regiões de δ 4,6 e 3,6-2,6	107
Figura 33. Espectro de RMN de ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) da substância 7 e ampliação do espectro na região de δ 40-30 e 28-17	108

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Sistemas taxonômicos tradicionais da família Meliaceae (MEEUSE,1983)	15
Esquema 2. Principais rotas biossintéticas dos metabólitos de Meliaceae	19
Esquema 3. Origem biossintética dos esteróides de Meliaceae	32
Esquema 4. Obtenção dos extratos brutos das folhas e galhos de <i>G. convergens</i>	51
Esquema 5. Fracionamento do extrato DGC e purificação das substâncias 1-3	53
Esquema 6. Partição do extrato metanólico de <i>G. convergens</i>	55
Esquema 7. Fracionamento cromatográfico de MGCD e isolamento da substância 4	56
Esquema 8. Fracionamento cromatográfico de HGGC e purificação das substâncias 5-7	59
Esquema 9. Provável relação biossintética entre os terpenóides de <i>G. convergens</i>	110

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Triterpeno tirucalano com cadeia lateral aberta e epóxido (C-24 e C-25)	21
Tabela 2. Triterpeno tirucalano com cadeia lateral aberta	22
Tabela 3. Triterpeno tirucalano cadeia lateral cíclica	23
Tabela 4. Triterpeno apotirucalano de cadeia lateral aberta	23
Tabela 5. Triterpeno apotirucalano de cadeia lateral cíclica	24
Tabela 6. Triterpeno apotirucalano de cadeia lateral cíclica série disorona	25
Tabela 7. Triterpeno apotirucalano com cadeia lateral cíclica (5-membros) e carbonos olefínicos no anel A	26
Tabela 8. Triterpeno apotirucalano com cadeia lateral cíclica (6-membros)	27
Tabela 9. Triterpeno apotirucalano com cadeia lateral cíclica (7-membros)	28
Tabela 10. Triterpeno apotirucalano com anel A-seco	29
Tabela 11. Triterpeno glabretal com cadeia lateral cíclica (5-membros)	30

Tabela 12. Triterpeno glabretal com cadeia lateral cíclica (6-membros)	31
Tabela 13. Esteróides com esqueleto pregnano predominantes em Meliaceae	33
Tabela 14. Esteróides com esqueleto pregnano C19-Oxigenado	34
Tabela 15. Esteróides com esqueleto pregnano com dupla ligação C-17	34
Tabela 16. Esteróides com esqueleto pregnano com dupla ligação ou cetona em C-20	35
Tabela 17. Esteróides com esqueleto ergostano	35
Tabela 18. Dados de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) das substâncias 2 e 3	66
Tabela 19. Dados de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) das substâncias 2 , 3 e dados da literatura	67
Tabela 20. Dados de HSQC e HMBC (400/100 MHz, MeOD) da substância 2	68
Tabela 21. Dados de HSQC e HMBC (400/100 MHz, MeOD) da substância 3	69
Tabela 22. Dados de RMN de ^1H (100 MHz, CDCl_3) das substâncias 1 e 4	84
Tabela 23. Dados de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) das substâncias 1 e 4	85
Tabela 24. Dados de HSQC e HMBC (400/100 MHz, CDCl_3) da substância 1	86
Tabela 25. Dados de HSQC e HMBC (400/100 MHz, CDCl_3) da substância 4	87
Tabela 26. Dados RMN de ^1H (100 MHz, CDCl_3) das substâncias 6 e 7	100
Tabela 27. Dados de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) das substâncias 6 e 7	101

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Codificação e massa das frações de DGC.	54
Gráfico 2. Massas (g) das frações reunidas de DGC-20	54
Gráfico 3. Massas (mg) das frações de MGCD	57
Gráfico 4. Massas (g) das frações de HGGC	59

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Sesquiterpenos do tipo eudesmano de <i>Guarea guidonia</i>	38
Quadro 2. Sesquiterpenos aromadendrano de <i>G. macrophylla</i> , <i>G. Kunthiana</i> e <i>G. guidonia</i>	39
Quadro 3. Outros sesquiterpenos de <i>G. macrophylla</i> , <i>G. Guidonia</i> e <i>G. kunthiana</i>	39
Quadro 4. Diterpenos isopimaranos de <i>G. macrophylla</i>	40
Quadro 5. Diterpenos labdanos de <i>G. macrophylla</i> e <i>G. trichilioides</i> :	40
Quadro 6. Diterpenos clerodano, sandocopiramarano e derivados manoila de <i>Guarea</i> spp	41
Quadro 7. Triterpenos cicloartano de <i>G. macrophylla</i> e <i>G. guidonia</i>	42
Quadro 8. Triterpenos do tipo tirucalano de <i>G. glandiflora</i> e <i>G. guidonia</i> e do tipo lanostano de <i>G. rophalarcarpa</i>	43
Quadro 9. Triterpenos glabretal de <i>G. glabra</i> , <i>G. carinata</i> e <i>G. jamaicensis</i>	44
Quadro 10. Limonóides de <i>G. thompsonii</i> , <i>G. kunthiana</i> , <i>G. guidonia</i> e de suas sinonímias	45
Quadro 11. Estruturas das substâncias isoladas de <i>G. convergens</i>	61

SUMÁRIO

1. Introdução	12
1.1. A família Meliaceae	13
1.1.1. Ocorrência e aspectos botânicos	13
1.1.2. Aspectos fitoquímicos	17
1.2. Triterpenos tirucalano e apotirucalano de Meliaceae	20
1.3. Esteróides de Meliaceae (Pregnano e Ergostano)	32
1.4. Gênero Guarea	36
2. Objetivos	46
3. Experimental	48
3.1. Material	49
3.2. Coleta do material vegetal	50
3.3. Obtenções dos extratos vegetais	50
3.4. Estudo químico dos extratos de folhas de <i>G. Convergens</i>	52
3.4.1. Fracionamento cromatográfico do extrato obtido em metanol (MGC)	55
3.5. Estudo químico do extrato dos galhos de <i>G. Convergens</i>	58
3.5.1. Fracionamento cromatográfico do extrato obtido em hexano (HGGC)	58
4. Resultados e Discussão	60
4.1. Identificação dos esteróides: Substâncias 2 (DGC-24), 3 (DGC-32) e 5 (HGGC-11)	62
4.2. Identificação dos triterpenos do tipo apotirucalano: Substâncias 1 (DGC-20.17) e 4 (MGCD-36.7)	81
4.3. Identificação dos triterpenos do tipo tirucalano: Substâncias 6 ^a ,b (HGGC-17) e 7 (HGGC-22)	98
4.4. Aspectos biossintéticos das substâncias isoladas	109
5. Considerações Finais	111
6. Referências Bibliográficas	113

1. INTRODUÇÃO

1.1 A família Meliaceae

1.1.1 Ocorrência e aspectos botânicos

A ocorrência de Meliaceae se restringe a regiões Pantropicais (Figura 1) compreendendo cerca de 50 gêneros e 700 espécies (MOBOT, 2010; PENNINGTON & STYLES, 1975). As espécies geralmente são arbóreas, algumas possuindo madeiras com grande valor comercial para o setor madeireiro, como por exemplo, espécies de *Cedrela fissilis* Vell. (cedro), *Swietenia macrophylla* Kyng (mogno) e *Carapa guianensis* Aubl (andiropa) (ANGELO et al, 2001).

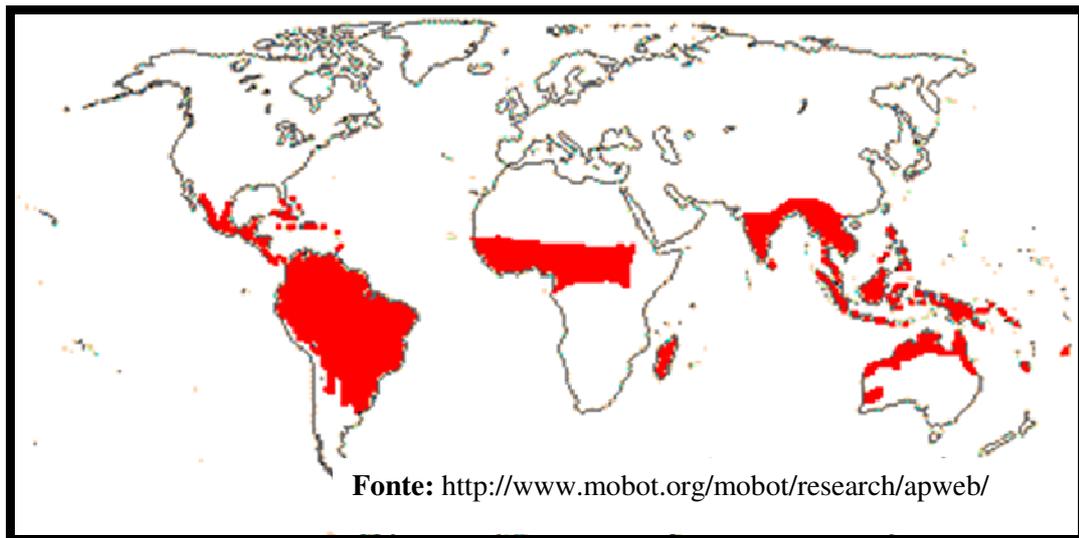


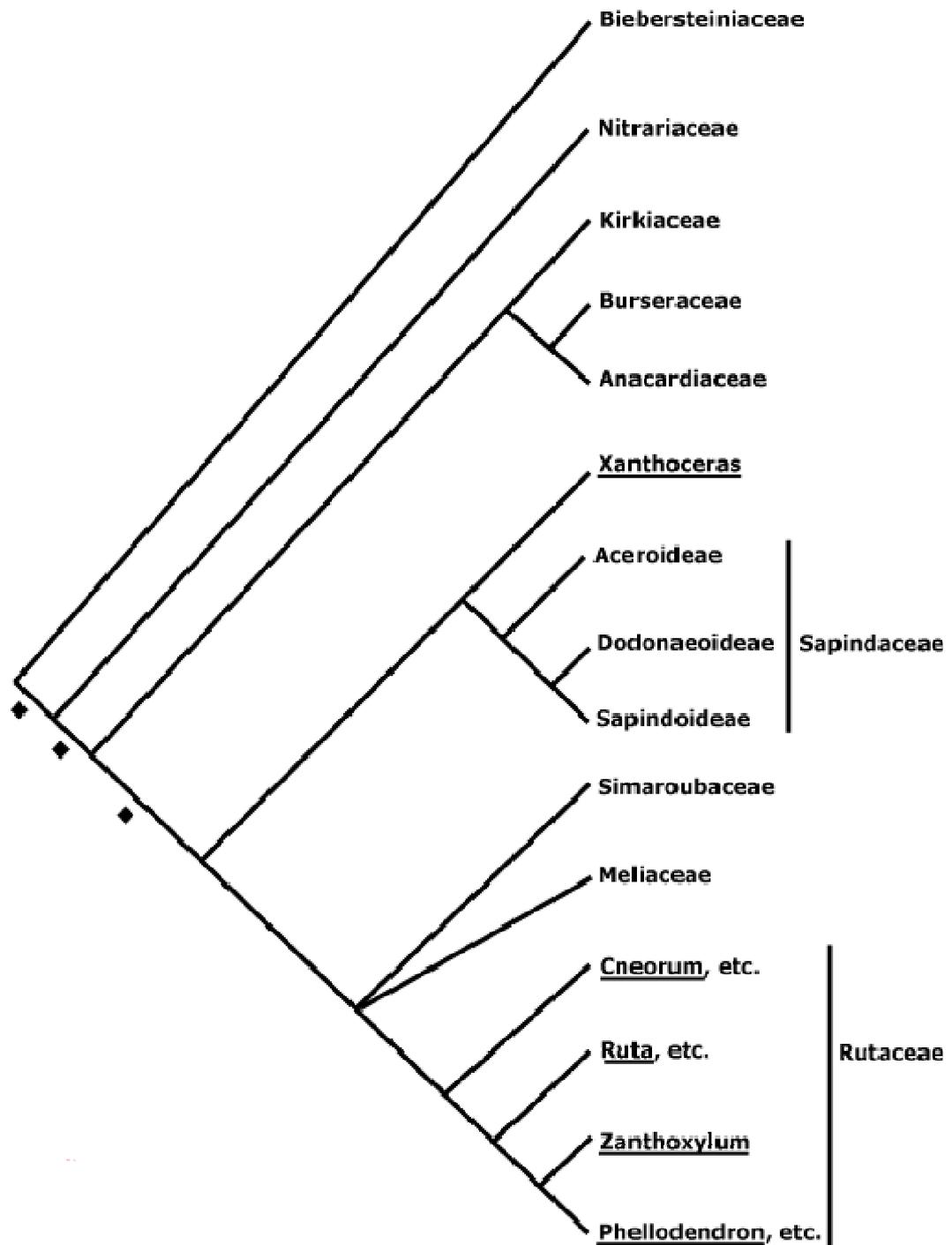
Figura 1. Regiões Pantropicais de ocorrência de Meliaceae

No século XIX, Meliaceae era posicionada na ordem Geraniales (BENTHAM & HOOKER, 1862), mas com a construção da classificação evolucionista e o surgimento de ferramentas como a filogenética e análise de novos caracteres botânicos, a família foi posicionada em Rutales, agrupada na maioria dos sistemas botânicos com Rutaceae, Simaroubaceae, Burseraceae e Cneoraceae. O sistema de CRONQUIST (1981), um dos mais tradicionais, reúne em Sapindales as famílias previamente classificadas em Rutales e algumas de Geraniales (Esquema 1).

Com o surgimento do Grupo de Filogenia das Angiospérmicas (APG, 1998; APG II, 2003; APG III 2009) vários agrupamentos têm sido propostos, sendo sua classificação botânica baseada na combinação de métodos da sistemática filogenética e evidências moleculares (sequenciamento de segmentos de DNA). Neste sistema, a família Meliaceae é posicionada na ordem Sapindales juntamente com oito famílias, apresentando aproximações com Simaroubaceae e Rutaceae (+Cneoraceae) (Figura 2). De fato, estas três famílias estão biossinteticamente relacionadas, produzindo como principais metabólitos secundários triterpenos degradados, como limonóides (Rutaceae e Meliaceae) e quassinóides (Simaroubaceae).

Famílias	Bentham & Hooker 1862	Mechior (Engler) 1964	Takhtajan 1973	Thorne 1979	Dahlgren 1980	Cronquist 1981		
Aceraceae	Sapindales	Sapindales	Sapindales	Rutales	Sapindales	Sapindales		
Anacardiaceae								
Hippocastaneaceae								
Melanthaceae								
Sapindaceae								
Burseraceae	Rutales	Rutales	Rutales	Rutales				
Cneoraceae								
Meliaceae								
Rutaceae								
Simaroubaceae								
Balsaminaceae	Geraniales	Sapindales	Geraniales	Geraniales	Balsaminales			
Geraniaceae		Geraniales			Geraniales		Geraniales	
Oxalidaceae								
Erytroxylaceae								Linales
Linaceae								
Malpighinaceae		Rutales			Polygalales	Polygalales	Polygalales	
Polygalaceae								

Esquema 1. Sistemas taxonômicos tradicionais da família Meliaceae (MEEUSE, 1983)



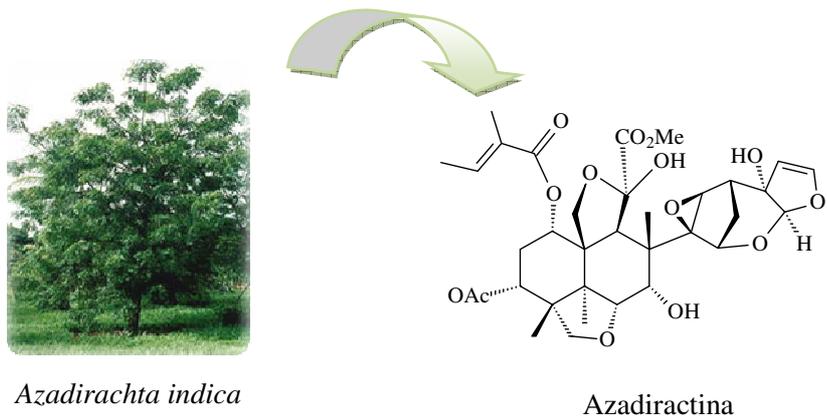
Fonte: <http://www.mobot.org/mobot/research/apweb/>

Figura 2. Cladograma com a classificação botânica de Sapindales proposta pelo APG

1.1.2. Aspectos fitoquímicos

Na família Meliaceae predominam os metabólitos secundários oriundos da via do acetato, que dá origem a diversos terpenóides. Os triterpenos relatados são principalmente derivados do protosteril, precursor dos triterpenos cicloartano ou do cátion damarenil, precursor dos triterpenos damarano, tirucalano e apotirucalano (Esquema 2). O damarenil é também precursor dos tetranortriterpenos, conhecidos como limonóides ou meliacinas. Os limonóides e os apotirucalanos são considerados marcadores químicos, devido sua ocorrência ser restrita em Meliaceae, Rutaceae e Simaroubaceae, mostrando afinidade entre os ancestrais botânicos destas famílias. Em Meliaceae, os limonóides ocorrem em cerca de 20 gêneros e apresentam grandes variações estruturais, envolvendo alta degradação oxidativa e rearranjos (ROY, 2006).

A azadiractina, é um dos mais relevantes limonóides potencialmente ativos o qual é extraído da espécie de origem asiática *Azadirachta indica* (Figura 3), conhecida por Neem. Considerado um dos mais importantes inseticidas naturais devido à sua baixa toxicidade aos mamíferos e alta mortalidade em insetos pragas, sua ação inseticida foi comprovada como atividade antialimentar e interferência no funcionamento de glândulas endócrinas que controlam a metamorfose em insetos. (BUTTERWORTH & MORGAN 1968; ZANNO et al., 1975; KRAUS et al., 1985).



Fonte: www.arbocenter.com.br/mat_nim.htm

Figura 3. Limonóide de *Azadirachta indica* com atividade inseticida

Uma espécie muito conhecida na Região Amazônica pelo potencial inseticida é *Carapa guianensis* (andiroba) cujo óleo obtido da semente é utilizado pelos nativos, principalmente como repelente, além do uso contra parasitas, antiinflamatório e analgésico (CORREA., 1926). Apesar do uso intenso deste óleo como repelente, existem poucos relatos sobre ensaios biológicos que comprovam esta ação ou ação inseticida. Nos estudos do óleo da andiroba foram identificados limonóides derivados da gedunina (Figura 4) com atividade contra formiga cortadeira (*Atta sexdens rubropilosa*) (AMBROZIN et al., 2006).

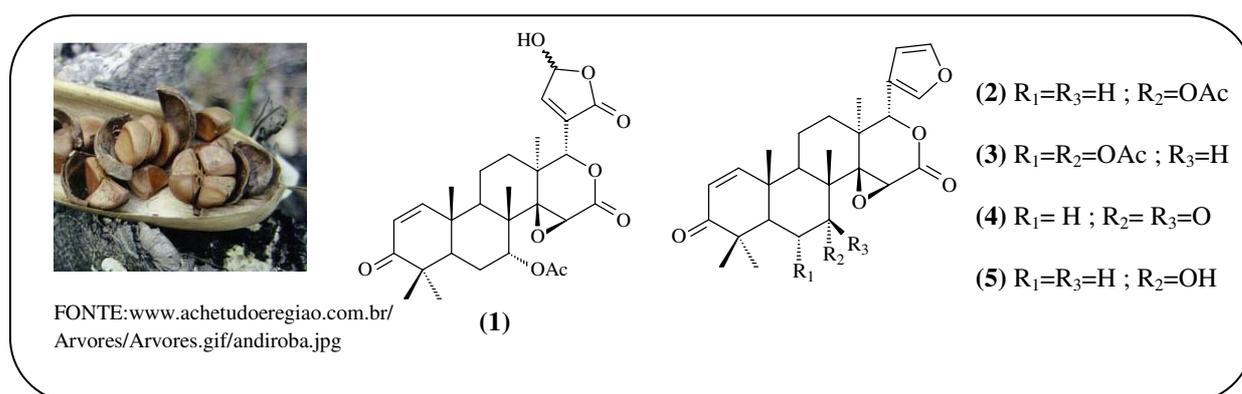
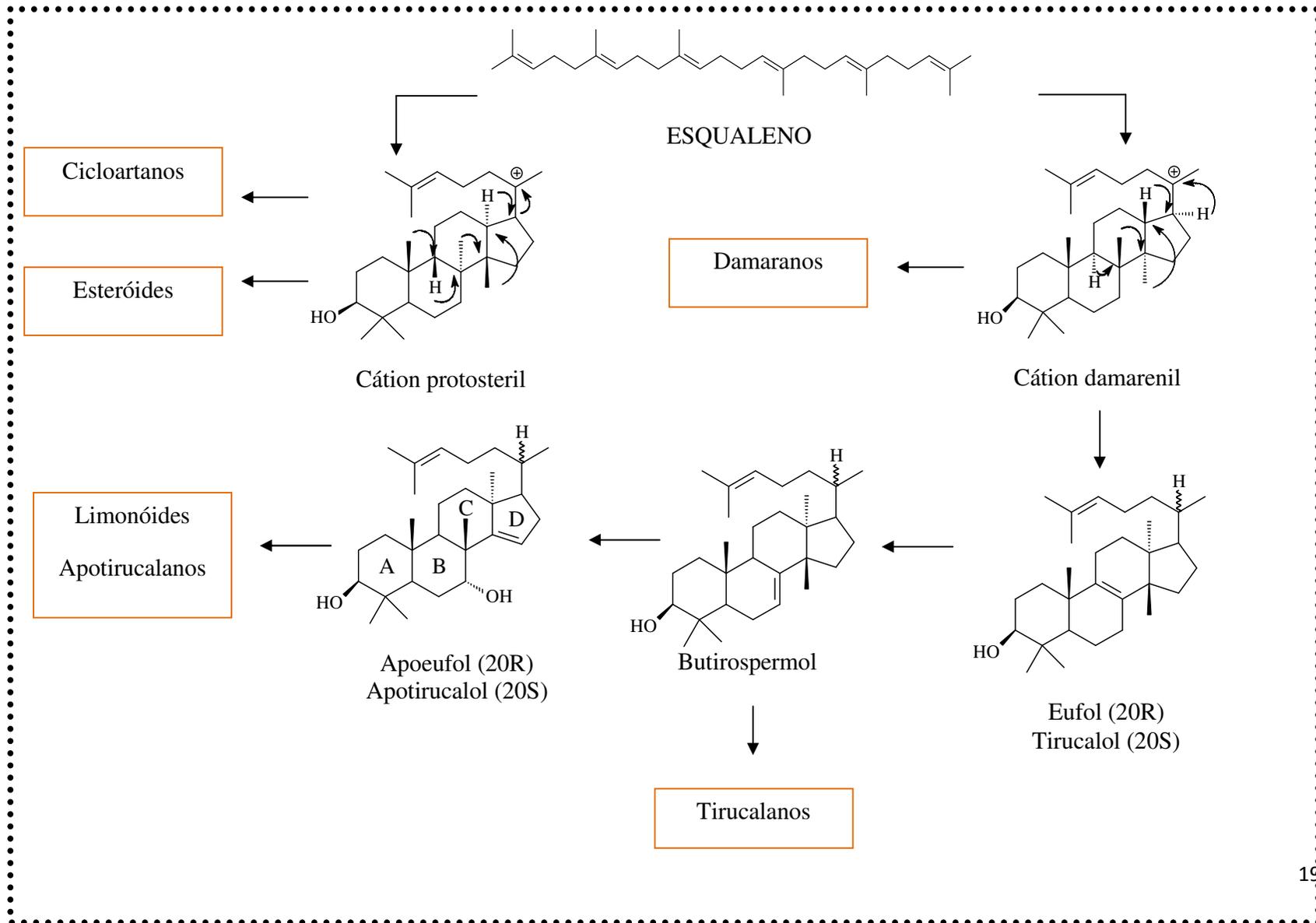


Figura 4. Derivados de gedunina isolados de *C. guianensis* com atividade contra *A. sexdens*

Esquema 2. Principais rotas biossintéticas dos metabólitos de Meliaceae



1.2. Triterpenos tirucalano e apotirucalano de Meliaceae

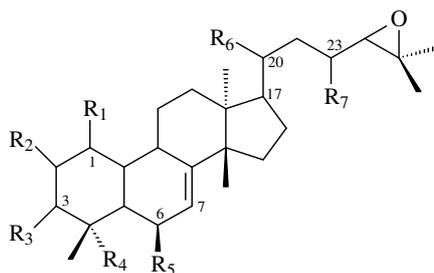
A ocorrência de triterpenos com esqueleto tirucalano é predominante nas famílias agrupadas de acordo com APG na ordem Sapindales: Meliaceae, Rutaceae, Anacardiaceae, Julianiaceae [*sin.* Anacardiaceae] e Sapindaceae. Outras famílias de ocorrência deste tipo de triterpeno são Asteraceae [*sin.* Compositae, ordem Asterales] e Euphorbiaceae (ordem Malpighiales). Os triterpenos com esqueleto apotirucalano têm ocorrência restrita nas famílias Meliaceae, Rutaceae e Simaroubaceae e são derivados tirucalano (Esquema 2).

Em Meliaceae, os triterpenos do tipo tirucalano com cadeia lateral aberta ocorrem principalmente em espécies de *Trichilia*, *Turrea* e *Dysoxylum* (Tabelas 1 e 2). Para os triterpenos com cadeia lateral ciclizada, a ocorrência é registrada em apenas cinco espécies (Tabela 3). Os triterpenos com esqueleto apotirucalano também conhecidos como protolimonóides (Tabelas 4-12), tem ocorrência ampla em Meliaceae, predominando os de cadeia lateral ciclizada em espécies de *Chisocheton*, *Aglaia*, *Cedrela*, *Melia*, *Dysoxylum* e *Turrea*. Os triterpenos conhecidos na literatura como glabretal, apresentam esqueleto apotirucalano com um ciclopropano entre C-14 e C-18 e foram registrados em Meliaceae apenas nas espécies *Cedrela sinensis* e *Guarea jamaicensis* (Tabelas 11 e 12).

Com relação à atividade biológica, os triterpenos dos tipos tirucalano e apotirucalano isolados na família possuem potencial citotóxico em diversas linhagens de células. Dimacrina H e J (Tabela 1), B e C (Tabela 2) isolados de *Dysoxylum macranthum*, disorona E (Tabela 6) de *D. roseum* mostraram atividade em carcinoma bucal (KB). Protoxylocarpinas A-F (Tabela 7) de *Xylocarpus granatum* foram promissoras nos ensaios em células cancerígenas do cólon do útero (HCT-8), hepatocelular (Bel-7402), ovário (BGB-823, A2780) e pulmão (A549). Em células

leucêmicas (P-388), vários triterpenos com esqueletos glabretal e apotitucalano de *Cedrela sinensis* mostraram-se promissores, no entanto o triterpeno apotirucalano 11 (Tabela 5) foi mais ativo.

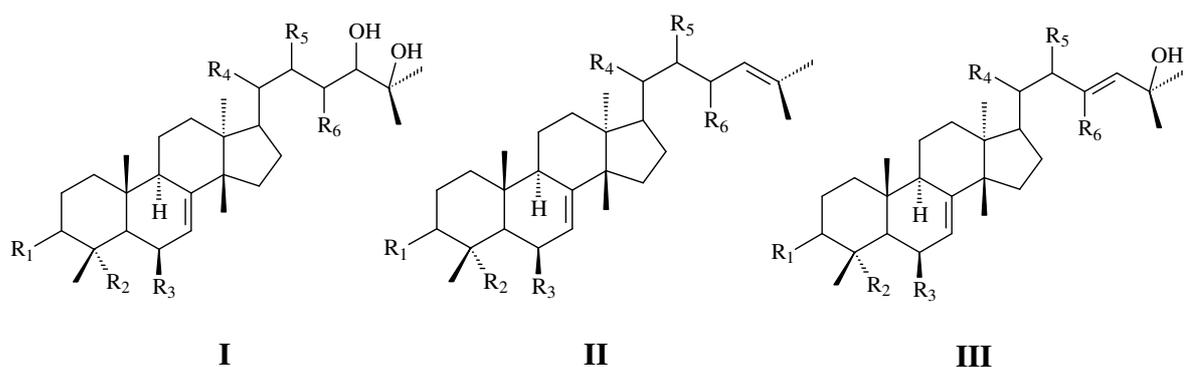
Tabela 1. Triterpeno tirucalano com cadeia lateral aberta e epóxido (C-24 e C-25)



Nome	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	Ocorrência
(1) Nilicitina	H	H	O	Me	H	Me	OH	<i>Thichilia schomburgkii</i> ¹ <i>Turraeae nilotica</i> ² <i>Dysoxylum variabile</i> ³
(2) Dihidro nilicitina	H	H	OH	Me	H	Me	OH	<i>T. schomburgkii</i> ¹ <i>T. nilotica</i> ² <i>D. variabile</i> ³
(3) Epoxitriol	H	H	OH	Me	H	CH ₂ OH	OH	<i>Entandrophragma angolense</i> ⁴
(4) Divariabilina E	H	OH	O	Me	H	Me	OH	<i>D. variabile</i> ³
(5) Divariabilina F	H	H	O	Me	MeO	Me	OH	
(6) Divariabilina G e H	H	H	OH	Me	H	Me	OH	
(7) Dimacrina H	OH	H	O	CH ₂ OH	H	Me	O	<i>Dysoxylum macranthum</i> ⁵
(8) Dimacrina I	H	H	OH	CH ₂ OH	H	Me	OH	
(9) Dimacrina J	OH	H	OH	Me	H	Me	OH	

1. TINTO et al., 1991; 2. MULHOLLAND & TAYLOR., 1988; 3. LIU et al., 2001; 4. OKORIE et al., 1977; 5. MOHAMAD et al., 1999

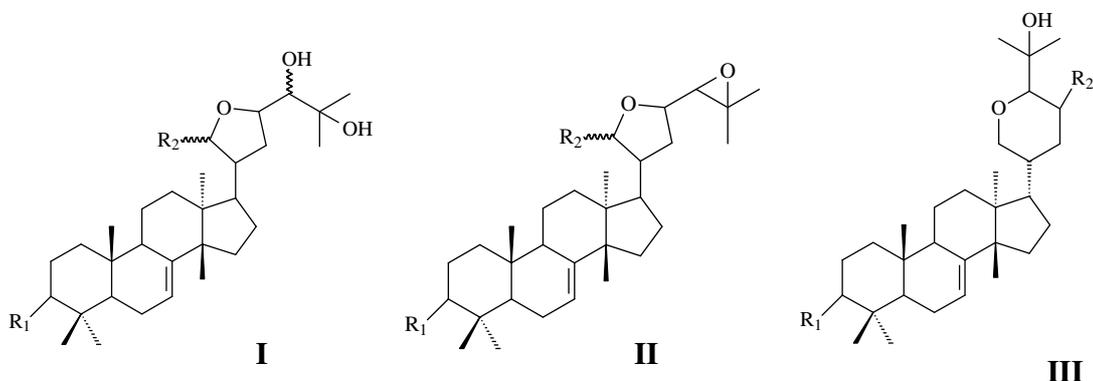
Tabela 2. Triterpeno tirucalano com cadeia lateral aberta



Nome		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	Ocorrência
(1) Piscidol A	I	O	Me	H	Me	H	OH	<i>Thichilia schomburgkii</i> ¹ <i>Turraeae nilotica</i> ² <i>Owenia cepidora</i> ³
(2) Dimacrina A	II	O	CH ₂ OH	H	Me	OH	O	
(3) Dimacrina B	II	O	Me	OH	Me	H	O	
(4) Dimacrina C	II	O	CH ₂ OH	H	Me	H	O	
(5) Dimacrina D	II	O	Me	H	Me	H	O	<i>Dysoxylum macranthu</i> ⁴
(6) Dimacrina E	II	OH	CHO	H	Me	H	O	
(7) Dimacrina F	II	OH	CH ₂ OH	H	Me	H	H	
(8) Dimacrina G	III	O	Me	H	OH	OH	H	

1. TINTO et al., 1991; 2. MULHOLLAND & TAYLOR., 1988; 3. MULHOLLAND et al., 1998; 4. MOHAMAD et al., 1999

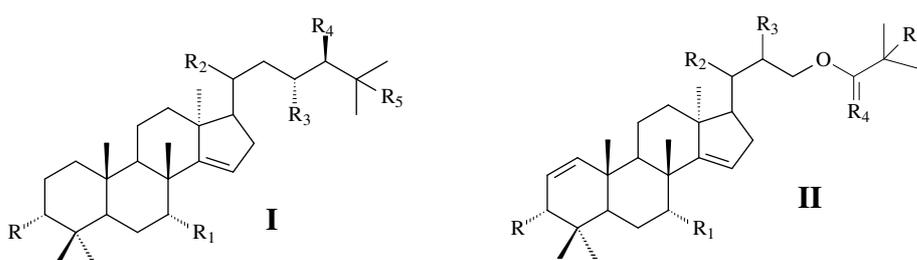
Tabela 3. Triterpeno tirucalano cadeia lateral ciclica



Nome	R ₁	R ₂	Ocorrência
(1)	I	O	<i>Cedrela sinensis</i> ¹
(2)	I	OH	<i>Aglaia duperreana</i> ²
(3) Melianodiol	I	O	<i>Guarea glandiflora</i> ³
(4) Melianona	II	O	<i>Guarea glandiflora</i> ³
(5) Turreanthina	II	AcO	<i>Entandrophragma spicatum</i> ⁴
(6) 21,24-Epóxi-25-hidroxitirucal-7-en-3-ona	III	O	<i>Owenia cepiodora</i> ⁵
(7) Bourjotinoolona A	III	O	<i>Guarea glandiflora</i> ³ <i>Owenia cepiodora</i> ⁵

1. MITSU et al., 2007; 2. XIE et al., 2007; 3. JIMENEZ et al., 1998; 4. CONNOLLY et al., 1981; 5. MULHOLLAND et al., 1998

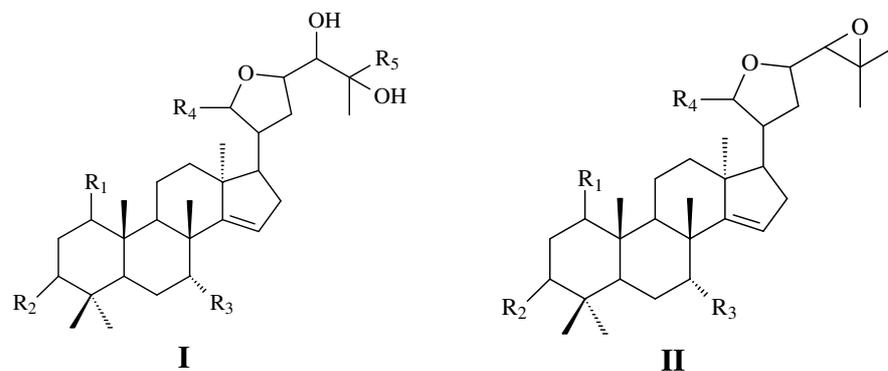
Tabela 4. Triterpeno apotirucalano de cadeia lateral aberta



Nome	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Ocorrência
(1) Chisamol F	I	AcO	OH	CH ₂ OH	OH	OH	<i>Chisocheton siamensis</i> ¹
(2) Protoxilogratina B	II	O	AcO	COOH	H	O	<i>Xyloncapus granatum</i> ²

1. XIE et al., 2009; 2. HU et al., 2010

Tabela 5. Triterpeno apotirucalano de cadeia lateral cíclica

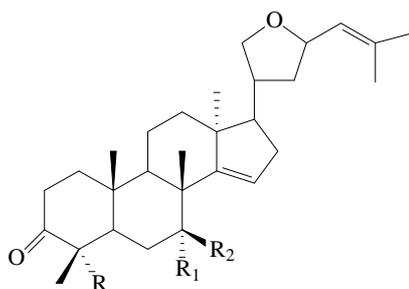


Nome		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Ocorrência
(1) Crisiamol D e E	I	H	AcO	OH	MeO	Me	<i>Chisocheton siamensis</i> ¹
(2)	I	H	AcO	OH	OH	Me	
(3) Agrupol A	I	H	OH	OH	MeO	Me	<i>Aglaiia duperreana</i> ²
(4) Agrupol B e C	I	H	OH	AcO	MeO	Me	
(5)	I	H	OH	OH	MeO	Me	
(6)	I	H	O	OH	MeO	Me	
(7)	I	H	Pre ^a	OH	MeO	Me	<i>Cedrela sinensis</i> ³
(8)	I	H	Pre ^a	OH	MeO	CH ₂ OH	
(9) Meliavolkenina	I	AcO	Gli ^a	AcO	OH	Me	<i>Melia volkensii</i> ⁴
(10) 21 α -Acetil toosendantriol	II	H	OH	OH	H	---	<i>M. toosendan</i> ⁵

1. XIE et al., 2009; 2. XIE et al., 2007; 3. MITSU et al., 2007; 4. ZENG et al., 1995; 5. NAKASHI et al., 1986

Legenda - Pre^a - (CH₃)₃COO; Gli^a - C₆H₅COO

Tabela 6. Triterpeno apotirucalano de cadeia lateral cíclica série disorona

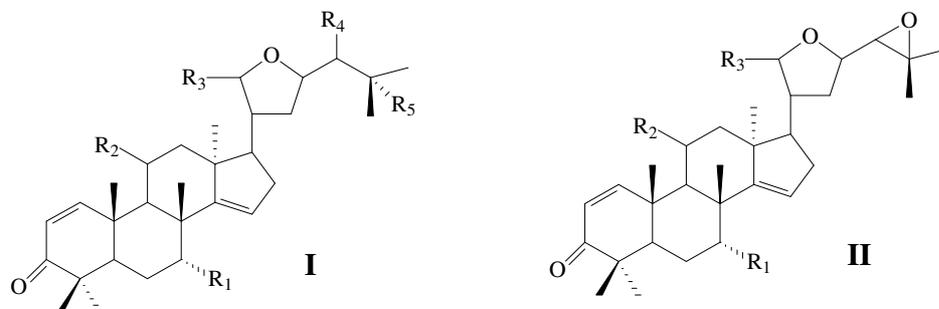


I

Nome	R	R ₁	R ₂	Ocorrência
(1) Disorona A	CH ₂ OH	O	H	
(2) Disorona B	CH ₂ OH	H	OH	
(3) Disorona C	Me	O	H	
(4) Disorona D	Me	H	OH	<i>Dysoxylum roseum</i> ¹
(5) Acetato de Disorona A	CH ₂ OAc	O	H	
(6) Acetato de Disorona E	CH ₂ OAc	H	O	

1. ADESANYA et al., 1991

Tabela 7. Triterpeno apotirucalano com cadeia lateral cíclica (5-membros) e carbonos olefínicos no anel A

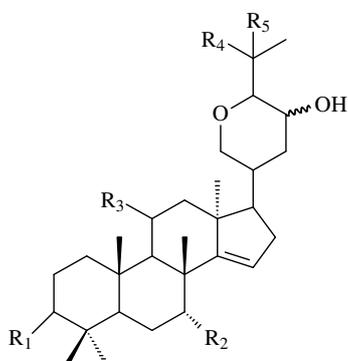


Nome		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Ocorrência
(1) Gentinona C	I	OH	Pre ^a	OH	OH	OH	<i>Aglaia argentea</i> ¹
(2) Gentinona D	I	OAc	Pre ^a	OH	OH	OH	
(3) Gentinona A	II	OH	Pre ^a	OH	--	--	
(4) Gentinona B	II	OAc	Pre ^a	OH	--	--	
(5) Holstinona A	I	OH	H	MeO	OH	MeO	<i>Turrea holstii</i> ²
(6) Holstinona B (Protoxilocarpina D)	I	OH	H	MeO	OH	OH	<i>T. holstii</i> ² <i>Xylocarpus granatum</i> ³
(7) Holstinona C	I	OH	H	MeO	OH	OH	<i>T. holstii</i> ²
(8) P rotoxilocarpina A e B	I	OH	H	EtO	OH	OH	<i>X. granatum</i> ³
(9) Protoxilocarpina C	I	OH	H	EtO	OH	EtO	
(10) Protoxilocarpina E	I	AcO	H	MeO	OH	OH	
(11) Protoxilocarpina F	I	AcO	H	H	OH	OH	<i>X. granatum</i> ⁴
(12) Protoxilocarpina G	I	AcO	H	H	OH	OH	
(13) Protoxilocarpina H	II	AcO	H	H	--	--	<i>X. granatum</i> ⁵
(14) Protoxilogratina A	II	OH	H	MeO	--	--	
(15) Naheedina	I	AcO	OH	OH	H	H	<i>Azadirachta indica</i> ⁶
(16) Acetato de naheedina	I	AcO	AcO	AcO	H	H	

1. OMOBUWAJO et al., 1996; 2. MULHOLLAND et al., 1999; 3. CUI et al., 2009; 4. PUDHO et al., 2009; 5. LI et al., 2008; 6. SIDDIQUI et al., 1992

Legenda: Pre^a - C₂H₅CH(CH₃)COO

Tabela 8. Triterpeno apotirucalano com cadeia lateral cíclica (6-membros)

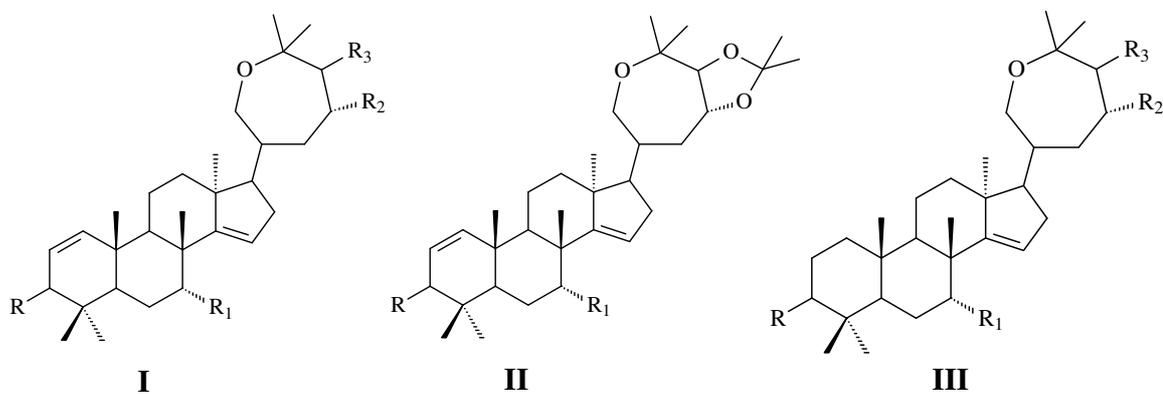


Nome	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Ocorrência
(1)	Pre ^a	OH	H	Me	OH	
(2)	Pre ^a	OH	H	CH ₂ OH	OH	<i>Cedrela sinensis</i> ¹
(3)	Pre ^a	OH	MeO	Me	OH	
(4)	Pre ^a	OH	MeO	Me	MeO	
(5) Chisiamol A	AcO	AcO	H	Me	OH	<i>Chisocheton siamensis</i> ²

1. MITSU et al., 2007; 2. XIE et al., 2009

Legenda: Pre^a -(CH₃)₂C₂HCOO

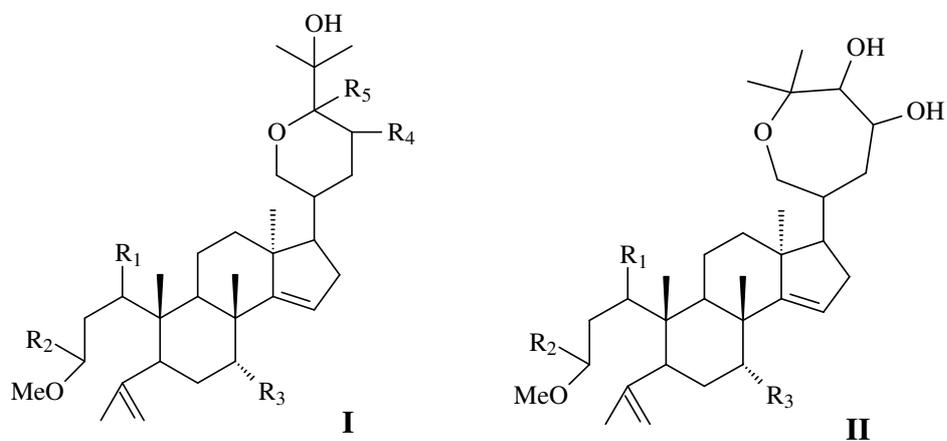
Tabela 9. Triterpeno apotirucalano com cadeia lateral cíclica (7-membros)



Nome		R	R ¹	R ²	R ³	Ocorrência
(1) Chisiamol B	III	AcO	OH	OH	OH	
(2) Chisiamol C	III	AcO	AcO	OH	OH	
(3)	I	O	AcO	OH	OH	<i>Chisoche-ton siamensis</i> ¹
(4) Acetato de sapelina E	II	O	AcO	--	--	

1. XIE et al., 2009

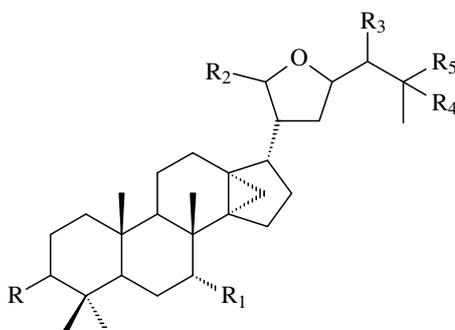
Tabela 10. Triterpeno apotirucalano com anel A-seco



Nome		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Ocorrência
(1)	I	OH	O	OH	AcO	OH	<i>Trichilia emética</i> ¹
(2)	I	OH	O	AcO	OH	OH	
(3)	I	AcO	MeO	AcO	OH	H	
(4)	II	AcO	MeO	AcO	--	--	<i>T. elegans</i> ²
(5)	I	AcO	MeO	AcO	OH	OH	

1. GUNATILAKA et al 1998; 2. GARCEZ et al 1996

Tabela 11. Triterpeno glabretal com cadeia lateral cíclica (5-membros)

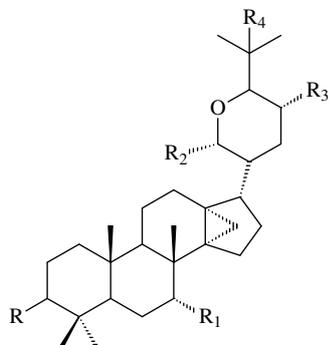


Nome	R	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	Ocorrência
(1)	Pre ^a	OH	MeO	OH	OH	Me	
(2)	Pre ^a	OH	MeO	OH	OMe	Me	
(4)	Pre ^a	OH	MeO	OH	OH	CH ₂ OH	<i>Cedrela sinensis</i> ¹
(5)	Pre ^a	OH	MeO	OH	MeO	CH ₂ OH	
(6)	Pre ^a	OH	MeO	OH	H	CH ₂	
(7)	AcO	AcO	AcO	AcO	AcO	Me	<i>Guarea jamaicensis</i> ²

1. MITSU et al., 2005; 2. HARDING et al., 2001a

Legenda : Pre^a - (CH₃)C₂HOO

Tabela 12. Triterpeno glabretal com cadeia lateral cíclica (6-membros)



Nome	R	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	Ocorrência
(1)	Pre ^a	OH	MeO	OH	OH	Me	
(2)	Pre ^a	OH	MeO	OH	MeO	Me	
(3)	Pre ^a	OH	MeO	OH	OH	CH ₂ OH	<i>Cedrela sinensis</i> ¹
(4)	Pre ^a	OH	H	OH	OH	Me	
(5)	AcO	AcO	AcO	AcO	OH	Me	<i>Guarea jamaicensis</i> ²

1. MITSU et al., 2005; 2. HARDING et al., 2001a

Legenda: Pre^a - (CH₃)C₂HOO

1.3. Esteróides de Meliaceae (Pregnano e Ergostano)

Os esteróides de Meliaceae são encontrados principalmente com esqueleto pregnano ou ergostano. O tipo pregnano, o qual é originado do protosteril pela perda de 6 átomos de carbono da cadeia lateral (Esquema 3), é comum em várias espécies de *Trichilia*, *Azadirachta*, *Aglaia*, *Melia* e *Cipassa* (Tabelas 13-16). Conforme mostra a tabela 17, os esteróides do tipo ergostano em Meliaceae são relatados em *Dysoxylum malabaricum*, *Trichilia lepidota* e *Melia azadirach*. No esteróide **5** isolado em *M. azadirach* é relatada atividade moderada contra células cancerígenas em glândulas (A549), pulmão (H460) e glioma (U251).

Esquema 3. Origem biossintética dos esteróides de Meliaceae

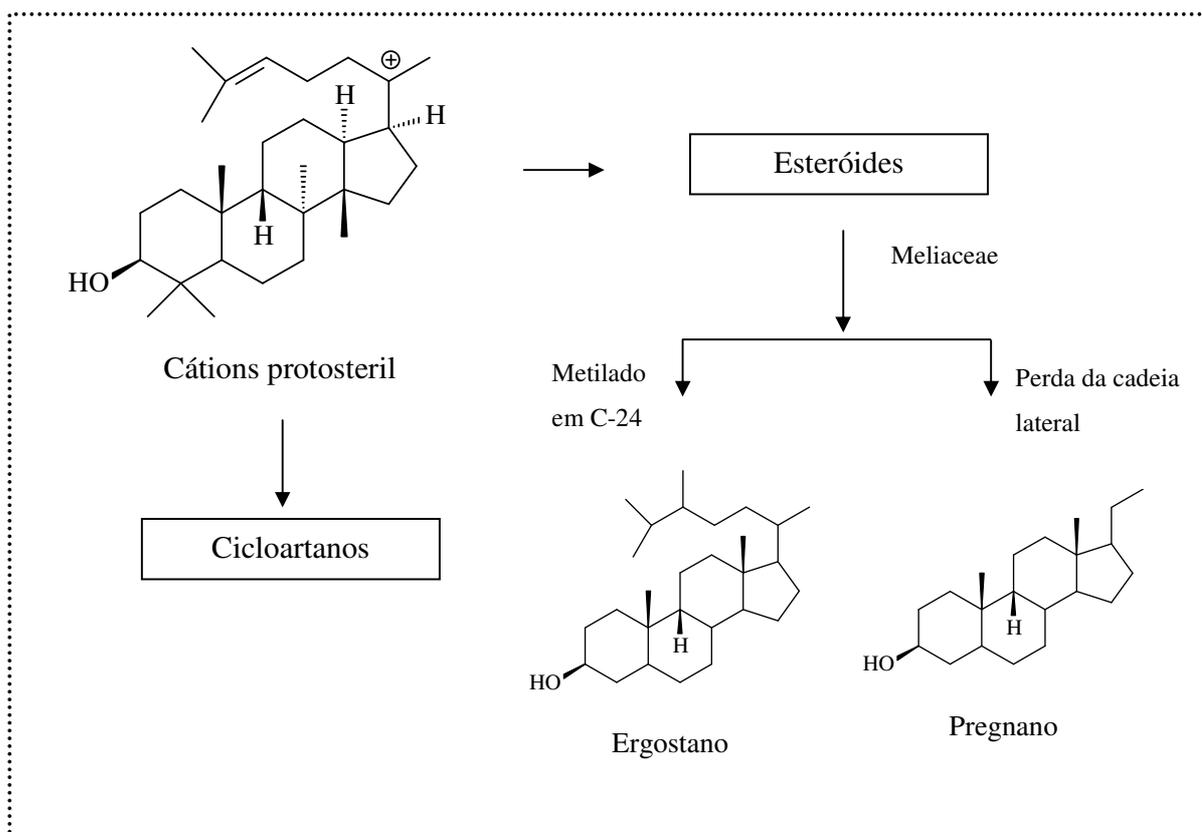
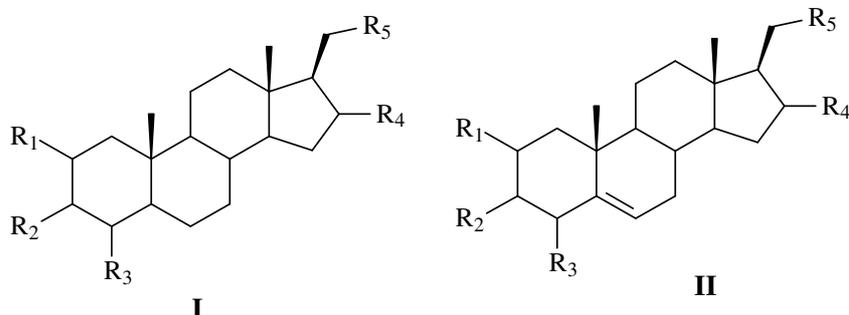


Tabela 13. Esteróides com esqueleto pregnano predominantes em Meliaceae

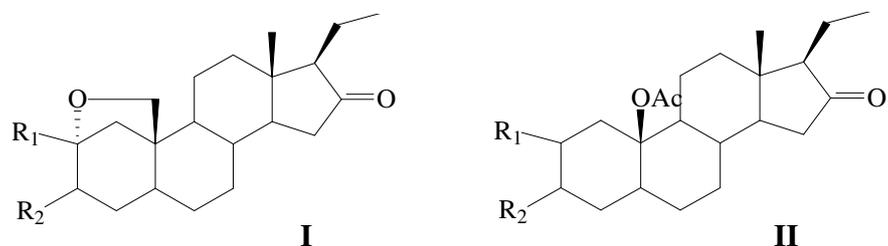


Nome		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	Ocorrência
(1) 2β,3β,4β-Trihidroxipregnanona	I	OH	OH	OH	O	Me	<i>Trichilia schomburgkii</i> ¹ <i>Azadirachta indica</i> ² <i>T. clausenii</i> ³
(2) 2α,3α,4β-Trihidroxipregnanona	I	OH	OH	H	O	Me	<i>A. indica</i> ² <i>T. schomburgkii</i> ¹ <i>T. clausenii</i> ³
(3) 2β,3β-Dihidroxi-5α-pregnanona	I	OH	OH	H	O	Me	<i>Aglaia glandis</i> ⁴ <i>T. clausenii</i> ³
(4) 3β,4β-Dihidroxi-2β-acetoxipregnanona	I	AcO	OH	OH	O	Me	<i>Cipassa baccifera</i> ⁵
(5) 3β,4α-Dihidroxipregnanona	I	H	OH	OH	O	Me	<i>Trichilia connaroides</i> ⁶
(6) 2α,3β-Dihidroxipregnanona	I	OH	OH	H	O	Me	<i>Melia volkesii</i> ⁷
(7) 2α,3β,4β -Trihidroxipregnanona	I	OH	OH	OH	O	Me	<i>Azadirachta indica</i> ⁸
(8) 2β,3β,4β- Triacetoxidroxipregnanona	I	AcO	AcO	AcO	O	Me	<i>Trichilia clausenii</i> ³
(9) 2β,3β-Diacetoxi-pregnanona	I	AcO	AcO	H	O	Me	
(10) 2α-Metoxi,3β-hidroxipregnanona	I	MeO	OH	H	O	Me	<i>Aglaia lawii</i> ⁹
(11)	II	OH	OH	H	O	Me	<i>Melia azadirach</i> ¹⁰
(12)	II	H	OH	OH	O	Me	
(13) 2α,3α,16β-Trihidroxipregnan-20R-metacrilato	I	OH	OH	H	OH	Pre ^a	

1. KETWARU et al 1993; 2. SIDDIQUI et al., 2008; 3. PUPO et al., 1997; 4. INADA et al., 1997; 5. LIN et al., 2008; 6. WANG et al., 2008; 7. ROGERS et al., 1998; 8. SIDDIQUI et al., 2008; 9. MOHAMAD et al., 1999; 10. WU et al., 2009

Legenda: Pre^a- O₂C(CH₂)CH₃

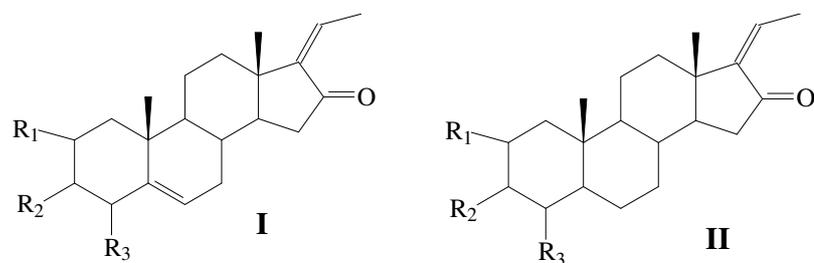
Tabela 14. Esteróides com esqueleto pregnano C19-Oxigenado



Nome		R ₁	R ₂	Ocorrência
(1) 2β,3β-Dihidroxipregnan-16-ona	I	OH	OH	<i>Trichilia clausenii</i> ¹ <i>Melia volkesii</i> ²
(2) 2β,3β- Diacetooxipregnan-16-ona	I	AcO	AcO	<i>T. clausenii</i> ³
(3) 3β,19- Diacetooxipregnan-2,16-diona	II	O	AcO	

1. PUPO et al., 1997; 2. ROGERS et al., 1998; 3. PUPO et al., 1997

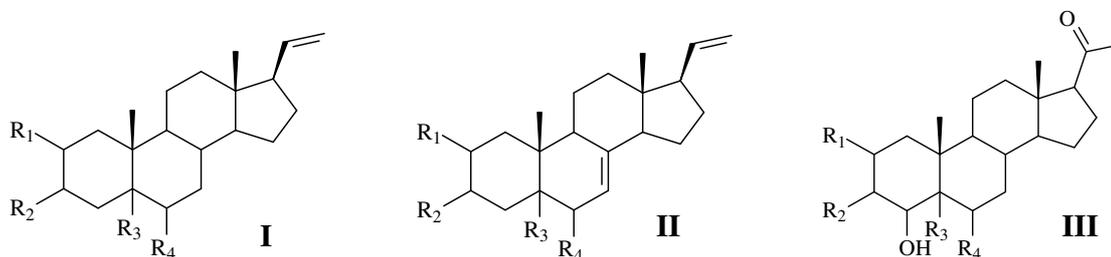
Tabela 15. Esteróides com esqueleto pregnano com dupla ligação C-17



Nome		R ₁	R ₂	R ₃	Ocorrência
(1) Aglawona	II	H	OH	H	<i>Aglaia lawii</i> ¹
(2) Volkendousina	I	H	OH	OH	<i>A. lawii</i> ¹ <i>Melia volkesii</i> ²
(3) 2β,3β-dihidroxipregnano-16-ona	I	OH	OH	H	<i>A. glandis</i> ³

1. QIU et al., 2001; 2. ROGERS et al., 1998; 3. INADA et al., 1997

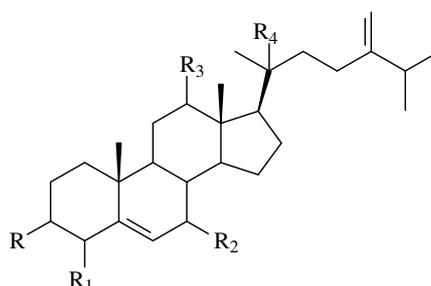
Tabela 16. Esteróides com esqueleto pregnano com dupla ligação ou cetona em C-20



Nome		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Ocorrência
(1) 2β,3β,5β-Trihidroxi-pregn-20-en-6-ona	I	OH	OH	OH	O	
(2) 2β-Hidroxi-pregn-7,20-dien-6-ona	II	H	OH	H	O	<i>Turreae pubescens</i> ¹
(3) 3β-acetoxi-pregn-7,20-dien-6-ona	II	H	AcO	H	O	
(4) 3β,4α-dihidroxi-pregnan-21-ona	III	H	OH	H	H	<i>Trichilia connaroides</i> ²

1. WANG et al., 2006 2. WANG et al., 2008

Tabela 17. Esteróides com esqueleto ergostano



Nome	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Ocorrência
(1) Ergosta-5,24(24')dieno-3β,4β,20S-triol	OH	H	OH	H	H	
(2) Ergosta-5,24(24')dieno-3β,7α,20S-triol	OH	OH	H	H	OH	<i>Dysoxylum malabaricum</i> ¹
(3) 24-Metileno-12β-hidroxicolesterol	OH	H	H	OH	H	
(4) 24-Metileno-12β-hidroxicolest-4-en-3-palmitato	R*	H	H	OH	H	<i>Trichilia lepidota</i> ²
(5) (20)-5,24(28)-Ergostdieneno-3β,7α,12β,20-tetrol	OH	H	OH	OH	OH	<i>Melia azadirach</i> ³

1. GOVINDACHARY et al., 1997; 2. PUPO et al., 2002

Legenda: R* = CO(CH₂)₁₄CH₃

1.4. Gênero *Guarea*

O gênero *Guarea* apresenta cerca de 50 espécies, o que corresponde a 9% de todas as espécies da família Meliaceae, sendo ocorrentes nas regiões da América tropical e África.

A espécie *G. trichilioides* popularmente conhecida como carrapeta-verdadeira produz látex amargo utilizado como adstringente, vermífugo, purgativo, febrífugo e dependendo da dose é abortivo. O cozimento das cascas das raízes é utilizada no Amazonas no tratamento de hidropsia, gota e artrite (CORREA, 1926).

Os estudos químicos são relatados em 10 espécies, no entanto tem sido concentrados principalmente em *G. macrophylla* e *G. guidonia*, sendo os relatos de *G. guidonia* também encontrados para as espécies com as sinônimas *G. glandiflora*, *G. trichiloides* e *Samyda guidonia*. Quanto aos metabolitos secundários, com os estudos químicos com diversas espécies ficou evidenciada a predominância de terpenos tais como sesquiterpenos, diterpenos e triterpenos incluído os degradados.

Os sesquiterpenos são principalmente dos tipos eudesmano em *G. guidonia* (LAGO et al., 2002) (Quadro 1), aromadendrano, entre outros (Quadros 2 e 3) de *G. macrophylla* (LAGO et al., 2000), *G. kunthiana* (GARCEZ et al., 2004) e *G. guidonia* (RAMOS et al., 2000; LAGO et al., 2002). Os diterpenos com esqueleto isopimarano (Quadro 4) são encontrados em *G. macrophylla* (LAGO et al., 2005) e com esqueleto labdano (Quadro 5) em *G. macrophylla* e *G. trichilioides*: (LAGO et al., 2005; 2000; FURLAN et al., 1996). Conforme mostra o quadro 6, outros diterpenos encontrados no gênero são dos tipos clerodano, sandocopiramarano e derivados manoila.

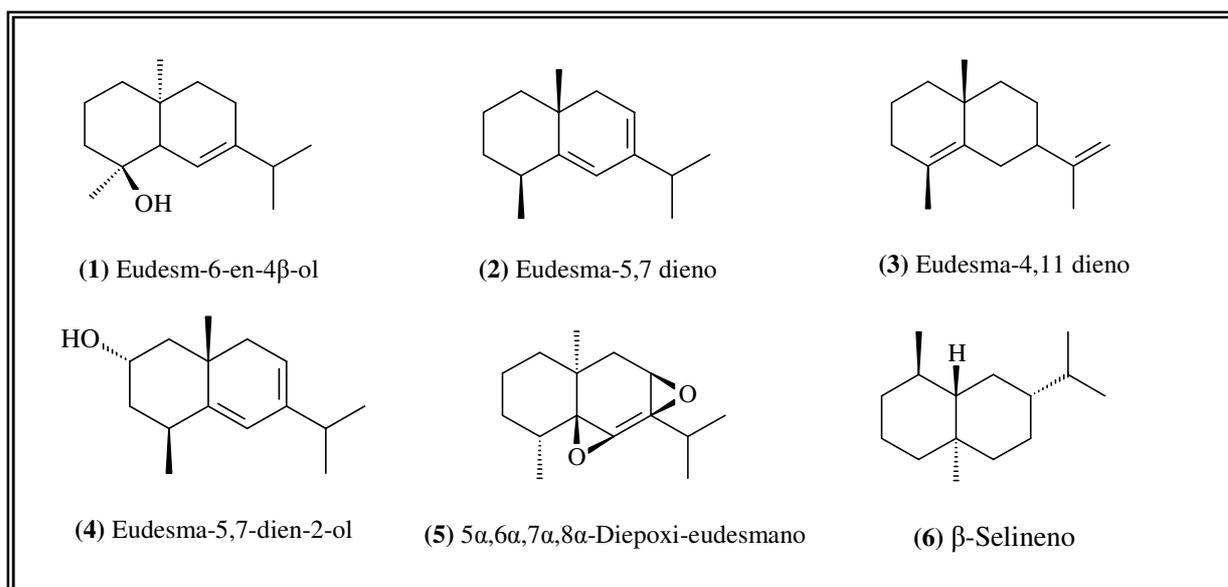
Os triterpenos encontrados são cicloartano, tirucalano, lanostano e apotirucalano (glabretal), conforme mostram os quadros 7-9. Os triterpenos cicloartano com diferentes cadeias laterais foram relatados em *G. macrophylla* (LAGO et al., 2000; LAGO & ROQUE, 2002) e *G. guidonia* (LAGO et al., 2002). Os triterpenos com esqueleto tirucalano e lanostano tem pouca ocorrência em *Guarea* (Quadro 8); 3 tirucalano foram identificados em *G. glandiflora* (JIMENEZ et al., 1998) e *G. Guidonia* (LINS et al., 1992) e 2 do tipo lanostano isolados de *G. rhopalocarpa* [sin. *G. tuisana*], estes foram testados em *Leishmania donovani* e *Trypanosoma brucei* (CAMACHO et al., 2001). Os triterpenos do tipo conhecido como glabretal (apotirucalano e ciclopropano em C-18) com diferentes substituintes em C-3 (Quadro 9) foram encontrados em *G. glabra* (FERGURSON et al., 1973), *G. carinata* (PEREIRA-JUNIOR et al., 2003) e *G. jamaicensis* (HARDING et al., 2001a).

Os derivados da gedunina (Quadro 10) foram identificados na espécie *G. guidonia* (LUKACOVA et al., 1982) e suas sinónimas *G. glandiflora* (JIMENEZ et al., 1998; BEVAN et al., 1963; HOUSTLEY et al 1962) e *G. trichiliodes* (WOLTER et al., 1993). Nesta espécie também são relatados limonóides prieurinina (**61**) e 14,15-epoxiprieurianina (**62**) que apresentam clivagens complexas nos anéis A e B, cujos estudos farmacológicos comprovam atividade citotóxica significativa em células leucêmicas (P-388) (LUSCOVA et al., 1982).

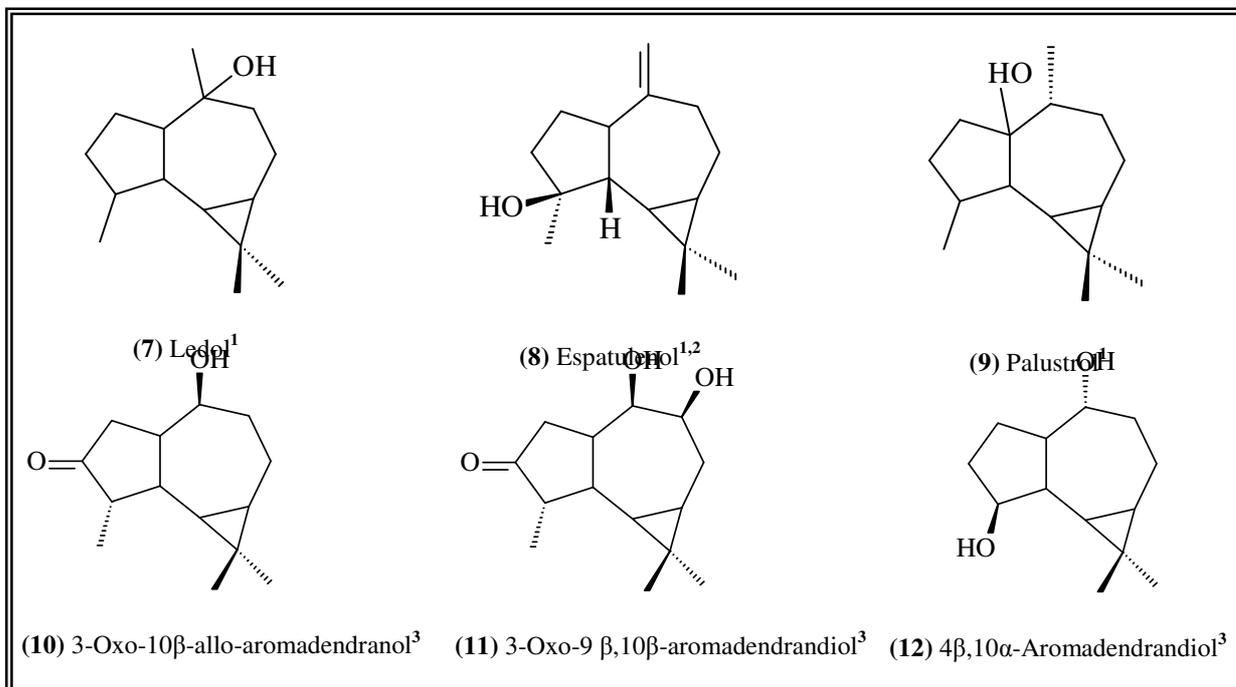
Outros constituintes identificados no gênero *Guarea* foram os esteróides β -sitosterol e estigmasterol em *G. guidonia*, *G. macrophylla*, *G. rhopalocarpa* e *G. cedrata* (LAGO et al., 2000; 2002; CAMACHO et al., 2001; BEVAN et al., 1963). Com relação aos metabólitos não terpenoídico apenas uma cumarina conhecida como escopoletina foi identificada em *G. rhopalocarpa* (CAMACHO et al., 2001).

Apesar da ocorrência de aproximadamente 30 espécies de *Guarea* no Amazonas existem poucos relatos sobre estudos químicos e/ou farmacológicos o que nos estimula a escolha de uma espécie ocorrente na região para estudo fitoquímico.

Quadro 1. Sesquiterpenos do tipo eudesmano de *Guarea guidonia*

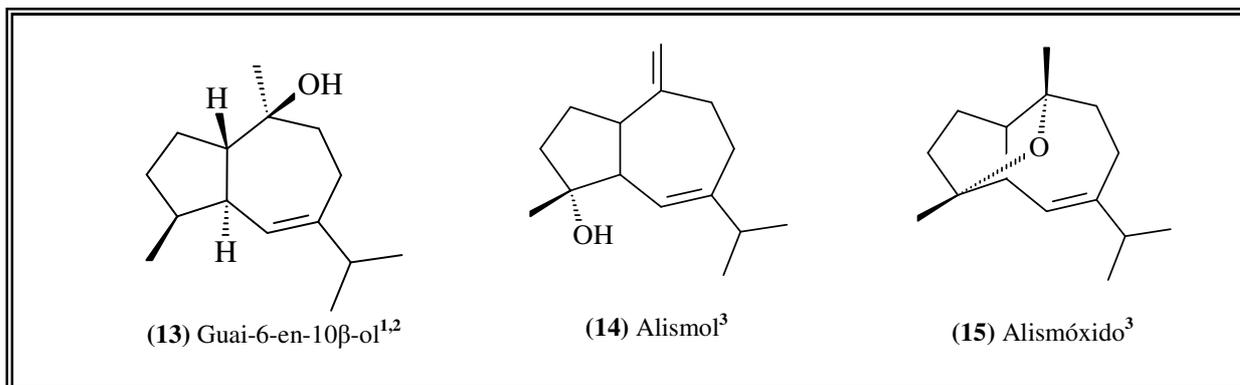


Quadro 2. Sesquiterpenos aromadendrano de *G. macrophylla*, *G. kunthiana* e *G. guidonia*



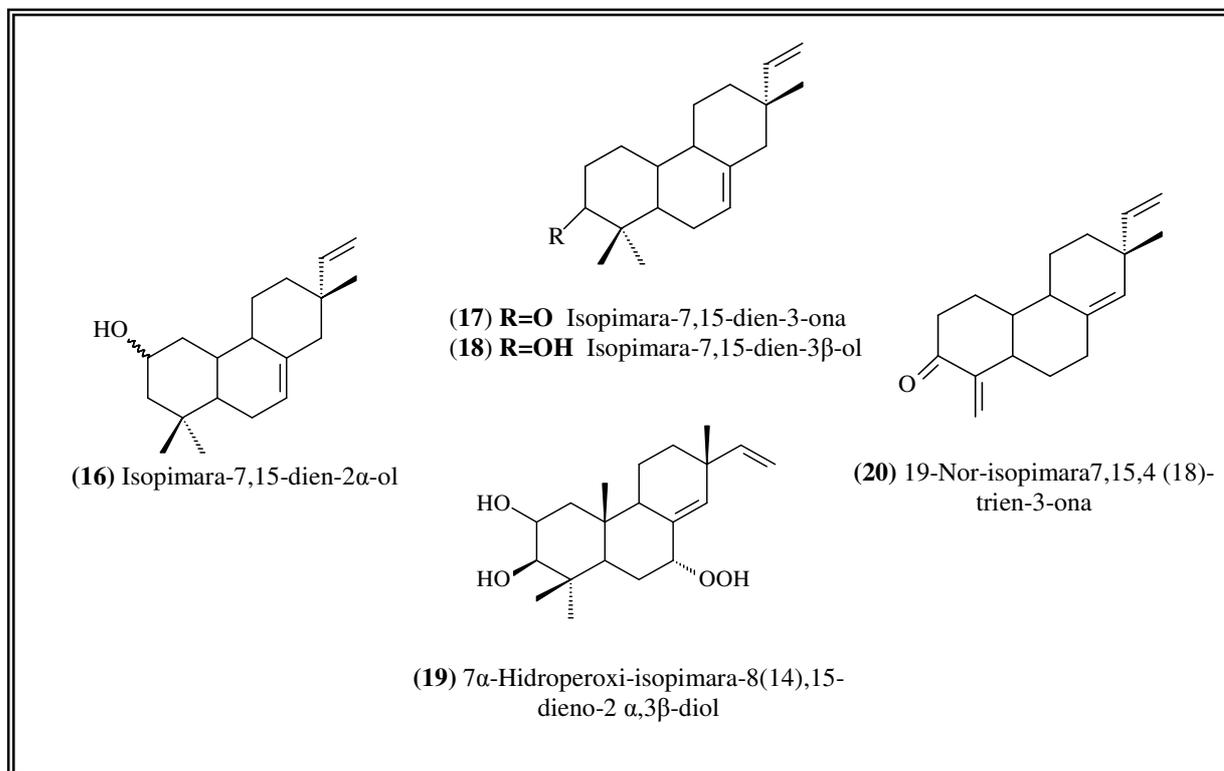
1) *G. macrophylla*, 2) *G. kunthiana* 3) *G. guidonia*

Quadro 3. Outros sesquiterpenos de *G. macrophylla*, *G. guidonia* e *G. kunthiana*

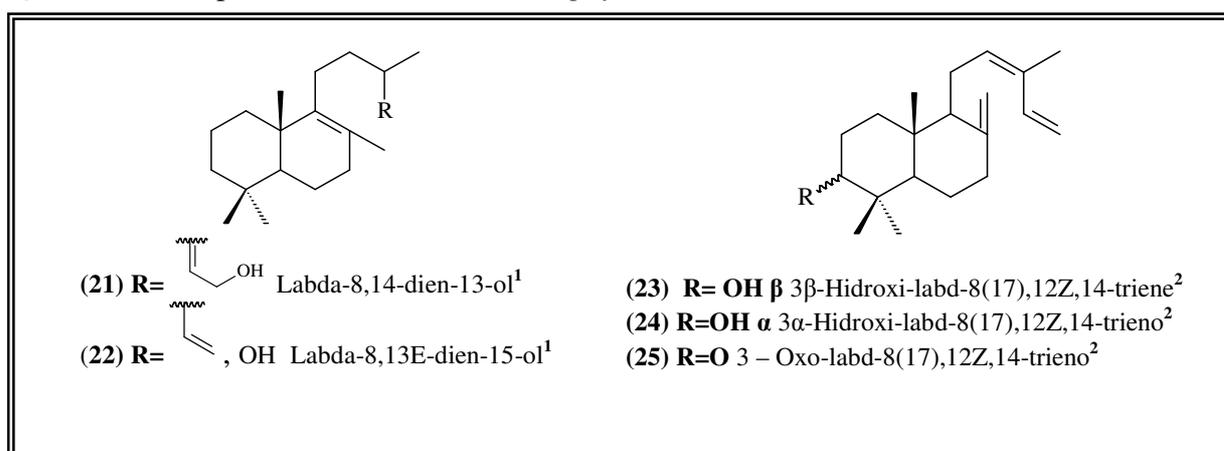


1) *G. macrophylla*, 2) *G. guidonia*, 3) *G. kunthiana*

Quadro 4. Diterpenos isopimaranos de *G. macrophylla*

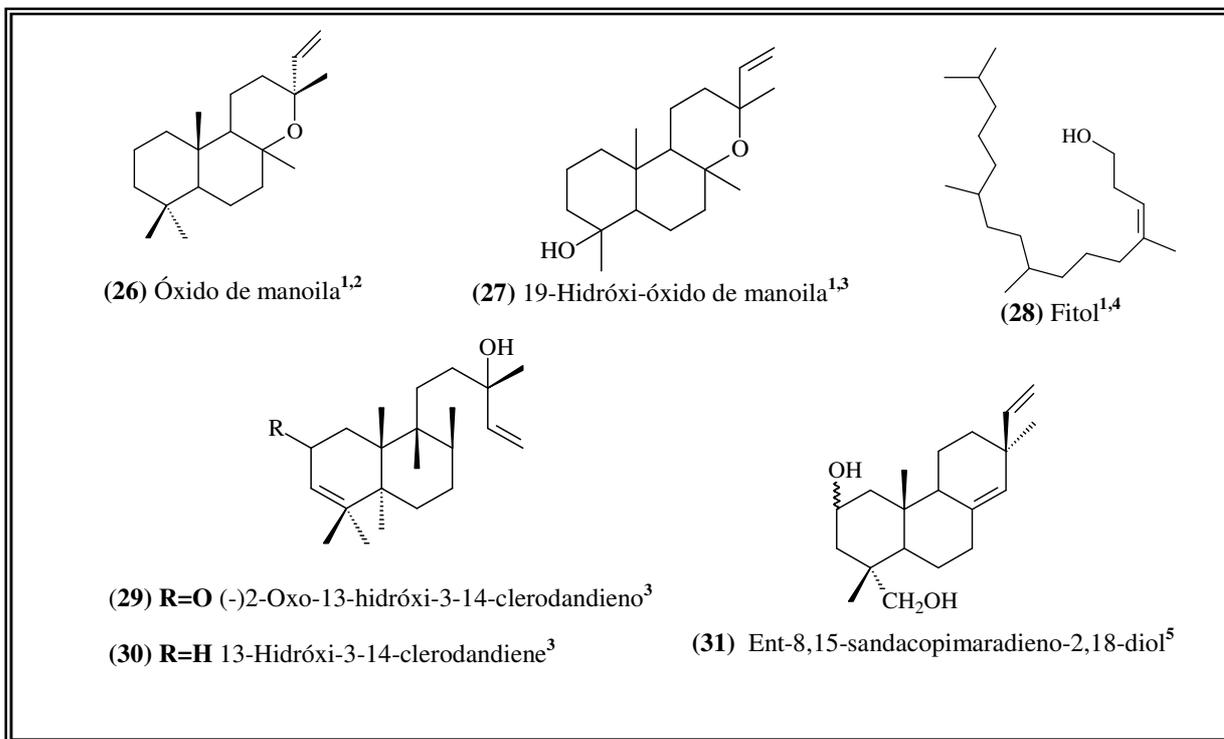


Quadro 5. Diterpenos labdanos de *G. macrophylla* e *G. trichilioides*:



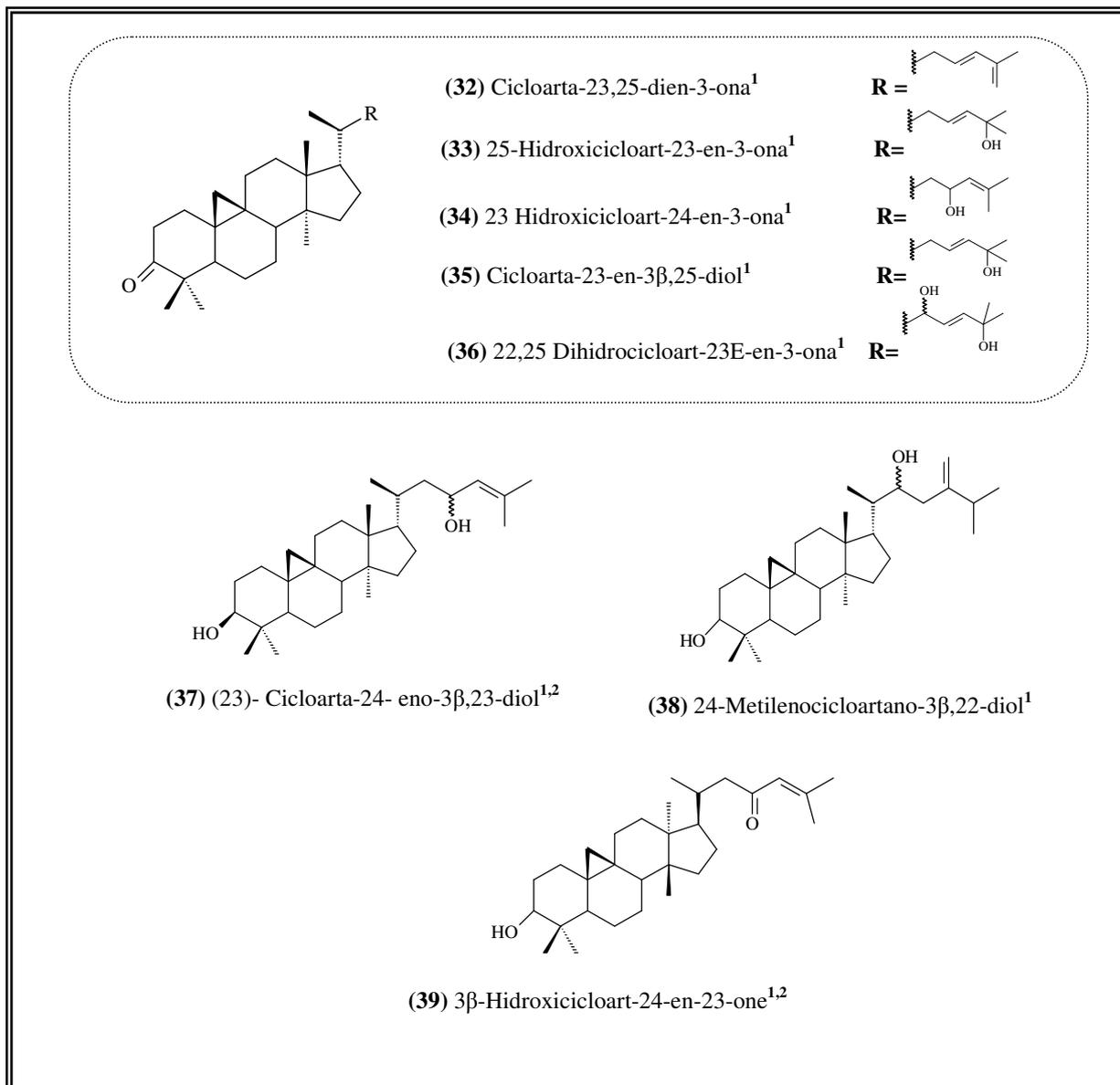
1) *G. macrophylla* 2) *G. trichilioides*

Quadro 6. Diterpenos clerodano, sandacopimarano e derivados manoila de *Guarea* spp



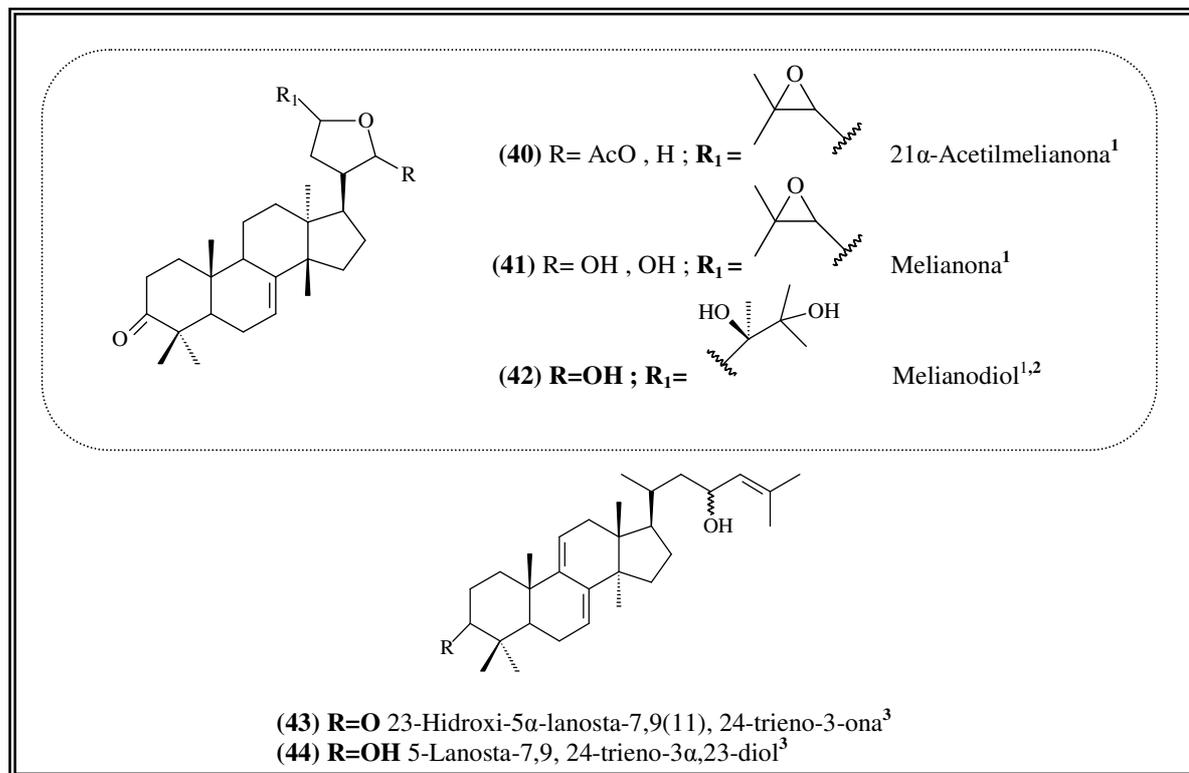
1) *G. macrophylla* (LAGO et al., 2000; 2005) 2) *G. carinata* (PEREIRA-JUNIOR et al., 1990) 3) *G. trichilioides* (GARCEZ et al., 2004; FURLAN et al., 1996) 4) *G. guidonia* (LAGO et al., 2002) 5) *G. rhopalocarpa* (CAMACHO et al., 2001)

Quadro 7. Triterpenos cicloartano de *G. macrophylla* e *G. guidonia*



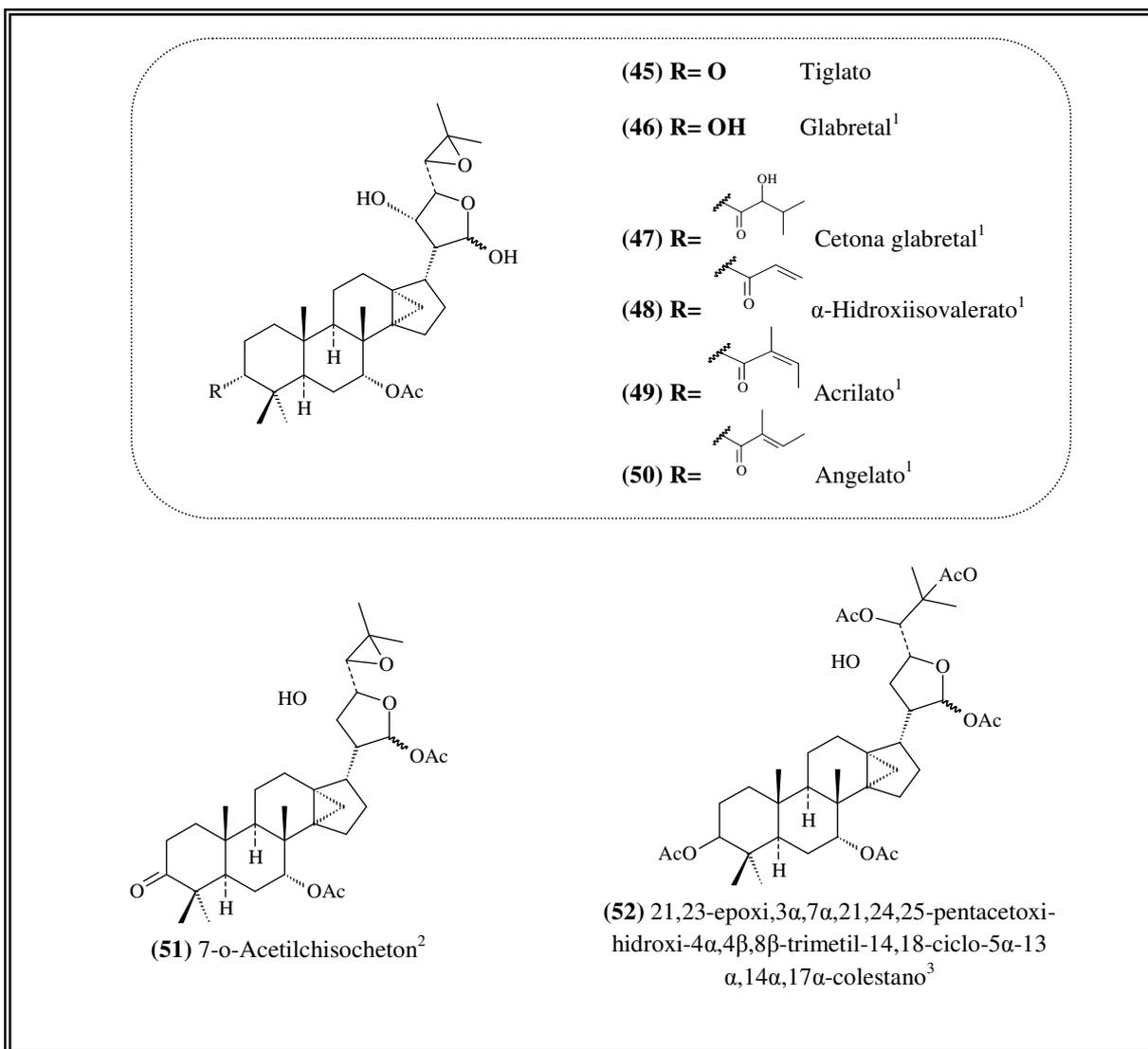
1) *G. macrophylla* 2) *G. guidonia*

Quadro 8. Triterpenos do tipo tirucalano de *G. glandiflora* e *G. guidonia* e do tipo lanostano de *G. rophalarcarpa*



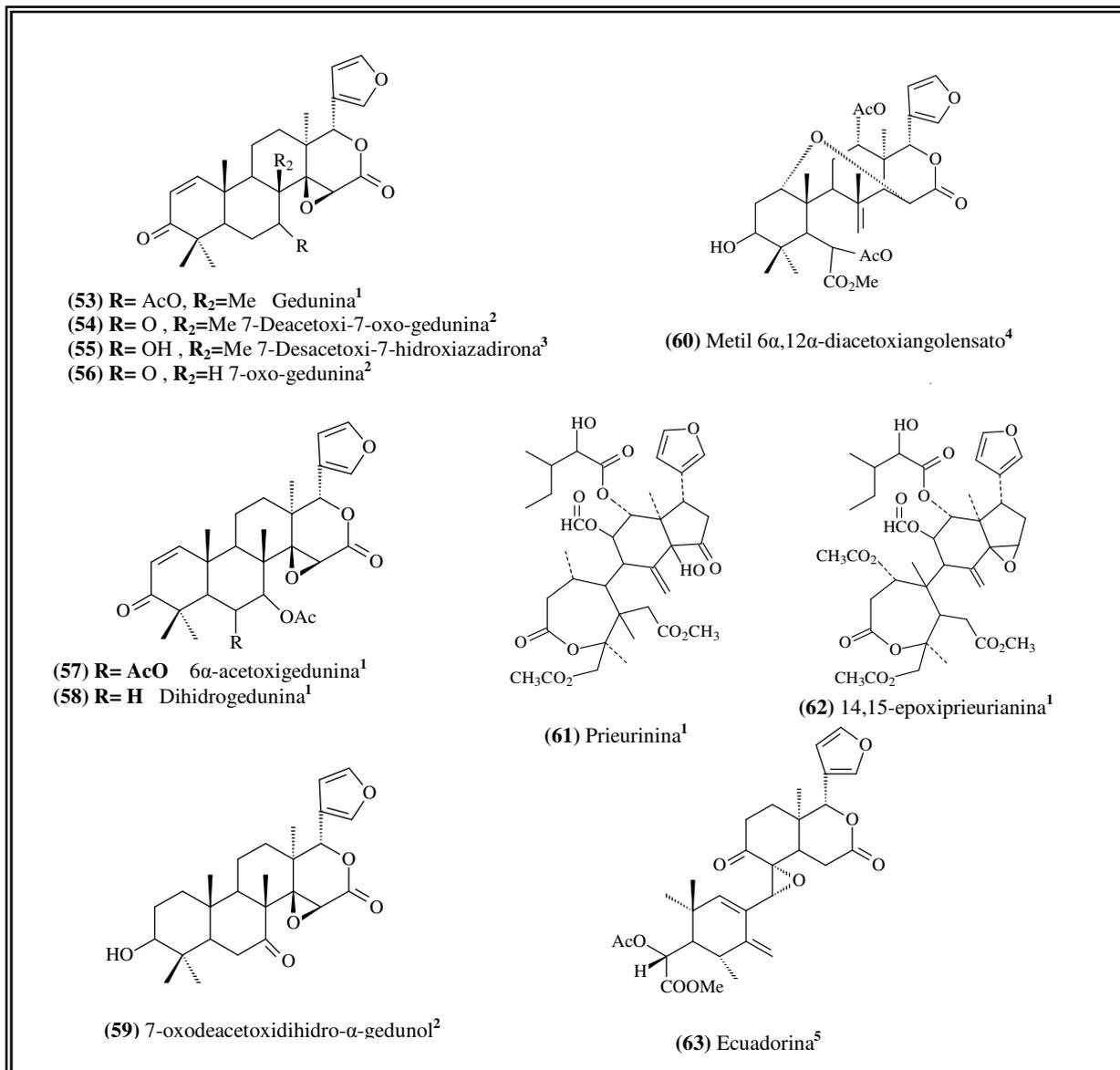
1) *G. glandiflora* 2) *G. Guidonia* 3) *G. rophalarcarpa*

Quadro 9. Triterpenos glabretal de *G. glabra*, *G. carinata* e *G. jamaicensis*



1) *G. glabra* 2) *G. carinata* 3) *G. jamaicensis*

Quadro 10. Limonóides de *G. thompsonii*, *G. kunthiana*, *G. guidonia* e de suas sinónimas



1) *G. glandiflora* 2) *G. guidonia* 3) *G. trichiloides*: 4) *G. thompsonii* 5) *G. kunthiana*

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Realizar o estudo fitoquímico da espécie *Guarea convergens* (Meliaceae), com intuito de isolar e identificar os metabólitos secundários visando utilizar métodos científicos clássicos na busca do conhecimento químico.

3. EXPERIMENTAL

Os estudos químicos foram desenvolvidos no Laboratório de Química de Produtos Naturais (LQPN) da Coordenação de Pesquisas em Produtos Naturais (CPPN) do Instituto Nacional de Pesquisas do Amazonas (INPA),

3.1 Material

Solventes: Nas análises cromatográficas foram utilizados solventes comerciais destilados no LQPN-INPA e nos experimentos de RMN utilizaram solventes deuterados.

Cromatografia em Camada Delgada (CCD): Foram utilizadas cromatofolhas de alumínio de sílica gel 60 (0,2 mm de espessura) com indicadores de fluorescência em 254 nm.

Reveladores: Vanilina sulfúrica

Cromatografia em Coluna (CC): Para fracionamentos pela polaridade utilizou-se sílica gel 60 (70-230 e 230-400 mesh) de marca Merck, por adsorção Sephadex LH-20 e particionamentos em meio sólido foi empregado a celulose microcristalina Avicel (Merck)

Equipamentos e Acessórios

- ✓ **Rotaevaporador:** Yamato modelo RE500 com banho BM200
- ✓ **Balança:** Shimadzu modelo-BL320H.
- ✓ **Chapa de aquecimento-** Fisatom, modelo 743A
- ✓ **Moinho:** Tipo 4 facas
- ✓ **Ponto de fusão:** Fisaton 430D
- ✓ **RMN:** Bruker DRX-400, Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)

3.2 Coleta do material vegetal

Galhos e folhas de *Guarea convergens* (figura 5) foram coletados de um espécime identificado por especialistas e mapeado durante a execução do Projeto Flora na Reserva Adolpho Ducke (AM-010, KM 26; Manaus-Itacoatiara).



Figura 5. *Guarea convergens* coletada na Reserva Florestal Adolpho Ducke

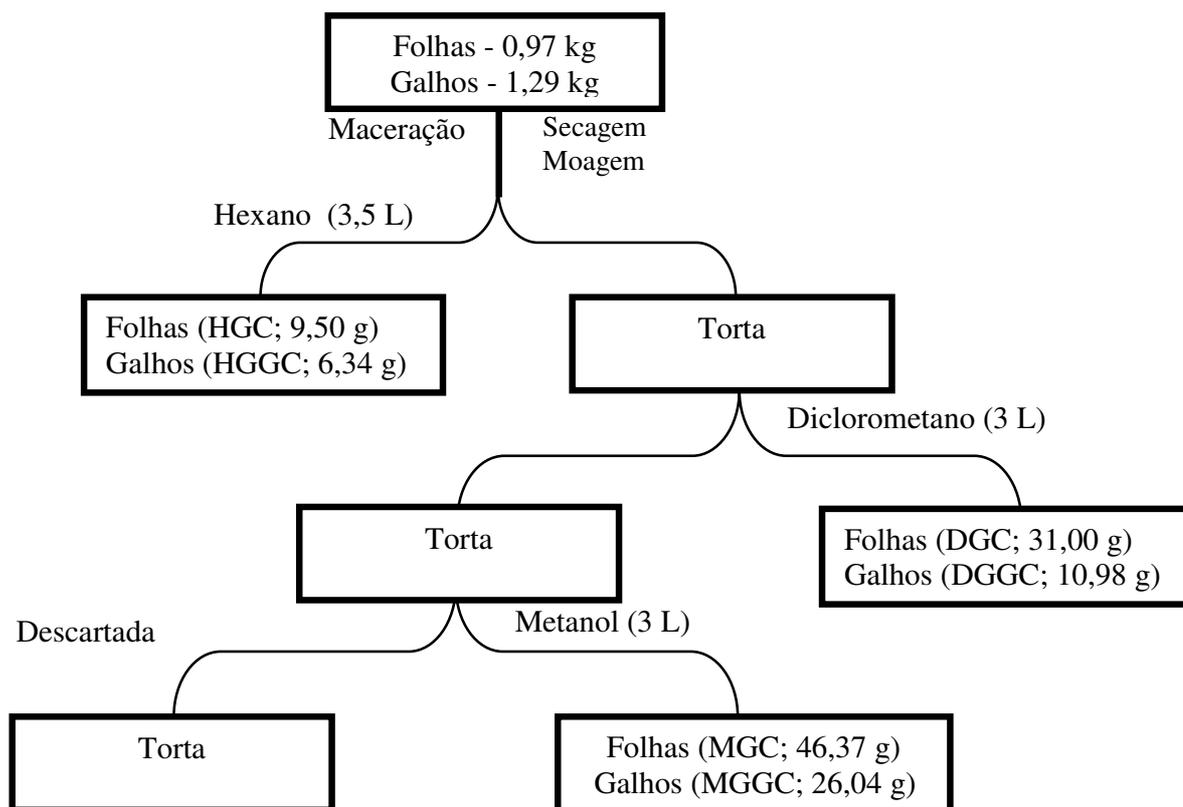
3.3 Obtenções dos extratos vegetais

Os materiais coletados, após à secagem a temperatura ambiente sob a presença de luz, foram pulverizados e submetidos à maceração em temperatura ambiente com solventes orgânico por ordem crescente de polaridade (hexano, diclorometano e metanol) durante 7 dias em cada solvente, e os extratos obtidos após a evaporação dos solventes (rotaevaporador). As massas obtidas dos extratos orgânicos estão apresentadas nos esquema 4.

Avaliação por Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Para avaliação prévia do número e tipos de substâncias, pequenas alíquotas dos extratos das folhas e dos galhos foram avaliadas em placas de sílica gel 60 sob radiação de luz Ultravioleta (UV) posteriormente utilizando reveladores químicos como vanilina sulfúrica. Com base em CCD, os extratos das folhas selecionados para estudos foram apenas o diclorometano (DGC) e metanólico, isentos de graxas. Dos galhos apenas o extrato hexânico (HGGC) foi estudado, pois apresentou menor quantidade de pigmentos além de grandes similaridades com o extrato diclorometânico.

Esquema 4. Obtenção dos extratos brutos das folhas e galhos de *G. convergens*



3.4 Estudo químico dos extratos de folhas de *G. convergens*

Fracionamento cromatográfico do extrato (DGC) e purificação das substâncias 1-3

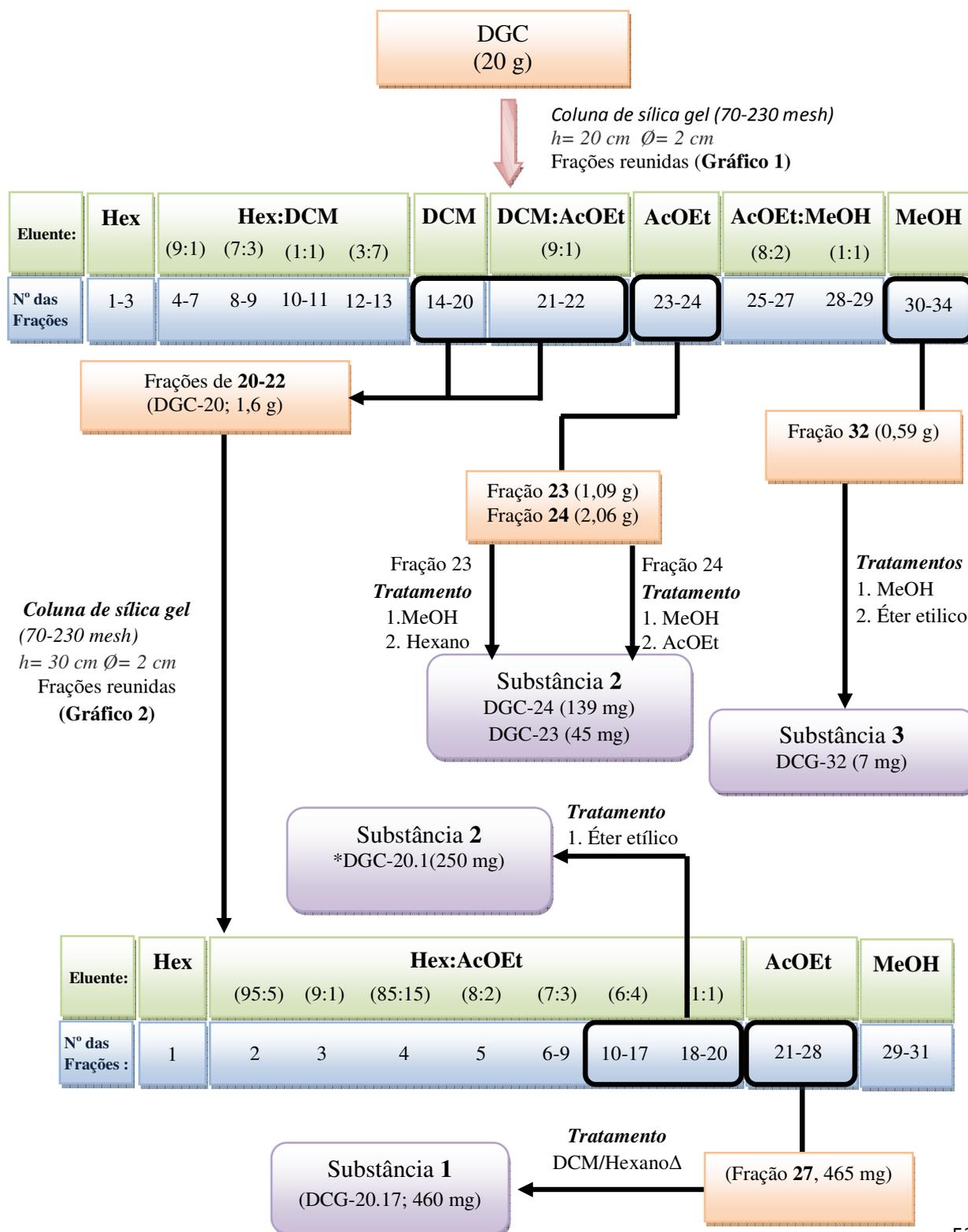
Parte do extrato diclorometano (20 g) foi fracionada por cromatografia em coluna de sílica gel (tipo filtrante), utilizando como eluentes, solventes em ordem crescente de polaridade de hexano a metanol, conforme mostra o esquema 5. As frações obtidas dessa coluna foram reunidas com base nas análises em CCD, as massas das frações são apresentadas no gráfico 1. As frações reunidas 20-22 (DGC-20), 23 (DGC-23) e 24 (DGC-24) e 32 (DGC-32) foram as mais promissoras nas análises em CCD foram submetidas a novos fracionamentos e ou quando apresentaram sólidos foram tratadas para purificação das substâncias.

As frações 17-19 (DGC-17) e 20-22 (DGC-20) apresentaram semelhanças em CCD, porém optou-se pelo fracionamento de DGC-20 devido a menor quantidade de pigmentos. Assim, o fracionamento de DGC-20 (esquema 5) em coluna de sílica gel (70-230 mesh), eluída em hexano, Hex:AcOEt, AcOEt e MeOH resultou em 31 frações que foram agrupadas com base em CCD (gráfico 2). A fração 27 (DGC-20.27) foi submetida a tratamento utilizando-se hexano Δ :DCM, forneceu um sólido cristalino, codificada como DGC-20.27, substância **1** (455 mg).

As frações 23 (DGC-23) e 24 (DGC-24) com presença de cristais foram submetidas a tratamento em metanol em pequena quantidade, formando uma solução saturada obtendo-se cristais semi-puros como corpo de fundo, estes cristais foram purificados em hexano 184 mg da substância **2** conforme mostram o esquema 5.

A fração 32 (DGC-32), contendo 590 mg mostrou a presença de sólido que após filtração e tratamento em éter etílico resultou no isolamento da substância **3** DGC-32 (7 mg).

Esquema 5. Fracionamento do extrato DGC e purificação das substâncias 1-3



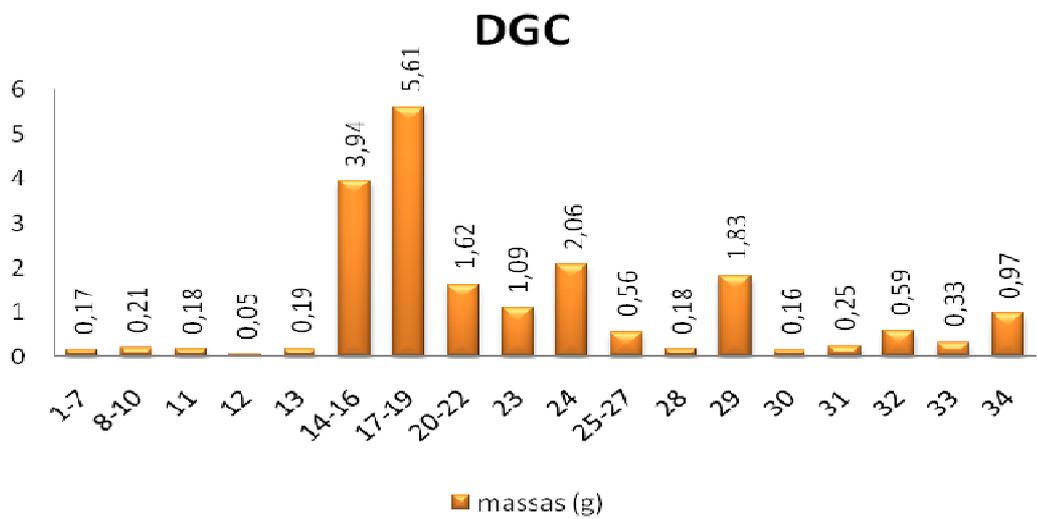


Gráfico 1. Codificação e massa das frações de DGC.

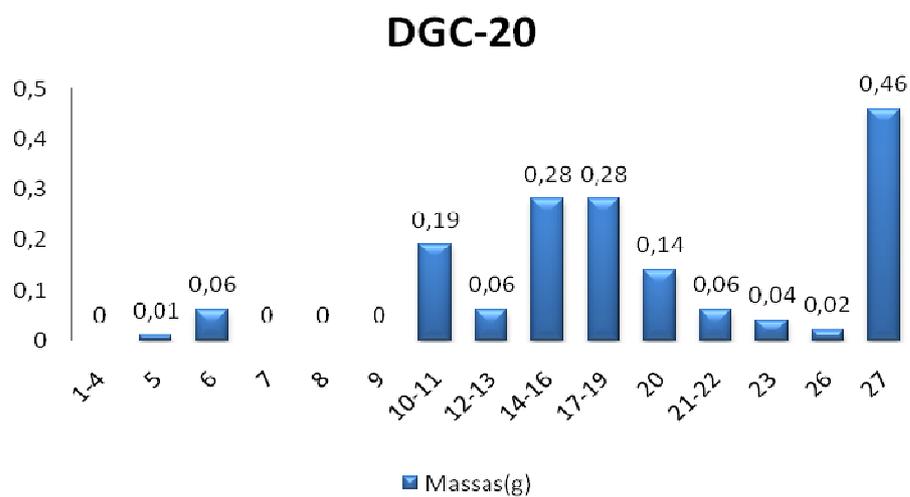


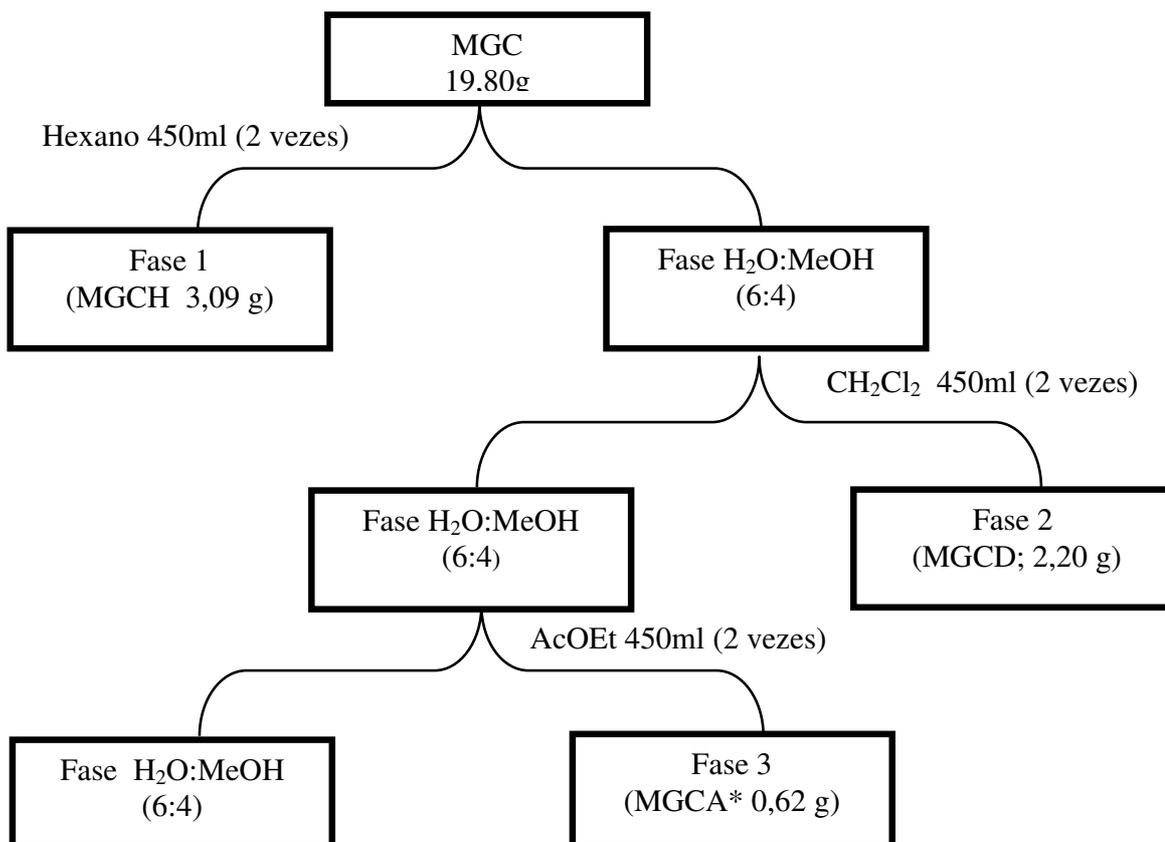
Gráfico 2. Massas (g) das frações reunidas de DGC-20

3.4.1 Fracionamento cromatográfico do extrato obtido em metanol (MGC)

Partição liquido-liquido do extrato obtido em metanol

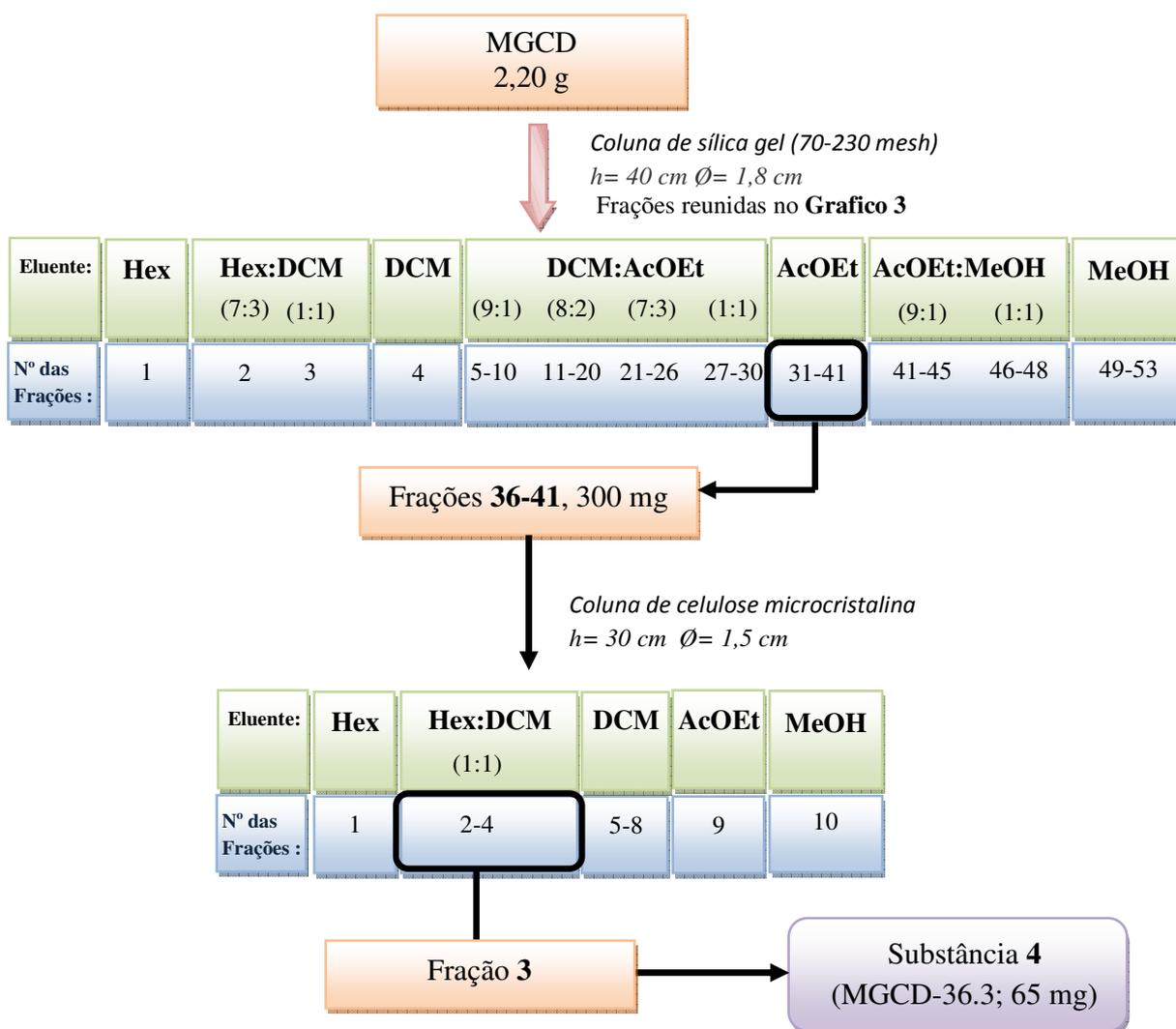
O extrato metanólico foi solubilizado na mistura de MeOH:H₂O (6:2) em funil de separação. Esta solução foi submetida à extrações sucessiva em hexano, diclorometano e acetato de etila, obtendo-se suas respectivas fases conforme mostra o esquema 6. Na avaliação em CCD das fases orgânicas obtidas da partição observou-se a fase diclorometano (Fase 2) como a mais promissora para o fracionamento cromatográfico. A fase em AcOEt (Fase 3) mostrou predominância de pigmentos.

Esquema 6. Partição do extrato metanólico de *G. convergens*



A fase obtida em diclometano (MGCD) foi fracionada em coluna de sílica gel (70-230 mesh), fornecendo 47 frações que foram reunidas com base em CCD (gráfico 3). As frações 36-41 (MGCD-36) após a filtração em coluna de celulose forneceu na subfração 3 (MGCD-36.3) um sólido puro (65 mg), substância **4** (esquema 7).

Esquema 7. Fracionamento cromatográfico de MGCD e isolamento da substância **4**



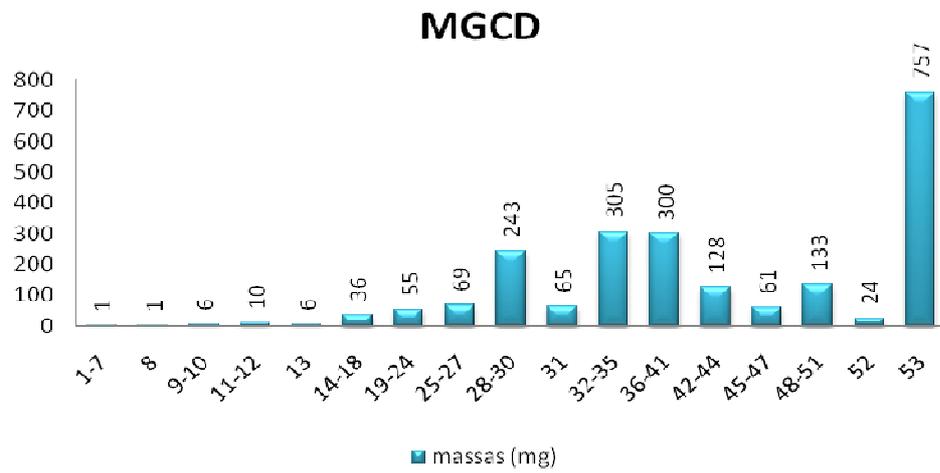


Grafico 3. Massas (mg) das frações de MGCD

3.5 Estudo químico do extrato dos galhos de *G. convergens*

3.5.1 Fracionamento cromatográfico do extrato obtido em hexano (HGGC)

O extrato hexânico (HGGC) foi fracionado por cromatografia em coluna de sílica gel (tipo filtrante), utilizando como eluentes, solventes em ordem crescente de polaridade, conforme mostra o esquema 8. As frações obtidas desta coluna foram reunidas com base nas análises em CCD, as massas e das frações são observados no gráfico 4. A fração 11 (HGGC-11), similar a fração 12 (HGGC-12), apresentou apenas uma mancha de cor violeta com o mesmo r_f do β -sitosterol (substância **5**, 400 mg). Nas frações 17 (HGGC-17) e 22 (HGGC-22), após tratamento em solventes orgânicos foram obtidas as substâncias **6** e **7** com 132 mg e 75 mg, respectivamente.

Esquema 8. Fracionamento cromatográfico de HGGC e purificação das substâncias 5-7

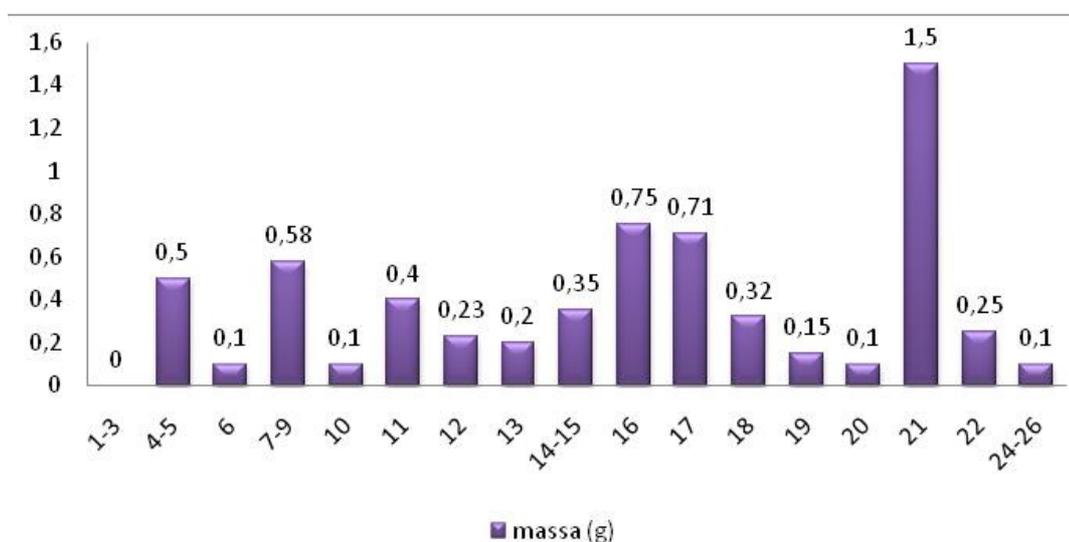
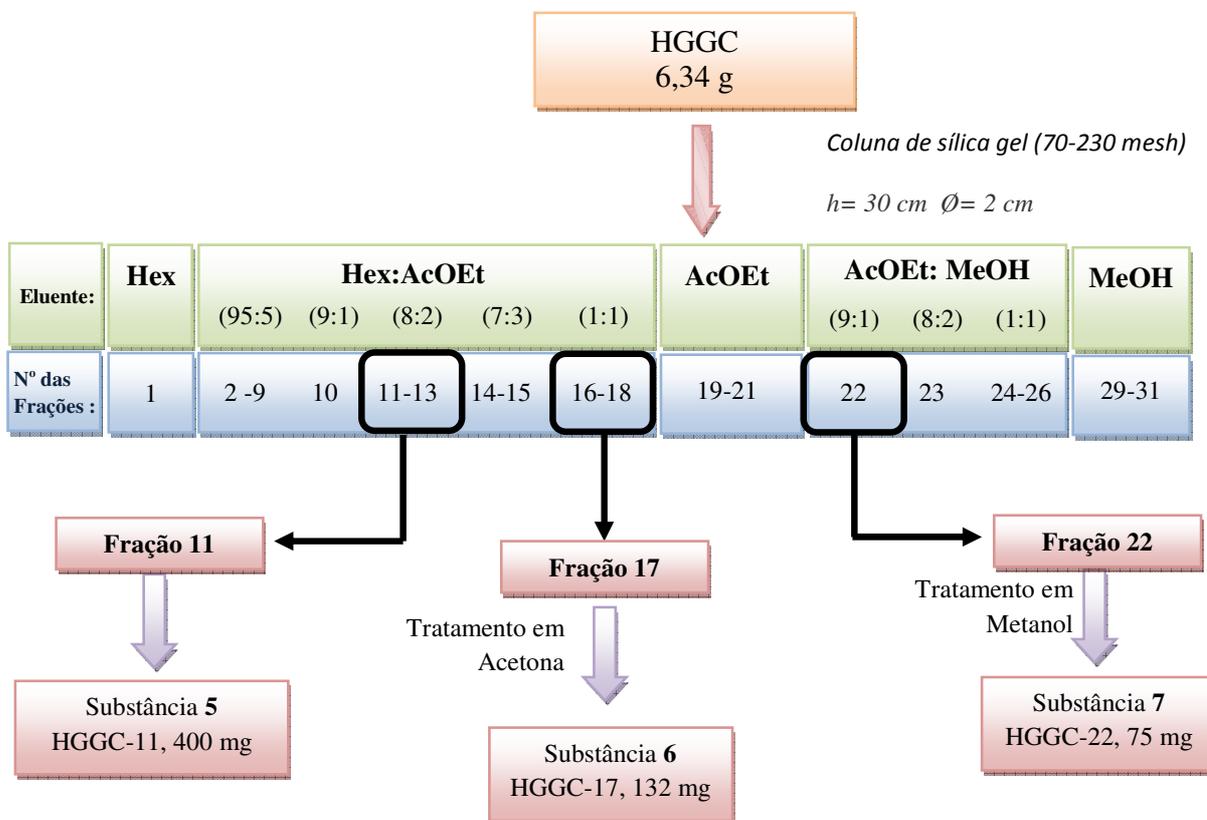
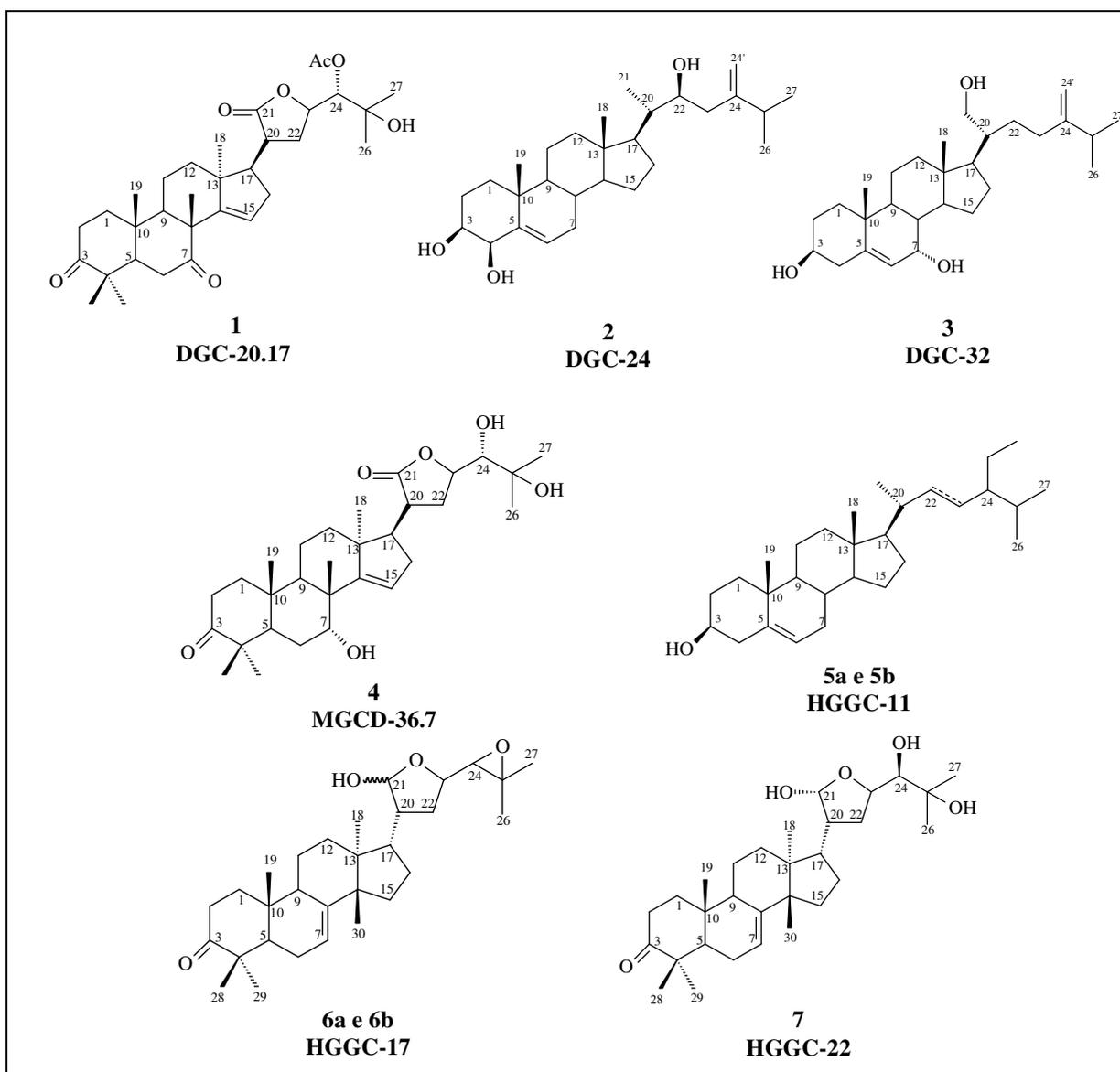


Grafico 4. Massas (g) das frações de HGGC

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As substâncias isoladas apresentaram-se como sólidos brancos, cristalinos e em análise por CCD mostraram mancha violeta após revelação em vanilina sulfúrica. A caracterização das substâncias foi realizada através de técnicas de RMN e comparação com a literatura, as quais indicaram sinais característicos de esteróides (**2**, **3** e **5**), triterpenos dos tipos apotirucalano (**1** e **4**) e tirucalano (**6a**, **6b** e **7**) (quadro 14).



Quadro 11. Estruturas das substâncias isoladas de *G. convergens*

4.1. Identificação dos esteróides: Substâncias **2** (DGC-24), **3** (DGC-32) e **5** (HGGC-11)

O espectro de RMN de ^1H de **2** (figura 6, tabela 18) mostrou sinais característicos de esteróide com esqueleto do tipo ergostano devido a presença de dupla ligação endocíclica em δ 5,63 (dd; 5,2 e 2,0 Hz), duas metilas como singletos (δ 0,75 e 1,19) e três como dubletos (δ 1,06-0,97). Sinais de três hidrogênios ligados a carbinólicos foram verificados em δ 4,05 (d), 3,83 (ddd) e 3,46 (dt), atribuídos a H-4, H-22 e H-3, respectivamente. O espectro mostrou ainda sinal típico de metileno terminal em 4,83 como um singlete largo. No experimento COSY (figura 7) ficou evidenciado o acoplamento entre os hidrogênios oximetínicos δ 4,05 (H-4) e 3,46 (H-3) e entre o hidrogênio da dupla endocíclica δ 5,63 (H-6) com o grupo metilênico δ 2,11 e 1,60 H-7.

O espectro de RMN de ^{13}C (figura 8, tabela 19) confirmou a presença dos carbinólicos devido os deslocamentos em δ 73,8, δ 78,5 e δ 72,4. No experimento de HSQC (figura 9, tabela 20), observou-se as correlações entre os hidrogênios ligados aos carbonos carbinólicos δ 3,46 \rightarrow 73,8; 4,05 \rightarrow 78,5 e 3,82 \rightarrow 72,4; metilas em singletos δ 0,75 \rightarrow 12,3; 1,19 \rightarrow 21,5 e em dubletos 0,97 \rightarrow 12,9; 1,05 \rightarrow 22,6 e 1,06 \rightarrow 22,1; metileno terminal em δ 4,83 \rightarrow 109,0 e para dupla ligação a correlação entre δ 5,63 \rightarrow 128,5.

Com o auxílio do mapa de correlação HMBC (figura 10, tabela 20), uma hidroxila posicionada em C-4 é justificada pela correlação a J^3 entre H-6 (δ 5,63) e C-4 (δ 78,5). Outras correlações de hidrogênios oximetínicos foram verificadas entre δ 4,05 (H-4) com δ 144,4 (C-5), δ 128,5 (C-6) e 73,8 (C-3) e na cadeia lateral o posicionamento foi justificado pela correlação entre δ 0,97 (Me-21) com os carbonos em δ 43,7 (C-20; J^2), 72,4 (C-22; J^2) e 54,6 (C-17; J^3)

A estereoquímica dos dois grupos hidroxílicos no anel A foi deduzido pela constante de acoplamento grande de H-3, sugerindo a hidroxila em C-3, em equatorial (β), no entanto o hidrogênio 4 com $J = 3,2$ Hz justifica a hidroxila 4 em axial (β). Ou seja, as constantes de acoplamento entre hidrogênios axial-equatorial em anéis de 6 membros são em torno 2 a 3 Hz. Com relação à disposição da hidroxila da cadeia lateral, os dados foram comparados com derivado ergostano, 22S-5 α -ergostano-3 α ,22diol (BARRERO et al., 1993) cujo deslocamento de C-23 foi similar (δ 39,4). LETOURNEUX et al., (1974) mostram que a magnitude dos efeitos β é totalmente diferente entre os esteróides 22S e 22R e que a diferença de deslocamento químicos de C-23 é mais pronunciada nas duas séries, para os compostos S o deslocamento é de δ 30,5-34,20 e R em δ 25,4-27,6. Neste contexto a substância **2** foi identificada como Ergosta-5,24-dieno-3 β ,4 β ,22S-triol.

Esse esteróide foi identificado apenas em 2 espécies de Meliaceae, *Trichilia reticulata* e *T. pallida*. Na primeira espécie o esteróide apresenta configuração 22R (HARDING et al., 2001b) em *T. pallida* a configuração não foi atribuída (ROCHA, 2004).

A análise do espectro de RMN de ^1H (figura 11, tabela 18) de **3** mostrou similaridade com o espectro da substância **2** no entanto indicou a ausência de uma metila em dubleto. Esta informação associada com a presença de 2 sinais em δ 3,72 dl e 3,56 dd (10,8 e 5,2 Hz) sugeriu que a substância possui um álcool primário em C-21. Os demais hidrogênios oximetínicos foram detectados em δ 3,50 como multipeto e em δ 3,76 dd (5,2 e 3,6 Hz). No espectro de COSY (figura 12), o acoplamento entre esse último hidrogênio com o da dupla endocíclica δ 5,54 (H-6) é compatível com a presença de hidroxila na posição 7. Quanto à estereoquímica em C-7, o H-8 é

β -axial (baseado na biogenética), assim a constante pequena de H-8 com H-7 ($J_{ax.eq} = 3,6$ Hz), indicou a presença de um grupo α -hidroxi em C-7.

Os deslocamentos do RMN de ^{13}C dos anéis (figura 13, tabela 19) foram comparados com o 7α -hidroxistosterol, modelo II cujo deslocamento em δ 65,9 confirma o grupo 7α -hidroxi. (GUERRIEIRO et al., 1993), de acordo com esses autores o deslocamento químico de C-7 para o 7β -hidroxistosterol é δ 73,3. Com relação à cadeia lateral de **3** os dados foram similares aos relatados para esteroide (20R)-24-metilenocolest-5-eno- 3β ,21-diol (D'AURIA et al., 1984).

No experimento de HSQC (figura 14, tabela 21), a presença de dois hidrogênios correlacionado com o mesmo carbono foram verificadas em δ 3,56 dd e 3,72 com o carbono carbinólico em δ 63,1 e dos hidrogênios δ 4,72 e 4,69 com o carbono do metileno terminal δ 106,8. Correlações importantes para a confirmação da cadeia lateral foram observadas no HMBC (figura 15, tabela 21) entre os hidrogênios das metilas em dubleto δ 1,02 e 1,04 com o carbono olefínico em δ 157,9. Os hidrogênios do metileno terminal δ 4,72 e 4,69 correlacionaram com δ 157,9 (C-24), 34,9 (C-25) e 32,5 (C-23) e os oximetilênicos (δ 3,56 e 3,72) com os carbonos em δ 51,7 (C-17), 43,5 (C-20) e 29,3 (C-22).

Os dados espectrais da substância **3** permitiu propor a estrutura como Ergosta-5,24-dieno- 3β , 7α ,21-triol. Com base na busca efetuada no Banco de Dados do Scifinder Scholar, não há relatos prévios sobre esse esteroide. Esse também é o primeiro registro de esteroide C-21 oxigenado em Meliaceae.

O espectro de RMN de ^1H de **5** mostrou sinais compatíveis para mistura dos esteróides β -sitosterol (5a) e estigmasterol (5b), devido a presença de sinais de hidrogênio de dupla ligação endocíclica em δ 5,35 como dubleto largo (H-5) presente nos 2 esteróides, além dos sinais com

menores intensidades em δ 5,18 (*dd*, 15,2 e 8,0 Hz) e 5,04 (*dd*, 15,2 e 8,4 Hz) referente aos hidrogênios da dupla ligação em H-23 e H-22 do estigmasterol (figura 16). O hidrogênio oxometínico foi verificado em δ 3,56 como multipeto (H-3). A mistura desses fitoesteróides é comum em Meliaceae e outras famílias da ordem Rutales.

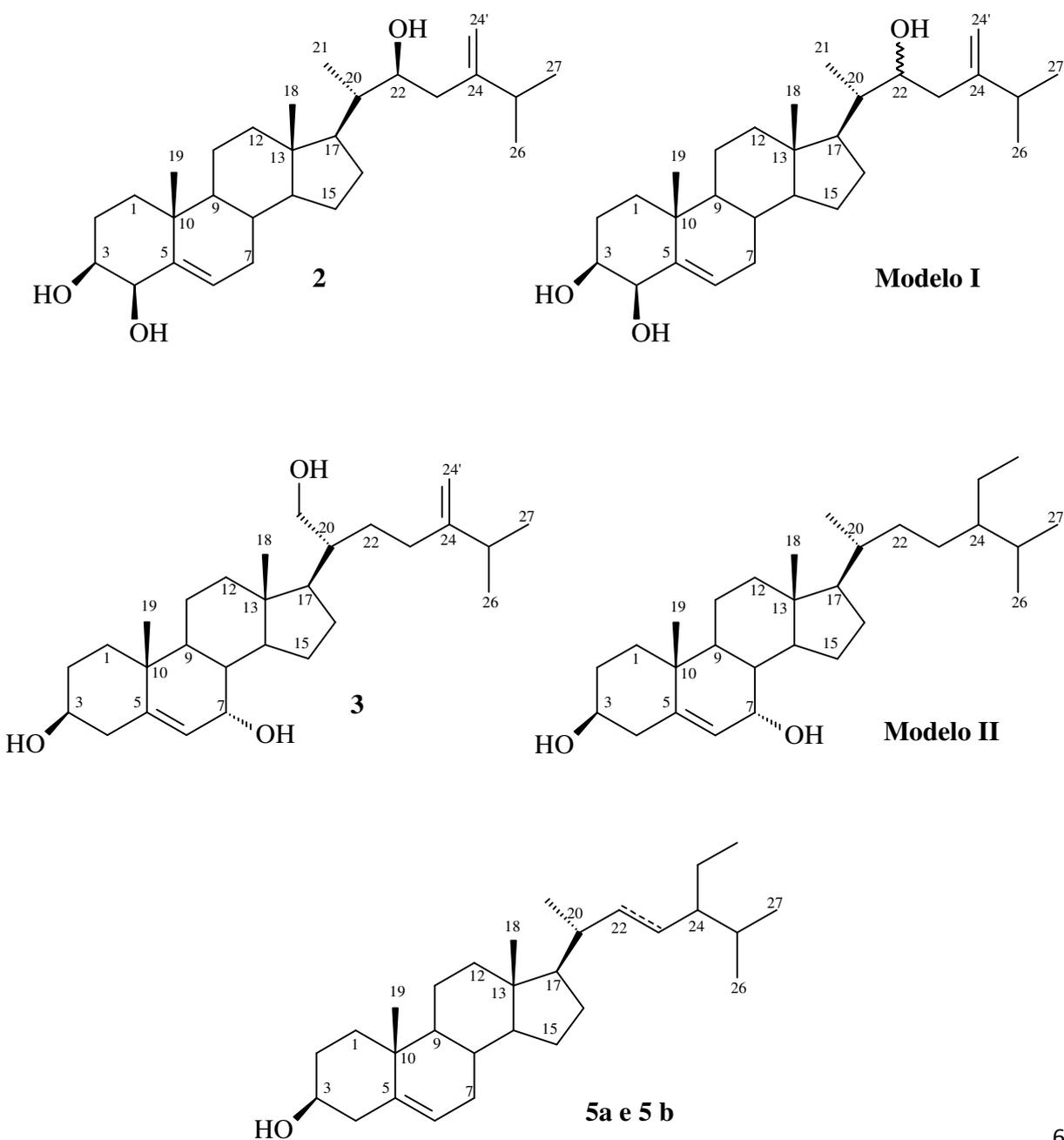


Tabela 18. Dados de RMN ^1H (400 MHz, MeOD) das substâncias **2** e **3**

Posição	2	3
1	1,85 e 1,08 m	1,87 e 1,15 m
2	1,99 e 1,57 m	2,02 e 1,54 m
3	3,46 dt (11,6; 4,0 Hz)	3,50 m
4	4,05 d (3,2 Hz)	2,27 e 2,24 m
6	5,63 dd (5,2 e 2,0 Hz)	5,54 d (5,2 Hz)
7	2,11 e 1,60 m	3,76 dd (5,2 e 3,6 Hz)
18	0,75 s	0,78 s
19	1,19 s	1,00 s
20	1,72 m	1,57 m
21	0,97 d (6,8 Hz)	3,56 dd (10,8 e 5,2 Hz; H-21a) 3,72 dl (H-21b)
22	3,82 ddd (10,8; 3,2 e 2,0 Hz)	1,64 e 1,44 m
23	2,16, 1,94 m	2,18, 1,79 m
24'	4,83 sl	4,72 e 4,69 sl
25	2,28 hept	2,27 m
26	1,05 d (6,8 Hz)	1,02 d (6,8 Hz)
27	1,06 d (6,8 Hz)	1,04 d (6,8 Hz)

Tabela 19. Dados de RMN ^{13}C (100 MHz, MeOD) das substâncias **2**, **3** e dados da literatura

Posição	2	3	Modelo I *	Modelo II**
			(100 MHz, CDCl_3)	(75 MHz, CDCl_3)
1	38,6	38,1	36,9	37,0
2	25,8	31,9	25,3	31,3
3	73,8	72,0	72,9	71,3
4	78,5	43,4	77,2	42,0
5	144,4	146,7	142,8	146,2
6	128,5	125,0	128,6	123,8
7	33,3	65,9	32,0	65,3
8	32,2	38,5	31,8	37,5
9	51,9	42,1	50,2	42,2
10	37,3	40,0	36,0	37,4
11	21,7	21,5	20,5	20,7
12	41,1	39,0	35,9	39,1
13	43,8	43,1	42,7	42,1
14	58,0	50,6	56,5	49,4
15	25,4	25,0	24,3	24,3
16	28,7	28,5	27,4	28,2
17	54,6	51,7	52,9	55,6
18	12,3	12,4	11,8	11,6
19	21,5	18,6	21,0	18,2
20	43,7	43,5	40,5	36,2
21	12,9	63,1	12,4	18,8
22	72,4	29,3	69,9	33,9
23	36,3	32,5	39,6	26,1
24	154,8	157,9	153,3	46,0
24'	109,0	106,8	109,7	29,0
25	34,5	34,9	33,1	19,6
26	22,6	22,5	22,5	19,0
27	22,1	22,0	22,4	23,0
28	-	-	-	12,3

*ROCHA (2004); **(GUERRIERO ET AL.1993)

Tabela 20. Dados de HSQC e HMBC (400/100 MHz, MeOD) da substância **2**

Posição	HSQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C}	J^2	J^3
3	3,46	73,8	78,5; 25,8	
4	4,05	78,5	144,4; 73,8	128,5; 37,3; 25,8
6	5,63	128,5	144,4; 33,3	78,5; 33,2; 37,3
7	2,11 e 1,60	33,3	128,5; 32,2	144,4; 51,9; 58,0
18	0,75	12,3	43,8	58,0; 41,1; 54,6
19	1,19	21,5	37,1	51,9; 38,6; 144,4
21	0,97	12,9	43,7	54,6; 72,4
22	3,82	72,4		12,9
24'	4,83	109,0	154,8	34,5; 36,3
25	2,28	34,5	154,8; 22,6; 22,1	109,0
26	1,05	22,6	34,5	154,8; 22,1
27	1,06	22,1	34,5	154,8; 22,6

Tabela 21. Dados de HSQC e HMBC (400/100 MHz, MeOD) da substância **3**

Posição	HSQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C}	J^2	J^3
1	1,87 e 1,15	38,1	31,9	18,6; 38,5; 72,0 e 146,7
3	3,50	72,0		
6	5,54	125,0	65,9	43,4 e 38,5
7	3,76	65,9	125,0	146,7
18	0,78	12,4	43,1	51,7; 50,6 e 39,0
19	1,00	18,6	40,0	146,7 e 42,1
21	3,72 e 3,56	63,1	43,5	29,3 e 51,7
24'	4,72 e 4,69	106,8	157,9	34,9 e 32,5
25	2,27	34,9	157,9; 22,5 e 22,0	32,5
26	1,02	22,5	34,9	157,9
27	1,04	22,0	34,9	157,9

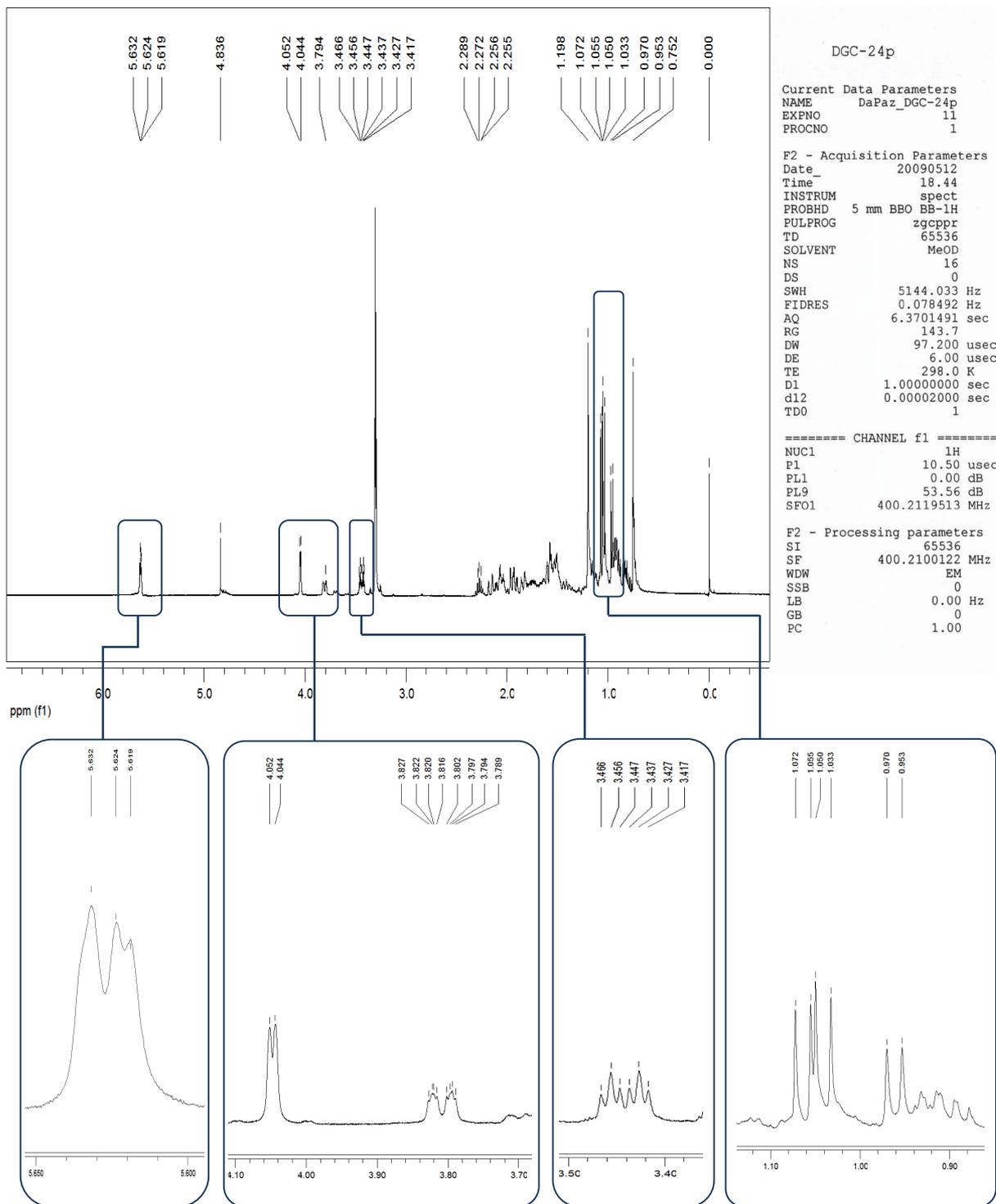


Figura 6. Espectro de RMN de ^1H (400MHz, MeOD) da substância **2** e ampliação do espectro nas regiões de δ 5,65-0,90

DGC-24P

Current Data Parameters
NAME DaPaZ_DGC-24p
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date 20080508
Time 20.38

INSTRUM spect
PROBHD 5 mm Multisid
PULPROG zgpg30
TD 4096
SOLVENT MeOD
NS 16
DS 16
SWH 5144.033 Hz
FIDRES 25.9587 Hz
AQ 0.392872 sec
RG 258
DW 97.200 usec
DE 10.00 usec
TE 295.0 K
d0 0.0000000 sec
d1 0.0000000 sec
d11 0.0000000 sec
d12 0.0002000 sec
d16 0.0002000 sec
IN0 0.00019440 sec

===== CHANNEL F1 =====
NUC1 1H
P1 8.00 usec
PL1 0.00 dB
PL2 0.00 dB
PL3 60.00 dB
SFO1 400.2135205 MHz

===== GRADIENT CHANNEL =====
GRNAM3 SINE 100
GRPA3 SINE 100
GPZ3 10.00 %
GPZ2 10.00 %
PTB 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
NUC 1H
TD 200
SFO1 400.2135 MHz
FIDRES 25.720163 Hz
SW 12.853 ppm
FWDI 0
FMODE QF

F2 - Processing parameters
SI 1024
SF 400.2115853 MHz
WDW SINE
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.46

F1 - Processing parameters
SI 1024
MC2 QF
WDW SINE
SSB 0
LB 0.00 Hz
GB 0

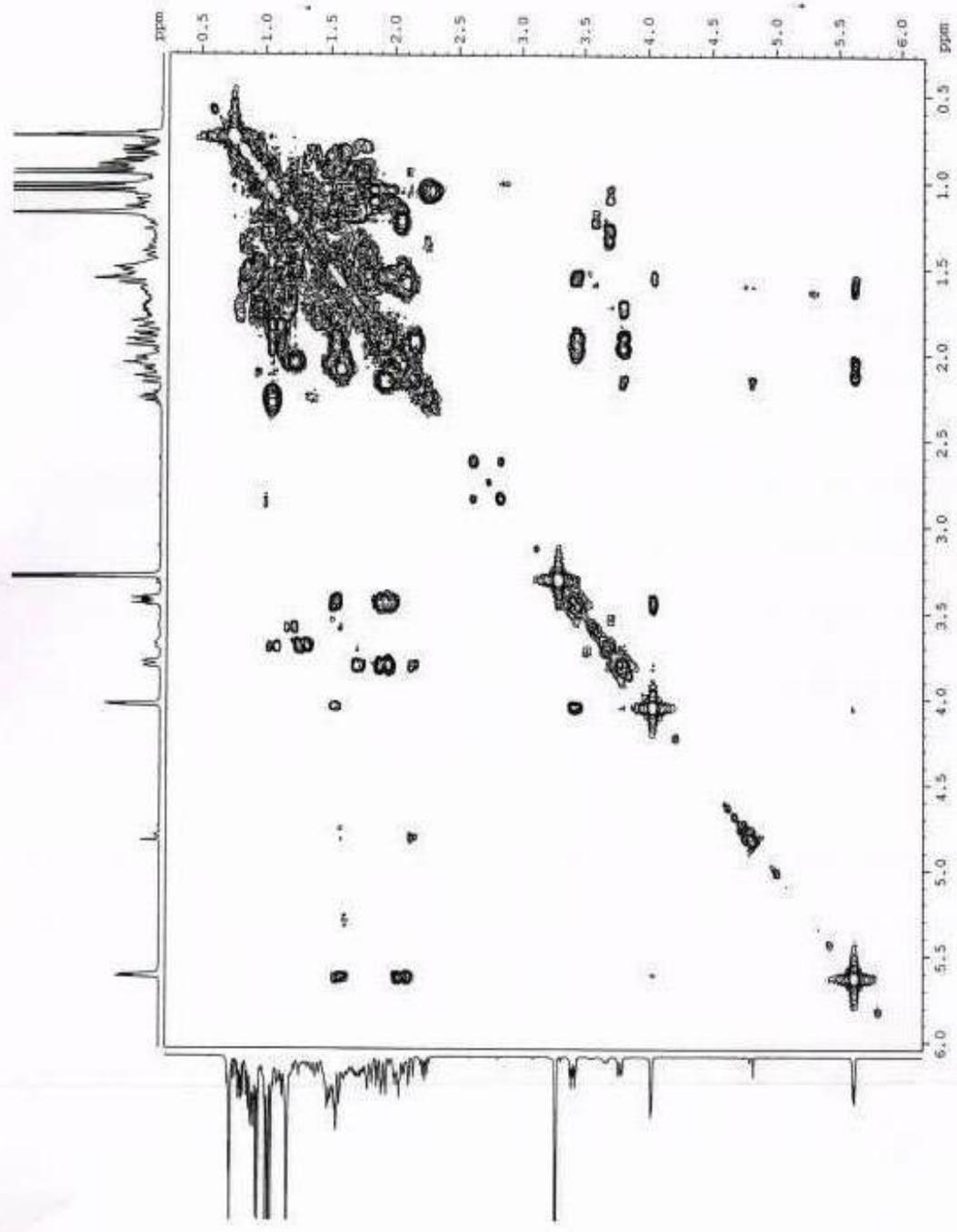


Figura 7. Espectro de COSY (400MHz, MeOD) da substância 2

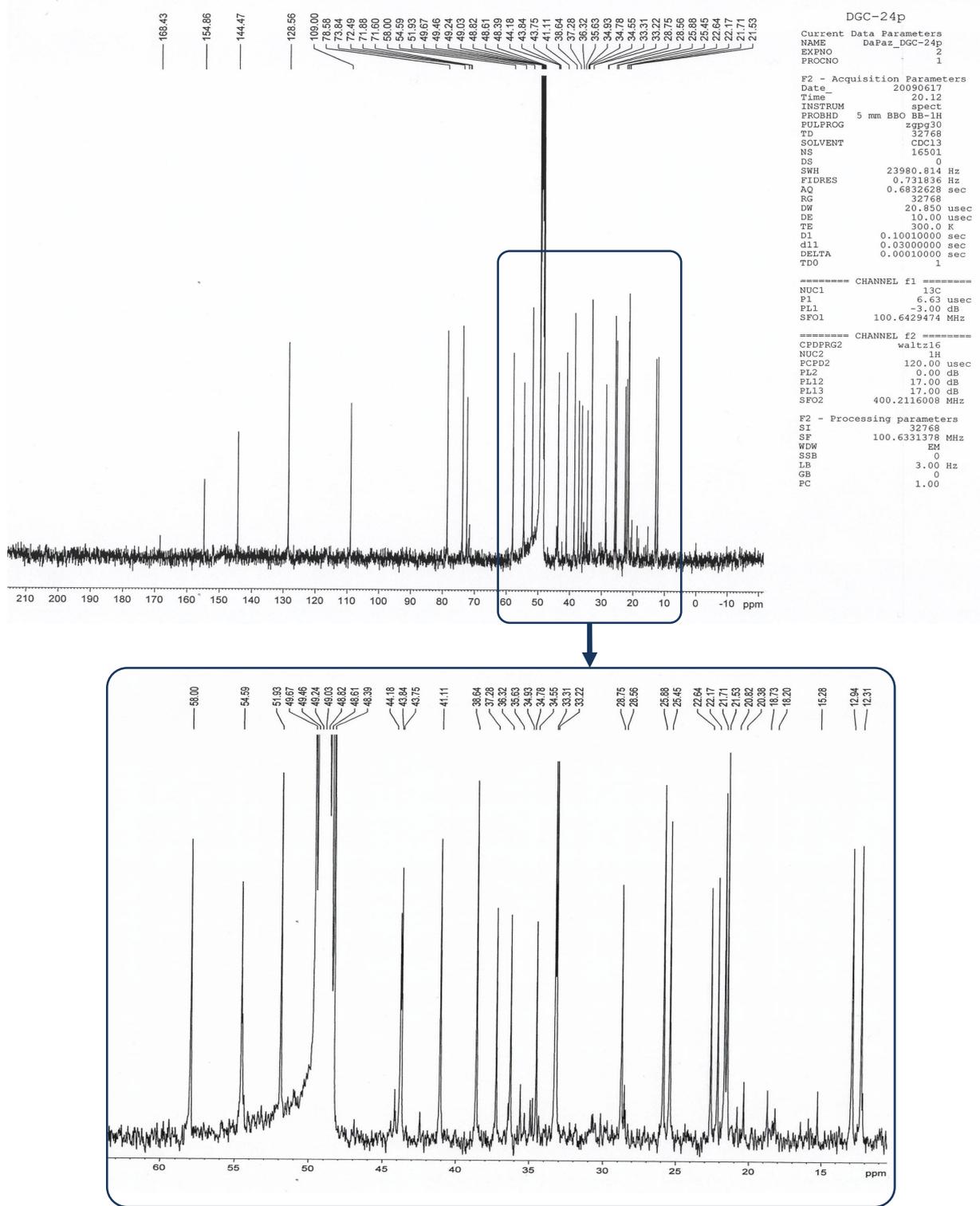


Figura 8. Espectro de RMN de ^{13}C (100MHz, MeOD) da substância **2** e ampliação do espectro na região de δ 60-10

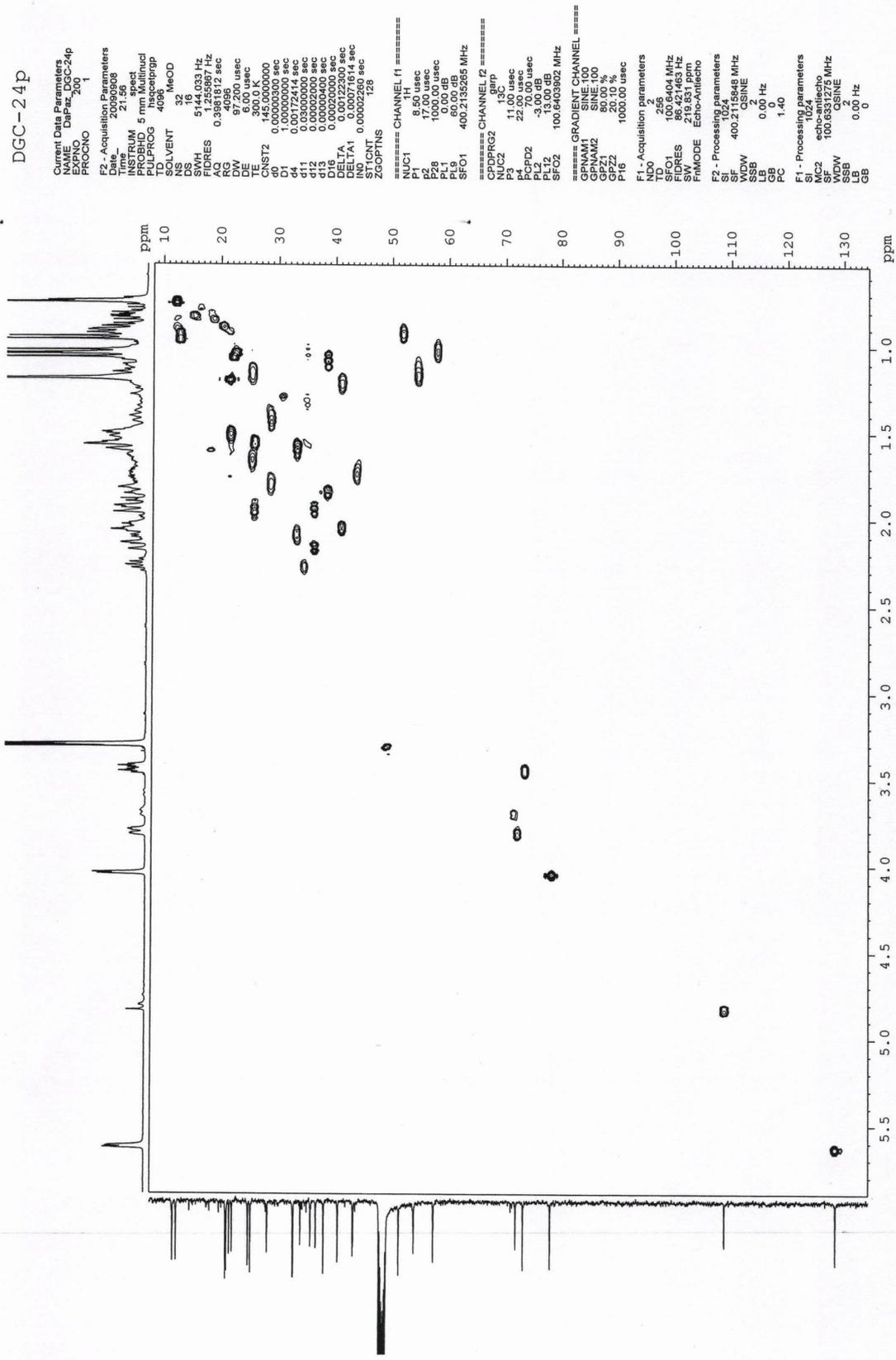


Figura 9. Espectro de HSQC (400/100 MHz, MeOD) da substância 2

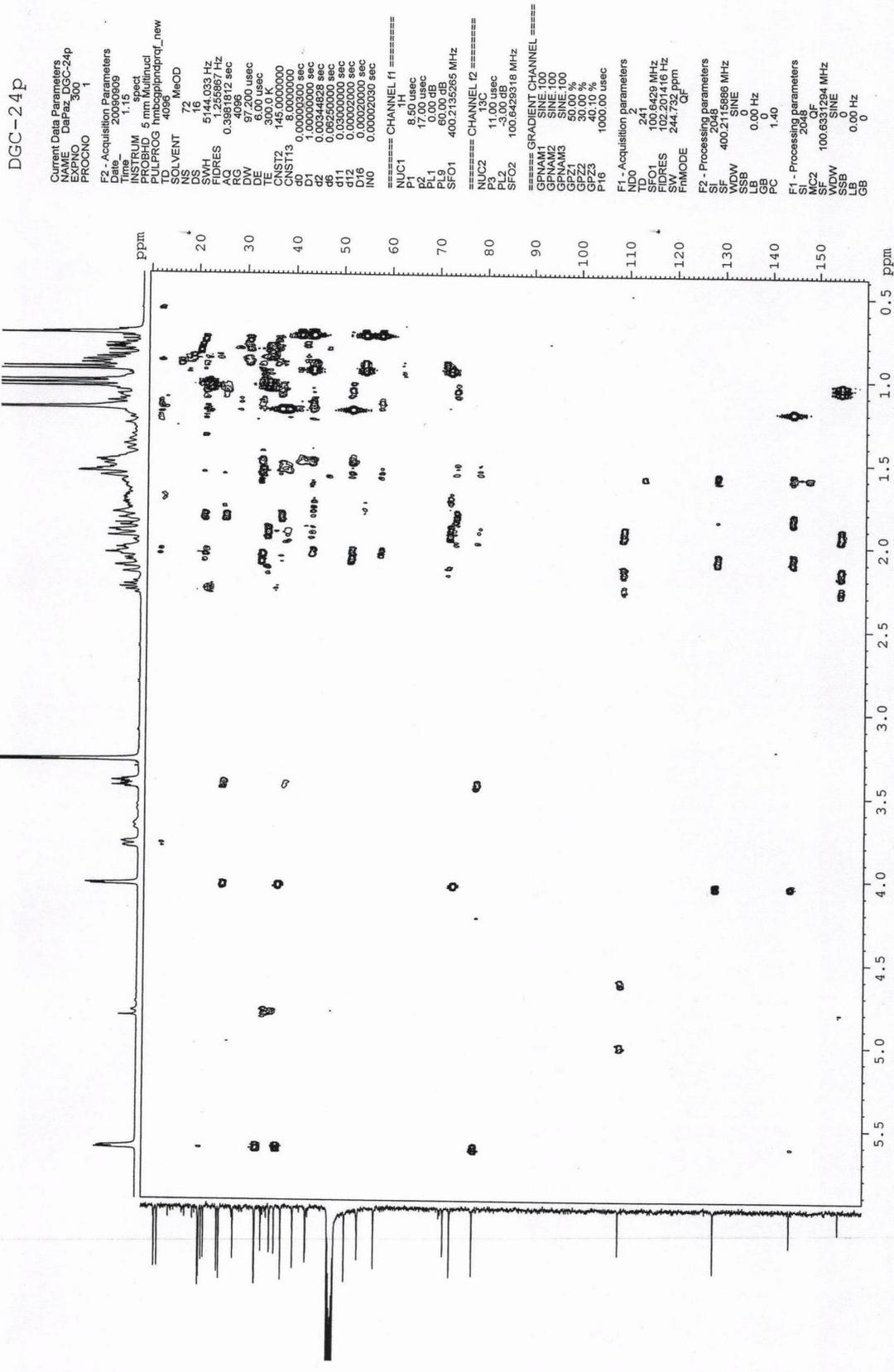


Figura 10. Espectro de HMBNMR (400/100 MHz, MeOD) da substância 2

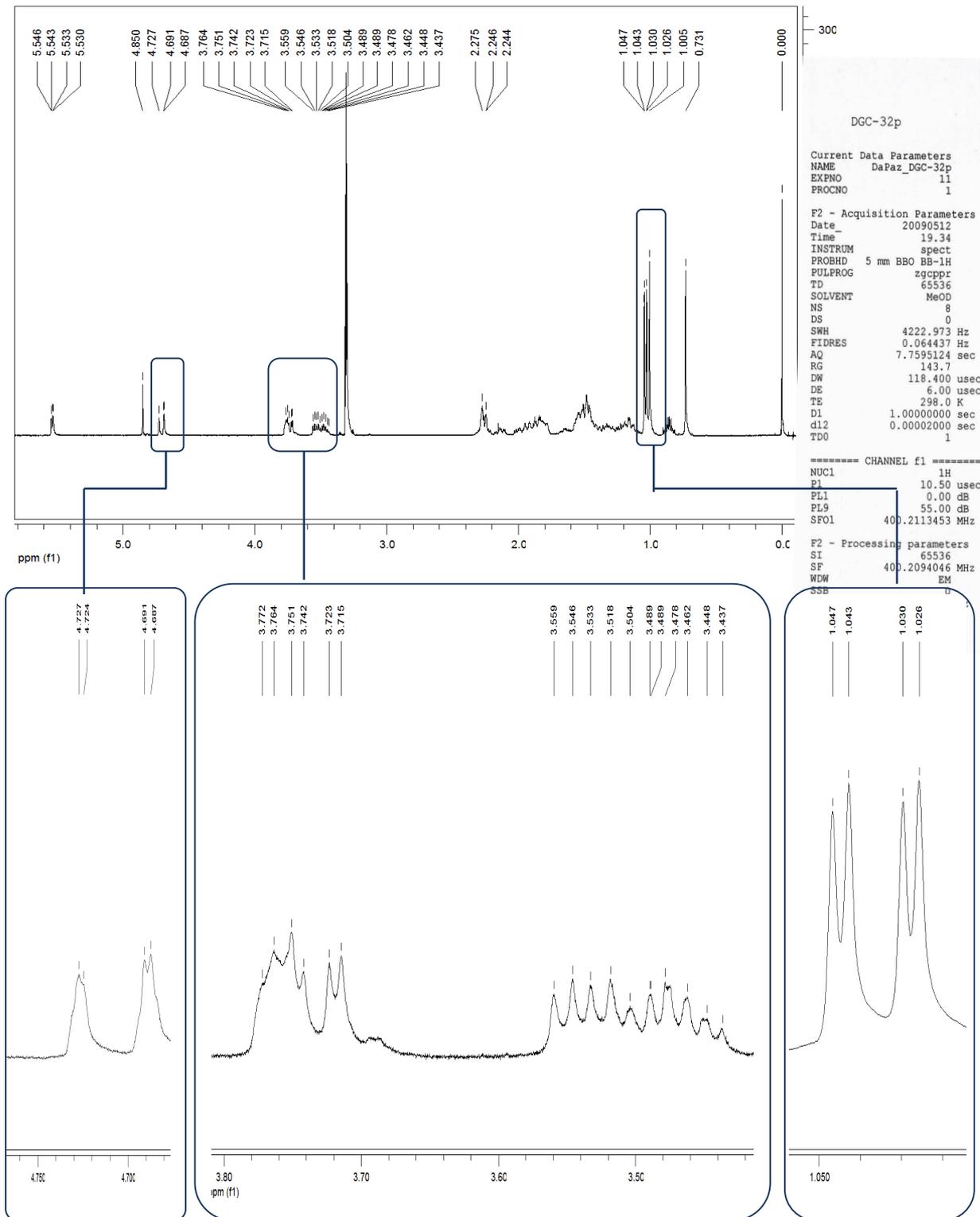


Figura 11. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) e da substância **3** e ampliação do espectro nas regiões de δ 4,75- 3,40 e δ 1,05-1,0

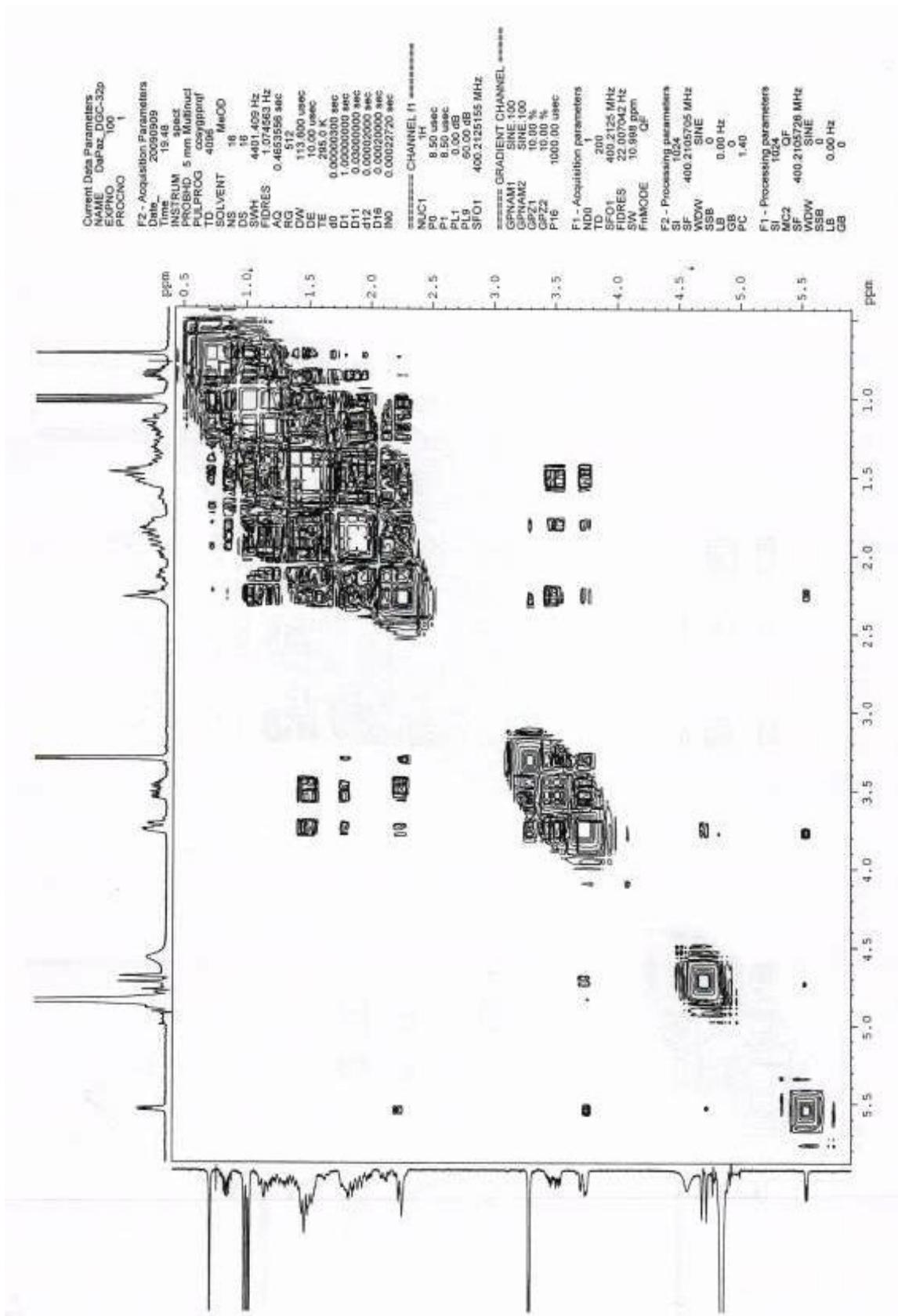


Figura 12. Espectro de COSY (400 MHz, MeOD) da substância 3

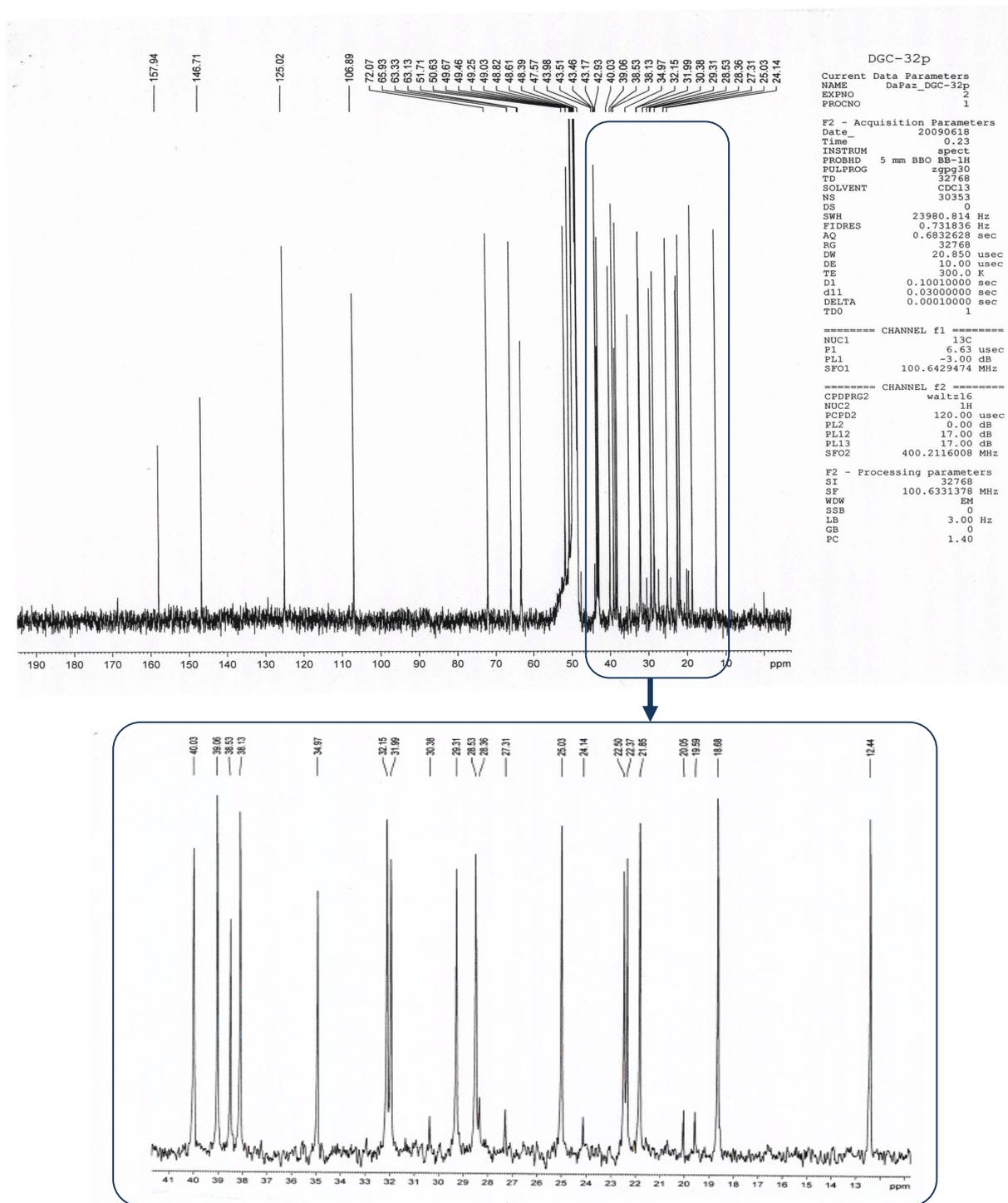


Figura 13. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, MeOD) e ampliação do espectro na região de δ 40-12 da substância **3**

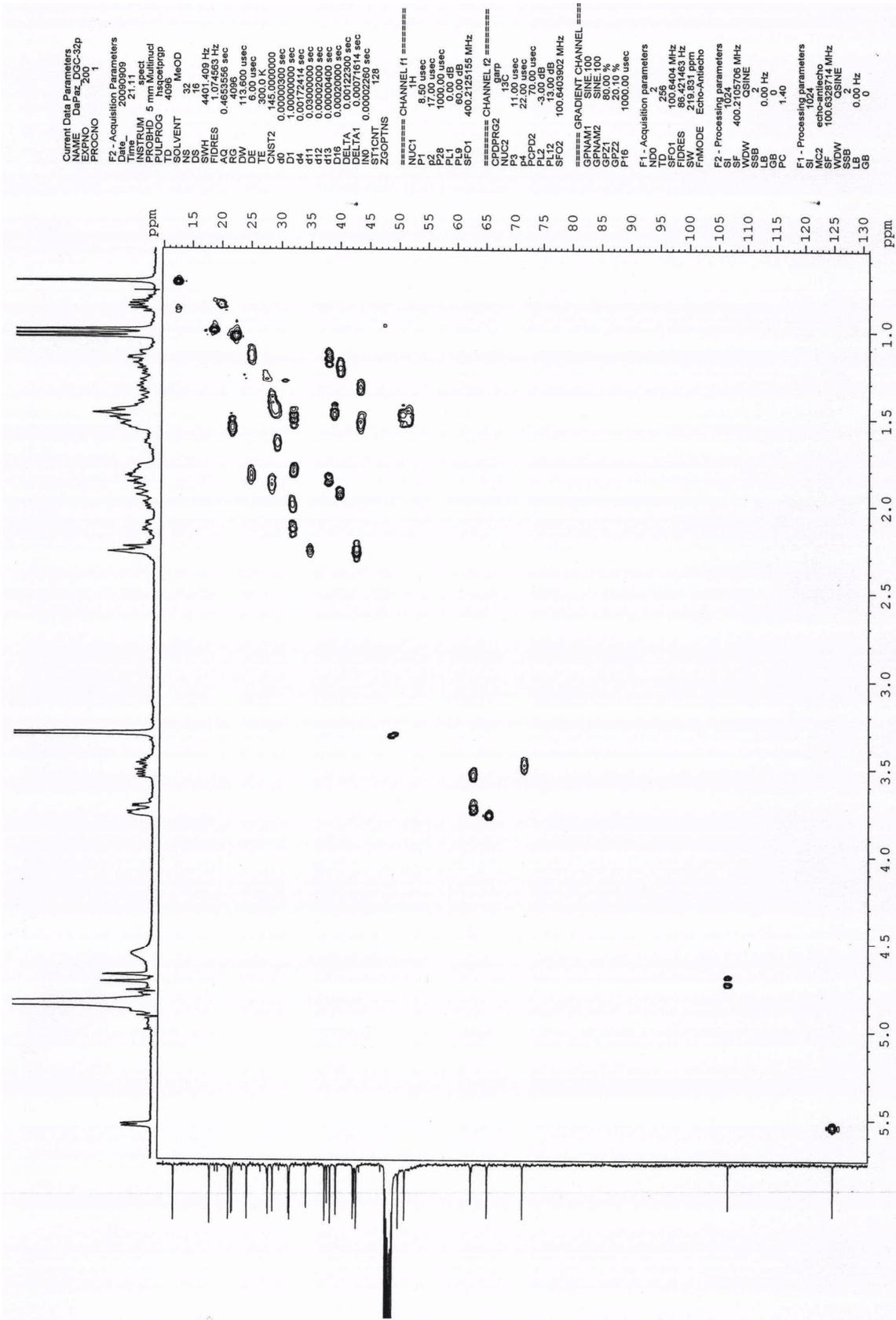


Figura 14. Espectro de HSQC (400/100 MHz, MeOD) da substância 3

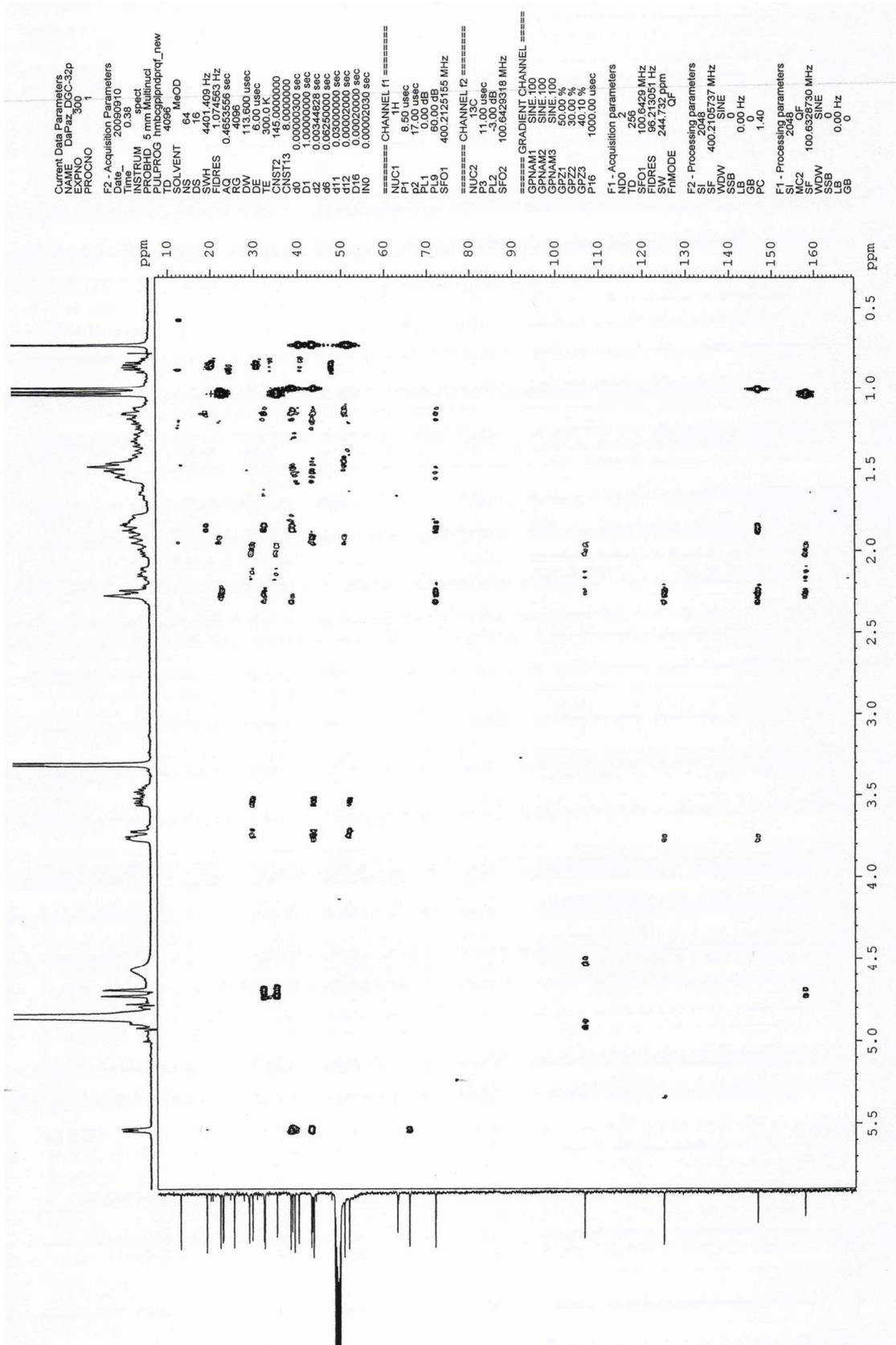


Figura 15. Espectro de HMBC (400/100 MHz, MeOD) da substância 3

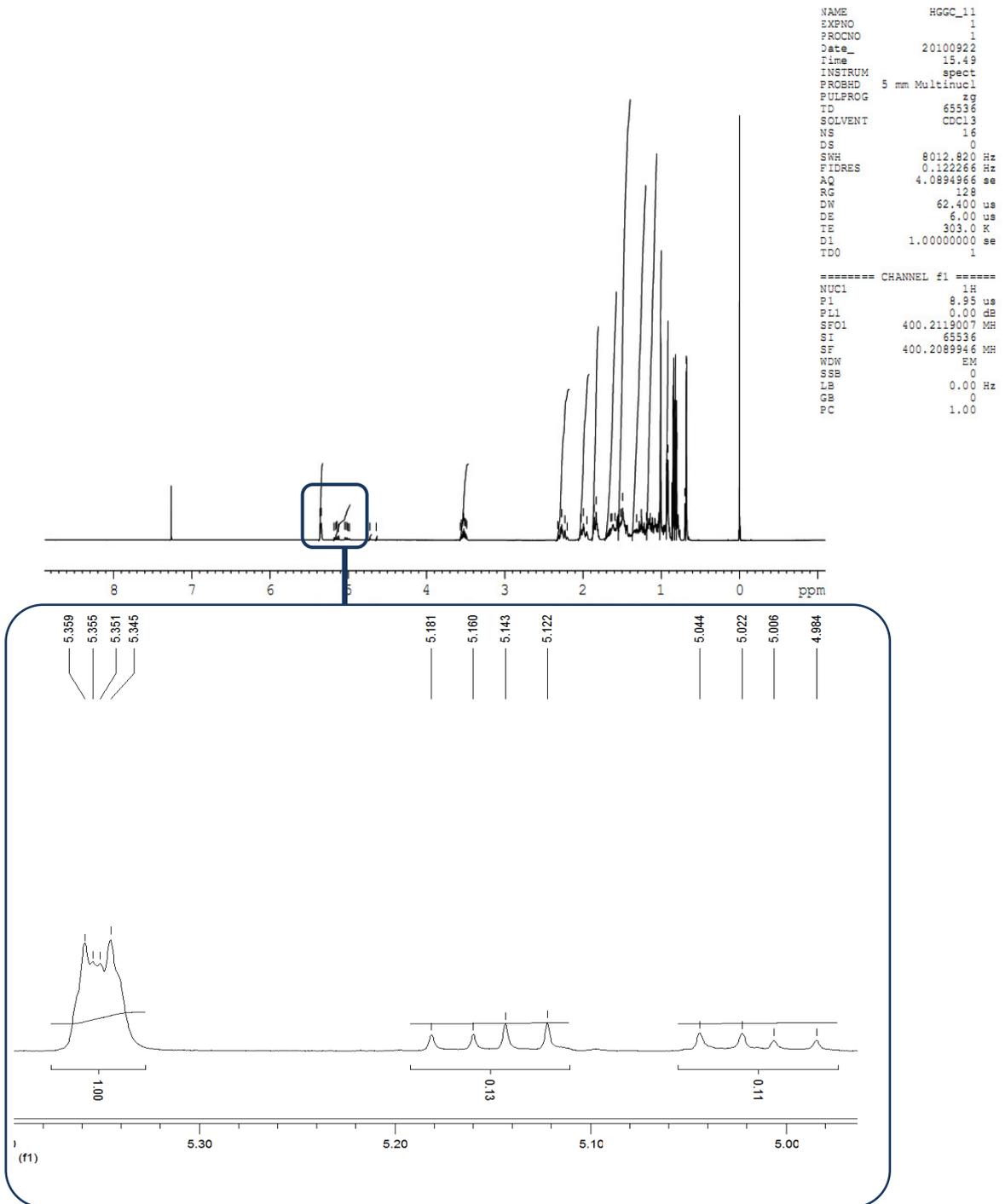


Figura 16. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da mistura de substâncias **5a,b** e ampliação do espectro nas regiões de δ 5,36-4,98

4.2. Identificação dos triterpenos do tipo apotirucalano: Substâncias **1** (DGC-20.17) e **4** (MGCD-36.7)

No espectro de RMN de ^1H da substância **1** (figura 17, tabela 22) mostrou sinal de dupla olefínica em δ 5,86 ($J = 2,4$ Hz) como dubleto largo atribuído à H-15, sete metilas em singletos na região mais blindada do espectro (δ 1,38-0,99) além de uma metila de grupo acetoxila em δ 2,17, dois hidrogênios metínicos oxigenados em δ 4,78 ddd (10,0, 6,0 e 3,2 Hz) e δ 4,88 d (3,2 Hz), atribuídos à H-23 e H-24, respectivamente.

O espectro de COSY (figura 18) mostrou os acoplamentos entre esse dois hidrogênios metínicos oxigenados e entre o hidrogênio olefínico em δ 5,86 (H-15) e os hidrogênios metilênicos em δ 2,23 e 2,12 (H-16).

Os dados observados no espectro de RMN de ^{13}C de **1** (figura 19, tabela 23) são característicos de triterpeno do tipo apotirucalano devido a ligação dupla endocíclica em δ 152,0 (C-14) e δ 125,7 (C-15). Quatro carbonos carbonílico, característicos de cetona δ 215,1 (C-3) e 210,4 (C-7), lactona δ 177,2 (C-21) e de acetoxila δ 170,7 foram detectados no espectro.

Nos mapas de contorno HSQC (figura 20, tabela 24) mostrou as correlações dos hidrogênios metínicos oxigenados da cadeia lateral δ 4,78 \rightarrow 75,6 e δ 4,88 \rightarrow 76,7. No espectro de HMBC dessa substância (figura 21, tabela 24) as seguintes correlações foram importantes para elucidação da cadeia lateral: os hidrogênios oximetínico em δ 4,78 (H-23) com δ 76,7 (C-24), 72,2 (C-25), 30,7 (C-22) e δ 4,78 com δ 170,7 (OAc), 72,2 (C-25), 30,7 (C-22) e 27,3 (Me-27). Os hidrogênios metilênicos em δ 2,36 e 1,89 (H-22) e os metínicos δ 2,21 (H-17) e 2,76 (H-20) mostraram correlações com δ 177,2 (carbono da lactona de 5 membros).

Com relação à configuração de C-24, a literatura tem mostrado com base em experimentos ROESY e NOESY que triterpenos com cadeia lateral similar a **1** apresentam constante de acoplamento pequena entre H-23 e H-24, indicativo de H-24 β -orientado (XIE et al., 2007; OMOBUWAJO et al., 1996). Para configuração C-24-S, $J_{23,24}$ são relatadas em torno de 6,6 à 10,0 Hz (MULHOLLAND et al., 1999; SU et al., 2006) Assim, os dados espectrais permitiram elucidar a substância **1**, relatada pela primeira vez como 24R-Acetoxi,25-hidroxi-3,7-dioxo-apotirucala-14-en-21,23-olideo.

O espectros de RMN de ^1H das substâncias **4** (figura 22, tabela 22) apresentou sinais similares aos da substância **1**, apresentando sinais típicos de dupla ligação endocíclica (H-15) como dubleto em δ 5,51 ($J = 2,8$ Hz), sete metilas na região entre δ 1,31-1,02 e hidrogênios oximetínicos em δ 4,65 (ddd), 3,28 (sl) e 3,97 (tl) atribuídos à H-23, H-24 e H-7, respectivamente. No COSY (figura 23) mostra os acoplamentos entre δ 4,65 (H-23) e 3,28 (H-24) e com δ 2,43 e 2,30 (H-22). O sinal em δ 3,97 (H-7) acopla com os dois hidrogênios de H-6 (δ 1,80 e 1,61).

A principal diferença entre os espectros de RMN de ^{13}C de **4** (figura 24, tabela 23) e da substância **1** foi no carbono 7 devido a ausência de um carbono carbonílico e a presença de carbinólico em δ 72,1. O experimento HSQC de **4** (figura 25) mostra a correlação desse carbono com o hidrogênio em δ 3,97. As correlações das metilas à longa distância no HMBC (figura 26, tabela 24) foram verificadas entre δ 1,10 (Me-28) e 1,05 (Me-29) com o carbono carbonílico em δ 217,3 (C-3); δ 1,05 (Me-18) com o carbono olefinico δ 160,9 (C-14); e entre δ 1,12 (Me-30) e o carbono olefinico (δ 160,9; C-14), carbinólico (δ 72,1; C-7) e metínico (δ 44,2; C-8).

Os triterpenos com esqueleto 7α -hidroxi apotirucala-1-en-3-ona apresentando a cadeia lateral proposta para a substância **4** não foi previamente relatada, sendo essa substância nomeada como 7α , 24R,25-trihidroxi-3-oxo-apotirucala-14-en-21,23-olideo.

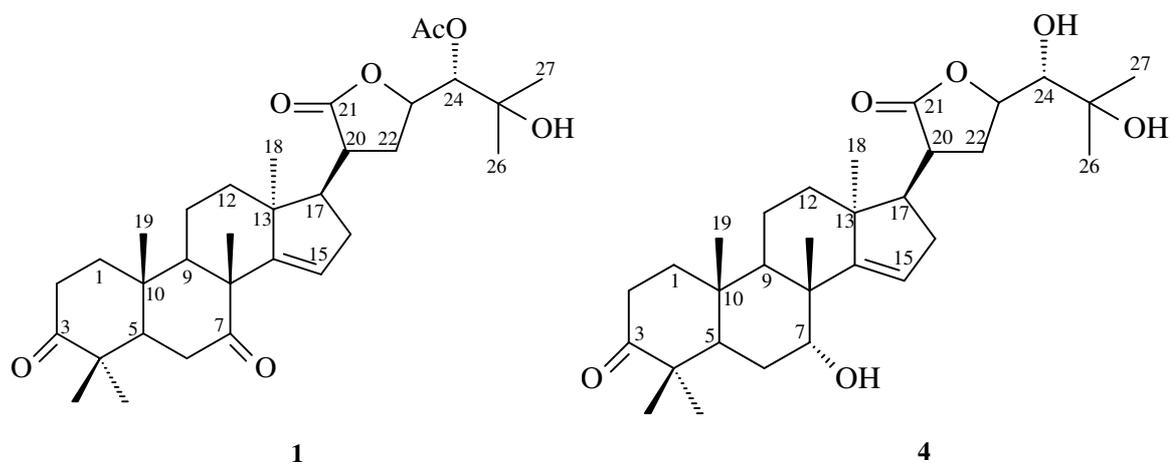


Tabela 22. Dados RMN ^1H (100 MHz, CDCl_3) das substâncias **1** e **4**

Posição	1	4
1	2,02 e 1,42 m	1,88 e 1,55 m
2	2,64 m, (H-a) 2,40 ddd (16,0, 6,4 e 3,2 Hz; H-b)	2,53 e 2,45 m
5	1,82 m	2,05 m
6	2,93 t (14 Hz; H-a) 2,32 m (H-b)	1,80 e 1,61 m
7		3,97 t (2,8 Hz)
9	1,89 m	2,05 m
11	1,72 e 1,75 m	1,72 e 1,60 m
12	2,04 e 1,55 m	1,49 e 1,44 m
15	5,86 dl (2,4 Hz)	5,51 d (2,8 Hz)
16	2,23 e 2,12 m	2,30 e 2,15 m
17	2,21 m	2,30 m
18	0,99 s	1,05 s
19	1,24 s	1,02 s
20	2,76 ddd (13,6; 8,8 e 3,2 Hz)	2,76 m
22	2,36 e 1,89 m	2,43 e 2,30 m
23	4,78 ddd (10,0; 6,0 e 3,2 Hz)	4,65 ddd (10,0; 6,0 e 2,0 Hz)
24	4,88 d (3,2 Hz)	3,28 sl
26	1,28 s	1,31 s
27	1,31 s	1,35 s
28	1,08 s	1,10 s
29	1,08 s	1,05 s
30	1,38 s	1,12 s
OAc	2,17 s	-

Tabela 23. Dados de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) das substâncias **1** e **4**

Posição	1	4
1	38,1	38,5
2	33,6	33,9
3	215,1	217,3
4	47,5	46,9
5	55,4	46,5
6	36,6	24,8
7	210,4	72,1
8	52,3	44,2
9	49,3	41,1
10	37,0	37,2
11	17,6	16,2
12	33,8	32,7
13	47,1	46,8
14	152,0	160,9
15	125,7	119,5
16	32,7	32,3
17	54,2	54,1
18	21,8	20,2
19	15,0	14,9
20	39,6	39,6
21	177,2	177,6
22	30,7	29,6
23	75,6	77,5
24	76,7	76,0
25	72,2	72,5
26	26,3	26,6
27	27,3	26,5
28	25,6	26,1
29	20,8	21,1
30	27,4	27,2
OCOCH_3	170,7	
OCOCH_3	20,8	

Tabela 24. Dados de HSQC e HMBC (400/100 MHz, CDCl₃) da substância **1**

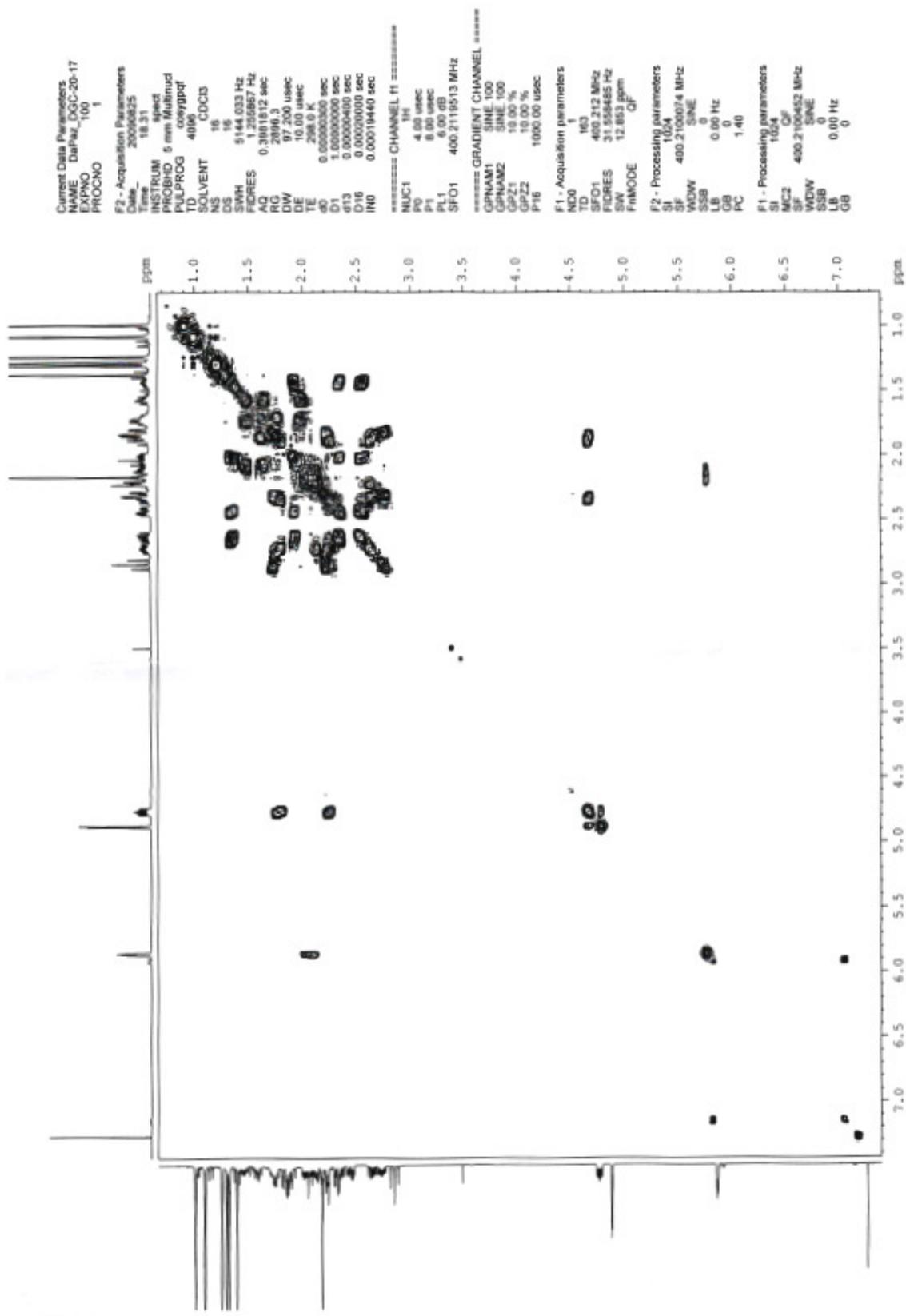
Posição	HSQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C}	J^2	J^3
1	2,02 e 1,42	38,1		215,1
2	2,40 e 2,64	33,6	215,1	47,5 e 37,1
5	1,82	55,4	-	210,4 e 15,1
6	2,93 e 2,32	36,6	210,4 e 55,4	47,5 e 37,1
9	1,89	49,3	52,3	210,4; 152,0; 15,0; 27,4
11	1,75 e 1,72	17,6	49,3	52,3
12	2,04 e 1,55	33,8	49,3 e 21,8	152,0 e 54,2
15	5,86	125,7	152,0	210,4; 54,2 e 47,1
16	2,23 e 2,12	32,7	125,7	152,0 e 47,1
17	2,21	54,2	32,7	177,2; 152,0 e 125,7
18	0,99	21,8	47,1	152,2 e 54,2
19	1,24	15,0	37,1	55,4 e 38,1
20	2,76	39,6	177,2; 54,2 e 30,7	
22	2,36 e 1,89	30,7	39,6	177,2 e 54,2
23	4,78	75,6	76,7 e 30,7	72,2
24	4,88	76,7	72,2	170,7; 30,7 e 27,3
26	1,28	26,3	72,2	76,7 e 27,3
27	1,31	27,3	72,2	76,7 e 26,3
28	1,08	25,6	47,5	215,1 e 20,8
29	1,08	20,8	47,5	215,1 e 25,6
30	1,38	27,4		210,4 e 152,0

Tabela 25. Dados de HSQC e HMBC (400/100 MHz, CDCl₃) da substância **4**

Posição	HSQC		HMBC	
	δ_{H}	δ_{C}	J^2	J^3
1	1,88 e 1,55	38,5	37,2 e 33,9	217,3; 46,5 e 14,9;
2	2,53 e 2,45	33,9	217,3 e 38,5	46,9 e 37,2
5	2,05	46,5	46,9 e 37,2	38,5; 26,1 e 21,1;
6	1,80 e 1,61	24,8	46,5	46,9; 44,2 e 38,2;
7	3,96	72,1	44,2 e 24,8	46,5 e 41,1
9	2,05	41,1	44,2 e 37,2	72,1; 46,5; 38,5; 27,2 e 14,9
11	1,72 e 1,60	16,2		44,2 e 37,2
15	5,51	119,5	160,9 e 32,3	54,1; 46,8 e 44,2
16	2,30 e 2,15	32,3	119,5 e 54,1	160,9 e 46,8
17	2,30	54,1	46,8; 39,6 e 32,3	160,9; 119,5; 32,7; 29,6 e 20,2
18	1,05	20,2		160,9; 54,1 e 32,7
19	1,02	14,9	44,2	160,9; 72,1 e 41,1
20	2,76	39,6	177,6; 54,1 e 29,6	46,8 e 32,3
22	2,43 e 2,30	29,6	39,6	177,6 e 54,1
23	4,65	77,5	76,0	
24	3,28	76,0	72,5	26,5 e 26,6
26	1,35	26,6	72,5	26,5
27	1,31	26,5	72,5	26,6
28	1,10	26,1	46,9	217,3 e 21,1
29	1,05	21,1	46,9	217,3 e 26,1
30	1,12	27,2	44,2	160,9; 72,1 e 41,1



Figura 17. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **1** e ampliação do espectro nas regiões de δ 5,0-4,7 e 3,0-1,0



Current Data Parameters
 NAME DaPw_DGC-20-17
 EXPNO 100
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20060825
 Time 18.31
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm Multinud
 PULPROG ceyy1pqr
 TD 4096
 SOLVENT CDCl3
 NS 16
 DS 16
 SWH 5144.033 Hz
 FIDRES 1.255857 Hz
 AQ 0.2081812 sec
 RG 327.500
 DIV 327.500 usec
 DE 10.00 usec
 TE 298.2 K
 D0 0.00000000 sec
 D1 1.00000000 sec
 d13 0.00000400 sec
 D16 0.00000000 sec
 INO 0.00019440 sec

***** CHANNEL f1 *****
 NUC1 1H
 P0 4.00 usec
 P1 6.00 usec
 PL 0.00 dB
 SFO1 400.2119513 MHz
 ***** GRADIENT CHANNEL *****
 GPNAM1 SINE 100
 GPNAM2 SINE 100
 GPZ1 10.00 %
 GPZ2 10.00 %
 P16 1000.00 usec

F1 - Acquisition parameters
 ND0 1
 TD 163
 SFO1 400.212 MHz
 FIDRES 31.58865 Hz
 SFO2 12.885 ppm
 PRMODE GP

F2 - Processing parameters
 SI 1024
 SF 400.2100074 MHz
 WDW SINE
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

F1 - Processing parameters
 SI 1024
 SF 400.2100074 MHz
 WDW SINE
 SSB 0
 LB 0.00 Hz
 GB 0

Figura 18. Espectro de COSY (400 MHz, CDCl₃) da substância 1

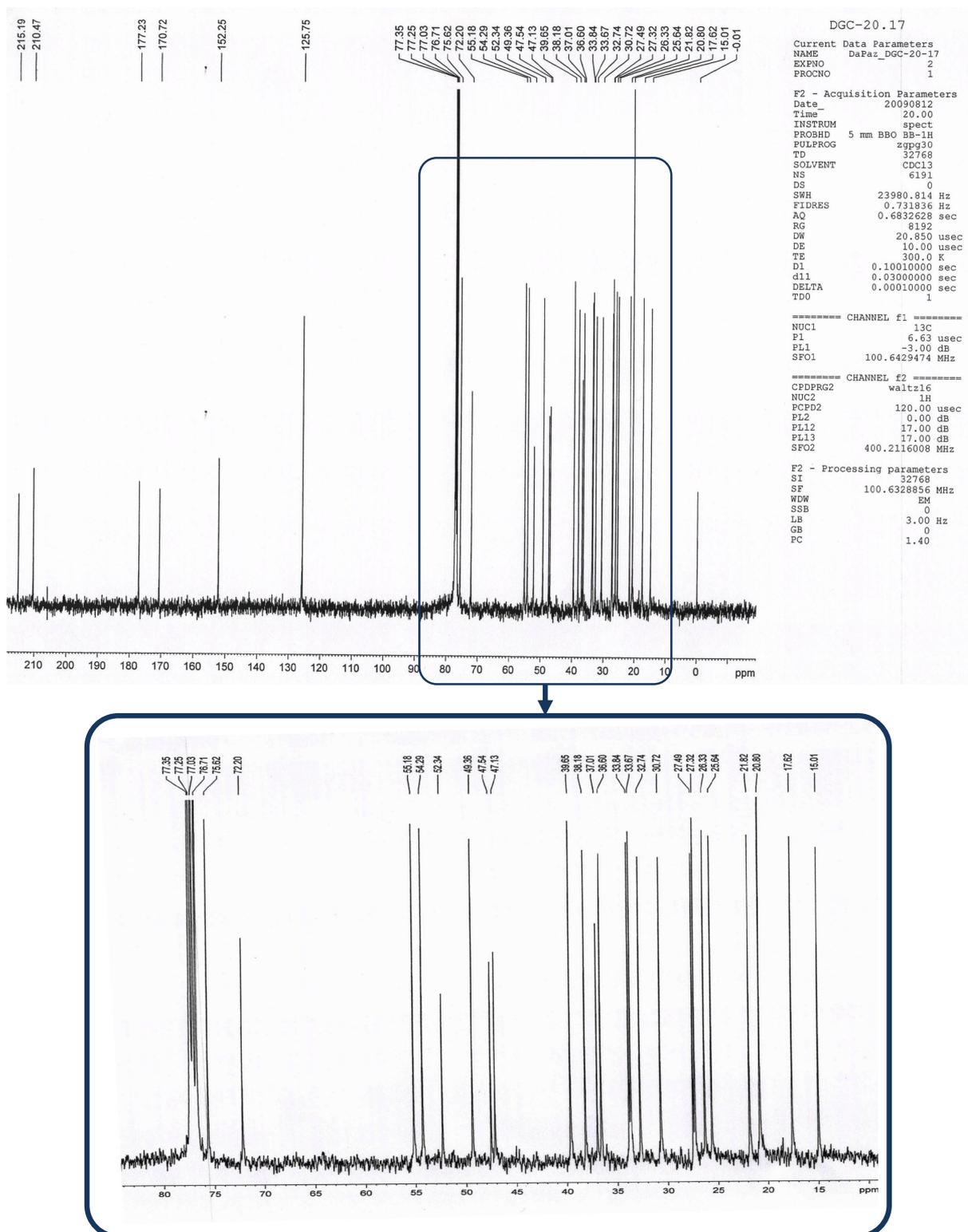


Figura 19. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância **1** e ampliação do espectro na região de δ 80-10

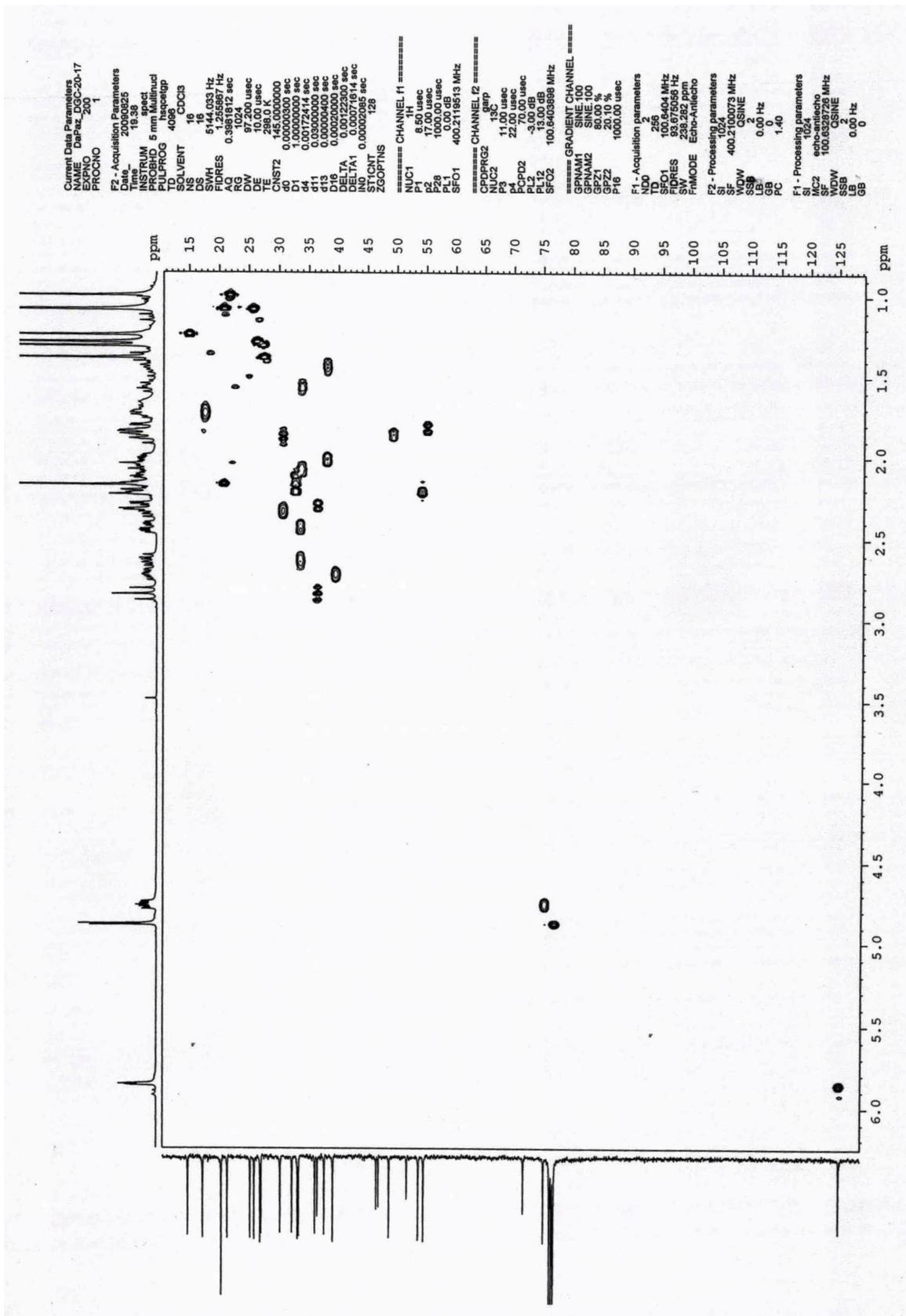


Figura 20. Espectro de HSQC (400/100 MHz, CDCl₃) da substância 1

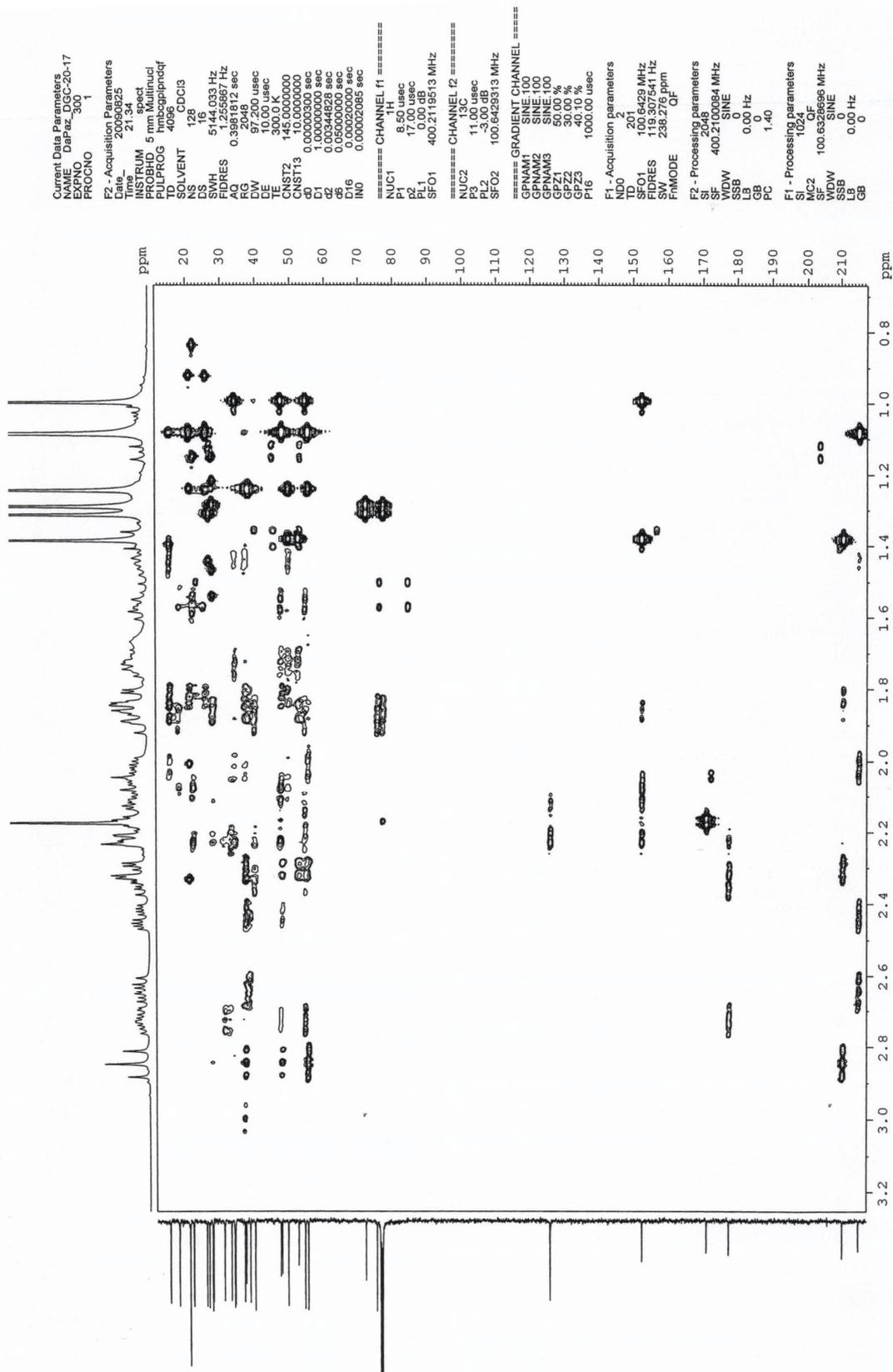


Figura 21. Espectro de HMBc (400/100 MHz, CDCl₃) da substância 1

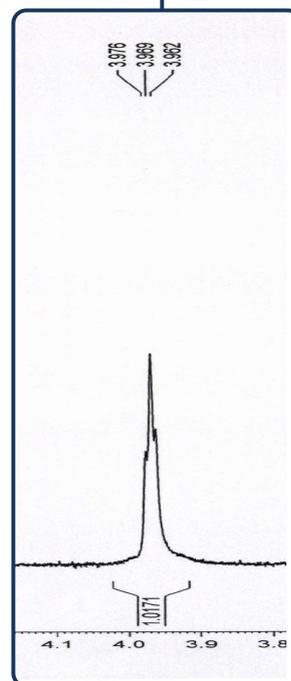
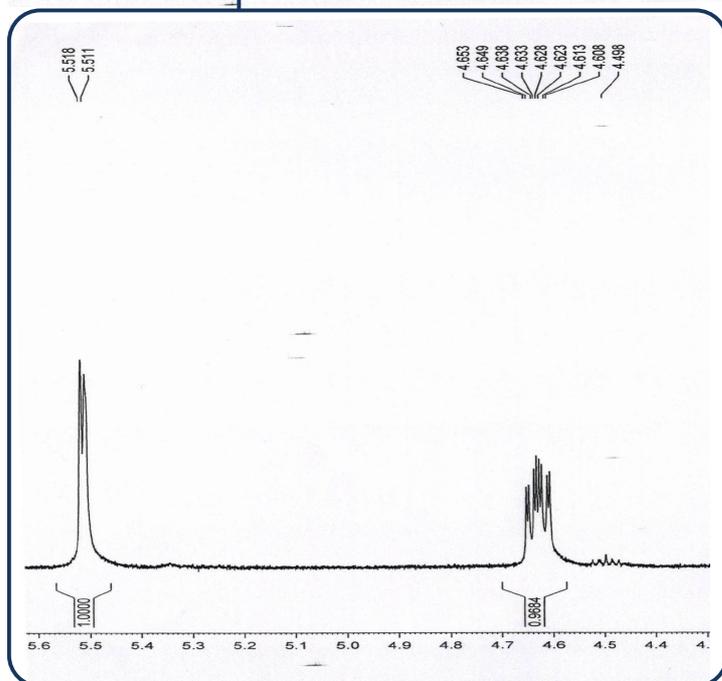
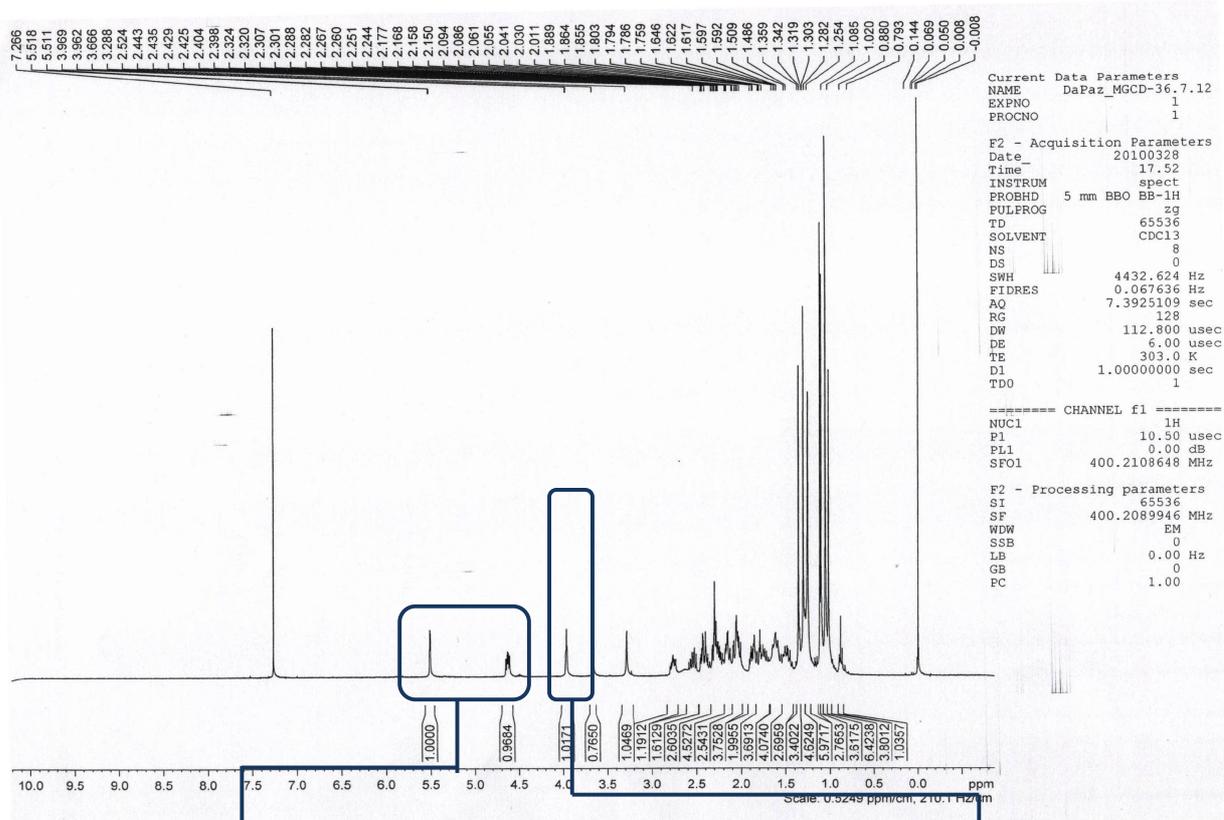


Figura 22. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **4** e ampliação do espectro nas regiões de δ 5,6-4,3 e δ 4,1-3,3

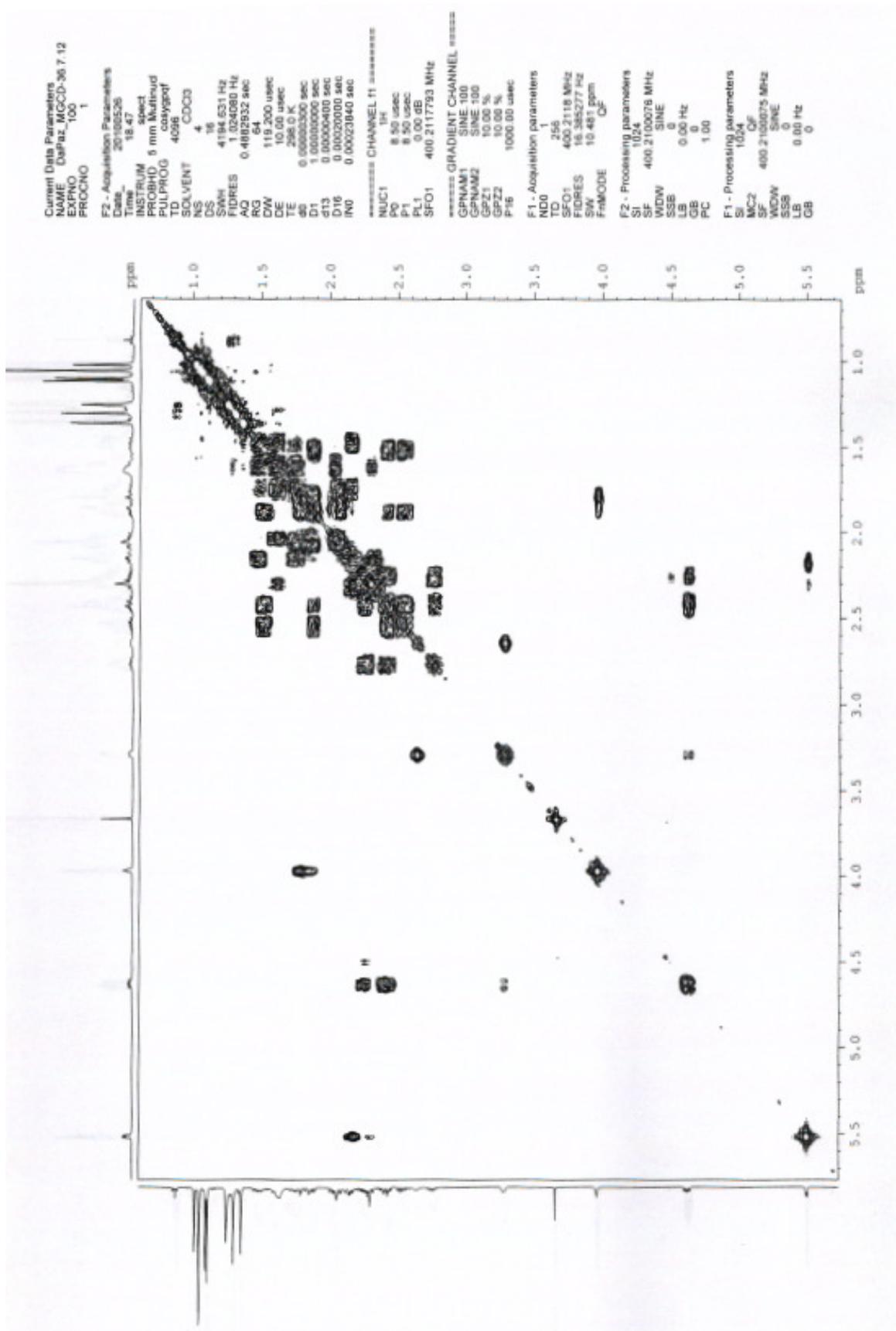


Figura 23. Espectro de COSY (400 MHz, CDCl₃) da substância 4

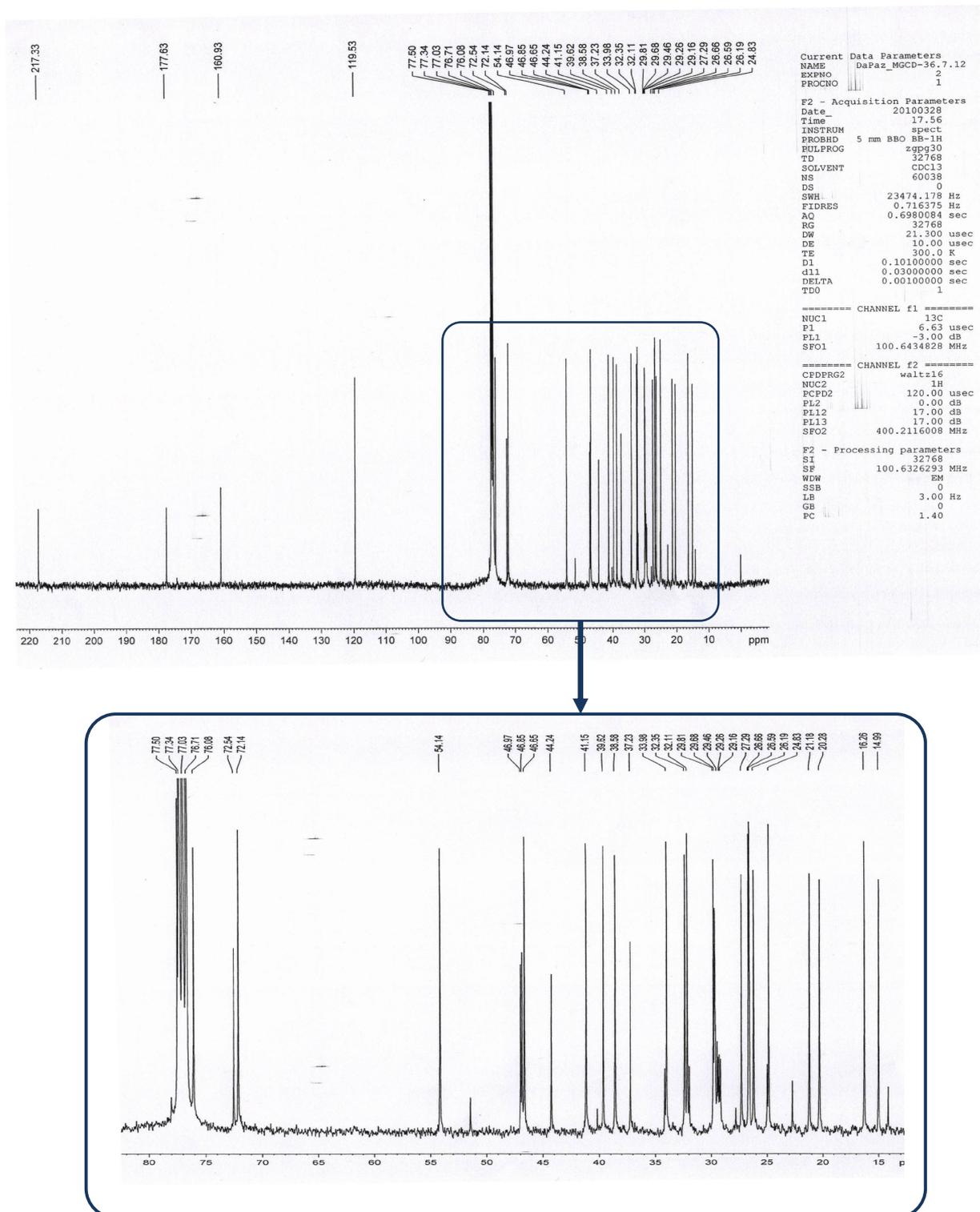


Figura 24. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância 4 e ampliação do espectro na região de δ 80-10

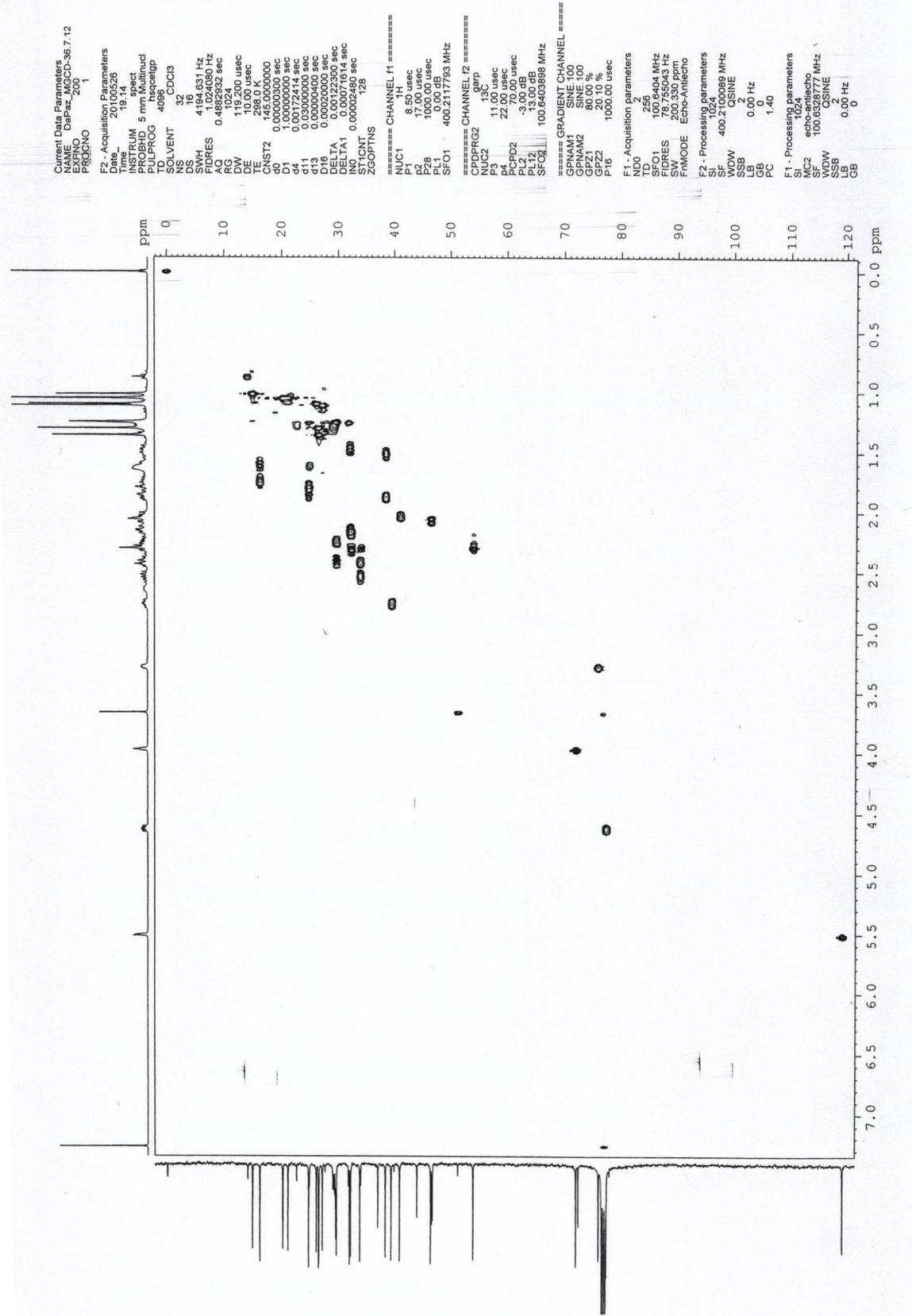


Figura 25. Espectro de HSQC (400/100 MHz, CDCl₃) da substância 4

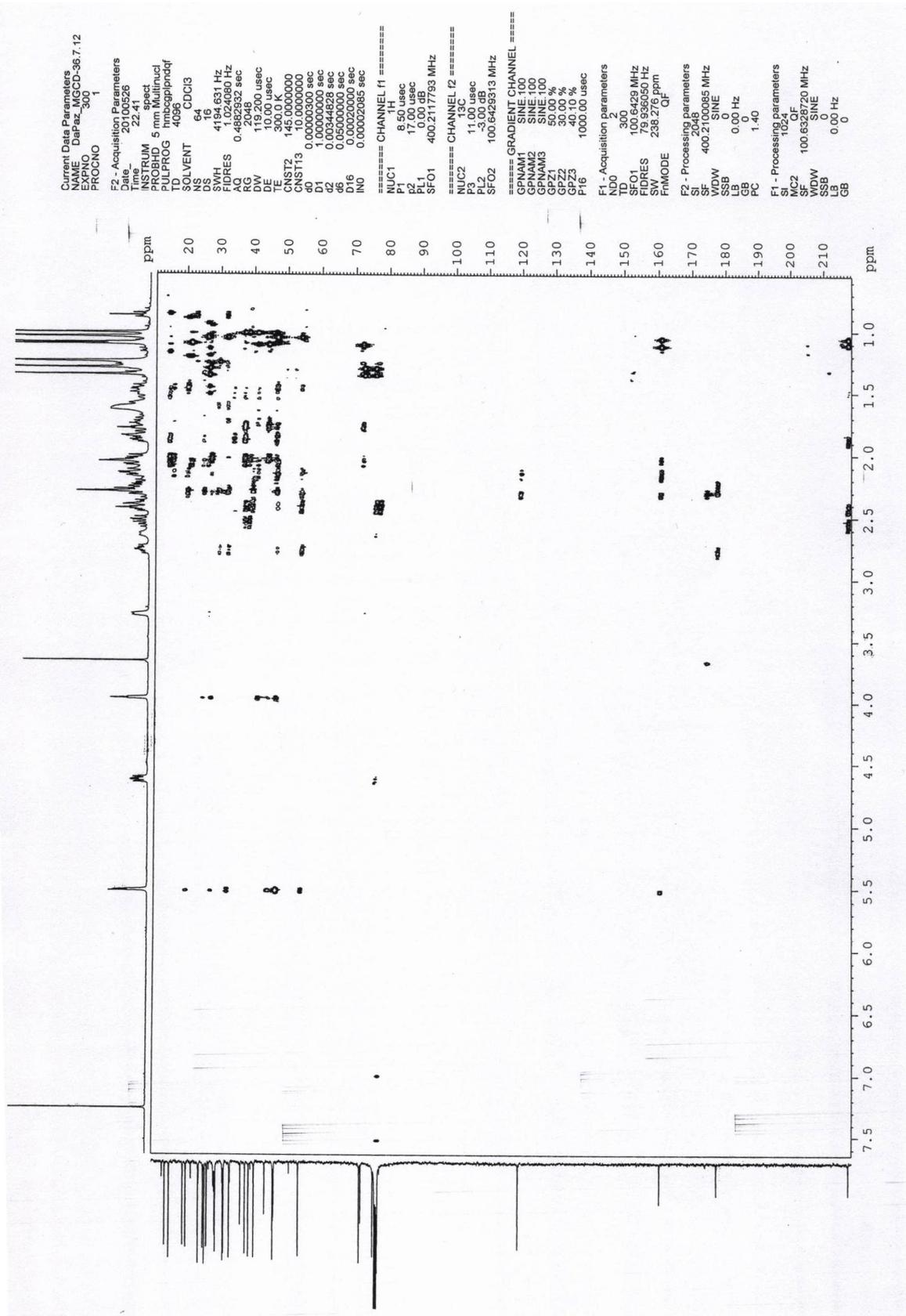


Figura 26. Espectro de HMBC (400/100 MHz, CDCl₃) da substância 4

4.3. Identificação dos triterpenos do tipo tirucalano: Substância **6a,b** (HGGC-17) e **7** (HGGC-22)

O espectro de RMN de ^1H de **6** (figura 27, tabela 25) mostra sinais característicos de triterpeno devido presença de sete metilas em singletos na região entre δ 1,32 e 0,85 e a presença de dupla olefínica em δ 5,32 como dubleto largo (2,8 Hz). Os sinais em 5,32 d (3,2 Hz) e 5,38 sl com intensidade 1:1/2 são típicos mistura epimérica em anel tetrahidrofurano contendo hemiacetal. No experimento de COSY (figura 28) foram verificados os acoplamentos entre δ 5,32 (H-7 e H-21) com δ 2,27 (H-6) e 2,10 m (H-20); entre os sinais δ 3,89 e 3,97 (H-23) com δ 2,87 e 2,72 (H-24).

O espectro de RMN de ^{13}C (figura 29, tabela 26) confirmam a presença da mistura epimérica apresentando duplicidade de sinais incluindo os sinais típicos de dupla ligação de triterpeno com esqueleto tirucalano δ 145,7/145,5 (C-7) e δ 118,2/118,0 (C-8). Na cadeia lateral a presença do grupo hemiacetal foi evidenciado pelos sinais em δ 97,8 e 101,8 (C-21), e o epóxido devido os sinais em δ 67,7/65,3 (C-24) e 58,0/57,20 (C-25).

O espectro de HSQC (figura 30) mostrou a correlação direta entre os hidrogênios em δ 5,32 com os carbonos em δ 118,0/118,2 (C-7) e δ 97,8 (C-21). O sinal em δ 5,38 correlacionou com δ 101,8 (C-21). No mapa de contorno HMBC (figura 31) foram observadas as correlações à J^3 entre os hidrogênios das metilas em δ 1,04 e 1,11 com os carbonos carbonílicos em δ 216,9/216,8. Na cadeia lateral as correlações à J^3 das metilas (δ 1,31 e 1,32) foram verificadas com os carbonos em δ 67,7/65,3.

Esses dados foram compatíveis para a substância conhecida como melianona em mistura epimérica no qual deslocamento químico menor de C-21 é atribuído a OH- α , enquanto o

deslocamento maior é relatado para OH- β . Essa mistura tem sido identificada em Meliaceae nas espécies *Guarea grandiflora* (JIMENEZ et al., 1998), *Trichilia reticulata* (HARDING et al., 2001a), *Melia toosendan* (NAKANISHI et al., 1986) e *M. azedarach* (NTALLI et al., 2010).

No espectro de RMN de ^1H de **7** (figura 32, tabela 25) as principais diferenças espectrais em relação a substância **6** referem-se a cadeia lateral com a presença de apenas um hidrogênio oximetínico em campo baixo (δ 5,24). Os outros oximetínicos da cadeia lateral foram verificados em δ 3,61 como dubleto largo e δ 4,51 como dubleto (7,6 Hz). Essa última constante de acoplamento sugeriu a presença de grupo OH β -orientado em C-24.

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 33) o deslocamento em δ 96,8 confirma que o grupo hidroxílico de C-21 encontra-se na posição α . Outros carbonos oxigenados foram verificados em δ 78,7 (C-23), 73,7 (C-24) e 74,8 (C-25). Os deslocamentos do sistema tetracíclico foram similares aos verificados para a substância **6**. nesse contexto, os dados permitiram identificar a substância **7** como melianodiol, previamente identificada em *Guarea grandiflora* (JIMENEZ et al., 1998), *Trichilia reticulata* (HARDING et al., 2001).

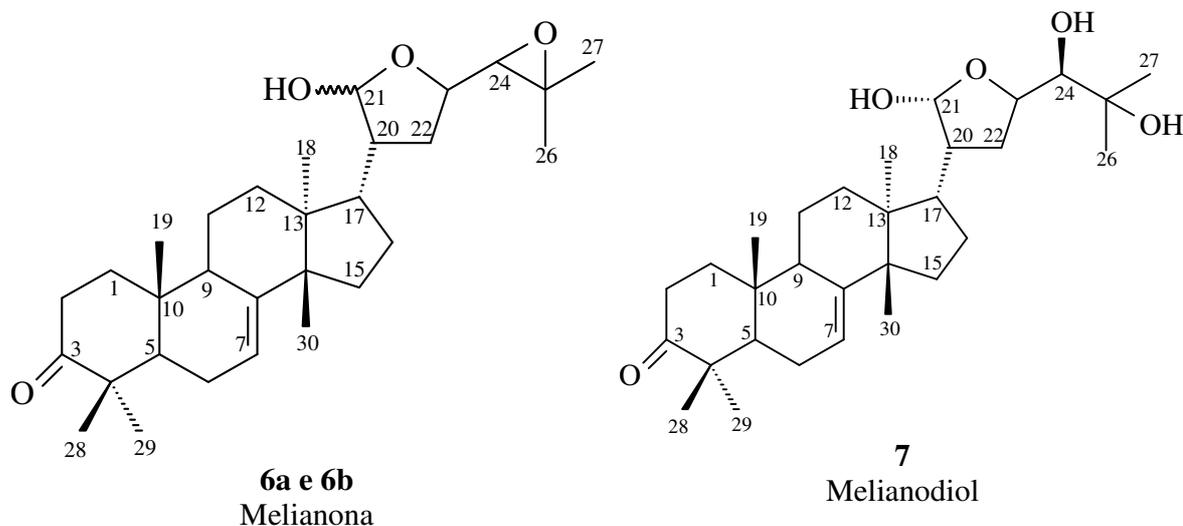


Tabela 26. Dados RMN ^1H (100 MHz, CDCl_3) das substâncias **6** e **7**

Posição	6a e 6b	7
2	2,27 dt (13,2 e 3,2 Hz)	2,27 dt (14,4 e 3,2 Hz)
7	5,32 dl (2,8 Hz)	5,32 dl (3,6 Hz)
18	0,85	0,83 s
19	1,01 s	1,01 s
21	5,38 sl (β -OH) 5,32 d (3,2 Hz; α -OH)	5,24 sl
23	3,97 m (β -OH) 3,89 m (α -OH)	3,61 dl (β -OH)
24	2,87 d (8,0 Hz) 2,72 d (5,2 Hz)	4,51 d (7,6 Hz)
26	1,31 s	1,25 s
27	1,32 s	1,28 s
28	1,04 s	1,03 s
29	1,11 s	1,11 s
30	1,05 s	1,04 s

Dados de H metilênicos e metínicos da substância **6** obtidos com base no HSQC: H-1 (1,46 e 1,49), H-5 (1,74), H-9 (2,32), H-11 (1,32), H-12 (2,80 e 1,56), H-15 (1,54), H-16 (1,90), H-17 (2,32), H-20 (2,10)

Tabela 27. Dados de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) das substâncias **6** e **7**

Posição	6a e 6b C-21 (α/β-OH)	7	Melianona (Ntalli et al., 2010)
1	38,5	38,5	38,5
2	35,1	35,1	35,1
3	216,9/216,8	217,0	216,8/216,7
4	49,6/50,4	48,3	47,8
5	52,4/52,3	52,5	52,4/52,4
6	25,05	24,3	23,2
7	118,0/118,2	118,1	118,1/118,0
8	145,7/145,5	145,7	145,7/145,6
9	48,4/48,3	47,9	49,6/48,4
10	34,9	34,2	34,9
11	17,7	17,6	17,7
12	35,1	34,9	35,1
13	43,5/43,7	45,3	43,8/43,5
14	50,8/51,0	50,7	50,8/50,4
15	34,2	34,2	34,3
16	27,2/27,3	27,2	27,4/27,3
17	47,0/47,8	43,5	47,1/45,2
18	12,7	12,7	12,7
19	24,5	23,2	24,0
20	45,2/47,8	46,3	33,9/31,9
21	97,8/ 101,8	96,8	97,7/101,8
22	31,5 /31,3	31,6	31,5/31,3
23	78,4/ 77,0	78,7	77,0/78,4
24	67,7/65,3	73,7	67,7/65,3
25	58,0/57,2	74,8	57,9/57,2
26	24,5	26,7	25,0/24,9
27	21,6/19,2	26,7	19,4/19,2
28	24,3	24,3	24,1
29	23,2	21,5	21,5
30	27,3	27,8	22,6

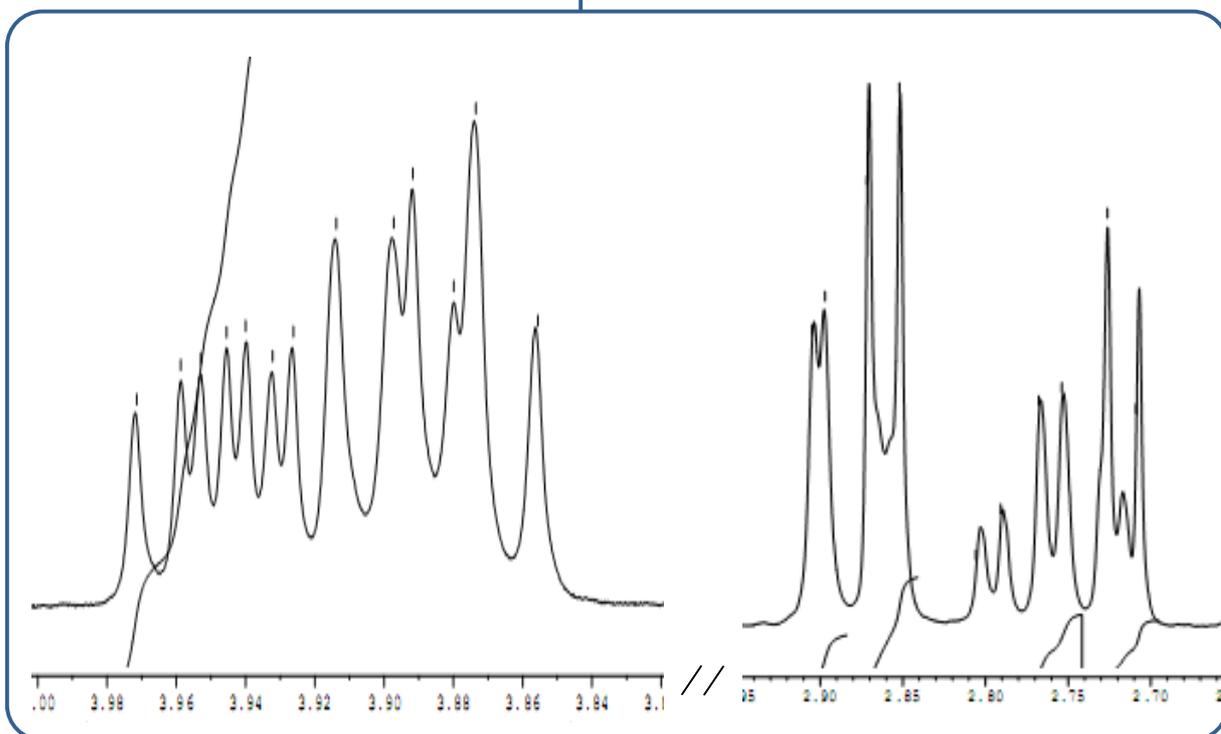
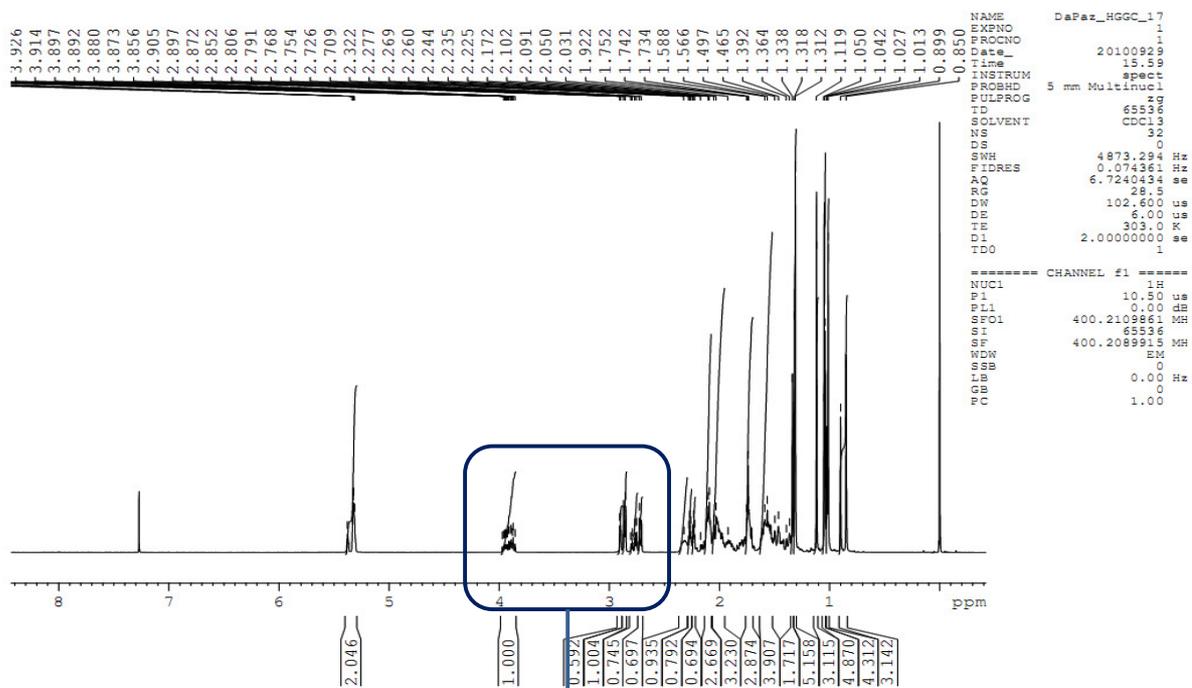


Figura 27. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **6** e ampliação do espectro nas regiões de δ 4,0-2,7

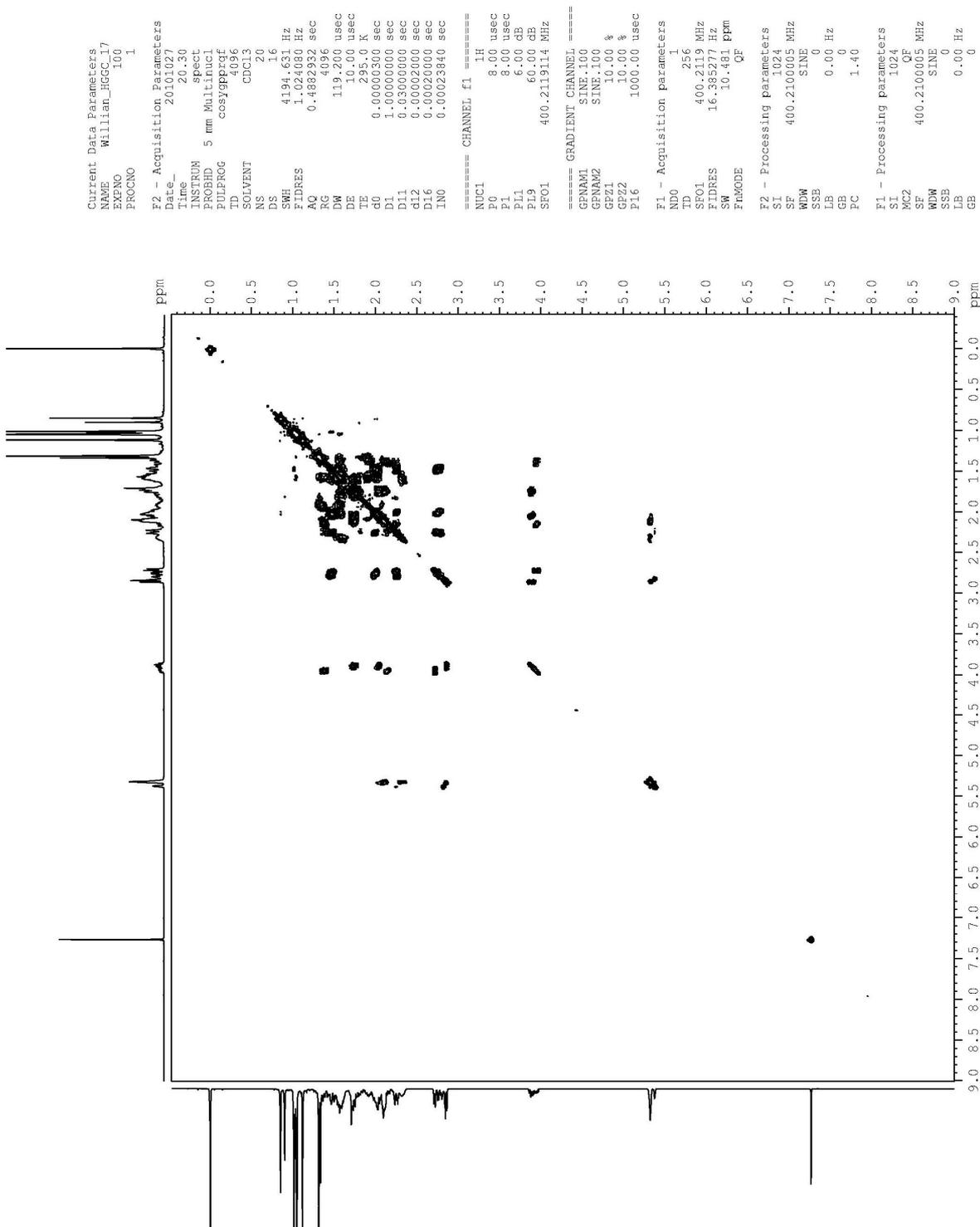


Figura 28 Espectro de COSY (400 MHz, CDCl₃) da substância 6

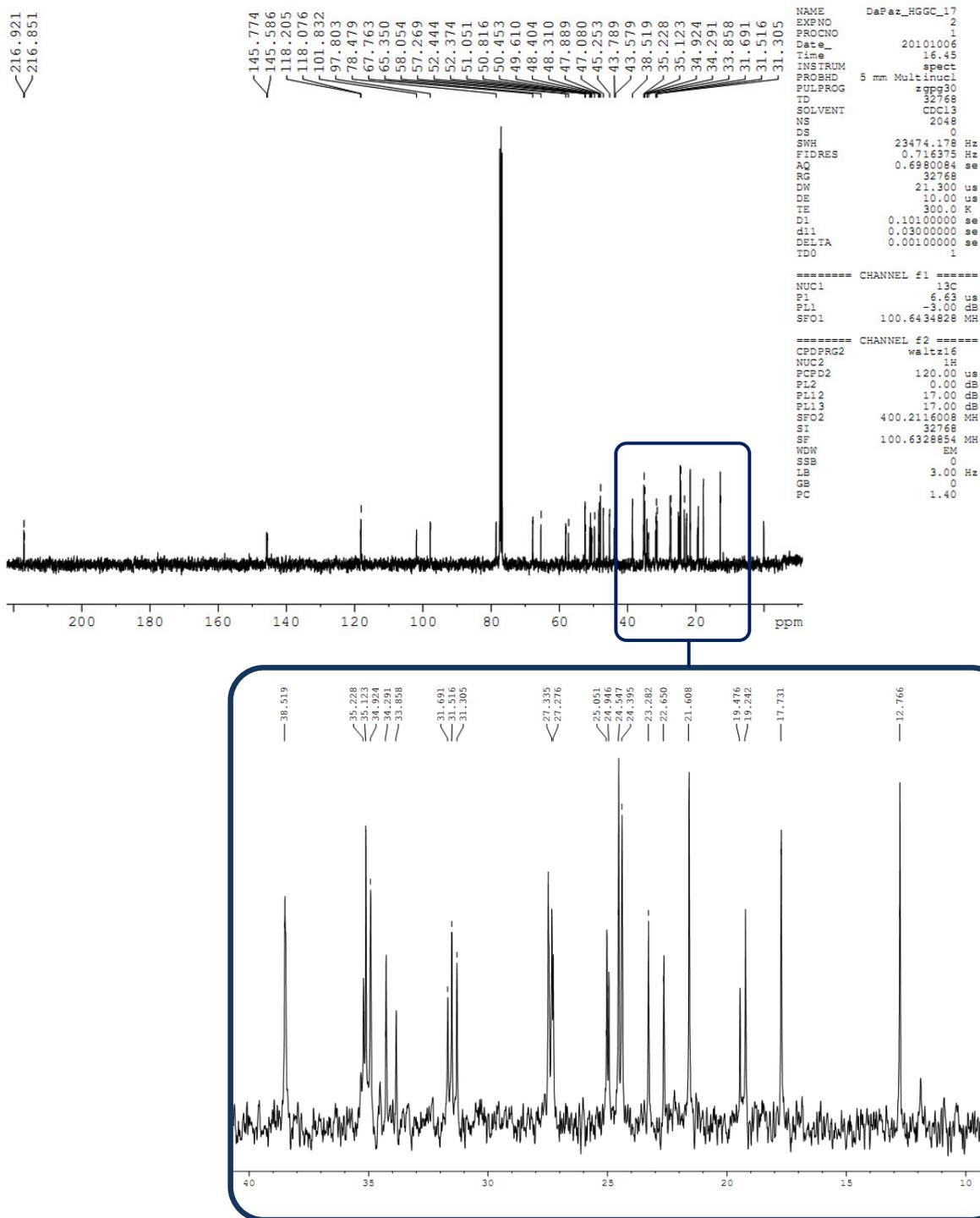


Figura 29. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância **6** e ampliação do espectro na região de δ 39-32

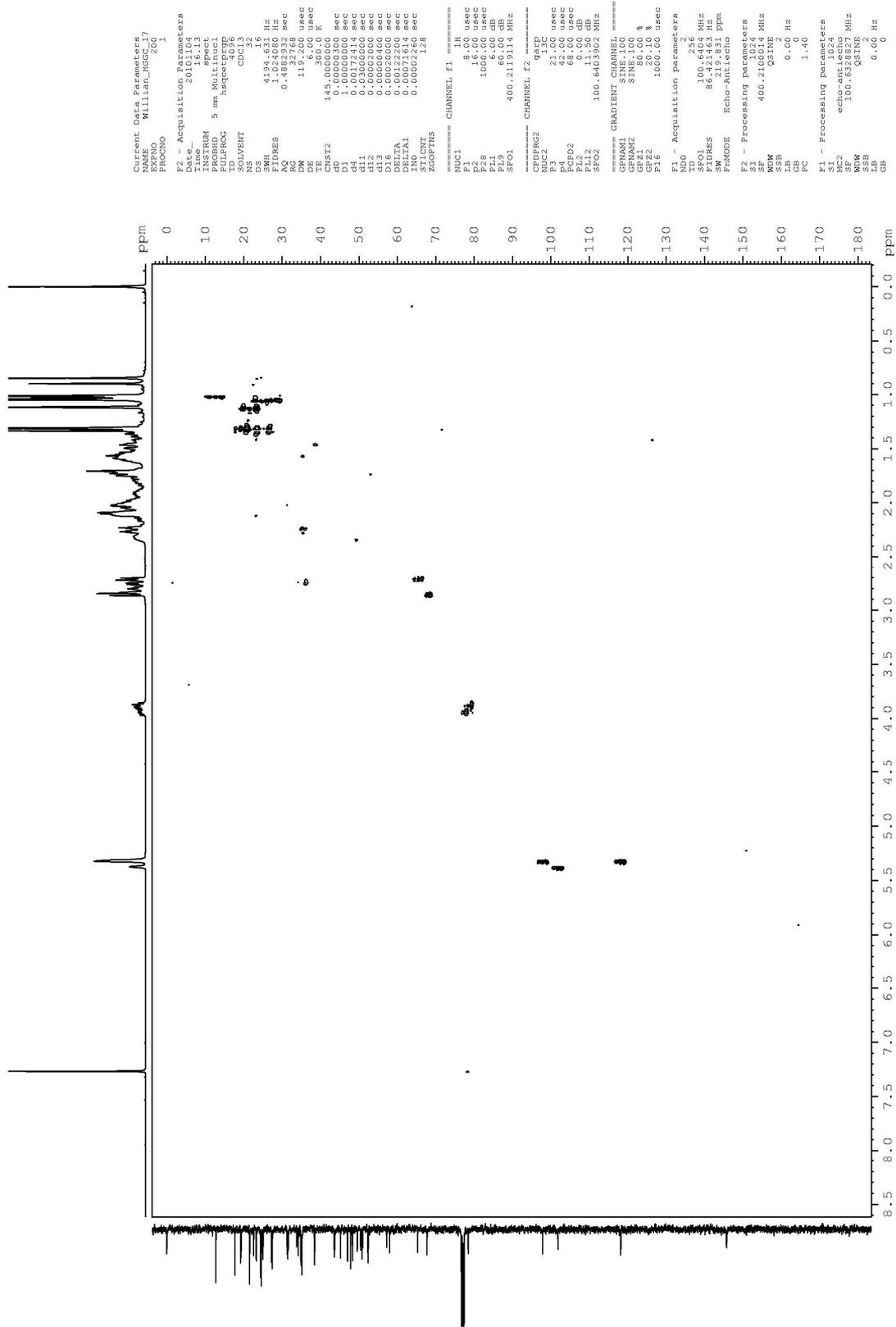
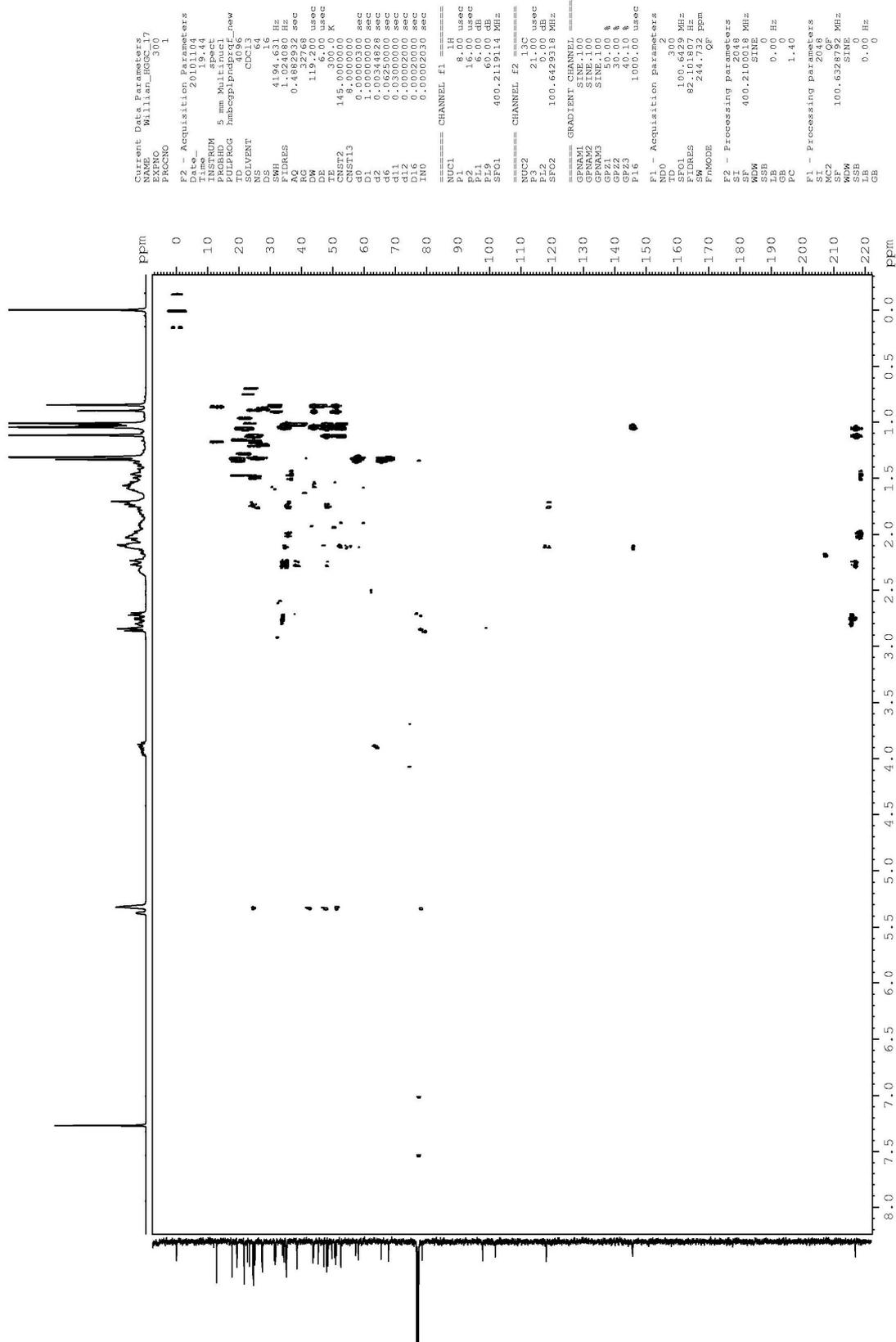


Figura 30 . Espectro de HSQC (400/100 MHz, CDCl₃) da substância **6**



```

Current Data Parameters
=====
EXPNO      7
PROCNO     1
F2 - Acquisition Parameters
Date_      20101104
Time       19.44
PULPROG    zgpg30
PROBHD     5 mm MUX131
PULPROG    hmbcsp1pndzrf_new
SOLVENT    CDCl3
NS         64
DS         4
SWH         4194.633 Hz
FIDRES     1.024080 Hz
AQ         0.489292 sec
RG         327.200
DW         119.200 usec
DE         6.00 usec
TE         300.2 K
CNS12      145.000000
CNS13      8.000000
SI          0.000030 sec
SF          400.141261 MHz
AQ          0.00344828 sec
d6          0.06250000 sec
d12         0.00020000 sec
d16         0.00020000 sec
IN0         0.00002030 sec
===== CHANNEL F1 =====
NUC1        1H
P1          16.00 usec
PL1         0.00 dB
SFO1        400.2119114 MHz
===== CHANNEL F2 =====
NUC2        13C
P2          21.00 usec
PL2         0.00 dB
SFO2        100.6429516 MHz
===== GRADIENT CHANNEL =====
GPNAM1     SINE.100
GPNAM2     SINE.100
GPNAM3     SINE.100
GPZ1       50.00 %
GPZ2       40.10 %
GPZ3       40.10 %
P16        1000.00 usec
F1 - Acquisition parameters
ND0         2
TD0         32768
FIDRES     82.101867 Hz
SW          244.732 Ppm
PRMODE     OF
F2 - Processing parameters
SF          400.2100418 MHz
WDW         SINE
SSB         0
GB          0
PC          1.40
F1 - Processing parameters
SI          2048
SF          100.6328765 MHz
WDW         SINE
SSB         0
GB          0

```

Figura 31. Espectro de HMBC (400/100 MHz, CDCl₃) da substância **6**

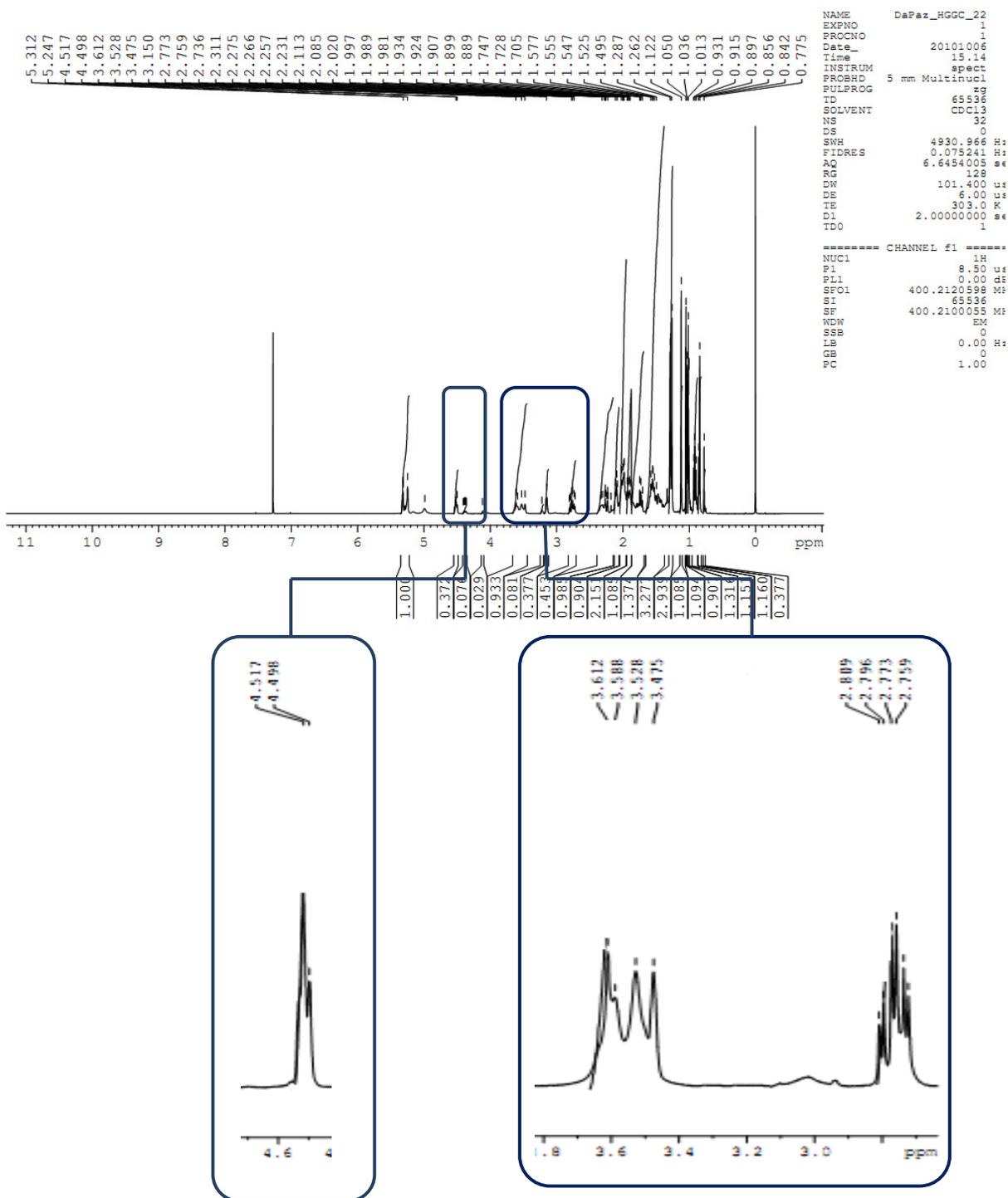


Figura 32. Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **7** e ampliação do espectro nas regiões de δ 4,6 e 3,6-2,6

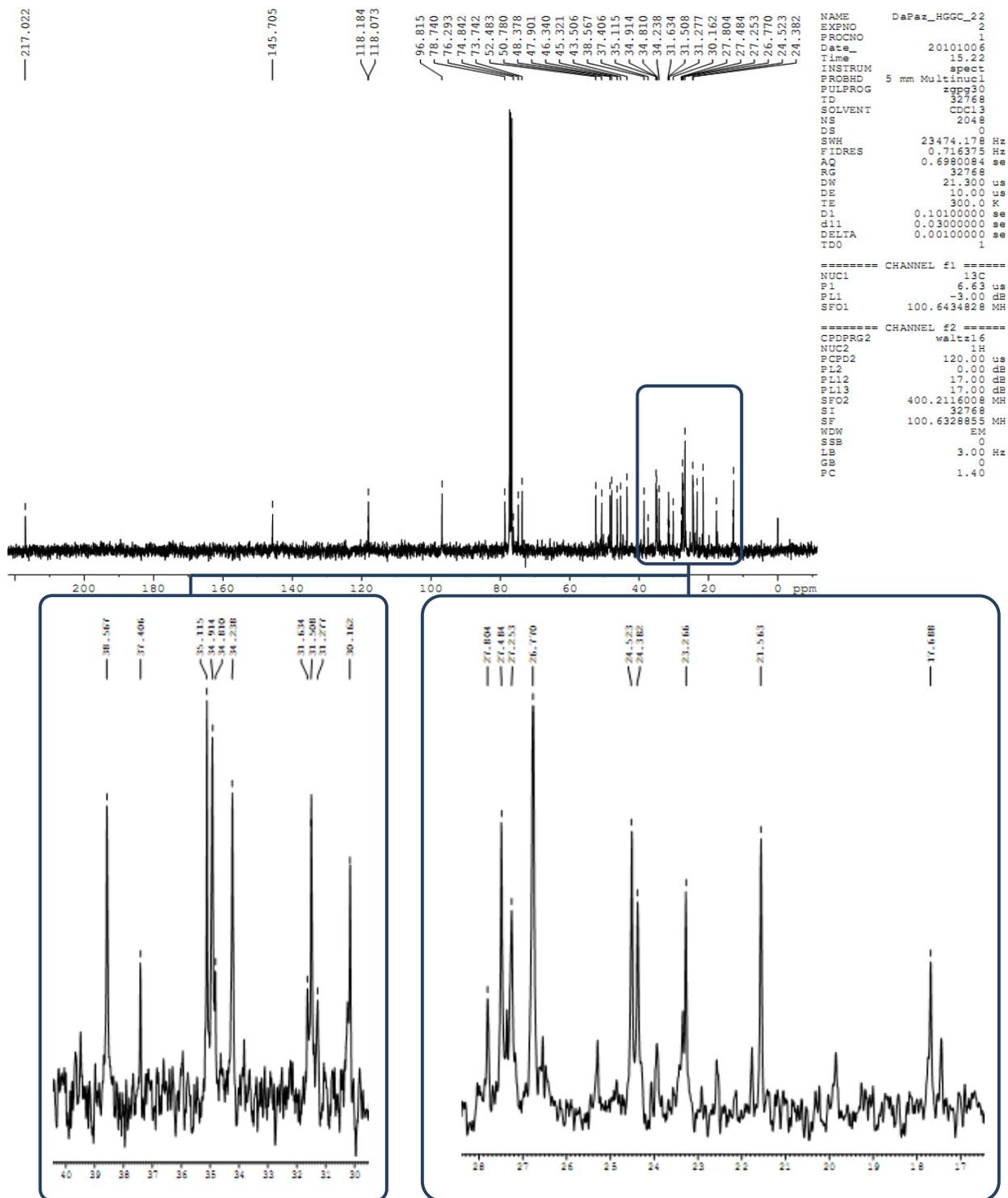


Figura 33. Espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) da substância **7** e ampliação do espectro na região de δ 40-30 e 28-17

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença de triterpenos do tipo apotirucalano em *G. convergens* reforça a afinidade entre Meliaceae, Rutaceae e Simaroubaceae, pois esses metabólitos são restritos nessas três famílias. Em contraste, os triterpenos com esqueleto tirucalano têm distribuição mais ampla em famílias de Rutales e outras famílias afins. Quanto aos esteróides do tipo ergostano identificados em *G. convergens*, houve uma grande contribuição visto que existem poucos relatos em Meliaceae, esses em espécies da subfamília Melioideae a que pertence o gênero *Guarea*.

Os resultados obtidos no estudo fitoquímico realizado pela primeira vez com *Guarea convergens* é de grande importância para o conhecimento do metabolismo secundário da flora da Reserva Florestal Adolpho Ducke. Os metabólitos conhecidos e inéditos identificados nesse estudo pertencem a classes químicas com importância sobre os aspectos quimiosistemático e farmacológico.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADESANYA, S. A.; PAÍS, M.; SEVENET, T.; COSSON, J. P. 1991. Apotirucallane triterpenos from *Dysoxylum roseum*. *Journal of Natural Products*, 54 (6):1588-1594.
- 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):542-547.
- ANGELO, H.; BRASIL, A. A.; SANTOS, J. 2001. Madeira tropicais: Análise econômica das principais espécies florestais exportadas. *Acta Amazonica*, 31 (2):237-248.
- APG. 1998. An ordinal classification for the families of flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 85:531-553.
- APG II. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141:399-436.
- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161:105-121.
- BARRERO, A. F.; SANCHEZ, J. F.; ALVAREZ-MANZANEDA.; DORADO, M. M.; HAIDOUR, A. 1993. Terpenoids and sterols from the wood of *Abies pinsapo*. *Phytochemistry*, 32 (5):1261-1265.
- BENTHAM, G.; HOOKER, J. D. 1862. *Genera plantarum*, Vol. 1, Part 1. Reeve, Williams & Norgate, London.

- BEVAN, C. W. L.; POWELL, J. W.; TAYLOR, D. A. H. 1963. West African timbers. Part VI. Petroleum extracts from species of genera *Khaya*, *Guarea*, *Carapa*, and *Cedrela*. *Journal of the Chemical Society*, 980-982.
- BUTTERWORTH, J. H.; MORGAN, E. D. 1968. Isolation of a substance that suppresses feeding in locusts. *Chemical Communications*, 23-24.
- CAMACHO, M. R.; PHILLIPSON, J. D.; CROFT, S. L.; KIRBY, G. C.; WARHURST, D. C.; SOLIS, P. N. 2001. Terpenoids from *Guarea rhopalocarpa*. *Phytochemistry*, 56 (2):203-210.
- CORREA, M. P. 1926. *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional (Eds.), 1926, v. 1, 3 e 5.
- CRONQUIST, A. 1981. An integrated System of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.
- CONNOLLY J. D.; PHILIPS W. R.; MULHOLLAND, D. A.; TAYLOR, D. A. H. 1981. Spicatin, A protolimonoid from *Andropfragma spicatum*. *Phytochemistry*, 20 (11):2596-2797.
- CUI, J.; DENG, Z.; XU, M.; PROKSCH, P.; LI, Q.; LIN, W. 2009. Protolimonoids and limonoids from the chinese mangrove plant *Xylocarpus granatum*. *Helvetica Chimica Acta*, 92 (1):139-150
- DAHLGREEN, R. M. T. 1980. A revised system of classification of Angiosperms. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 80 (2):91-134.
- D'AURIA, M. V.; FINAMORE, E.; MINALE, L.; PIZZA C.; RICCIO, R.; ZOLLO, F.; PUSSET, M.; TIRARD, P. 1984. Steroids from the starfish *Euretaster insignis*: a novel

- group of sulphated 3 β ,21-dihydroxysteroids. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 2277-2282.
- DEWICK, P. M. 2002. *Medicinal natural products: a biosynthetic approach*. John Wiley & Sons Ltd, University of Nottingham, UK. 507pp.
- FERGUSON, G.; GUNN, P. A.; MARSH, W. C.; MCCRINDLE, R.; RESTIVO, R.; CONNOLLY, J. D.; FULKE, J. W. B.; HENDERSON, M. S. 1973. Triterpenoids from *Guarea glabra* (Meliaceae) - New skeletal class identified by chemical, spectroscopic, and X-ray evidence. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 5:159-160.
- FURLAN, M.; LOPES, M. N.; FERNANDES, J. B.; PIRANI, J. R. 1996. Diterpenes from *Guarea trichilioides*. *Phytochemistry*, 41 (4):1159- 1161.
- GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; RODRIGUES, E. D; POTT, V. J.; ROQUE, N. F. 1996. Seco-Protolimonoids from *Trichilia elegans ssp. elegans*. *Phytochemistry*, 42 (5):1399-1403.
- GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; SILVA, A. F. G.; BAZZO, R. C.; RESENDE, U. M. 2004. Terpenoid constituents from leaves of *Guarea kunthiana*. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 15 (5):767-772.
- GUERRIERO, A.; D'AMBROSIO, M.; PIETRA, F. DEBITUS, C.; RIBES, O. 1993. Pteridines, sterols, and indole derivatives from the lithistid sponge *Corallistes undulatos* of the coral sea. *Journal of Natural Products*, 56 (11):1962-1970.
- GOVINDACHARI, T. R.; KUMARI, K. G. N.; SURESH, G. 1995. Triterpenoids from *Walsura piscidia*. *Phytochemistry*, 39 (1):167-170.
- GUNATILAKA, A. A. L.; BOLZANI, V. S.; DAGNE, E.; HOFMANN, G. A.; JOHNSON, R. K.; MCCABE, F. L.; MATTERN, M. R.; KINGSTON, D. G. I. 1998. Limonoids showing

- selective toxicity to DNA repair-deficient yeast and other constituents of *Trichilia emetica*. *Journal of Natural Products*, 61 (2):179-184.
- HARDING, W. W.; JACOBS, H.; MCLEAN, S.; REYNOLDS, W. F. 2001a. Structural and ¹H and ¹³C NMR analysis of two new glabretal triterpenoid derivatives from *Guarea jamacensis*. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 39 (11): 719-722.
- HARDING, W. W.; JACOBS, H.; LEWIS, P. A.; MCLEAN, S.; REYNOLDS W. F. 2001b. Cycloartanes, protolimonoids, a pregnane and a new ergostane from *Trichilia reticulata*. *Natural Product Letters*, 15 (4):253-260.
- HOUSLEY, J. R.; KING, F. E.; KING, T. J.; TAYLOR, T. R. 1962. The chemistry of hardwood extractives. Part XXXIV. Constituents of *Guarea* species. *Journal of the Chemical Society*, 5095-5104.
- HU, W-H.; WU, J. 2010. Protoxylogranatin B, a key biosynthetic intermediate from *Xylocarpus granatum*: suggesting an oxidative cleavage biogenetic pathway to limonoid. *The open Natural of Products Journal*, 3:1-5.
- INADA, A.; MURATA, H.; INATOMI, Y.; NAKANISHI, T.; DARNAEDI, D. 1997. Pregnanes and triterpenoid hydroperoxides from the leaves of *Aglaia grandis*. *Phytochemistry*, 45 (6):1225-1228.
- JIMENEZ, A.; VILLARREAL, C.; TOSCANO, R. A.; COOK, M.; ARNASON, J. T.; BYE, R.; MATA, R. 1998. Limonoids from *Swietenia humilis* and *Guarea grandiflora* (Meliaceae). *Phytochemistry*, 49 (7):1981-1988.
- KETWARU, P.; KLASS, J.; TINTO, W. F.; MCLEAN, S.; REYNOLDS, W. F. 1993. Pregnane steroids from *Trichilia schomburgkii*. *Journal of Natural Products*, 56 (3):430-431.

- KRAUS, W.; BOKEL, M.; KLENK, A.; PÖHN, H. 1985. The structure of azadirachtin and 22,23-dihydro-23 β -methoxyazadirachtin. *Tetrahedron Letters*, 26 (52):6435-6438.
- LAGO, J. H. G.; BROCHINI, C. B.; ROQUE, N. F. 2000. Terpenes from leaves of *Guarea macrophylla* (Meliaceae). *Phytochemistry*, 55 (7):727-731.
- LAGO, J. H. G.; ROQUE, N. F. 2002. Cycloartane triterpenoids from *Guarea macrophylla*. *Phytochemistry*, 60 (4):329-332.
- LAGO, J. H. G.; BROCHINI, C. B.; ROQUE, N. F. 2002. Terpenoids from *Guarea guidonia*. *Phytochemistry*, 60 (4):333-338.
- LAGO, J. H. G.; ROQUE, N. F. 2005. New diterpenoids from leaves of *Guarea macrophylla* (Meliaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16 (3B):643-646.
- LIN, L-G.; TANG, C-P.; KE, C-Q.; YE, Y. 2008. Terpenoids from the stems of *Cipadessa bacifera*. *Journal of Natural Products*, 71 (4):628-632.
- LINS, A. P.; BRAGGIO, M. M.; FELICIO, J. D.; GIURIATTI, A. M.; FELICIO, J. C. 1992. Chemical and pharmacological aspects of *Guarea guidonia*. *Revista Latinoamericana de Química*, 23 (1):30-33.
- LETOURNEUX, Y.; KHUONG-HUU, Q.; GUT, M.; LUKACS, G. 1974. Identification of C-22 epimers in steroids by carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *The Journal of Organic Chemistry*, 40 (11):1674-1675.
- LUKACOVA, V.; POLONSKY, J.; MORETTI, C.; PETTIT, G. R.; SCHMIDT, J. M. 1982. Isolation and structure of 14, 15 β -epoxyprieurianin from the south american tree *Guarea guidonia*. *Journal of Natural Products*, 45 (3): 288-294.

- LIU, H.; HEILMANN J.; RALI, T.; STICHER, O. 2001. New Tirucallane-Type Triterpenes *Dysoxylum variabile*. *Journal of Natural Products*, 64 (2):159-163.
- MEEUSE, A. D. J. 1983. The concept of the Rutales. *In*: Waterman, P. G., Grundon, M. F. (Eds.), *Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales*. Academic Press, London, p. 1-8.
- MITSU, K.; MAEJIMA, M.; SAITO, H.; FUKAYA, H.; HITOTSUYANAGI, Y.; TAKEYA, K. 2005. Triterpenoids from *Cedrela sinensis*. *Tetrahedron*, 61 (44):10569-10582.
- MITSU, K.; MAEJIMA, M.; SAITO, H.; YAMAMURA, R.; FUKAYA, Y.; HITOTSUYANAGI, Y.; TAKEYA, K. 2007. Apotirucallane and tirucallane triterpenoids from *Cedrela sinensis*. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 55 (10):1442-1447.
- MOBOT, <http://www.tropicos.org/> acessado em 15 de dezembro de 2010.
- MOHAMAD, K.; MARTIN, M-T.; LITAUDON, M.; GASPARD, C.; SÉVENET, T.; PAIS, M. 1999. Tirucallane triterpenes from *Dysoxylum macranthum*. *Phytochemistry*, 52 (8):1461-1468.
- MULHOLLAND, D. A.; KOTSOS, M.; MAHOMED, H. A.; TAYLOR, D. A. H. 1998. Triterpenoids from *Owenia cepiodora*. *Phytochemistry*, 49 (8):2457-2460.
- MULHOLLAND, D. A.; MONKHE, T. V.; TAYLOR, D. A. H.; SAJAB, M. S. 1999. Triterpenoids from *Turrea holstii*. *Phytochemistry*, 52 (1): 123-126.
- MULHOLLAND, D. A.; TAYLOR, D. A. H. 1988. Protolimonoids from *Turraea nilotica*. *Phytochemistry*, 27 (4):1220-1221.
- NAKASHI, T.; INADA, A.; LAVIE, D. 1986. A new tirucallane-type triterpenoid derivative, Lipomelianol from fruits of *Melia toosendan* SIEB. et ZUCC. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 34 (1):100-104.

- NTALLI, N. G.; COTTIGLIA, F.; BUENO, C. A.; ALCHÉ, L. E.; LEONTI, M.; VARGIU, S.; BIFULCO, E.; MENKISSOGLU-SPIROUDI, U.; CABONI, P. 2010. Cytotoxic tirucallane triterpenoids from *Melia azedarach* fruits. *Molecules*, 15 (9):5866-5877.
- OKORIE D. A.; TAYLOR D. A. H. 1977. Triterpenes from the seed of *Entandrophragma* species. *Phytochemistry*, 16 (12), 2029-2030.
- OMOBUWAJO, O. R.; MARTIN, M-T.; PERROMAT, G.; SEVENET, T.; PAIS, M. 1996. Apotirucallane triterpenos from *Aglaia argentea*. *Journal of Natural Products*, 59 (6):614-617.
- PENNINGTON, T. D.; STYLES, B. T. 1975. A generic monograph of Meliaceae. *Blumea*, 22 (3):419:540.
- PEREIRA-JÚNIOR, O. L.; WOLTER-FILHO, W. WOLTER, E. L. A.; ZOGHBI, M. G. B.; SIQUEIRA, J. B. G.; PINHEIRO, C. C. S. 1993. Atividade biológica de um novo triterpeno isolado de *Guarea carinata* (Meliaceae). *Acta Amazonica*, 23 (2-3):173-176.
- PEREIRA-JÚNIOR, O. L.; WOLTER-FILHO, W.; ROCHA, A. F. I.; CARVALHO, M. G.; BRAZ-FILHO, R. 1990. Diterpenes isolated from *Guarea carinata*. *Quimica Nova*, 13 (4):247-249.
- PUDHO, K.; SOMMIT, D.; NUCLEAR, P.; NGAMROJANAVANICH, N.; PETSOM, A. 2009. Protoxylocarpins F-H, protolimonoids from seed kernels of *Xylocarpus granatum*. *Journal of Natural Products*, 72 (12):2188-2191.
- PUPO, M. T.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. G. F.; Rodrigues-Filho, E. 1997. Androtane and pregnane 2 β ,19-Hemikiketal steroids from *Trichilia clausenii*. *Phytochemistry*, 45 (7):1495-1500.

- PUPO, M. T.; ADORNO, M. A. T.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; SILVA, M. F. G. F.; PIRANI, J. R. 2002. Terpenoids and steroids from *Trichilia* Species. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 13(3):382-388.
- QIU, S-X.; HUNG, N. V.; XUAN, L. T.; GU, J-Q.; LOBKOVSKY, E.; KHANH, T. C.; SOERJARTO, D. D.; CLARDY, J.; PEZZUTO, J. M.; DONG, Y.; TRI, M. V.; HUONG, L. M. FONG, H. H. S. 2001. A pregnane steroid from *Aglaia lawii* and structure confirmation of cabraleadiol monoacetate by X-ray crystallography. *Phytochemistry*, 56 (1)775-780.
- RAMOS, L.; GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R. 2000. Constituintes químicos da casca do caule de *Guarea guidonia* - Meliaceae. *23ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química – SBQ*.
- ROCHA, W. C. 2004. *Busca de substância bioativas em plantas amazônicas: Adiscanthus fusciflorus* (Rutaceae), *Trichillia pallida* e *T. Rubra* (Meliaceae). Tese de doutorado, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, São Paulo, 221pp.
- ROY, A.; SARAF, S. 2006. Limonoids: overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 29 (2):191-201.
- ROGERS, L. L.; ZENG, L.; MCLAUGHLIN, J. L. 1998. New bioactive steroids from *Melia volkensii*. *The Journal of Organic Chemistry*, 63 (11):3781-3785.
- SIDDIQUI, S.; FAIZI S.; SIDDIQUI, B. S.; GHASUDDIN. 1992. Constituents of *Azadirachta indica*: Isolation and structure elucidation of a new antibacterial tetrano-triterpenoid, Mahmoodin, and a new protolimonoid, Naheed. *Journal of Natural Products*, 55 (3):303-310.

- 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 (4):501-506
- SU, B-N.; CHAI, H.; MI, Q.; RISWAN, S.; KARDONO, L. B. S.; AFRIASTINI, J. J.; SANTARSIERO, B. D.; MESECAR, A. D.; FARNSWORTH, N. R.; CORDELL, G. A.; SWANSON, S. M.; KINGHORN, A. D. 2006. Activity-guided isolation of cytotoxic constituents from the bark of *Aglaia crassinervia* collected in Indonesia. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14 (4): 960-972.
- TINTO, W. F.; JAGESSAR, P. K.; KETWARU, P.; REYNOUS, W. F.; MCLEAN, S. 1991. Constituents of *Trichilia schomburgkii*. *Journal of Natural Products*, 54 (4): 972-977.
- XIE, B.; ZHANG, C.; YANG, S.; YUE, J. 2009. Chisiamols A-F, triterpenoids from *Chisocheton siamensis*. *Chinese Journal of Chemistry*, 27(9):1805-1810.
- ZANNO, P. R.; MUIRA, I.; NAKANISHI, K.; ELDER, D. 1975. Letter: Structure of the insect phagorepellent azadirachtin. Application of PRFT/CWD carbon-13 nuclear magnetic resonance. *Journal of the American Chemical Society*, 97 (7):1975-1977.
- ZENG, L.; GU, Z-M.; CHANG, C-J.; WOOD, K. L.; MCLAUGHLIN, J. L. 1995. Meliavolkenin, a new bioactive triterpenoid from *Melia volkensii* (Meliaceae). *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 3 (4):383-390.
- WANG, X-N.; FAN, C-Q.; YUE, J-M. 2006. New pregnane steroids from *Turraea pubescens*. *Steroids*, 71 (8):720-724.
- WANG, X-N.; FAN, C-Q.; YIN, S.; GAN, L-S.; YUE, J-M. 2008. Structural elucidation of limonoids and steroids from *Trichilia connaroides*. *Phytochemistry*, 69 (6):1319-1327.

- WOLTER, E. L. A.; ROCHA, A. F. I.; WOLTER-FILHO, W.; PEREIRA-JÚNIOR, O. L.; SIQUEIRA, J. B. G.; ZOCHBI, M. G. B. 1993. Estudos químicos das sementes e casca da madeira de *Guarea trichilioides* (Meliaceae). *Acta Amazonica*, 23 (2-3):177-180.
- WU, S-B.; JI, Y-P.; ZHU, J-J.; ZHAO, Y.; XIA, G.; HU, Y-H.; HU, J-F. 2009. Steroids from the leaves of chinese *Melia azedarach* and their cytotoxic effects o human cancer cell lines. *Steroids*, 74 (9):761-765.