

CONSTITUINTES QUIMICOS DE *Trichilia hirta* (MELIACEAE)

MILENA GONÇALVES CURCINO VIEIRA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY

RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

JUNHO – 2015

CONTITUINTES QUÍMICOS DE *Trichilia hirta* (MELIACEAE)

MILENA GONÇALVES CURCINO VIEIRA

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Braz Filho
Co-orientador: Prof. Dr. Ivo José Curcino Vieira

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ

JUNHO - 2015

CONTITUENTES QUÍMICOS DE *Trichilia hirta* (MELIACEAE)

MILENA GONÇALVES CURCINO VIEIRA

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências Naturais.

Aprovada em 23 de Junho de 2015.

Comissão Examinadora:

Prof^a. Dr^a Leda Mathias - UENF

Prof^a. Dr^a Heloísa Alves Guimarães - IFF

Prof. Dr. Walter Luiz Brasil Medeiros - IFF

Prof. Dr. Raimundo Braz Filho – UENF
(Orientador)

DEDICATÓRIA

Ao meu esposo **Ivo**, mais do que um companheiro, acompanhou criticamente todos os passos do trabalho. Seu exemplo de caráter, de conduta, de transparência, assim como toda a sabedoria transmitida de um verdadeiro Mestre foi essencial durante toda a realização deste trabalho.

Dedico também aos meus pais, **Paulo e Maria Helena**, e às minhas irmãs, **Paula e Pauline**, um agradecimento especial: por tudo que vocês representam na minha vida, pelo apoio e incentivo constantes para a realização dos meus sonhos. Pela orientação e ensinamentos de vida, que têm sido essenciais para guiar-me ao longo dessa caminhada.

A todos vocês, só tenho a dizer: **MUITO OBRIGADA!**

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas oportunidades de crescimento cedidas a cada dia, por seres o colo que me consola nos momentos mais difíceis e por seres o meu apoio para chegar até aqui.

A minha família que sempre foi o meu apoio emocional, em especial a minha avó, Arlete.

Ao meu orientador Prof. Dr. Raimundo Braz Filho pela dedicação, por ter me conduzido deste o mestrado até o doutorado com plena competência. Sempre disponível e disposto a ajudar, querendo que eu aproveitasse cada segundo durante o doutorado para absorver algum tipo de conhecimento. Fez-me enxergar a verdadeira postura de um pesquisador. Seu exemplo de caráter, de conduta, de transparência, de humildade e de honestidade foi de imensa e indispensável contribuição na realização deste trabalho. Aqui, lhe exprimo a minha eterna gratidão.

Aos colegas do laboratório de Ciências Químicas (Química de Produtos Naturais) – UENF: Lara, Heloísa, Michele, Hadria, Amanda, Antônio Sérgio, Raphael, Lidiana e Vinicius pelos ensinamentos transmitidos e pelo convívio harmonioso.

Aos professores do programa de Pós-Graduação do CCT - UENF - pelos ensinamentos das disciplinas ministradas que em muito contribuíram para minha formação acadêmica.

Aos membros da banca, Profa Dra Helóisa Alves Guimarães, Profa Dra Leda Mathias e Prof Dr. Walter Luiz Brasil Medeiros pela indispensável colaboração nas correções, sugestões e finalização deste trabalho.

Aos técnicos da UENF, Marcio Alves e Marcelo da Silva, pela realização das análises de RMN e CG-EM.

À UFRRJ pela obtenção das análises de RMN e CG-EM.

A EMBRAPA-Mangaratiba pela obtenção da análise de Massas de Alta Resolução

Ao IPPN-UFRJ pela obtenção da análise de Massas de Alta Resolução

À UENF/FAPERJ pela oportunidade de bolsa de estudo concedida para realização deste trabalho.

A todos aqueles, com certeza devo estar me esquecendo de alguém, que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	x
Lista de Esquemas	xvii
Lista de Tabelas	xix
Lista de Abreviaturas e Símbolos	xxxiii
Resumo	xxxv
Abstract	xxxvii
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1 - A família Meliaceae	4
3.2 - O Gênero <i>Trichilia</i>	5
3.2.1 – Constituintes químicos das espécies do gênero <i>Trichilia</i>	6
3.2.1.1 – A espécie <i>Trichilia hirta</i>	12

4. MATERIAL E METODOLOGIA	18
4.1 – Material	18
4.1.1 - Equipamentos	18
4.1.2 – Solventes e Reagentes	19
4.2 – Metodologia	20
4.2.1 - Coleta da espécie vegetal e classificação botânica	20
4.2.2 - Secagem e moagem	20
4.2.3 - Preparo dos extratos	20
4.2.4 – Descrição experimental do isolamento dos constituintes químicos da madeira da espécie <i>Trichilia hirta</i>	21
4.2.4.1- Análise do extrato em hexano (34,2 g)	21
4.2.4.1.1 - Análise cromatográfica da Fração THM3 (0,1943g)	22
4.2.4.1.2 - Análise cromatográfica da Fração THM-5 (2,7955g)	22
4.2.4.1.3 - Análise cromatográfica da Fração THM4 (4,0482g)	23
4.2.5 - Descrição experimental do isolamento dos constituintes químicos dos frutos da espécie <i>Trichilia hirta</i>	23
4.2.5.1 – Análise cromatográfica do extrato em metanol (40,8 g)	24
4.2.5.1.1 - Análise cromatográfica da reunião das frações TMF1 e TMF2 (4,8061 g)	24
4.2.5.1.2 - Análise cromatográfica da fração TMF1-3 (3,1423 g)	25
4.2.5.1.3 - Análise cromatográfica da Fração TMF13-4 (0,4521g)	25
4.2.5.1.4 - Análise cromatográfica da Fração TMF4 (9,6898g)	26
4.2.5.1.5 - Análise cromatográfica da Fração TMF4-8 (2,8342g)	27
4.2.6 - Descrição experimental do isolamento dos constituintes químicos das cascas da madeira da espécie <i>Trichilia hirta</i>	27
4.2.6.1 - Análise cromatográfica do extrato em hexano (28,7g)	27

4.2.6.1.1 – Análise cromatográfica da reunião das Frações THC1 e THC2 (2,6835g)	28
4.2.6.1.2 - Análise cromatográfica da Fração THC1-2 (0,8253 g)	28
4.2.6.1.3 - Análise cromatográfica da união das Frações THC3 (3,1911g)	29
4.2.6.1.4 - Análise cromatográfica da Fração THC3-3 (1,2261g)	29
4.2.7 - Procedimento experimental para as reações de acetilação.	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	30
5.1 - Substâncias Identificadas.	34
5.2 - Determinação Estrutural das Substâncias Identificadas	34
5.2.1 - Limonoides	34
5.2.1.1 - Determinação Estrutural da Mistura das Substâncias I e II	78
5.2.1.2 - Determinação Estrutural da Substância III	131
5.2.2 - Protolimonoides	131
5.2.2.1 - Determinação Estrutural da Mistura das Substâncias IV e V	171
5.2.2.2 - Determinação Estrutural da Substância VI	194
5.2.3 - Triterpenos	193
5.2.3.1 - Determinação Estrutural da Substância VII	214
5.2.3.2 - Determinação Estrutural da Substância VIII	234
5.2.3.3 - Determinação Estrutural da Substância IX	255
5.2.4 - Ésteres	255
5.2.4.1 - Determinação Estrutural da Mistura das Substâncias X e XI	278
5.2.4.2 - Determinação Estrutural da Mistura das Substâncias XII e XIII	297
5.2.5 - Diterpenos	296
5.2.5.1 - Determinação Estrutural da Mistura das Substâncias XIV e XV	312
5.2.6 - Esteróides	312

5.2.6.1 - Determinação Estrutural da Mistura das Substâncias **XVI, XVII e XVIII**

5.2.6.2 - Determinação Estrutural da Mistura das Substâncias **XIX, XX, XXI, XXII, XXIII e XXIV** 325

6. CONCLUSÃO 337

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 339

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fotografia da espécie <i>Trichilia dregeana</i> .	5
Figura 2: Estruturas de limonoides isolados de <i>Trichilia</i> .	7
Figura 3: Estrutura de esteroides isolados de <i>Trichilia</i> .	11
Figura 4: Estruturas de triterpenos cicloartanos isolados de <i>Trichilia</i> .	12
Figura 5: Fotografia da espécie e dos frutos de <i>T. hirta</i> .	13
Figura 6: Estrutura do sesquiterpeno de <i>T. hirta</i> .	14
Figura 7: Estruturas dos triterpenos tetracíclicos de <i>T. hirta</i> .	14
Figura 8: Estrutura do triterpeno do tipo cicloartano de <i>T. hirta</i> .	15
Figura 9: Estruturas dos esteroides de <i>T. hirta</i> .	16
Figura 10: Estrutura do limonoide do tipo meliacina de <i>T. hirta</i> .	16
Figura 11: Estruturas dos limonoides furanosídeos de <i>T. hirta</i> .	17
	31
	35

Figura 12: Substâncias identificadas de <i>Trichilia hirta</i>	36
Figura 13: Inserção direta da amostra I.	
Figura 14: Espectro de Massas da amostra I.	40
Figura 15: Correlação dipolar revelada pelo ^1H - ^1H -NOESY do limonoide I [6-hidroxi-11 β -acetoxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila].	41
Figura 16: Dados de referências citadas por Mahato e Kandu, 1994 para comparação dos valores de deslocamentos químicos de RMN ^{13}C dos substituintes equatorial e axial ligados ao C-4.	42
Figura 17: Estruturas dos limonoides I e II acetilados (I-Ac e II-Ac).	43
Figura 18: Correlação dipolar revelada pelo ^1H - ^1H -NOESY do limonoide II [6-hidroxi-11 β -propionoloxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-14 α ,15 α -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila].	43
Figura 19: Cromatograma gasoso da mistura das substâncias I e II acetilados (I-AC e II-Ac).	44
	45
Figura 20: Espectro de Massas da substância I acetilada (I-Ac).	45
Figura 21: Espectro de Massas da substância II acetilada (II-Ac).	51
Figura 22: Estrutura dos limonoides I e II.	52
Figura 23: Estruturas dos limonoides (65), (66), (67), (68) e (69) isolados por Simmonds et al., 2001	53
Figura 24: Espectro na região do IV da mistura das substâncias I e II.	
Figura 25: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias I e II.	54
Figura 26: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 6,00 a 7,40 ppm da mistura das substâncias I e II.	55
Figura 27: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 3,70 a 5,50 ppm da mistura das substâncias I e II.	56
Figura 28: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,80 a 3,00 ppm da mistura das substâncias I e II.	57
Figura 29: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 1,70 ppm da mistura das substâncias I e II.	58

- Figura 30:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **I** e **II**. 59
- Figura 31:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 111,0 a 200,0 ppm da mistura das substâncias **I** e **II**. 60
- Figura 32:** Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 40,0 a 80,0 ppm da mistura das substâncias **I** e **II**. 61
- Figura 33:** Espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 11,0 a 35,0 ppm da mistura das substâncias **I** e **II**. 62
- Figura 34:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **I** e **II**. 63
- Figura 35:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 4,00 ppm da mistura das substâncias **I** e **II**. 64
- Figura 36:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **I** e **II**. 65
- Figura 37:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 7,00 ppm da mistura das substâncias **I** e **II**. 66
- Figura 38:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 4,00 ppm da mistura das substâncias **I** e **II**. 67
- Figura 39:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **I** e **II**. 68
- Figura 40:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -NOESY (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **I** e **II**. 69
- Figura 41:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -NOESY (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 4,00 ppm da mistura das substâncias **I** e **II**. 70
- Figura 42:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **I-Ac** e **II-Ac**. 71
- Figura 43:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 3,00 ppm da mistura das substâncias **I-Ac** e **II-Ac**. 72
- Figura 44:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **I-Ac** e **II-Ac**. 73
- Figura 45:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 11,0 a 80,0 ppm da mistura das substâncias **I-Ac** e **II-Ac**. 74

- Figura 46:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 111,0 a 200,0 ppm da mistura das substâncias **I-Ac** e **II-Ac**. 75
- Figura 47:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **I-Ac** e **II-Ac** 76
- Figura 48:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **I-Ac** e **II-Ac**. 77
- Figura 49:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **I-Ac** e **II-Ac**. 79
- Figura 50:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -NOESY (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **I-Ac** e **II-Ac**. 81
- Figura 51:** Espectro de Massas de Alta Resolução da substância **III**. 83
- Figura 52:** Correlação dipolar revelada pelo ^1H - ^1H -NOESY do limonoide **III**. 89
- Figura 53:** Espectro de Massas de Alta Resolução da substância **III-Ac**. 90
- Figura 54:** Correlação dipolar revelada pelo ^1H - ^1H -NOESY do limonoide **III-Ac**. 91
- Figura 55:** Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) da substância **III**. 91
- Figura 56:** Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 6,00 a 7,00 ppm da substância **III**. 92
- Figura 57:** Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 4,70 a 5,30 ppm da substância **III**. 93
- Figura 58:** Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 3,00 a 4,20 ppm da substância **III**. 94
- Figura 59:** Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,00 a 2,70 ppm da substância **III**. 95
- Figura 60:** Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,40 a 2,00 ppm da substância **III**. 96
- Figura 61:** Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,90 a 1,30 ppm da substância **III**. 97
- Figura 62:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (100 MHz, CDCl_3) da substância **III**. 98
- Figura 63:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (100 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 68,0 a 130,0 ppm da substância **III**. 99

- Figura 64:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (100 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 40,0 a 60,0 ppm da substância III. 100
- Figura 65:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (100 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 11,0 a 35,0 ppm da substância III. 101
- Figura 66:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (400 MHz, CDCl_3) da substância III. 102
- Figura 67:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 3,00 ppm da substância III. 103
- Figura 68:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 3,50 a 5,00 ppm da substância III. 104
- Figura 69:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (400 MHz, CDCl_3) da substância III. 105
- Figura 70:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,00 a 7,00 ppm da substância III. 106
- Figura 71:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,00 a 7,00 ppm da substância III. 107
- Figura 72:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,00 a 7,00 ppm da substância III. 108
- Figura 73:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,00 a 7,00 ppm da substância III. 109
- Figura 74:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,00 a 7,00 ppm da substância III. 110
- Figura 75:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3) da substância III. 111
- Figura 76:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,00 a 5,00 ppm da substância III. 112
- Figura 77:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -NOESY (400 MHz, CDCl_3) da substância III. 113
- Figura 78:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -NOESY (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,50 a 5,00 ppm da substância III. 114
- Figura 79:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -NOESY (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,50 a 5,00 ppm da substância III. 115
- Figura 80:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -NOESY (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,50 a 5,00 ppm da substância III. 116

Figura 79: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância III-Ac .	117
Figura 80: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 5,00 a 8,00 ppm da substância III-Ac .	118
Figura 81: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,50 a 4,00 ppm da substância III-Ac .	119
Figura 82: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 2,20 ppm da substância III-Ac .	120
Figura 83: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da substância III-Ac .	121
Figura 84: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 0,0 a 81,0 ppm da substância III-Ac .	122
Figura 85: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 80,0 a 170,0 ppm da substância III-Ac .	123
Figura 86: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) da substância III-Ac .	124
Figura 87: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,00 a 7,00 ppm da substância III-Ac .	125
Figura 88: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 4,00 ppm da substância III-Ac .	126
Figura 89: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 4,00 a 8,00 ppm da substância III-Ac .	127
Figura 90: Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) da substância III-Ac .	128
Figura 91: Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,00 a 8,00 ppm da substância III-Ac .	129
Figura 92: Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,00 a 8,00 ppm da substância III-Ac .	130
Figura 93: Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,00 a 8,00 ppm da substância III-Ac .	132
	134
	136

Figura 94: Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) da substância III-Ac .	137
Figura 95: Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 5,00 ppm da substância III-Ac .	140
Figura 96: Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -NOESY (500 MHz, CDCl_3) da substância III-Ac .	141
Figura 97: Inserção direta da mistura das substâncias IV e V .	142
Figura 98: Espectro de Massas da mistura das substâncias IV e V .	143
Figura 99: Representação do efeito γ -proteção presente na mistura dos epímeros IV e V .	144
Figura 100: Inserção direta da mistura das substâncias IV e V acetilada (IV-Ac e V-Ac).	144
Figura 101: Espectro de Massas da mistura das substâncias IV-Ac e V-Ac .	145
Figura 102: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias IV e V .	146
Figura 103: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 3,00 a 5,50 ppm da mistura das substâncias IV e V .	147
Figura 104: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 3,00 ppm da mistura das substâncias X e XI .	148
Figura 105: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias IV e V .	149
Figura 106: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 70,0 a 145,0 ppm da mistura das substâncias IV e V .	150
Figura 107: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 10,0 a 60,0 ppm da mistura das substâncias IV e V .	151
Figura 108: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias IV e V .	152
Figura 109: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 3,00 a 7,00 ppm da mistura das substâncias IV e V .	153
Figura 110: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 3,50 ppm da mistura das substâncias IV e V .	154

- Figura 111:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 5,00 ppm da mistura das substâncias **X** e **XI**. 155
- Figura 112:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **IV** e **V**. 156
- Figura 113:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 3,50 ppm da mistura das substâncias **IV** e **V**. 157
- 158
- Figura 114:** Espectro de interação homonuclear ^1H - ^1H -NOESY (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **IV** e **V** 159
- Figura 115:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 160
- Figura 116:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 4,00 a 6,00 ppm da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 161
- Figura 117:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 3,20 a 3,40 ppm da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 162
- Figura 118:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,00 a 2,50 ppm da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 163
- Figura 119:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 1,60 ppm da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 164
- Figura 120:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 165
- Figura 121:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 46,0 a 58,0 ppm da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 166
- Figura 122:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 30,0 a 38,0 ppm da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 167
- Figura 123:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 17,0 a 28,0 ppm da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 168
- Figura 124:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 169

- Figura 125:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 4,00 a 5,50 ppm da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 170
- Figura 126:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,00 a 3,50 ppm da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 171
172
- Figura 127:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 3,00 ppm da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 175
176
- Figura 128:** Espectro de correlação heteronuclear HBMC (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 177
- Figura 129:** Espectro de correlação heteronuclear HBMC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 3,50 ppm da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 178
- Figura 130:** Espectro de correlação heteronuclear HBMC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,50 a 1,50 ppm da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 179
- Figura 131:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 180
- Figura 132:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 6,00 ppm da mistura das substâncias **IV-Ac** e **V-Ac**. 181
182
- Figura 133:** Cromatograma gasoso da substância **VI**. 183
- Figura 134:** Espectro de Massas da substância **VI**. 184
- Figura 135:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância **VI**. 184
- Figura 136:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 3,00 a 5,50 ppm da substância **VI**. 185
- Figura 137:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,60 a 2,90 ppm da substância **VI**. 186
- Figura 138:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 2,00 a 2,40 ppm da substâncias **VI**. 187
- Figura 139:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 1,10 ppm da substância **VI**. 188
- Figura 140:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da substância **VI**. 189

Figura 141: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 40,0 a 120,0 ppm da substância VI .	190
Figura 142: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 33,0 a 54,0 ppm da substâncias VI .	191
Figura 143: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 12,0 a 30,0 ppm da substância VI .	192
Figura 144: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) da substância VI .	193
Figura 145: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 4,00 ppm da substância VI .	197
Figura 146: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,50 a 3,00 ppm da substância VI .	198
Figura 147: Espectro de correlação heteronuclear HBMC (500 MHz, CDCl_3) da substância VI .	199
Figura 148: Espectro de correlação heteronuclear HBMC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 7,00 ppm da substância VI .	200
Figura 149: Espectro de correlação heteronuclear HBMC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 3,50 ppm da substância VI .	201
Figura 150: Espectro de correlação heteronuclear HBMC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 3,50 ppm da substância VI .	202
Figura 151: Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) da substância VI .	203
Figura 152: Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 3,50 ppm da substância VI .	204
Figura 153: Espectro de Massas de Alta Resolução da substância VII .	205
Figura 154: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância VII .	206
Figura 155: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 4,50 a 5,80 ppm da substância VII .	207
Figura 156: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,50 a 2,60 ppm da substância VII .	208
Figura 157: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 1,50 ppm da substância VII .	209

Figura 158: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da substância VII .	210
Figura 159: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 14,0 a 63,0 ppm da substância VII .	211
Figura 160: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 33,0 a 49,0 ppm da substância VII .	212
Figura 161: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 14,0 a 35,0 ppm da substância VII .	213
Figura 162: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) da substância VII .	215
Figura 163: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 2,50 ppm da substância VII .	219
Figura 164: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 2,20 ppm da substância VII .	220
Figura 165: Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) da substância VII .	221
Figura 166: Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 1,80 ppm da substância VII .	222
Figura 167: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,70 a 2,50 ppm da substância VII .	223
Figura 168: Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) da substância VII .	224
Figura 169: Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 5,00 ppm da substância VII .	225
Figura 170: Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 2,50 ppm da substância VII .	226
Figura 171: Inserção direta da substância VIII .	227
Figura 172: Espectro de Massas da substância VIII .	
Figura 173: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância VIII .	228
Figura 174: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 1,60 ppm da substância VIII .	229
Figura 175: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 3,00 a 5,50 ppm da substância VIII .	230

Figura 176: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,20 a 2,40 ppm da substância VIII .	231
Figura 177: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,70 a 1,30 ppm da substância VIII .	232
Figura 178: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da substância VIII .	233
Figura 179: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 14,0 a 120,0 ppm da substância VIII .	235
Figura 180: Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 14,0 a 60,0 ppm da substância VIII .	239
Figura 181: Espectro de correlação heteronuclear de HSQC (500 MHz, CDCl_3) da substância VIII .	240
Figura 182: Espectro de correlação heteronuclear HSQC (5000 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 2,00 ppm da substância VIII .	241
Figura 183: Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) da substância VIII .	242
Figura 184: Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 2,00 ppm da substância VIII .	243
Figura 185: Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 1,10 ppm da substância VIII .	244
Figura 186: Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) da substância VIII .	245
Figura 187: Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 2,00 ppm da substância VIII .	246
Figura 188: Inserção direta da substância IX .	247
Figura 189: Espectro de Massas da substância IX .	248
Figura 190: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da substância IX .	248
Figura 191: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de 1,80 a 3,00 ppm da substância IX .	249
Figura 192: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de 0,80 a 1,80 ppm da substância IX .	250
	251

- Figura 193:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de 3,50 a 8,00 ppm da substância **IX**. 252
- Figura 194:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da substância **IX**. 253
- Figura 195:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 33,0 a 56,0 ppm da substância **IX**. 254
- Figura 196:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 14,0 a 30,0 ppm da substância **IX**. 256
- Figura 197:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) da substância **IX**. 256
- Figura 198:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,50 a 2,50 ppm da substância **IX**. 262
- Figura 199:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,0 a 4,00 ppm da substância **IX**. 263
- Figura 200:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) da substância **IX**. 264
- Figura 201:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,50 a 2,50 ppm da substância **IX**. 265
- Figura 202:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,60 a 1,40 ppm da substância **IX**. 266
- Figura 203:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 3,00 ppm da substância **IX**. 267
- Figura 204:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) da substância **IX**. 268
- Figura 205:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 6,00 ppm da substância **IX**. 269
- Figura 206:** Cromatograma gasoso da mistura das substâncias **X** e **XI**. 270
- Figura 207:** Espectros de Massas da mistura das substâncias **X** e **XI**. 270
- Figura 208:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **X** e **XI**. 271
- Figura 209:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 3,00 a 5,50 ppm da mistura das substâncias **X** e **XI**. 272
- Figura 210:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,50 a 2,65 ppm da mistura das substâncias **X** e **XI**.

- Figura 211:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 1,40 ppm da mistura das substâncias **X** e **XI**. 273
- Figura 212:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **X** e **XI**. 274
- Figura 213:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 14,0 a 35,0 ppm da mistura das substâncias **X** e **XI**. 275
- Figura 214:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **X** e **XI**. 276
- Figura 215:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 5,00 ppm da mistura das substâncias **X** e **XI**. 277
- Figura 216:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 2,50 ppm da mistura das substâncias **X** e **XI**. 278
- Figura 217:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **X** e **XI**. 279
- Figura 218:** Espectro de correlação heteronuclear HBMC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 5,00 ppm da mistura das substâncias **X** e **XI**. 283
- Figura 219:** Espectro de correlação heteronuclear HBMC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 5,00 ppm da mistura das substâncias **X** e **XI**. 284
- Figura 220:** Espectro de correlação heteronuclear HBMC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,60 a 1,80 ppm da mistura das substâncias **X** e **XI**. 285
- Figura 221:** Espectro de correlação heteronuclear HBMC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 5,00 ppm da mistura das substâncias **X** e **XI**. 286
- Figura 222:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **X** e **XI**. 287
- Figura 223:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,50 a 3,00 ppm da mistura das substâncias **X** e **XI**. 288
- Figura 224:** Espectro de Massas de Alta Resolução da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 289
- Figura 225:** Cromatograma gasoso da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 290
- Figura 226:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 290

- Figura 227:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 1,40 ppm da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 291
- Figura 228:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 292
- Figura 229:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 14,0 a 35,0 ppm da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 293
- Figura 230:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 65,0 a 85,0 ppm da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 293
- Figura 231:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 294
- Figura 232:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 3,00 a 5,00 ppm da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 295
- Figura 233:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 1,80 ppm da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 298
- Figura 234:** Espectro de correlação heteronuclear HBMC (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 299
- Figura 235:** Espectro de correlação heteronuclear HBMC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,60 a 1,60 ppm da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 300
- Figura 236:** Espectro de correlação heteronuclear HBMC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 4,00 ppm da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 301
- Figura 237:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 302
- Figura 238:** Espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,00 a 5,00 ppm da mistura das substâncias **XII** e **XIII**. 303
- Figura 239:** Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **XIV** e **XV**. 304
- Figura 240:** Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 4,00 a 5,50 ppm da mistura das substâncias **XIV** e **XV**. 305
- Figura 241:** Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 2,40 ppm da mistura das substâncias **XIV** e **XV**. 306

- Figura 242:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (100 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **XIV** e **XV**. 308
- Figura 243:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (100 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 100,0 a 160,0 ppm da mistura das substâncias **XIV** e **XV**. 309
- Figura 244:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (100 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 16,0 a 80,0 ppm da mistura das substâncias **XIV** e **XV**.
- Figura 245:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (400 MHz, CDCl_3) ppm da mistura das substâncias **XIV** e **XV**. 310
- Figura 246:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,20 a 2,40 ppm da mistura das substâncias **XIV** e **XV**. 311
- Figura 247:** Espectro de correlação heteronuclear HSQC (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,50 a 3,00 ppm da mistura das substâncias **XIV** e **XV**. 314
- Figura 248:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (400 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **XIV** e **XV**. 317
- Figura 249:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,50 a 2,50 ppm da mistura das substâncias **XIV** e **XV**. 319
- Figura 250:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,50 a 4,00 ppm da mistura das substâncias **XIV** e **XV**. 320
- Figura 251:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 1,50 a 2,20 ppm da mistura das substâncias **XIV** e **XV**. 322
- Figura 252:** Espectro de correlação heteronuclear HMBC (400 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 5,00 a 5,50 ppm da mistura das substâncias **XIV** e **XV**. 323
- Figura 253:** Cromatograma mistura dos esteroides **XVI**, **XVII** e **XVIII**. 324
- Figura 254:** Espectro de Massas do esteroide **XVI**. 325
- Figura 255:** Espectro de Massas do esteroide **XVIII**. 326
- Figura 256:** Espectro de Massas do esteroide **XVII**. 326
- Figura 257:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **XVI**, **XVII** e **XVIII**. 327

- Figura 258:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 3,00 a 8,00 ppm da mistura das substâncias **XVI**, **XVII** e **XIII**. 327
- Figura 259:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,80 a 2,00 ppm da mistura das substâncias **XVI**, **XVII** e **XVIII**. 328
329
- Figura 260:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **XVI**, **XVII** e **XVIII**. 331
- Figura 261:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 28,0 a 42,0 ppm da mistura das substâncias **XVI**, **XVII** e **XVIII**. 332
- Figura 262:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 12,0 a 26,0 ppm da mistura das substâncias **XVI**, **XVII** e **XIII**. 332
- Figura 263:** Cromatograma gasoso da mistura das substâncias **XIX**, **XX**, **XXI**, **XXII**, **XXIII** e **XXIV**. 333
- Figura 264:** Espectro de Massas do esteroide **XIX**. 334
- Figura 265:** Espectro de Massas do esteroide **XX**.
- Figura 266:** Espectro de Massas do esteroide **XXI**. 335
- Figura 267:** Espectro de Massas do esteroide **XXII**.
- Figura 268:** Espectro de Massas do esteroide **XXIII**. 336
- Figura 269:** Espectro de Massas do esteroide **XXIV**.
- Figura 270:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **XIX** e **XX**, **XXI**, **XXII**, **XXIII** e **XXIV**.
- Figura 271:** Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{H} 0,50 a 2,50 ppm da mistura das substâncias **XIX**, **XX**, **XXI**, **XXII**, **XXIII** e **XXIV**.
- Figura 272:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) da mistura das substâncias **XIX**, **XX**, **XXI**, **XXII**, **XXIII** e **XXIV**.
- Figura 273:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 120,0 a 180,0 da mistura das substâncias **XIX**, **XX**, **XXI**, **XXII**, **XXIII** e **XXIV**.
- Figura 274:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 45,0 a 80,0 ppm da mistura das substâncias **XIX**, **XX**, **XXI**, **XXII**, **XXIII** e **XXIV**.
- Figura 275:** Espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz, CDCl_3) expandido na região de δ_{C} 11,0 a 57,0 ppm da mistura das substâncias **XIX**, **XX**, **XXI**, **XXII**, **XXIII** e **XXIV**.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Proposta de fragmentação para justificar os principais picos observados no EM da substância I .	37
Esquema 2: Proposta de fragmentação para justificar os principais picos observados nos espectros de massas dos derivados acetilados I-Ac e II-Ac .	44
Esquema 3: Proposta de fragmentação dos principais íons da substância III .	79
Esquema 4: Proposta de fragmentação dos principais íons da substância III-Ac .	83
Esquema 5: Proposta de fragmentação dos íons principais das substâncias IV e V .	133
Esquema 6: Proposta de fragmentação dos íons principais da mistura das substâncias IV-Ac e V-Ac ..	137
Esquema 7: Proposta de fragmentação dos principais íons da substância VI .	172
Esquema 8: Proposta de fragmentação dos principais íons da substância VII .	194

Esquema 9: Proposta de fragmentação contendo os íons principais da substância VIII .	215
Esquema 10: Proposta de fragmentação dos íons principais da substância IX .	235
Esquema 11: Propostas de fragmentações dos principais íons da mistura das substâncias X e XI .	260
Esquema 12: Proposta de fragmentação dos principais íons da mistura das substâncias XII e XIII .	279
Esquema 13: Proposta de fragmentação dos principais íons da mistura das substâncias XII e XIII .	280
Esquema 14: Proposta de fragmentação para o esteroide XVI .	315
Esquema 15: Proposta de fragmentação para o esteroide XVIII .	316
Esquema 16: Proposta de fragmentação para o esteroide XVII .	317
Esquema 17: Proposta de fragmentação dos principais íons do esteroide XIX .	326
Esquema 18: Proposta de fragmentação dos principais íons do esteroide XX .	326
Esquema 19: Proposta de fragmentação dos principais íons do esteroide XXI .	327
Esquema 20: Proposta de fragmentação dos principais íons do esteroide XXII .	328
Esquema 21: Proposta de fragmentação dos principais íons do esteroide XXIII .	328
Esquema 22: Proposta de fragmentação dos principais íons do esteroide XXIV .	329

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Limonoides de espécies do gênero <i>Trichilia</i> .	9
Tabela 2: Esteroides da espécie do gênero <i>Trichilia</i> .	11
Tabela 3: Triterpeno cicloartano da espécie do gênero <i>Trichilia</i> .	12
Tabela 4: Sesquiterpeno da espécie <i>T. hirta</i> .	14
Tabela 5: Triterpenos tetracíclicos da espécie <i>T. hirta</i> .	15
Tabela 6: Triterpeno do tipo cicloartano da espécie <i>T. hirta</i> .	15
Tabela 7: Esteroides da espécie <i>T. hirta</i> .	16
Tabela 8: Limonoide do tipo meliacina da espécie <i>T. hirta</i> .	17
Tabela 9: Limonoides furanosídeos da espécie <i>T. hirta</i> .	17
Tabela 10: Peso das partes do material vegetal, de <i>T. hirta</i> , secas e dos seus extratos brutos.	20
Tabela 11: Estudo cromatográfico do extrato em hexano da madeira (THM).	21
Tabela 12: Estudo cromatográfico da fração THM3.	22

Tabela 13: Estudo cromatográfico da fração THM5.	22
Tabela 14: Estudo cromatográfico da fração THM4	23
Tabela 15: Estudo cromatográfico do extrato em metanol dos frutos (TMF).	24
Tabela 16: Estudo cromatográfico da fração TMF1.	24
Tabela 17: Estudo cromatográfico da fração TMF1-3.	25
Tabela 18: Estudo cromatográfico da fração TMF13-4.	25
Tabela 19: Estudo cromatográfico da fração TMF4.	26
Tabela 20: Estudo cromatográfico da fração TMF4-8.	26
Tabela 21: Estudo cromatográfico do extrato em hexano das cascas da madeira THC.	27
Tabela 22: Estudo cromatográfico da fração THC1.	28
Tabela 23: Estudo cromatográfico da fração THC3.	29
Tabela 24: Estudo cromatográfico da fração THC3-3.	29
Tabela 25: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da substância I em CDCl_3 , e as correlações observadas nos espectros de HSQC e HMBC. Deslocamentos químicos em δ_{C} e δ_{H} (ppm) e constantes de acoplamento (J , em parenteses) em Hz comparados com valores descrito para o limonoide 6-hidroxi-11 β -acetoxi-12-meliacadien-2-isobutiroxi-3,7-dioxi-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila (Simmonds <i>et al.</i> , 2001).	46
Tabela 26: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da mistura das substância I-Ac e II-Ac em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC. Deslocamentos químicos em δ_{C} e δ_{H} (ppm), e constantes de acoplamento (J) em Hz.	48
Tabela 27: Dados de comparação de RMN ^1H e RMN ^{13}C da mistura das substância I e II com os limonóides relatados na literatura. Deslocamentos químicos em δ_{C} e δ_{H} (ppm), e constantes de acoplamento (J) em Hz (Simmonds <i>et al.</i> , 2001).	50
Tabela 28: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da substância III em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para as misturas das substâncias I e II e IV e V .	85
Tabela 29: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da substância III-Ac em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC.	

Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para o limonóide **III**.

87

Tabela 30: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da mistura **IV** e **V** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para a mistura dos epímeros *R* e *S* do protolimonóide 21,15-dimetilmelianodiol (Hisham et al., 2001).

138

Tabela 31: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da mistura **IV-Ac** e **V-Ac** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores da mistura dos epímeros *R* e *S* do protolimonóide 21,15-dimetilmelianodiol.

139

Tabela 32: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) do triterpeno **VI** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para o triterpeno nilocitina (Azevedo, 2013).

174

Tabela 33: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da substância **VII** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência da substância **IX** (Ahmad e Rahman, 1994).

196

Tabela 34: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) do triterpeno **VIII** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para o triterpeno β -taraxerol (Ahmad e Rahman, 1994).

218

Tabela 35: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz) do triterpeno **IX** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para o triterpeno taraxerona (Ahmad e Rahman, 1994).

238

Tabela 36: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da mistura dos ésteres em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência da literatura (Li et al., 2014).

261

Tabela 37: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) dos ésteres **XII** e **XIII** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de

acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para o éster isobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol (Li et al., 2014). 282

Tabela 38: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e RMN ^{13}C -DEPTQ (100 MHz) da mistura **XIV** e **XV** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para a mistura dos estereoisômeros *E* e *Z* do álcool tetraprenol (Tanaka et al, 1985). 297

Tabela 39: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da mistura das substâncias **XVI**, **XVII** e **XVIII** em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para a mistura dos esteroides β -sitosterol, estigmasterol e campesterol (Vieira, 1995). 318

Tabela 40: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) do esteroide **XXIV** em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para o esteroide β -sitostenona (Vieira, 1995). 330

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

λ	Comprimento de onda
δ	Deslocamento químico
CDCl_3	Clorofórmio Deuterado
cm^{-1}	Centímetro recíproco
COSY	“Correlation Spectroscopy”
d	Dupleto
dd	Duplodupleto
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
EMAR	Espectro de Massas de Alta Resolução
EMBR	Espectro de Massas de Baixa Resolução
GC/EM	Cromatografia de gás acoplada a espectrometria de massas
HMBC	“Heteronuclear Multiple Bond Connectivity”
HMQC	“Heteronuclear Multiple Quantum Coherence”
Hz	Hertz

IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento medida em Hz
m	Multiplete
mg	Miligrama
<i>m/z</i>	relação massa/carga
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
ppm	Parte por milhão
q	Quaduplete
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
s	Simpleto
t	Triplete
v/v	volume por volume

RESUMO

VIEIRA, Milena Gonçalves Curcino; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, junho de 2015; Constituintes Químicos de *Trichilia hirta* (MELIACEAE); Professor Orientador Raimundo Braz Filho/Professor co-orientador Ivo José Curcino Vieira.

Da espécie *Trichilia hirta* foram identificadas e caracterizadas 24 substâncias: três limonóides: mistura de 6-hidroxi-11 β -acetoxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila e 6-hidroxi-11 β -propanoiloxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila e marcocurcino; três protolimonóides: mistura de (21*R*)-21,25-dimetoximelianodiol e (21*S*)-21,25-dimetoximelianodiol e nilocitina; três triterpenos: 15 α -cloro- β -amirona, β -taraxerol e taraxerona; quatro ésteres: mistura de palmitato de 3-(2-metilpropanoiloxi)-2,2,4-trimetilpentila e estearato de 3-(2-metilpropanoiloxi)-2,2,3-trimetilpentila e a mistura de isobutirato de 3-hidroxi-2,2,4-trimetilpentan-1-ila e isobutirato de 1-hidroxi-2,2,4-trimetilpentan-3-ila; dois diterpenos: mistura de (2*E*,6*Z*,10*Z*)-3,7,11,15-tetrametilhexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol e (2*Z*,6*Z*,10*Z*)-3,7,11,15-tetrametilhexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol; e nove esteroides: mistura de β -sitosterol, campesterol e estigmasterol e a mistura de acetato de (3 β ,22*E*)-

ergosta-5,22-dien-3-ol, acetato de estigmasterol, campestenona, (22*E*)-estigmasta-4,22-dien-6-ona, estigmasta-3,5-dien-7-ona e β -sitostenona. As substâncias foram caracterizadas através da análise de dados fornecidos por espectros de RMN 1D (^1H e ^{13}C) e 2D [homonuclear ^1H - ^1H -COSY e ^1H - ^1H -NOESY e heteronuclear ^1H - ^{13}C -COSY- $^n\text{J}_{\text{CH}}$, $n=2$ (HSQC ou HMQC) e $n=3$ (HMBC)], de massas e de infravermelho, envolvendo comparações com valores descritos na literatura. Um novo levantamento bibliográfico envolvendo as substâncias isoladas e identificadas no gênero *Trichilia* permitiu registrar o total de 398. Neste estudo estamos registrando a identificação e a caracterização estrutural de seis substâncias inéditas na literatura e doze descritas pela primeira vez no gênero *Trichilia*.

ABSTRACT

VIEIRA, Milena Gonçalves Curcino; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, June 2015; Chemical Constituents from *Trichilia hirta* (MELIACEAE); Professor Orientador Raimundo Braz Filho/Professor co-orientador Ivo José Curcino Vieira

From *Trichilia hirta* were identified and characterized twenty four compounds: three limonoids: mixture of methyl 6-hydroxy-11 β -acetoxo-12 α -(2-methylpropanoyloxy)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxy-1,5-meliacadien-29-oate and methyl 6-hydroxy-11 β -propanoyloxy-12 α -(2-methylpropanoyloxy)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxy-1,5-meliacadien-29-oate and marcocurcino; three protolimonoids: mixture of (21*R*)-21,25-dimethylmelianodiol and (21*S*)-21,25-dimethylmelianodiol and nilocitin; three triterpenes, 15 α -chloro- β -amirone, β -taraxerol and taraxerone; four esters: mixture of 3-(isobutyryloxy)-2,2,4-trimethylpentyl palmitate and 3-(isobutyryloxy)-2,2,3-trimethylpentyl stearate and mixture of 1-hydroxy-2,2,4-trimethylpentan-3-yl isobutyrate and 3-hydroxy-2,2,4-trimethylpentan-1-yl isobutyrate; two diterpenes: mixture of (2*E*,6*Z*,10*Z*)-3,7,11,15-tetramethylhexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol and (2*Z*,6*Z*,10*Z*)-

3,7,11,15-tetramethylhexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol; and nine steroids: mixture of β -sitosterol, campesterol and estigmasterol and mixture of (3 β ,22 E)-ergosta-5,22-dien-3-ol acetate, stigmastenone acetate, campestenone, (22 E)-stigmasta-4,22-dien-6-ona, stigmasta-3,5-dien-7-one and β -sitostenone. The compounds were characterized through of the analysis of NMR [1D: ^1H e ^{13}C ; and 2D: homonuclear ^1H - ^1H -COSY and ^1H - ^1H -NOESY and heteronuclear ^1H - ^{13}C -COSY- $^nJ_{\text{CH}}$, $n=2$ (HSQC or HMQC) e $n=3$ (HMBC)], mass and infrared spectra, involving comparisons with values described in the literature. A new literature review revealed a total of 398 different substances isolated and identified in *Trichilia* genus. In this study we are registering the isolation and structural characterization of six new substances and derivatives together with twelve described for the first time in the genus *Trichilia*.

1. INTRODUÇÃO

A fitoquímica, além de ter sua significativa contribuição na descoberta de novas substâncias naturais, com diversas aplicações na medicina, agricultura, entre outras áreas, tem sua importância também na composição química dos vegetais organizando-os de acordo com as classes de substâncias naturais já existentes.

As plantas têm desempenhado um papel muito importante na evolução humana, fornecendo alimentos, abrigo, roupas, meios de transporte, fertilizantes, fragrâncias, inseticidas e também remédios.

Mais de 25% de todos os medicamentos são de origem vegetal. As plantas medicinais sempre foram objeto de estudo, buscando-se novas fontes para obtenção de princípios ativos, responsáveis por sua ação farmacológica ou terapêutica (Gaspar, 2009).

Do ponto de vista científico, no entanto, ainda é um campo pouco estudado e difundido no País, apesar da riqueza da flora brasileira, ficando os estudos na área mais restritos à antropologia e ao folclore, através da medicina popular (Braz-Filho, 2010).

Muitas destas plantas são utilizadas na medicina popular, e países como a China e a Índia mantêm esses conhecimentos em sua cultura através de várias gerações (Chang e Butt, 1986; Kapoor, 1990). Várias substâncias já

foram isoladas de vegetais e identificadas de acordo com sua atividade biológica e muitas delas são utilizadas na medicina (Di Stasi, 1996).

Com isso, a química de produtos naturais tem sua fundamental contribuição para o desenvolvimento da sociedade. Estima-se que 80% da população de países subdesenvolvidos e em desenvolvimento são quase completamente dependentes da medicina popular, utilizando plantas para suas necessidades de saúde (Braz-Filho, 2010).

Algumas famílias de plantas são caracterizadas por possuírem metabólitos secundários específicos de acordo com suas classificações (Simões et al., 2002). Dentre as várias classes de metabólitos secundários, podemos citar os alcalóides e os terpenoides com maior potencial biológico, vindo a seguir os limonoides, lignanas, flavonoides e cumarinas (Di Stasi, 1996). Famílias de plantas que produzem tais substâncias tornam-se então alvo de pesquisas, visando o isolamento destas com o objetivo de obter alguma atividade biológica.

Destas famílias, podemos citar a família Meliaceae que já vem sendo estudada há alguns anos pelo grupo de pesquisa do laboratório de química de produtos naturais da UENF, onde já foram investigadas fitoquimicamente quatro espécies do gênero *Trichilia*: *T. lepidota*, *T. quadrijuga*, *T. silvatica* e *T. casarettii*. Uma mistura de protolimonoides isolados por Terra 2012 da espécie *T. lepidota* apresentou uma significativa atividade anticancerígena. Nas demais espécies estudadas, os terpenóides foram predominantes na classe de substâncias isoladas (Rodrigues, 2009; Figueiredo, 2010).

Diante destes resultados e pelo grande potencial biológico apresentado pela família Meliaceae, o presente trabalho propõe o estudo fitoquímico da espécie *Trichilia hirta*, família Meliaceae, rica em limonóides, terpenóides, esteróides, etc. É importante salientar que desta espécie, encontram-se na literatura, estudos de sua constituição química, assim como relato de atividade biológica de extratos (Vieira et al., 2013).

2. OBJETIVOS

O trabalho proposto tem como objetivos:

1 – Geral:

- contribuir para a química do gênero *Trichilia*.

2 – Específico:

- isolar, identificar e caracterizar (através de métodos espectrométricos e cromatográficos) substâncias do metabolismo secundário, da madeira, frutos e casca da madeira da espécie *Trichilia hirta*, família Meliaceae.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 A família Meliaceae

A família Meliaceae, pertencente à ordem Rutales, é formada por 51 gêneros com aproximadamente 1400 espécies de característica lenhosa, distribuída nos trópicos e subtropicais de ambos os hemisférios (Marinho, 2005; Banerji e Nigam, 1984) e subdividida em quatro subfamílias: Swietenioideae, Meliceideae, Quivisianthoideae, Capuronianthoideae (Salles, 1995).

No Brasil, a família meliaceae apresenta alguns gêneros (*Cedrela*, *Cabralea*, *Swietenia*, *Carapa*, *Guarea*, *Trichilia* e *Khaya*) de grande interesse econômico para as indústrias madeireiras além da sua importância no fornecimento de óleos essenciais (Pennington, 1981 e Mosqueta, 1995).

Espécies da família Meliaceae são caracterizadas quimicamente pela presença de limonóides, derivados de triterpenos tetracíclicos, os quais são responsáveis pela atividade inseticida (Matos, 2006).

Os limonóides recebem especial atenção por serem considerados os principais marcadores quimiossistemáticos de algumas subfamílias de Meliaceae (Rodríguez et al., 2003; Lagos, 2006). Apresentam atividades inseticida, antibacteriana, antifúngica, antimalárica, anticancerígena, antiviral, antidiabética, hipoglicêmica, dentre outras (Rodríguez et al., 2003; Figuereido, 2010).

3.2 O gênero *Trichilia*

O gênero *Trichilia*, é constituído de aproximadamente 70 espécies, distribuídas principalmente na América Tropical e África, das quais aproximadamente 43 espécies ocorrem no Brasil. É um dos gêneros que possui maior número de espécies na família e se apresentam como árvores ou arvoredos (Patrício e Cervi, 2005; Rocha, 2004).



Figura 1: Fotografia da espécie *Trichilia dregeana*.

Fonte: <http://www.growsonyou.com/photo/slideshow/117305-trichilia-dregeana-natal-mahogany/all>, acessado dia 21-03-2012

De acordo com Terra (2012), apenas 27 espécies do gênero já foram estudadas quimicamente; comprovando que o gênero ainda foi muito pouco explorado. As espécies estudadas são elas: *T. americana*, *T. catigua*, *T. casarettii*, *T. cipo*, *T. claussenii*, *T. connaroides*, *T. cuneata*, *T. dregeana*, *T.*

emética, *T. elegans*, *T. estipulata*, *T. havanensis*, *T. heudellotti*, ***T. hirta***, *T. hispida*, *T. lepidota*, *T. martiana*, *T. pallida*, *T. prieuriana*, *T. quadrijuga*, *T. ramalhoi*, *T. reticulata*, *T. rubescens*, *T. rubra*, *T. schomburgkii*, *T. silvatica* e *T. trifolia*.

Extratos e substâncias isoladas dessas espécies do gênero *Trichilia* estudadas mostraram-se promissoras frente a diversas atividades biológicas. São elas: anti-inflamatória (Eldeen et al., 2007), antioxidante (Tang et al., 2007), antimicrobiana (Figueiredo et al., 2010), antibacteriana (Komane et al., 2011), imunossupressores (Musza et al., 1994), além da sua marcante atividade inseticida.

3.2.1 - Constituintes químicos das espécies do gênero *Trichilia*

No gênero *Trichilia* é possível observar a presença, principalmente, de metabólitos secundários da rota metabólica dos terpenos. Desses metabólitos presentes em *Trichilia*, destacam-se os limonoides, grupos de triterpenos modificados com alta oxigenação. Conhecidos como meliacinas e são assim chamados devido ao seu sabor amargo.

De acordo com uma revisão sobre o gênero *Trichilia* realizada por Terra 2012, é relatado que apenas 27 espécies do gênero já foram estudadas. Entretanto, algumas dessas apresentam estudos apenas de atividades biológicas dos seus extratos. Das demais, já foram isoladas e identificadas um total de 315 substâncias.

Em 2014 esses números já foram atualizados. Segundo Vieira et al, o número total de substâncias isoladas e identificadas do gênero *Trichilia* já foi para 334. Diante destes relatos, foi realizado um novo levantamento bibliográfico, até o momento, onde constam na literatura o isolamento e identificação de alguns novos constituintes químicos de *Trichilia*, descritos a seguir, nas **tabelas 1, 2 e 3** e **figuras 2, 3 e 4**.

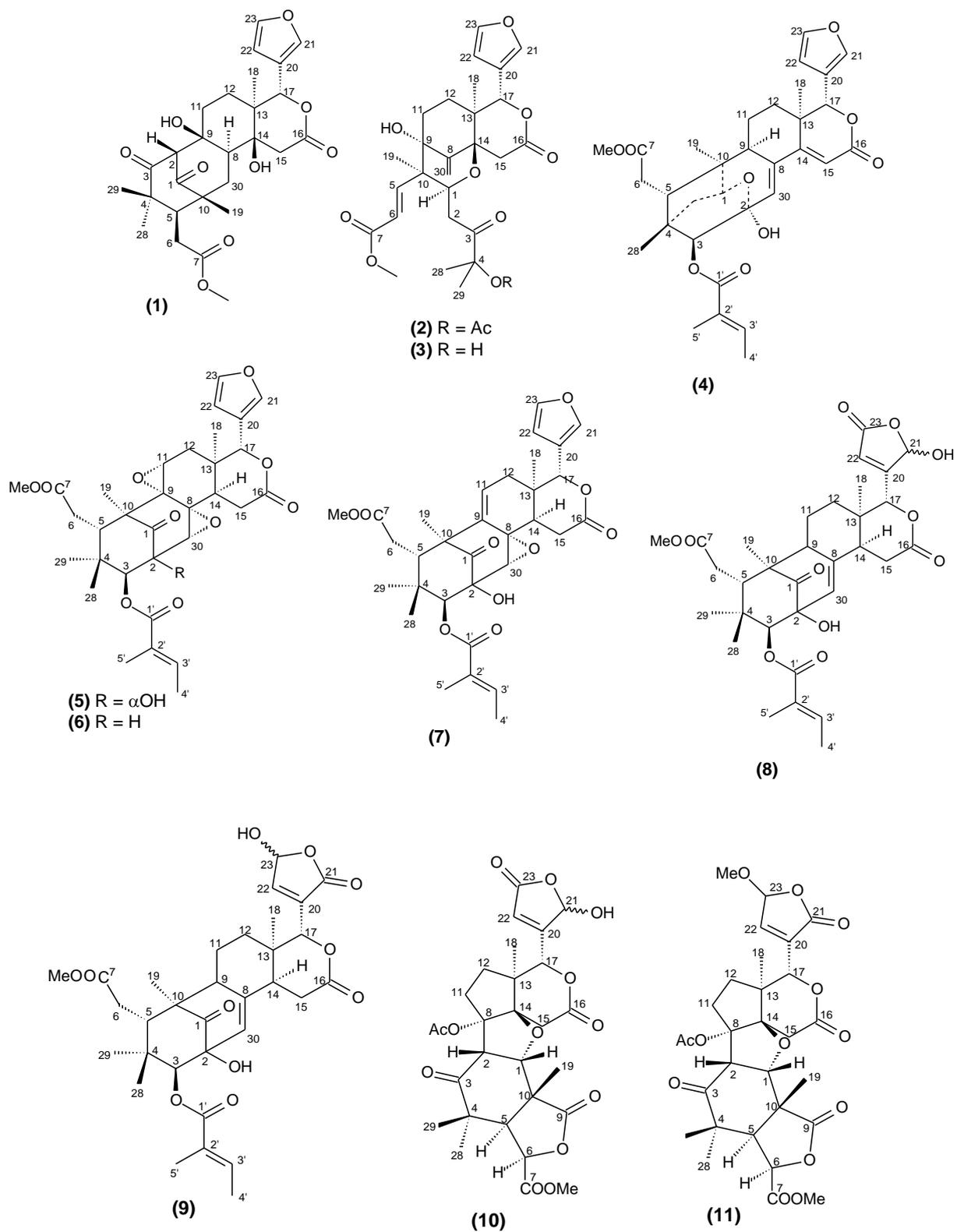
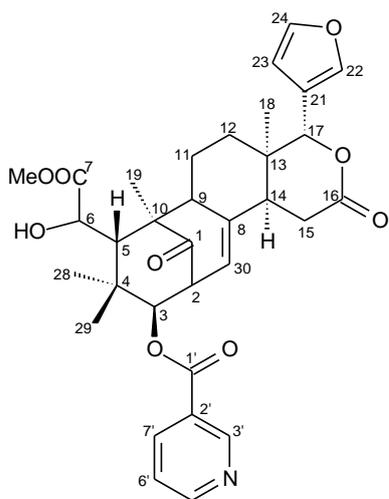
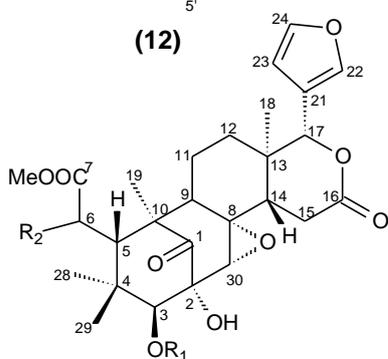
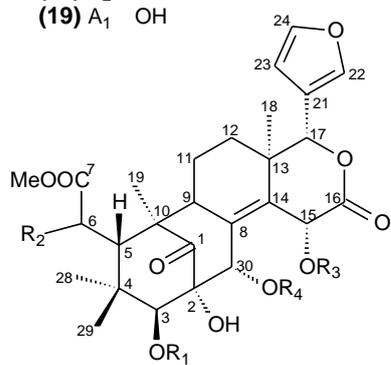


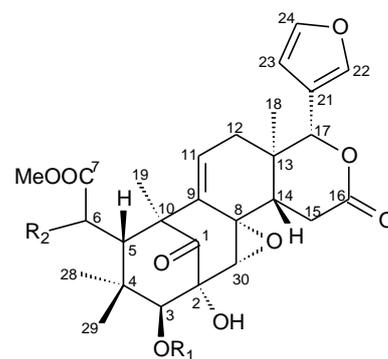
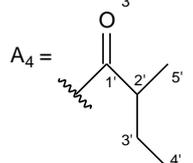
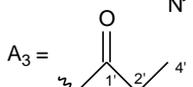
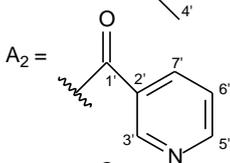
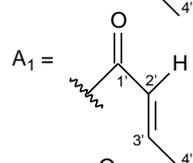
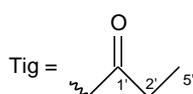
Figura 2: Estruturas de limonoides isolados de *Trichilia*.

Continuação da **Figura 2****(12)**

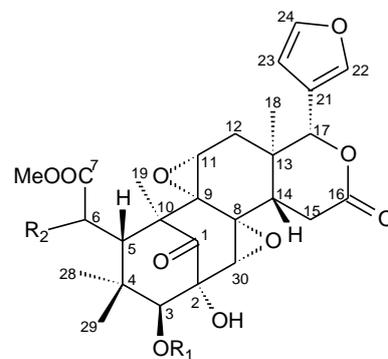
	R ₁	R ₂
(17)	A ₂	H
(18)	A ₂	OAc
(19)	A ₁	OH



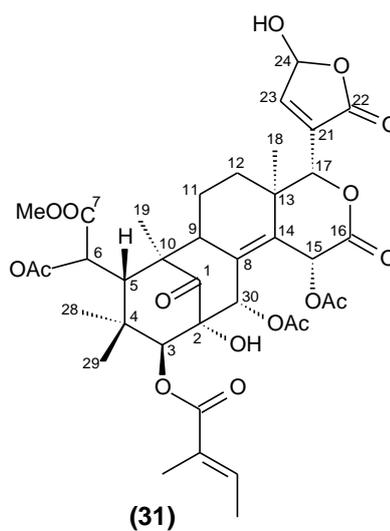
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
(23)	Tig	H	Ac	Ac
(24)	Tig	OAc	H	Ac
(25)	Tig	H	H	Ac
(26)	A ₁	OAc	Ac	Ac
(27)	A ₄	OAc	Ac	Ac
(28)	Tig	H	H	A ₃
(29)	Tig	OAc	Tig	Ac
(30)	Tig	H	Tig	Ac

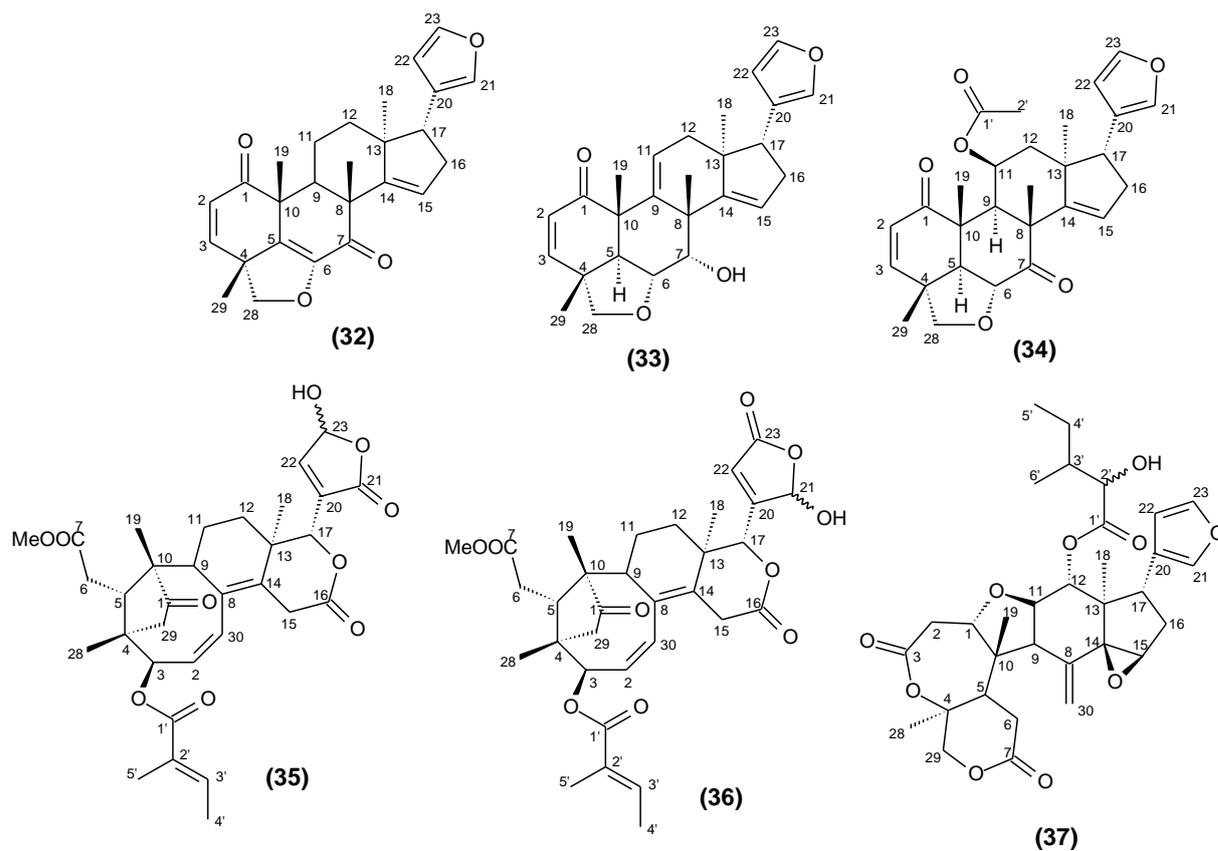


	R ₁	R ₂
(13)	A ₁	H
(14)	A ₁	OH
(15)	Tig	H
(16)	Tig	OH



	R ₁	R ₂
(20)	Tig	H
(21)	A ₁	H
(22)	Tig	OH

**(31)**

Continuação da **Figura 2****Tabela 1*:** Limonoides de espécies do gênero *Trichilia*.

Espécie	Parte da Espécie	Limonoides	Referência
<i>T. connaroides</i>	Galhos	“Trichiconin A” (1)	Liu, C.P. et al, 2014.
		“Trichiconin B” (2)	
		“Trichiconin C” (3)	
	Caule e casca	“Secotrichagmalin A” (4)	Wang, H.Y. et al, 2013
		“Trichalonide A” (5)	
		“Trichalonide B” (7)	
		“Trichalonide C” (6)	
		“Trichalonide D” (8)	
		“Trichalonide D” (9)	
		“Trichalonide E” (10)	
		“Trijugin I” (11)	

		"Trijugin J" (12)	
		"Trichiliton G" (35)	Wang, H.Y. et al, 2013
		"Trichiliton H" (36)	
<i>T. rubescens</i>	Casca da raiz	"Rubescin A" (32)	Tontsa, A.T. et al, 2013
		"Rubescin B" (33)	
		"Rubescin C" (34)	
<i>T. sinensis</i>	Folhas e galhos	"Trichinenlide A" (12)	Xu, J.B. et al, 2013
		"Trichinenlide B" (13)	
		"Trichinenlide C" (14)	
		"Trichinenlide D" (15)	
		"Trichinenlide E" (16)	
		"Trichinenlide F" (17)	
		"Trichinenlide G" (18)	
		"Trichinenlide H" (19)	
		"Trichinenlide I" (20)	
		"Trichinenlide J" (21)	
		"Trichinenlide K" (22)	
		"Trichinenlide L" (23)	
		"Trichinenlide M" (24)	
		"Trichinenlide N" (25)	
		"Trichinenlide O" (26)	
		"Trichinenlide P" (27)	
		"Trichinenlide Q" (28)	
"Trichinenlide R" (29)			
"Trichinenlide S" (30)			
"Trichinenlide T" (31)			
<i>T. welwitschii</i>	Sementes	"Dregeanin" (37)	Tsamo, A. et al, 2013

*Foram mantidos os nomes originais para facilitar possíveis consultas bibliográficas, quando necessário.

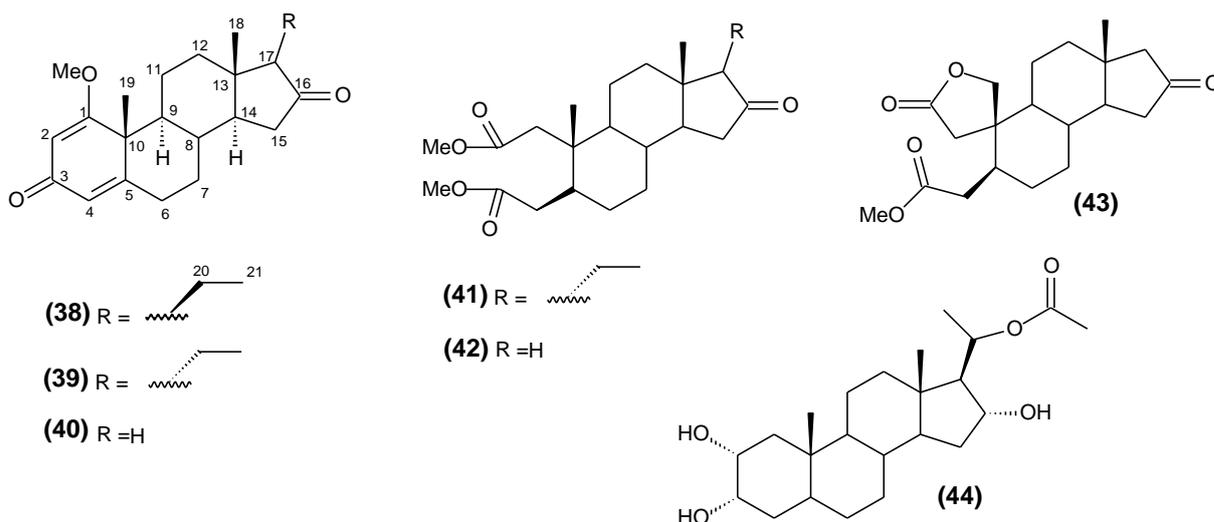
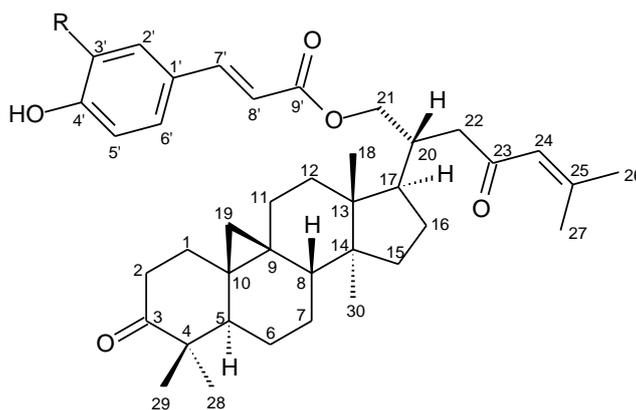


Figura 3: Estrutura de esteroides isolados de *Trichilia*.

Tabela 2: Esteroides da espécie do gênero *Trichilia*.

Espécie	Parte da Espécie	Esteróide	Referência
<i>T. emetica</i>	Raízes	1-metóxi-pregnan-17(<i>R</i>)-1,4-dien-3,16-diona (38)	Malafronte, N. et al, 2013
		1-metóxi-pregnan-17(<i>S</i>)-1,4-dien-3,16-diona (39)	
		Éster 2,3-seco-pregnan-17(<i>S</i>)-2,3-ácido dióico-16-oxo-dimetil (40)	
		Acetato de 2 α ,3 α ,16 α -trihidroxi-5 α -pregnan-17(<i>R</i>)-20-il (41)	
		1-metóxi-androstan-1,4-dien-3,16-diona (42)	
		Éster 2,3-seco-androstan-2,3-ácido dióico-16-oxo-dimetil (43)	
		3-metoxicarbonil-2,3-seco-androstan-3-ácido dióico-16-oxo-2,19-lactona (44)	



(45) R =H
 (46) R =OMe

Figura 4: Estruturas de triterpenos cicloartanos isolados de *Trichilia*.

Tabela 3: Triterpeno cicloartano da espécie do gênero *Trichilia*.

Espécie	Parte da Espécie	Triterpeno cicloartano	Referência
<i>T. connaroides</i>	Caule e cascas	21-(<i>E</i>)-coumaroyloxy-5 α -cicloart-24-eno-3,23-diona (45)	Wang, H.Y. et al, 2013
		21-(<i>E</i>)-feruloyloxy-5 α -cicloart-24-eno-3,23-diona (46)	

Portanto, podemos notar que, até março de 2015, encontram-se relatados na literatura mais 46 novos constituintes químicos, do gênero *Trichilia*, isolados e identificados. Com isso, totalizam 380 diferentes substâncias. É válido ressaltar que está sendo relatado pela primeira vez o estudo químico de duas espécies deste gênero, *T. sinensis* e *T. welwitschii*.

3.2.1.1 A espécie *Trichilia hirta*

Conhecida popularmente como “catigua-arco-de-peneira”, a espécie *Trichilia hirta* pertencente à família Meliaceae, subfamília Meliceideae e tribo Trichilieae.

Espécies de *Trichilia* são bem conhecidas pela bioprodução de limonoides, terpenoides, flavonoides, entre outros (Pupo, 1997). Estes metabólitos secundários são responsáveis por algumas atividades biológicas

relacionadas com o gênero, como já foram descritas anteriormente. As fotografias da espécie em estudo encontram-se na **Figura 5**, a seguir.



Figura 5: Fotografia da espécie e dos frutos de *T. hirta*.

Fonte: http://128.253.177.189/imgs/js322/r/Meliaceae_Trichilia_hirta_610.html

(acessado dia 24/03/2012)

Fonte: www.visiflora.com

(acessado dia 24/03/2012)

Não foram encontrados na literatura relatos de uso dessa espécie na medicina popular. Segundo Sosa et al (2011), o estudo do extrato etanólico da espécie demonstrou atividade biológica na estimulação da produção de leucócitos.

De acordo com todos os levantamentos bibliográficos anteriormente já relatados neste trabalho; das 380 diferentes substâncias isoladas e identificadas no gênero *Trichilia*, 18 substâncias são encontradas na espécie *T. hirta*. Entre elas limonoides, triterpenos e esteroides, isolados de frutos, madeira, raiz, sementes e folhas.

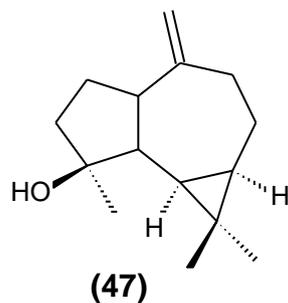


Figura 6: Estrutura do sesquiterpeno de *T. hirta*.

Tabela 4: Sesquiterpeno da espécie *T. hirta*.

Parte da Espécie	Sesquiterpeno	Referência
Frutos	espatulenol (47)	Vieira, I.J.C et al, 2013

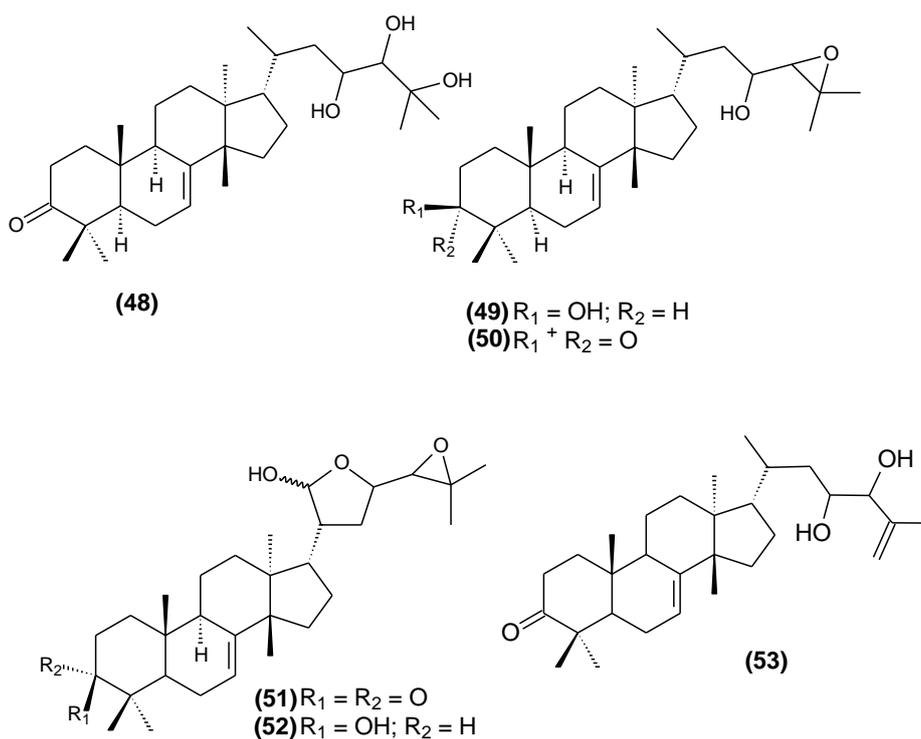


Figura 7: Estruturas dos triterpenos tetracíclicos de *T. hirta*.

Tabela 5: Triterpenos tetracíclicos da espécie *T. hirta*.

Parte da Espécie	Triterpeno tetracíclico	Referência
Frutos	melianona (51)	Cortez, D.A.G. et al, 1992
	Melianol (52)	
	Bourjotinolona A (53)	
	Nilocitina (50)	Vieira, I.J.C. et al, 2013
	Dihidronilocitina B (49)	
	Melianona (51)	
	Piscidinol (48)	

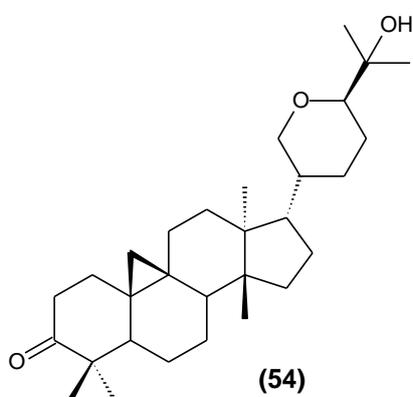


Figura 8: Estrutura do triterpeno do tipo cicloartano de *T. hirta*.

Tabela 6: Triterpeno do tipo cicloartano da espécie *T. hirta*.

Parte da Espécie	Triterpeno do tipo cicloartano	Referência
Frutos	Hirtinona (54)	Vieira, I.J.C et al, 2013

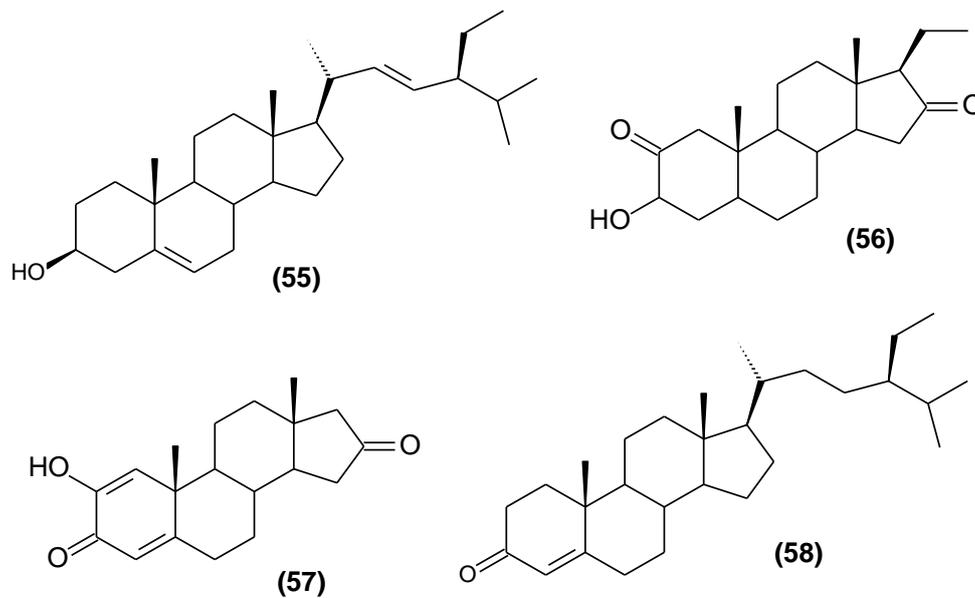


Figura 9: Estruturas dos esteroides de *T. hirta*.

Tabela 7: Esteroides da espécie *T. hirta*.

Parte da Espécie	Esteroides	Referência
Frutos e folhas	β -sitosterol (55)	Vieira, I.J.C et al, 2013
Caule e madeira	Trichiliasterona A (56)	Chauret, D.C. et al, 1996
	Trichiliasterona B (57)	Hantos, S.M. et al, 2001
Folhas	Sitostenona (58)	Cortez, D.A.G. et al, 1992

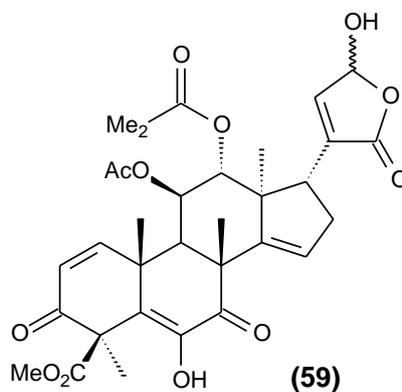
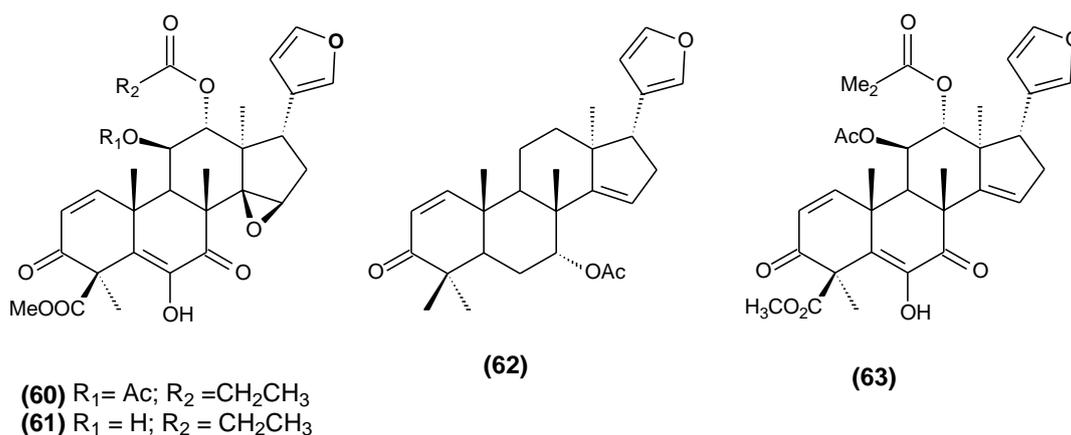


Figura 10: Estrutura do limonoide do tipo meliacina de *T. hirta*.

Tabela 8: Limonoide do tipo meliacina da espécie *T. hirta*.

Parte da Espécie	Limonoide do tipo meliacina	Referência
Frutos	Metil-11 β -acetoxi-6,23-dihidroxi-12 α (2-metilpropioniloxi)-3,7,21-trioxi-1,5,14,20-meliacatetraen-29-oato (59)	Cortez, D.A.G. et al, 1992

**Figura 11:** Estruturas dos limonoides furanosídeos de *T. hirta*.**Tabela 9:** Limonoides furanosídeos da espécie *T. hirta*.

Parte da Espécie	Limonoide furanosídeo	Referência
Folhas e sementes	Hirtina (60)	Chan, W.R. et al, 1966
Frutos	Hirtina (60)	Vieira, I.J.C. et al, 2013
Sementes e frutos	Deacetilhirtina (61)	Cortez, D.A.G. et al, 1992
	Azadirona (62)	
	Metil-11 β -acetoxi-6-hidroxi-12 α (2-metilpropioniloxi)-3,7-dioxi-1,5,14,20,22-meliacapentaen-29-oato (63)	

4. MATERIAL E METODOLOGIA

4.1 Material

4.1.1 Equipamentos

- As cromatofolhas foram reveladas através de irradiação com luz na região do ultravioleta em comprimento de onda 254 e 365 nm e/ou com reveladores cromogênicos (solução de vanilina a 2% em ácido sulfúrico concentrado);
- A concentração do extrato foi efetuada sob pressão reduzida em evaporador rotativo, FISATOM 802;
- Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foram registrados em três espectrômetros: marca BRUKER, modelo Avance IIHD, operando a uma frequência de 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C e frequência de 500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C , realizados na UFFRJ. Já os obtidos na UENF, foram realizados em aparelho da marca BRUKER, modelo DPX-500, operando a uma frequência de 500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C . O solvente utilizado para todas as análises foi CDCl_3 ;
- Espectrômetro de massas acoplado ao cromatógrafo gasoso do modelo CG/EM-QP-5050, marca SHIMADZU, utilizando impacto de elétrons a 70 eV;

- Espectrômetro de massas de alta resolução Q-TOF (Synapt HDMS, Waters) com ionização por eletrospray (ESI);
- O material vegetal foi reduzido a pó através de moinho de martelos, da marca TECNAL;
- Os espectros na região do infravermelho foram registrados no espectrofotômetro Infravermelho, modelo IR AFFINITY, marca SHIMADZU, em pastilhas de KBr.

4.1.2 Solventes e Reagentes

- Acetato de etila P.A.
- Metanol P.A.
- Hexano P.A.
- Diclorometano P.A.
- Sulfato de Sódio anidro
- Anidrido Acético
- Piridina
- Clorofórmio deuterado
- Cromatofolhas de alumínio com gel de sílica 60 F₂₅₄, para cromatografia em camada delgada analítica
- Gel de sílica MERCK DARMSTADT 60 (0,063-0,200 mm), para cromatografia em coluna
- Gel de sílica MERCK DARMSTADT 60 PF₂₅₄ contendo gesso, para cromatografia em camada delgada preparativa
- Solução de Vanilina a 2% em ácido sulfúrico concentrado

4.2 Metodologia

4.2.1 Coleta da espécie vegetal e classificação botânica

O material vegetal de estudo constituído da madeira, casca da madeira e frutos de *Trichilia hirta* foi coletado entre os dias 17 e 19 de maio de 2011 e classificado pelo determinador Domingos A. Folli, na Reserva da Vale, em Linhares – ES. Sua exsicata encontra-se depositada no herbário da Reserva da Vale sob o registro 12022.

4.2.2 Secagem e Moagem

O material vegetal foi seco ao ar livre logo após a coleta e moído em moinho de martelos, fornecendo os seguintes pesos de material seco das partes estudadas do vegetal: madeira, casca da madeira e frutos.

4.2.3 Preparo dos extratos

A extração dos componentes, das partes do material vegetal trabalhadas, foi feita à temperatura ambiente, sucessivamente, utilizando-se hexano e metanol como solventes e, posterior, destilação a pressão reduzida em evaporador rotativo fornecendo os seguintes pesos de extratos brutos:

Tabela 10: Peso das partes do material vegetal, de *T. hirta*, secas e dos seus extratos brutos.

	Madeira (g)	Casca da madeira (g)	Frutos (g)
Material seco	7.856	1.782	438,4
Extrato Hexânico	96,6	28,7g	23,0*
Extrato Metanólico	157,0*	40,7*	40,8

Três destes extratos (assinalados com *) não foram estudados e os demais foram submetidos aos procedimentos cromatográficos descritos a seguir.

Várias frações desses extratos (assinaladas com *) não foram trabalhadas, pois em sua grande maioria se mostraram semelhantes às frações vizinhas e outras se mostraram cromatograficamente difíceis de separação.

4.2.4 Descrição experimental do isolamento dos constituintes químicos da madeira da espécie *Trichilia hirta*

4.2.4.1 Análise do extrato em hexano (96,6 g)

Inicialmente, parte do extrato em hexano da madeira (17,1397 g) foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com hexano:acetato de etila em concentração crescente de polaridade até 100% (v/v) de acetato de etila, obtendo-se 9 frações. A **Tabela 11**, a seguir, mostra o procedimento cromatográfico das frações.

Tabela 11: Estudo cromatográfico do extrato em hexano da madeira (THM).

Fração	Código	Quantidade(g)	Substância(s)
1*	THM-1	1,6375	
2*	THM-2	0,3022	
3	THM-3	0,1943	XIV e XV (impuras)
4	THM-4	4,0482	XIX, XX, XXI, XXII, XXIII e XXIV (impuras)
5	THM-5	2,7955	XVI, XVII e XVIII (impuras)
6*	THM-6	1,5358	
7*	THM-7	0,5697	
8	THM-8	2,0744	I e II (mistura)
9*	THM-9	1,4823	

* Frações não trabalhadas

4.2.4.1.1 Análise cromatográfica da Fração THM3 (0,1943g)

A fração THM3 foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com hexano:acetato de etila, em concentração crescente de polaridade até 50% (v/v) de acetato de etila. Obtiveram-se 4 frações. A **Tabela 12** mostra o procedimento cromatográfico da fração.

Tabela 12: Estudo cromatográfico da fração THM3.

Frações	Código	Quantidade(g)	Substância(s)
1*	THM3-1	0,0238	
2*	THM3-2	0,0399	
3	THM3-3	0,0708	XIV e XV (mistura)
4*	THM3-4	0,0252	

* Frações não trabalhadas

4.2.4.1.2 Análise cromatográfica da Fração THM-5 (2,7955g)

A fração THM-5 foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com hexano:acetato de etila, em concentração crescente de polaridade até 100% (v/v) de acetato de etila, obtendo-se 8 frações. A **Tabela 13**, a seguir mostra o procedimento cromatográfico da fração.

Tabela 13: Estudo cromatográfico da fração THM5.

Fração	Código	Quantidade(g)	Substâncias
1*	THM5-1	0,0653	
2*	THM5-2	0,0037	
3*	THM5-3	0,0242	
4*	THM5-4	0,394	
5	THM5-5	0,6931	XVI, XVII e XVIII (mistura)
6*	THM5-6	0,4218	
7*	THM5-7	0,3252	
8*	THM5-8	0,5459	

* Frações não trabalhadas

4.2.4.1.3 Análise cromatográfica da Fração THM4 (4,0482g)

A fração THM4 foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com hexano:acetato de etila com gradiente crescente de polaridade até 30% (v/v) de acetato de etila, obtendo-se 7 frações. A **Tabela 14** mostra o procedimento cromatográfico da fração.

Tabela 14: Estudo cromatográfico da fração THM4.

Fração	Código	Quantidade(g)	Substâncias
1	THM4-1*	0,9671	
2	THM4-2*	0,0672	
3	THM4-3	0,0204	XIX, XX, XXI, XXII, XXIII e XIV (mistura)
4	THM4-4*	0,3143	
5	THM4-5*	0,7494	
6	THM4-6*	0,2538	
7	THM4-7*	1,4758	

* Frações não trabalhadas

4.2.5 Descrição experimental do isolamento dos constituintes químicos dos frutos da espécie *Trichilia hirta*

4.2.5.1 Análise cromatográfica do extrato em metanol (40,8 g)

Inicialmente, parte do extrato em metanol dos frutos (27,7726 g) foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com diclorometano:metanol em concentração crescente de polaridade até 50% (v/v) de metanol, obtendo-se 7 frações. A **Tabela 15**, a seguir, mostra o procedimento cromatográfico das frações.

Tabela 15: Estudo cromatográfico do extrato em metanol dos frutos (TMF).

Fração	Código	Quantidade(g)	Substância(s)
1	TMF1	3,6527	IV, V e VI (impuras)

2	TMF2	2,1534	
3	TMF3*	1,4008	
4	TMF4	9,6898	III (impura)
5	TMF5*	2,2930	
6	TMF6*	1,4312	
7	TMF7*	3,8607	

* Frações não trabalhadas

4.2.5.1.1 Análise cromatográfica da reunião das frações TMF1 e TMF2 (4,8061 g)

A reunião das frações TMF1 e TMF2 permaneceu com o código da TMF1. Esta nova fração foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com diclorometano:metanol, em concentração crescente de polaridade até 20% (v/v) de metanol. Obtiveram-se 4 frações. A **Tabela 16** mostra o procedimento cromatográfico da fração.

Tabela 16: Estudo cromatográfico da fração TMF1.

Fração	Código	Quantidade(g)	Substância(s)
1	TMF1-1*	0,4422	
2	TMF1-2*	0,3222	
3	TMF1-3	3,1423	IV, V e VI (impuras)
4	TMF1-4*	0,4058	

* Frações não trabalhadas

4.2.5.1.2 Análise cromatográfica da fração TMF1-3 (3,1423 g)

A fração TMF1-3 foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com hexano:acetato de etila em concentração crescente de polaridade até 80% (v/v) de acetato de etila, obtendo 6 frações. A **Tabela 17** mostra o procedimento cromatográfico das frações.

Tabela 17: Estudo cromatográfico da fração TMF1-3.

Fração	Código	Quantidade(g)	Substância
1	TMF13-1*	0,2607	
2	TMF13-2*	0,1927	
3	TMF13-3	0,0244	IV e V (mistura)
4	TMF13-4	0,4521	VI (impura)
5	TMF13-5*	0,5938	
6	TMF13-6*	0,9996	

* Frações não trabalhadas

4.2.5.1.3 Análise cromatográfica da Fração TMF13-4 (0,4521g)

A fração TMF13-4 foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com hexano:acetato de etila, em concentração crescente de polaridade de 10 até 80% (v/v) de acetato de etila. Obtiveram-se 4 frações. A

Tabela 18 mostra o procedimento cromatográfico da fração.

Tabela 18: Estudo cromatográfico da fração TMF13-4.

Frações	Código	Quantidade(g)	Substância
1	TMF134-1*	0,1242	
2	TMF134-2*	0,0021	
3	TMF134-3	0,0013	VI
4	TMF134-4*	0,2598	

* Frações não trabalhadas

4.2.5.1.4 Análise cromatográfica da Fração TMF4 (9,6898g)

A fração TMF4 foi submetida à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com diclorometano:metanol, em concentração crescente de polaridade até 80% (v/v) de metanol. Obtiveram-se 9 frações. A **Tabela 19** mostra o procedimento cromatográfico da fração.

Tabela 19: Estudo cromatográfico da fração TMF4.

Frações	Código	Quantidade(g)	Substância
1	TMF4-1*	0,0399	
2	TMF4-2*	0,2008	
3	TMF4-3*	0,6838	
4	TMF4-4*	0,3887	
5	TMF4-5*	0,0537	
6	TMF4-6*	0,3260	
7	TMF4-7*	1,5565	
8	TMF4-8	2,8342	III (impura)
9	TMF4-9*	2,5074	

* Frações não trabalhadas

4.2.5.1.5 Análise cromatográfica da Fração TMF4-8 (2,8342g)

A fração TMF4-8 foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com diclorometano:metanol, em concentração crescente de polaridade até 100% (v/v) de metanol. Obtiveram-se 8 frações. A **Tabela 20** mostra o procedimento cromatográfico da fração.

Tabela 20: Estudo cromatográfico da fração TMF4-8.

Frações	Código	Quantidade(g)	Substância
1	TMF48-1*	0,0110	
2	TMF48-2	0,0311	III
3	TMF48-3*	0,1357	
4	TMF48-4*	0,5425	
5	TMF48-5*	0,1670	
6	TMF48-6*	1,0107	
7	TMF48-7*	0,0726	
8	TMF48-8*	0,1910	

* Frações não trabalhadas

4.2.6 Descrição experimental do isolamento dos constituintes químicos das cascas da madeira da espécie *Trichilia hirta*

4.2.6.1 Análise cromatográfica do extrato em hexano (28,7 g)

Inicialmente, parte do extrato em hexano das casca da madeira (14,0563 g) foi submetido à cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com hexano:acetato de etila em concentração crescente de polaridade até 100% (v/v) de acetato de etila, obtendo 8 frações. A **Tabela 21**, a seguir mostra o procedimento cromatográfico das frações.

Tabela 21: Estudo cromatográfico do extrato em hexano das cascas da madeira THC.

Frações	Código	Quantidade(g)	Substâncias
1	THC1	1,0249	IX e VII (impuras)
2	THC2	1,6586	IX e VII (impuras)
3	THC3	3,1911	VIII, X, XI, XII e XIII (impuras)
4	THC4*	1,6228	
5	THC5*	0,6858	
6	THC6*	1,1214	
7	THC7*	2,3325	
8	THC8*	1,7947	

* Frações não trabalhadas

4.2.6.1.1 Análise cromatográfica da reunião das Frações THC1 e THC2 (2,6835g)

A reunião das frações permaneceu com o código da THC1. Esta nova fração foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com hexano:acetato de etila, em concentração crescente de polaridade até 100% (v/v) de acetato de etila. Obtiveram-se 6 frações. A **Tabela 22** mostra o procedimento cromatográfico da fração.

Tabela 22: Estudo cromatográfico da fração THC1.

Frações	Código	Quantidade(g)	Substância
1	THC1-1	0,7939	
2	THC1-2	0,8253	VII (impura)
3	THC1-3	0,0047	IX
4	THC1-4	0,1410	
5	THC1-5	0,1208	
6	THC1-6	0,6098	

* Frações não trabalhadas

4.2.6.1.2 Análise cromatográfica da Fração THC1-2 (0,8253 g)

Uma quantidade de 0,0439g da fração THC1-2 foi submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa utilizando como eluente hexano:acetato de etila 4% (v/v), obtendo-se a substância **VII** (0,0051 g).

4.2.6.1.3 Análise cromatográfica da união das Frações THC3 (3,1911g)

A fração THC3 foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com hexano:acetato de etila, em concentração crescente de polaridade até 100% (v/v) de acetato de etila. Obtiveram-se 5 frações. A **Tabela 23** mostra o procedimento cromatográfico da fração.

Tabela 23: Estudo cromatográfico da fração THC3.

Fração	Código	Quantidade(g)	Substâncias
1	THC3-1*	0,1434	
2	THC3-2*	0,1185	
3	THC3-3	1,2261	VIII, X e XI (impuras)
4	THC3-4	0,0252	XII e XIII (mistura)
5	THC3-5*	1,2120	

* Frações não trabalhadas

4.2.6.1.4 Análise cromatográfica da Fração THC3-3 (1,2261g)

A fração THC3-3 foi submetida a uma cromatografia em coluna com gel de sílica, e eluída com hexano:acetato de etila, em concentração crescente de polaridade até 50% (v/v) de acetato de etila. Obtiveram-se 6 frações. A **Tabela 24** mostra o procedimento cromatográfico da fração.

Tabela 24: Estudo cromatográfico da fração THC3-3.

Fração	Código	Quantidade(g)	Substâncias
1	THC33-1*	0,0044	X e XI (mistura)
2	THC33-2	0,0132	VIII
3	THC33-3*	0,4693	
4	THC33-4*	0,1808	
5	THC33-5*	0,2548	
6	THC33-6*	0,1574	

* Frações não trabalhadas

4.2.7 Procedimento experimental para as reações de acetilação.

Todas as reações de acetilação foram realizadas através do tratamento das amostras com uma mistura de anidro acético:piridina, na proporção 2:1. As soluções foram aquecidas por, aproximadamente, 10 minutos em banho-maria e deixadas uma noite à temperatura ambiente. A seguir, juntou-se gelo triturado e separaram-se os acetatos precipitados.

As reações foram extraídas, por três vezes consecutivas, com diclorometano/água. As fases orgânicas obtidas foram secas com sulfato de sódio anidro e, depois, à temperatura ambiente.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Substâncias Identificadas

O estudo da espécie *Trichilia hirta* levou a identificação e caracterização de 24 substâncias, sendo os limonoides: 6-hidroxi-11 β -acetoxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila (I) e 6-hidroxi-11 β -propanoiloxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila (II), obtidos como mistura e marcocurcino (III); os protolimonoides: (21*R*)-21,25-dimetoximelianodiol (IV) e (21*S*)-21,25-dimetoximelianodiol (V), obtidos como mistura e nilocitina (VI); os triterpenos: 15 α -cloro- β -amirona (VII), β -taraxerol (VIII), taraxerona (IX); os ésteres: palmitato de 3-(2-metilpropanoiloxi)-2,2,4-trimetilpentila (X) e estearato de 3-(2-metilpropanoiloxi)-2,2,3-trimetilpentila (XI), obtidos como mistura e isobutirato de 3-hidroxi-2,2,4-trimetilpentan-1-ila (XII) e isobutirato de 1-hidroxi-2,2,4-trimetilpentan-3-ila (XIII), obtidos como mistura; os diterpenos: (2*E*,6*Z*,10*Z*)-3,7,11,15-tetrametilhexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol (XIV) e (2*Z*,6*Z*,10*Z*)-3,7,11,15-tetrametilhexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol (XV), obtidos como mistura e os esteroides: β -sitosterol (XVI), campesterol (XVII) e

estigmasterol (**XVIII**), obtidos como mistura e acetato ($3\beta,22E$)-ergosta-5,22-dien-3-ol (**XIX**), acetato estigmasterol (**XX**), campestenona (**XXI**), ($22E$)-estigmasta-4,22-dien-6-ona (**XXII**), estigmasta-3,5-dien-7-ona (**XXIII**) e β -sitostenona (**XXIV**), obtidos como mistura.

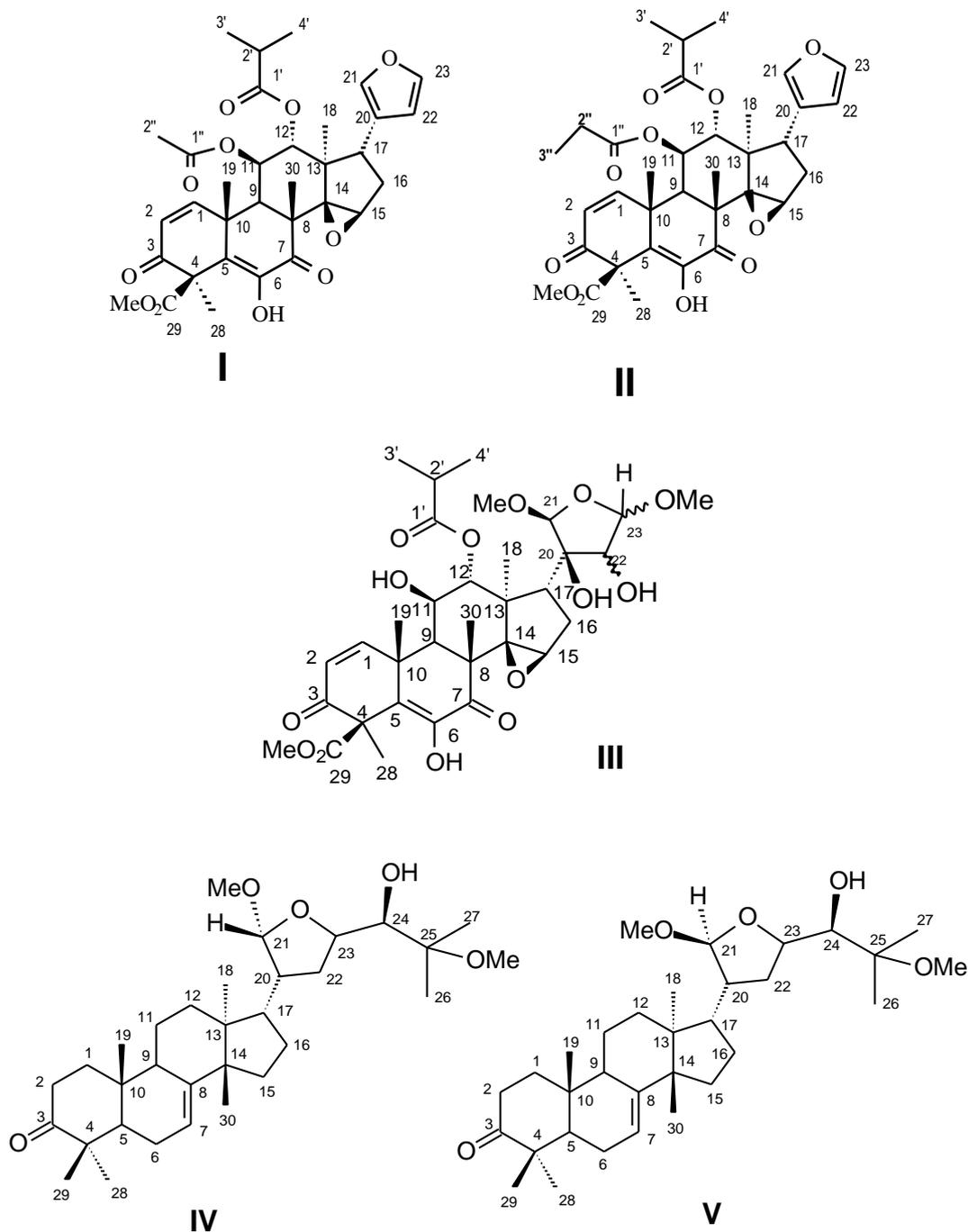
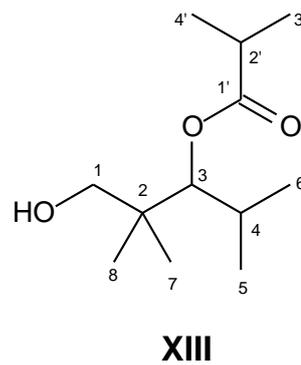
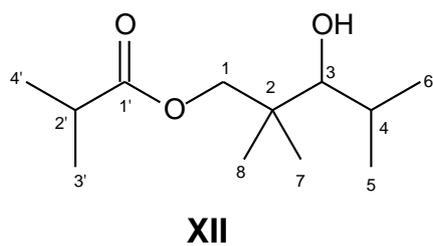
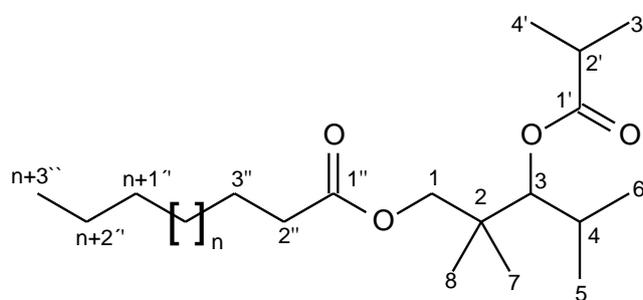
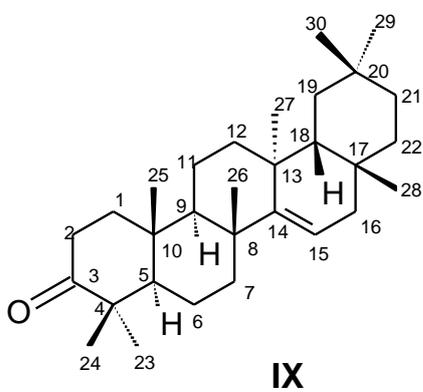
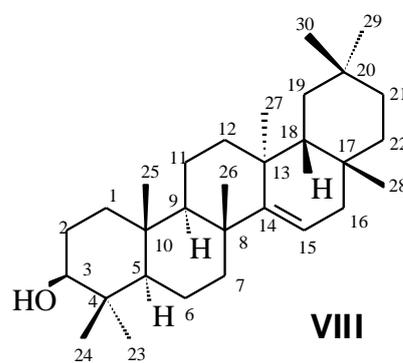
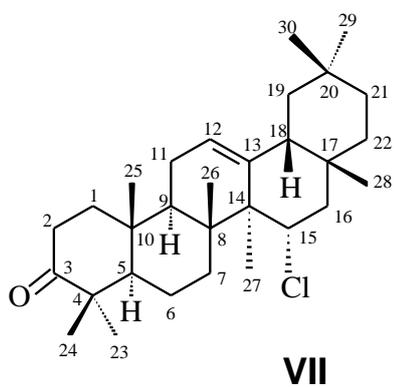
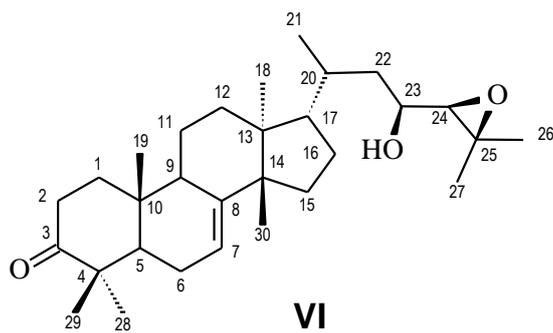
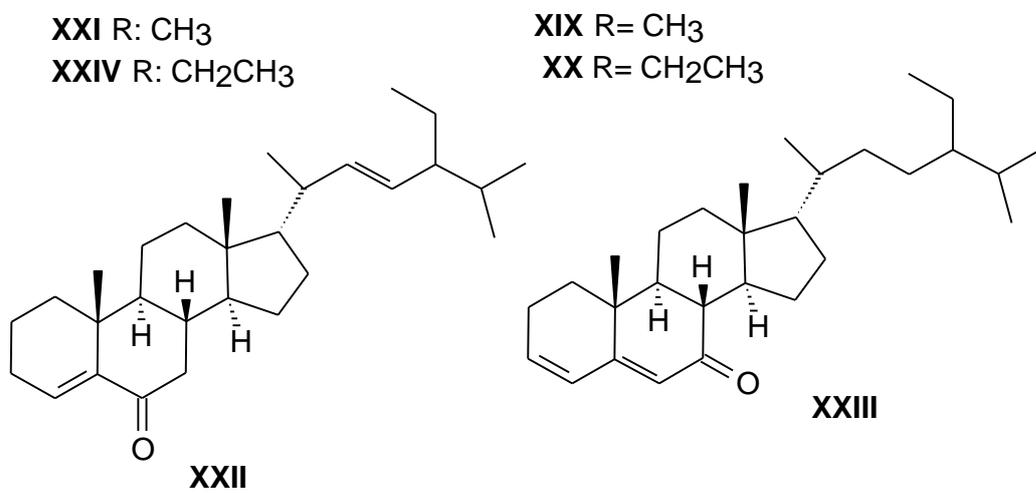
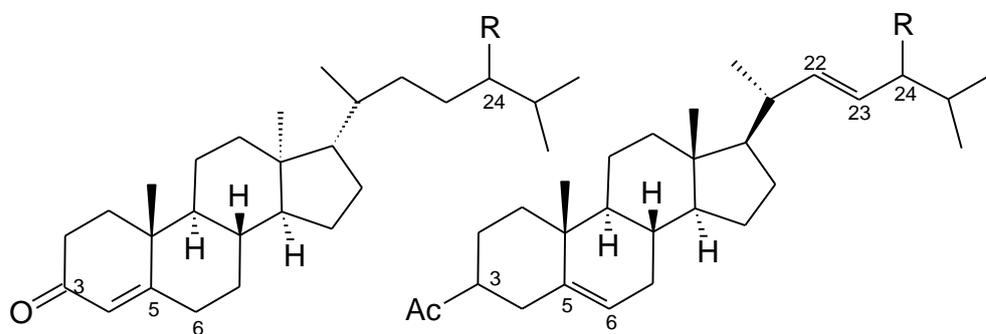
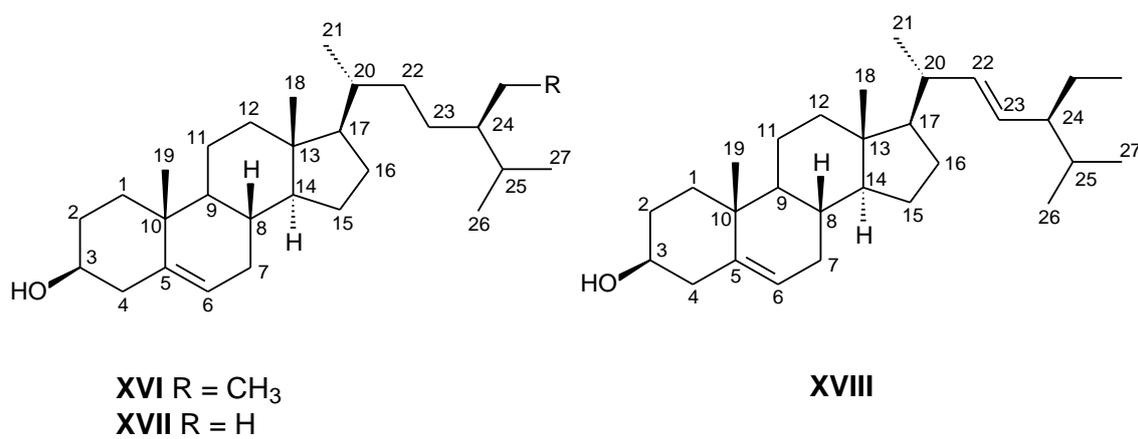
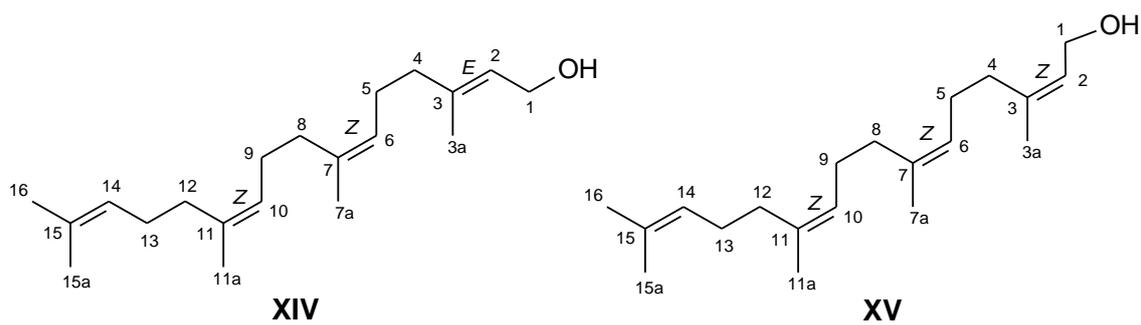


Figura 12: Substâncias identificadas de *Trichilia hirta*

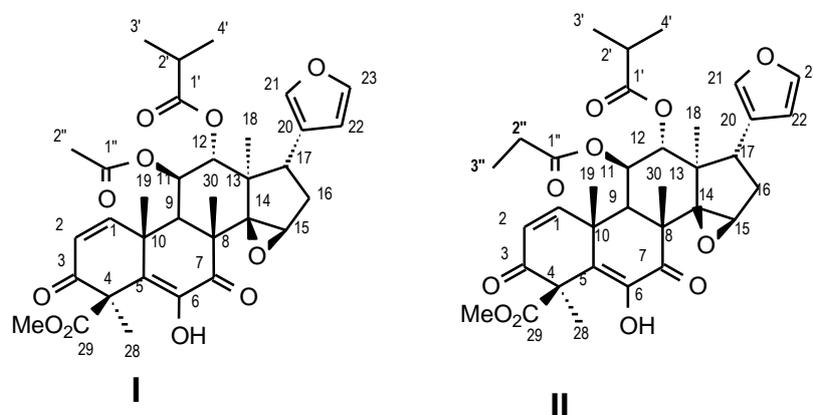
Continuação da **Figura 12**

Continuação da **Figura 12**

5.2 Determinação Estrutural das Substâncias Identificadas

5.2.1 Limonoides

5.2.1.1 Determinação Estrutural da Mistura das Substâncias I e II



A amostra **I** foi obtida como um sólido de cor branca do extrato hexânico da madeira da espécie *T. hirta*.

O espectro na região do infravermelho da amostra **I** (**Figura 24, p. 51**) apresentou bandas de absorção em ν_{\max} 3643 (O-H), 2962 (C-H alifático), 1747 (C=O de éster), 1240 – 1053 (C-O de éster) e 962 – 663 cm^{-1} (região de aromático) (Silverstein et al., 2007).

A análise do espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 30, p. 57, Tabela 25, p. 46**) da amostra **I** permitiu reconhecer a presença de sinais correspondentes a trinta e três (33) átomos de carbono, sendo oito carbonos metílicos $[(\text{CH}_3)_8]$, incluindo um grupo metoxila em δ_{C} 53,1 (MeO-29) = $(\text{CH}_3)_7(\text{CH}_3\text{O})$, apenas um metilênico $[(\text{CH}_2)]$, onze metínicos $[(\text{CH})_{11}]$: cinco sp^2 ($=\text{CH}$)₅, sendo dois correspondentes a uma ligação dupla em δ_{C} 150,6 ($=\text{CH}$ -1) e δ_{C} 125,8 ($=\text{CH}$ -2) e três atribuídos à presença de um anel furano em δ_{C} 140,5 ($=\text{CH}$ -21), δ_{C} 111,2 ($=\text{CH}$ -22) e δ_{C} 141,7 ($=\text{CH}$ -23), três sp^3 oxigenados $[(\text{OCH})_3]$, dois envolvidos em função éster, δ_{C} 72,4 (CH-11) e δ_{C} 77,8 (CH-12), e um em epóxido, δ_{C} 55,2] e três sp^3 $[(\text{CH})_3]$ e treze não hidrogenados $[(\text{C})_{13}]$: cinco sp^3 e oito sp^2 , sendo dois característicos de ligação dupla tetra-substituída em δ_{C} 141,9 (O-C-6) e 129,1 (C-5), dois de carbonilas cetônicas conjugadas em δ_{C} 195,7 (C-3) e δ_{C} 196,2 (C-7), três carbonilas de éster em δ_{C} 170,1 (C-28), δ_{C} 174,5 (C-1') e δ_{C} 169,4 (C-1'') e um adicional do anel furano em δ_{C} 121,5 (C-20)] (Silverstein et al., 2007; Breitmaier e Voelter, 1987).

Estes dados, em combinação com o pico correspondente ao íon molecular, em m/z 610 ($[M]^+$) Daltons, revelado pelo espectro de massas de baixa resolução (EMBR), através da análise por EM (**Figura 14, p. 36**) permitiram postular, preliminarmente, a fórmula molecular expandida representada por $(CH_3)_7(CH_3O)(CH_2)(=CH)_5(COOCH)_2(OCH)(CH)_3(=C)_3(C=O)_2COO(C-O)(C)_4 = C_{33}H_{37}O_{11} = C_{33}H_{38}O_{11}$ (considerando presença de uma hidroxila para atender), com IDH (Índice de Deficiência de Hidrogênio) = 15 ($C_{33}H_{68}O_{11} - C_{33}H_{38}O_{11} = H_{30}$) correspondente a cinco grupos carbonílicos (duas cetonas e três ésteres), um epóxido, duas ligações dupla: três do anel furânico e quatro anéis (tetracíclico).

O conjunto destes dados da amostra **I** revelaram-se compatíveis com uma substância com esqueleto básico característico da classe dos limonoides, em acordo com principais picos adicionais observados no EMBR, justificados através de proposta de fragmentação postulada resumidamente no **Esquema 1, p. 37**.

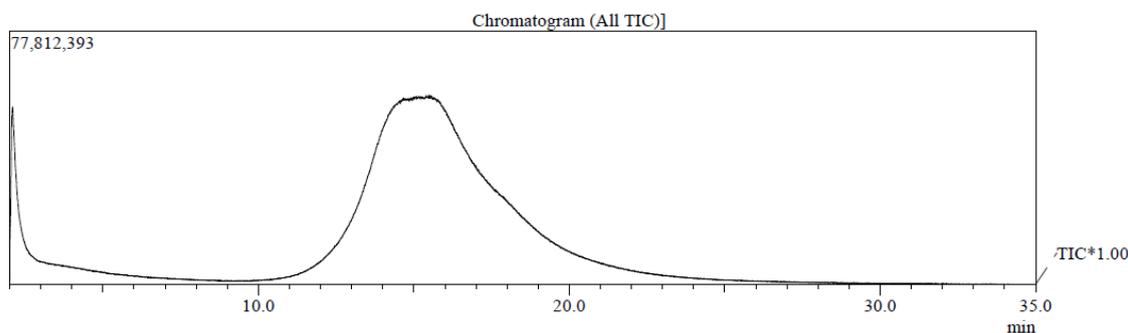


Figura 13: Inserção direta da amostra **I**.

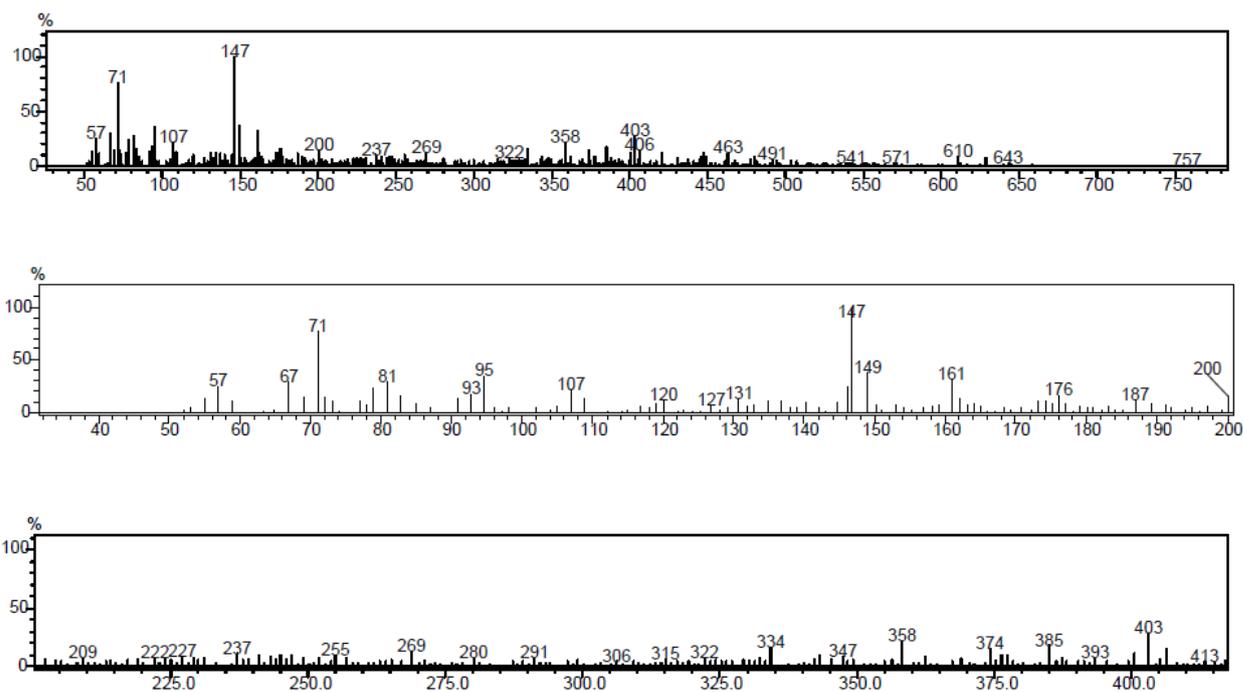
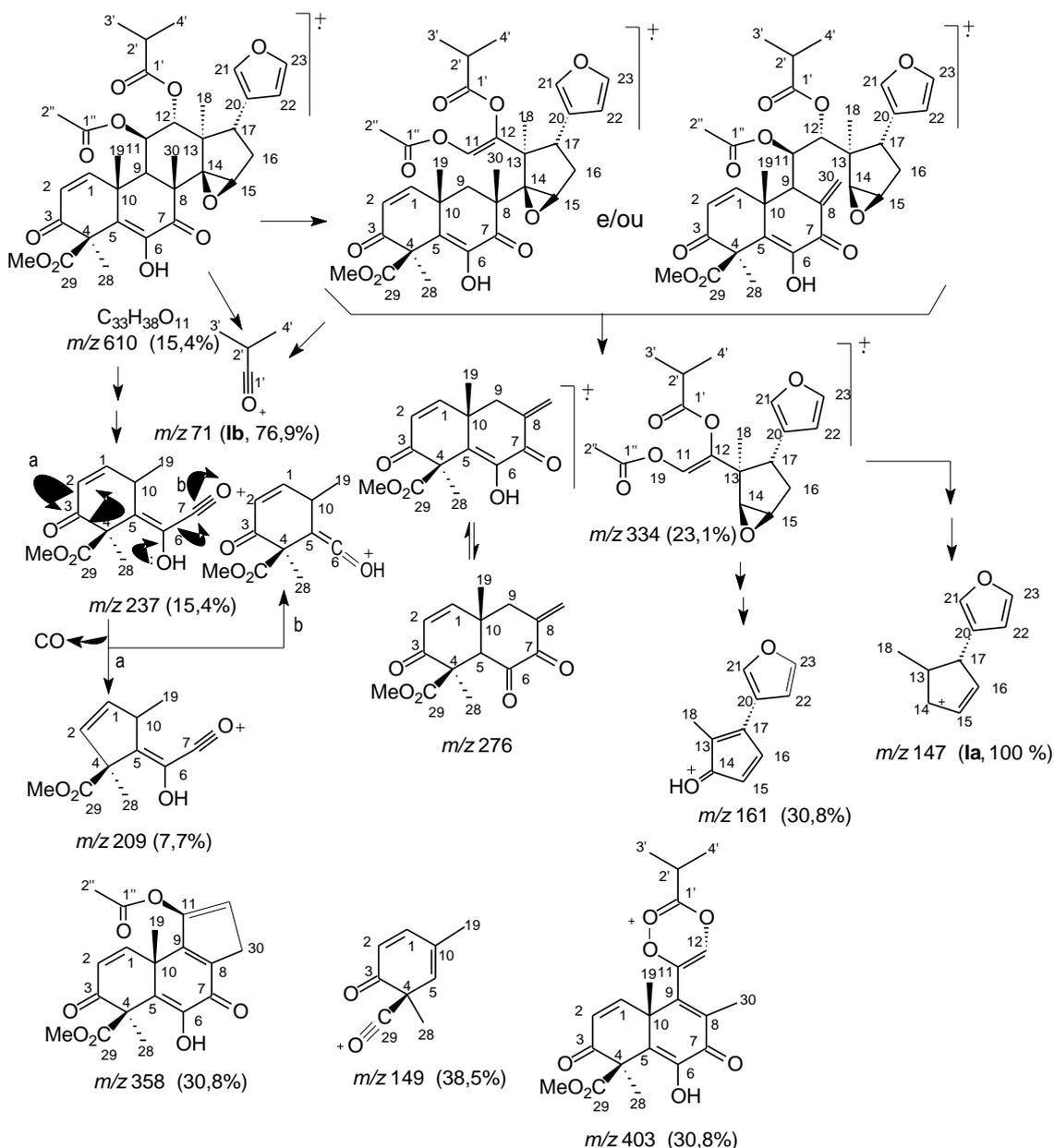


Figura14: Espectro de Massas da amostra I.



Esquema 1: Proposta de fragmentação para justificar os principais picos observados no EM da substância I.

O pico base em m/z 147 (100%) está também em acordo com a presença do anel furânico através do fragmento **I-a** e o em m/z 71 (76,9%) podendo ser justificado pela presença do íon **I-b** tendo como precursor do grupo isobutiroxila (**Esquema 1**). Outros picos principais observados no EM foram justificados através das propostas de fragmentação sumarizadas no **Esquema 1**.

A função cetona presente no átomo de carbono C-3 do anel A foi deduzida através das correlações à longa distância do carbono C-3 (δ_C 195,7) com H-2 (δ_H 6,19; $^2J_{HC}$), H-1 (δ_H 7,00; $^3J_{HC}$) e 3H-28 (δ_H 1,85; $^3J_{HC}$), apresentadas no espectro de correlação heteronuclear HMBC (**Figura 36**, p.

63), e pelo ^1H - ^1H -COSY revelando interação homonuclear ($^3J_{\text{HH}}=10$ Hz, acoplamento *cis*) de H- 1 e H-2. Esta ligação dupla entre os carbonos 1 e 2 foi também confirmada pelas correlações heteronucleares diretas ($^1J_{\text{HC}}$) observadas entre $\delta_{\text{C}}150,6/\delta_{\text{H}}7,00$ (CH-1) e $125,8/\delta_{\text{H}}6,19$ (CH-2) reveladas no espectro HSQC (**Figura 34, p. 61**) e pela correlação a longa distância $^3J_{\text{HC}}$ entre o átomo de carbono CH-1 ($\delta_{\text{C}} 150,6$) com os hidrogênios do grupo metila (3H-19) em $\delta_{\text{H}} 1,45$; apresentada pelo espectro HMBC (**Figura 36, p. 63**).

No anel B, a presença da carbonila no átomo de carbono C-7 foi confirmada pelo espectro HMBC (**Figura 36, p. 63**), através das correlações heteronucleares à longa distância, $^3J_{\text{HC}}$, em $\delta_{\text{C}} 196,2$ (C-7) com 3H-30 ($\delta_{\text{H}}1,43$; s) e o hidrogênio da hidroxila (HO-6) em $\delta_{\text{H}} 6,47$ (s, no espectro de RMN ^1H) ligado e interagindo ($^2J_{\text{HC}}$) também com o carbono C-6 ($\delta_{\text{C}} 141,9$).

A presença de uma ligação dupla entre os átomos de carbonos C-5/CH-6 foi também comprovada pelo espectro HMBC (**Figura 36, p. 63**), através das correlações heteronucleares do sinal em $\delta_{\text{C}} 141,9$ (C-6) com o hidrogênio da hidroxila (HO-6) em $\delta_{\text{H}} 6,47$ ($^2J_{\text{HC}}$) e em $\delta_{\text{C}} 129,1$ (C-5) com os hidrogênios dos dois grupos metilas em $\delta_{\text{H}} 1,45$ (3H-19, $^3J_{\text{HC}}$) e em $\delta_{\text{H}} 1,85$ (3H-28, $^3J_{\text{HC}}$); além do hidrogênio H-1 em $\delta_{\text{H}} 7,00$ ($^3J_{\text{HC}}$) e também com o hidrogênio da hidroxila HO-6 em $\delta_{\text{H}} 6,47$ ($^3J_{\text{HC}}$).

Foram caracterizados dois grupos ésteres sustentados pelo anel C da I, um acetato [CH_3COO : $\delta_{\text{C}} 21,2/\delta_{\text{H}} 2,31$ (CH_3) e $169,4$ (COO)] ligado ao átomo de carbono CH-11 ($\delta_{\text{C}} 72,4/\delta_{\text{H}} 5,37$) e um 2-metilpropanoiloxi [Me_2CHCOO : $\delta_{\text{C}} 18,7/\delta_{\text{H}} 1,10$ (2Me), $\delta_{\text{C}} 34,1/\delta_{\text{H}} 2,47$ (CH) e $174,5$ (COO)] no CH-12 ($\delta_{\text{C}} 77,8/\delta_{\text{H}} 5,23$), com base nos dados obtidos dos espectros 1D (RMN ^1H , **Figura 25, p. 52**, e ^{13}C **Figura 30, p. 57**) e 2D (COSY, HSQC e HMBC) sumarizados na **Tabela 25 (p. 46)** contendo, inclusive, as informações deduzidas do HSQC ($^1J_{\text{HC}}$) e HMBC ($^2J_{\text{HC}}$ e $^3J_{\text{HC}}$) utilizadas também para garantir as localizações destes grupamentos.

A presença do grupo acetoxila ligado ao átomo de carbono CH-11, foi comprovada através da correlação heteronuclear à longa distância, $^2J_{\text{HC}}$, do carbono carbonílico em $\delta_{\text{C}} 169,4$ (C-1'') com os três hidrogênios do grupo metila (3H-2'') em $\delta_{\text{H}} 2,31$ (s), presentes no espectro de correlação heteronuclear HMBC (**Figura 36, p. 63**). Já o grupo 2-metilpropanoiloxi ligado

ao átomo de carbono CH-12, foi confirmado através das correlações heteronucleares à longa distância, $^2J_{HC}$, do carbono carbonílico (C-1') em δ_C 174,5 com o hidrogênio H-2' em δ_H 2,47 e corroborado pela correlação do carbono CH-2' em δ_C 34,1 com os três hidrogênios dos grupos metilas 3H-3' em δ_H 1,10 (d ; $J=7,0$ Hz) e 3H-4' em δ_H 0,98 (d ; $J=7,0$ Hz), todas observadas no espectro HMBC (**Figura 37, p. 64**).

Os deslocamentos químicos em δ_C 67,6 (C-14) e em δ_C 55,2 (CH-15), observados no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ, sugeriram a presença de grupo epóxido ligado aos átomos de carbonos C-14/CH-15, do anel D, o qual foi confirmado através das correlações heteronucleares à longa distância, $^3J_{HC}$, do átomo de carbono C-14 (δ_C 67,6) com hidrogênio H-16a [δ_H 2,33 (dd ; $J=13,8$ e $6,7$ Hz)] e corroborada pela correlação $^2J_{HC}$ entre CH-15 (δ_C 55,2) com o mesmo hidrogênio H-16a em δ_H 2,33; ambas observadas no espectro de correlação heteronuclear HMBC (**Figura 37, p. 64**).

A presença do anel furano foi comprovada pelos valores dos deslocamentos químicos observados no espectro de RMN ^{13}C , em combinação com correlações reveladas pelo HSQC para os carbonos metínicos: δ_C/δ_H 121,5 (C-20), 140,5/7,15 (CH-21), 111,2/6,20 (CH-22) e 143,7/7,32 (CH-23). (Simmonds et al., 2001 e Pretsch et al., 2000). O espectro de HMBC (**Figura 36, p. 63**) revelou correlações heteronucleares à longa distância do átomo de carbono C-20 (δ_C 121,5) com os hidrogênios H-17 (δ_H 2,96, $^2J_{HC}$, comprovando a ligação do anel furano ao CH-17), H-21 (δ_H 7,15; $^2J_{HC}$), H-22 (δ_H 6,19; $^2J_{HC}$) e H-23 (δ_H 7,32, $^3J_{HC}$) e do CH-23 (δ_C 142,7) com o hidrogênio H-21 (δ_H 7,15; $^3J_{HC}$), confirmando a presença e localização do anel furano.

O espectro de correlação homonuclear 1H - 1H -COSY (**Figura 39, p. 66**) também certifica a presença deste anel através dos acoplamentos do hidrogênio H-23, em δ_H 7,32, tanto com o H-21 em δ_H 7,15 como também, com o H-22 em δ_H 6,20. As demais correlações encontram-se sumarizados na **Tabela 25**.

Esses dados comparados com os dados descritos na literatura (**Tabela 25**) permitiram, inicialmente, propor para a amostra I uma estrutura idêntica à do limonóide 6-hidroxi-11 β -acetoxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila, já isolado das raízes de *Trichilia pallida* (Simmonds et al., 2001).

Após a obtenção de espectro ^1H - ^1H -NOESY para avaliação estereoquímica do limonoíde **I**, foi possível observar que para atender a interação espacial dos 3H-30 ($\delta_{\text{H}}1,43$) com o H-15 ($\delta_{\text{H}}3,93$) a posição do epóxido ligado nos átomos de carbono C-14 e CH-15 deve ocupar posição β , igualmente a descrita na literatura para o limonoíde isolado por Simmonds et al., 2001 de *Trichilia pallida*, sustentando a função epóxido na posição β , como tem ocorrido historicamente nas referências bibliográficas citadas.

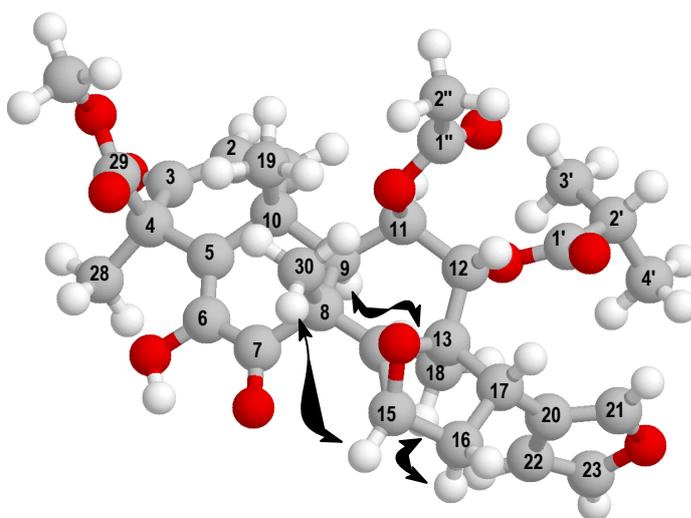


Figura 15:Correlação dipolar revelada pelo ^1H - ^1H -NOESY do limonoíde **I** [6-hidroxi-11 β -acetoxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxi-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila].

Outra proposta na estereoquímica envolve a localização do grupo carbometoxi na posição β (assumindo consequentemente o seu carbono o número 29, posição axial, com deslocamento químico em δ_{C} 170,1) e grupo metila Me-28 passando para posição α (equatorial, com deslocamento químico em δ_{C} 22,9), ambos comparados com os modelos a seguir, descritos de acordo com a literatura (**Figura 16, p. 41**) (Mahato e Kandou, 1994).

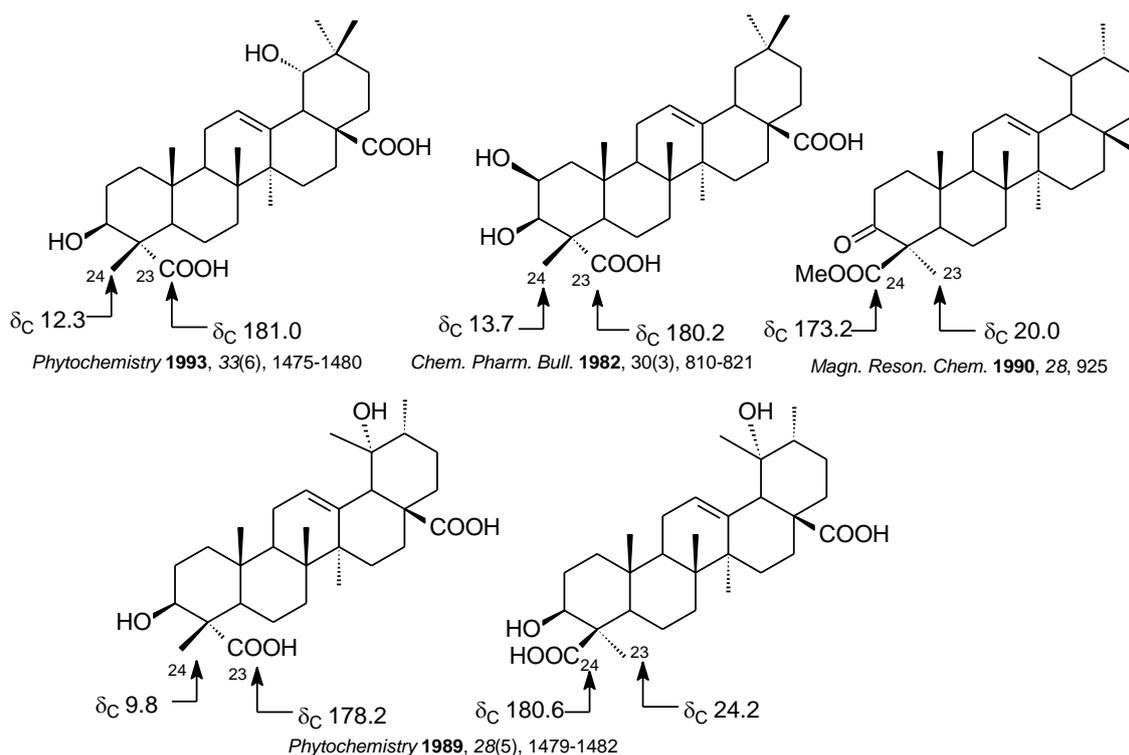


Figura 16: Dados de referências citadas por Mahato e Kandou, 1994 para comparação dos valores de deslocamentos químicos de RMN ^{13}C dos substituintes equatorial e axial ligados ao C-4.

A amostra **I**, após ter sido identificada como o limonoide, 6-hidroxi-11 β -acetoxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila, foi submetida a uma reação de acetilação usando os procedimentos descritos anteriormente no **item 4.2.7, p. 29**, obtendo-se o novo derivado monoacetilado **I-Ac**, que foi submetido a novas análises espectrométricas de RMN uni (1D) e bidimensionais (2D).

Essas análises permitiram comprovar a conversão do grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono C-6 na substância original **I** em grupo acetoxila (**I-Ac**), que foi caracterizado através da correlação heteronuclear à longa distância do carbono carbonílico C-1''' (δ_{C} 168,1) com os hidrogênios 3H-2''' (δ_{H} 2,24, $^2J_{\text{HC}}$) observada no HMBC (**Figura 48, p. 75**) e a interação heteronuclear direta do carbono C-2''' (δ_{C} 20,2) com seus respectivos hidrogênios 3H-2''' (δ_{H} 2,24, $^1J_{\text{HC}}$) revelado pelo espectro HSQC (**Figura 47, p. 74**). Assim, o derivado acetilado **I-Ac** foi caracterizado como 6,11-diacetoxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila.

A análise por CG/EM do produto da reação de acetilação revelou cromatograma (**Figura 19, p. 43**) correspondente a uma mistura de duas substâncias acetiladas (89% e 11%), que denominadas **I** e **II** respectivamente, com os respectivos espectros de massas (**Figuras 20 e 21, págs. 43 e 44**) revelando em relação **I** uma diferença de 14 unidades de massa (CH_2) atribuída a mais um novo limonóide, podendo este grupo metileno adicional ser racionalmente introduzido no grupo acetoxila (**I-Ac**) convertendo-o em propionoxila (**II-Ac**) ou no isobutiroxila (Me_2CHCOO) transformando-o em 2-metilbutanoxila (EtMeCHCOO) ou 3-metilbutanooxila ($\text{Me}_2\text{CH}_2\text{COO}$).

De fato, além do CG/EM, uma nova análise dos espectros de RMN^1H e ^{13}C da amostra original **I** e do produto de acetilação permitiu identificar os sinais correspondentes ao grupo propionoxila (**II** e **II-Ac**) com a permanência dos sinais do grupo isobutiroxila nas duas substâncias (**I/II** e **I-Ac/II-Ac**), resultado que foi confirmado no espectro HSQC através das correlações heteronucleares diretas ($^1J_{\text{HC}}$) observadas nos sinais dos grupos metilênicos $\text{CH}_2\text{-2''}$ ($\delta_{\text{C}} 26,6 / \delta_{\text{H}} 2,40$) e metílico $\text{CH}_3\text{-3''}$ ($\delta_{\text{C}} 11,5 / \delta_{\text{H}} 0,90$, t , 7,2) atribuindo a presença deste novo limonoide. Assim, a nova substância natural limonoide (**II**) foi caracterizada como 6-hidroxi-11 β -propanoiloxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxi-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila e seu derivado como 6-O-acetil-11 β -propanoiloxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxi-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila.

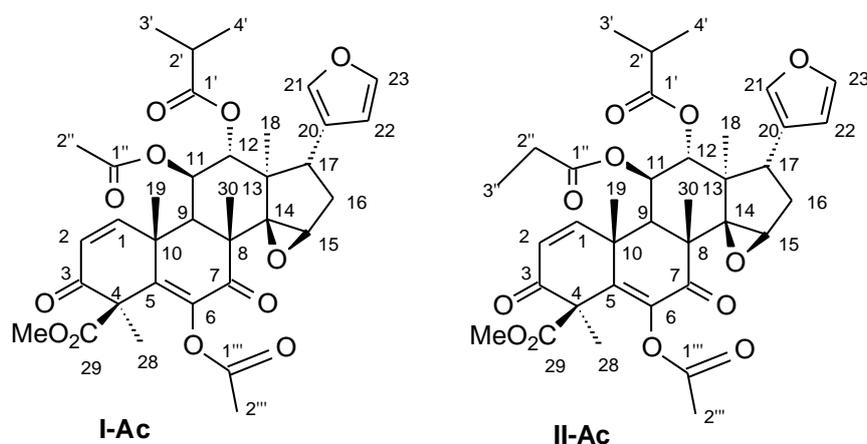


Figura 17: Estruturas dos limonoides **I** e **II** acetilados (**I-Ac** e **II-Ac**).

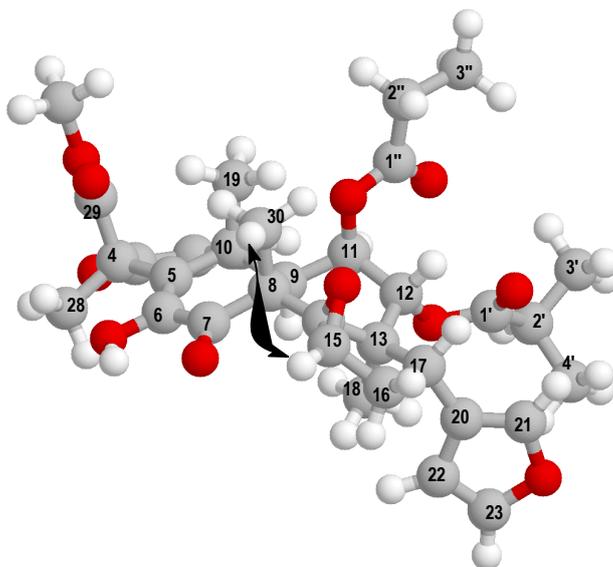


Figura 18: Correlação dipolar revelada pelo ^1H - ^1H -NOESY do limonoide II [6-hidroxi-11 β -propanoiloxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila].

A proposta de fragmentação para justificar os principais picos observados nos espectros de massas dos derivados acetilados **I-Ac** e **II-Ac** pode ser também usada para confirmar a presença e localização do grupo 11-propanoiloxi (**Esquema 2, p. 44**).

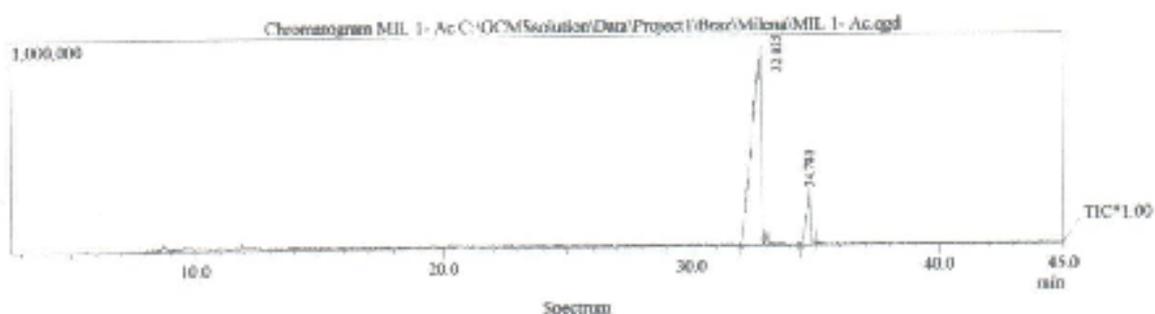


Figura 19: Cromatograma gasoso da mistura das substâncias I e II acetiladas (**I-Ac** e **II-Ac**).

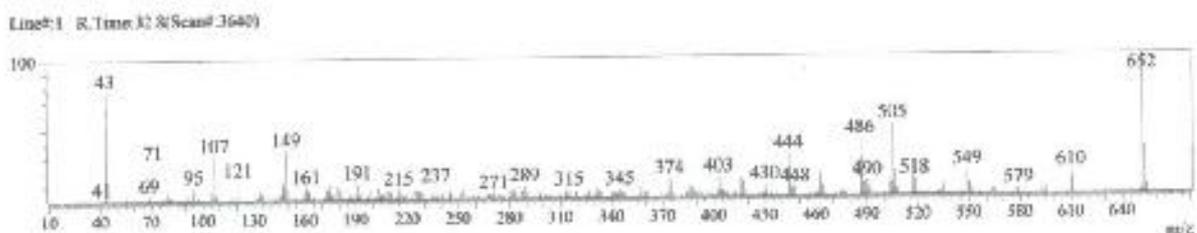


Figura 20: Espectro de Massas da substância I acetilada (**I-Ac**).

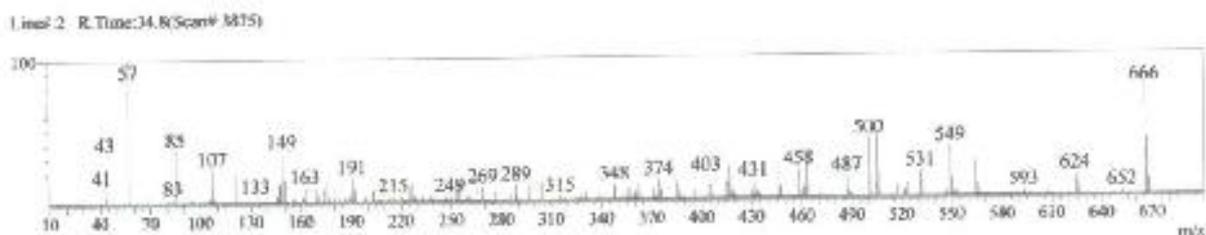
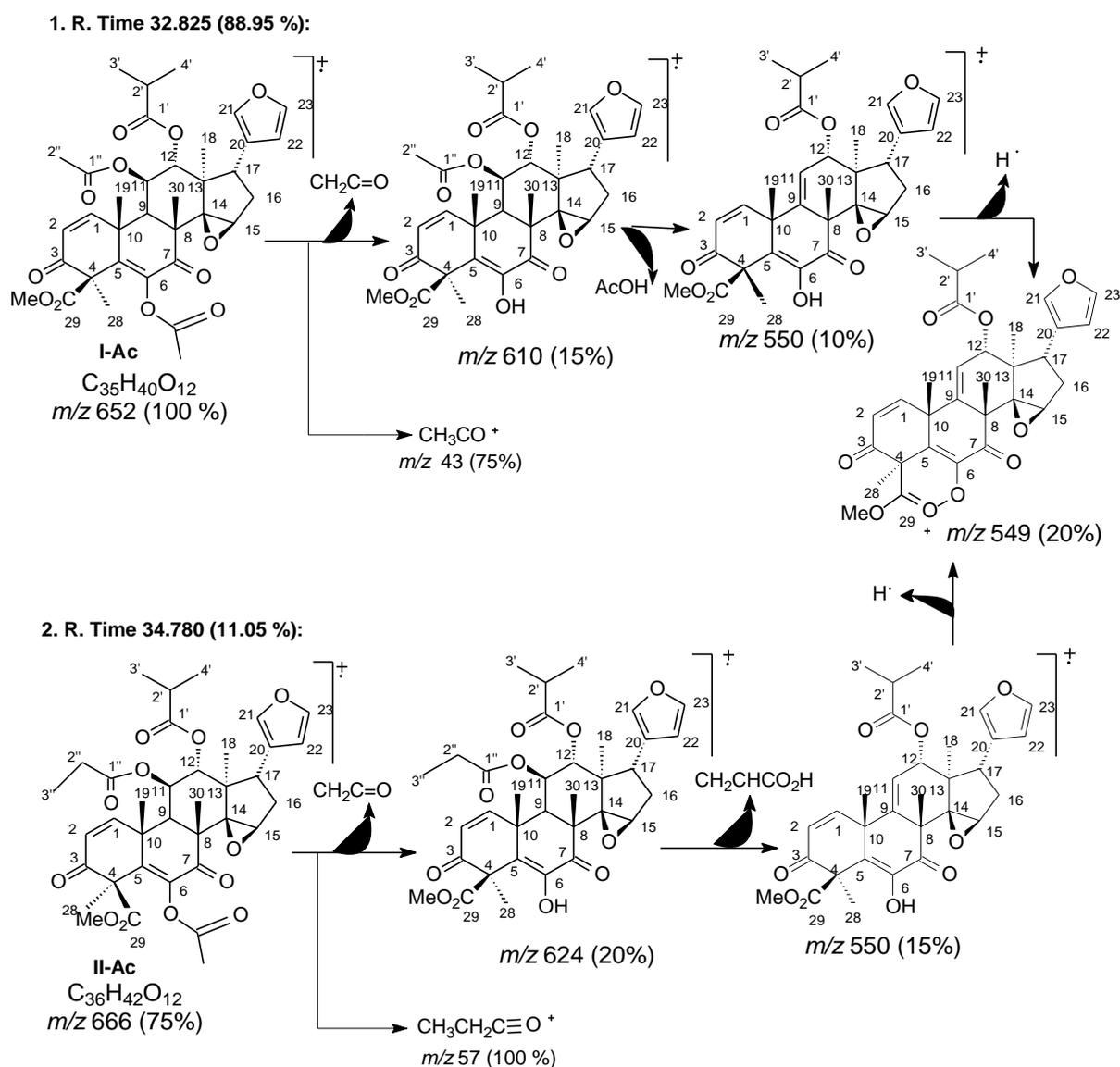


Figura 21: Espectro de Massas da substância II acetilada (II-Ac).



Esquema2: Proposta de fragmentação para justificar os principais picos observados nos espectros de massas dos derivados acetilados I-Ac e II-Ac.

Portanto, podemos concluir que a amostra foi caracterizada como uma mistura de dois limonoides, 6-hidroxi-11 β -acetoxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila (**I**, constituinte presente com cerca de 89%) e 6-hidroxi-11 β -propanoiloxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila (**II**, componente presente com cerca de 11%), que no melhor do nosso conhecimento, este último, não encontra-se descrito na literatura até o momento.

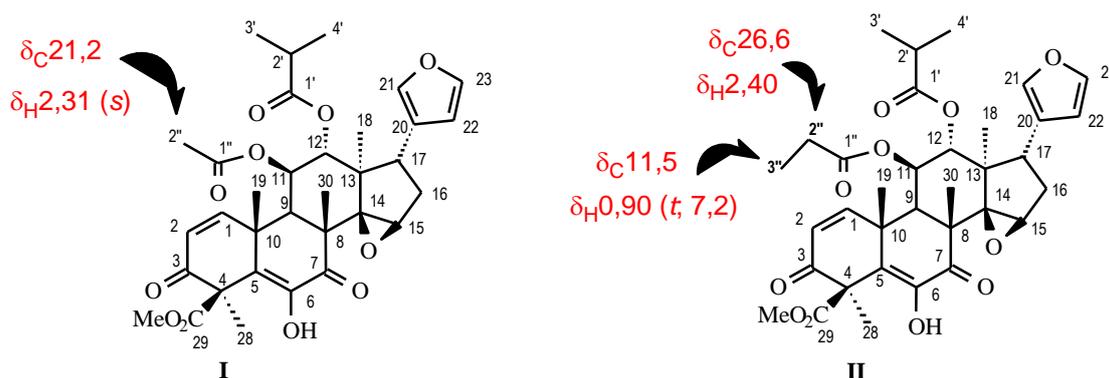


Figura 22: Estrutura dos limonoides **I** e **II**.

Os dados de RMN ^1H e ^{13}C da **I** (componente predominante) e **II** foram comparados com dados descritos na literatura para os limonoides hirtina (**64**), desacetil hirtina (**65**), 6-hidroxi-11 β -acetoxi-12 α -isobutiroxi-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila (**66**), 6,11 β -dihidroxi-12 α -isobutiroxi-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila (**67**) e 6-hidroxi-11 β -acetoxi-12 α -isobutiroxi-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila (**68**) isolados de *T. pallida* (Simmonds et al., 2001) **Tabela 27, p. 50**.

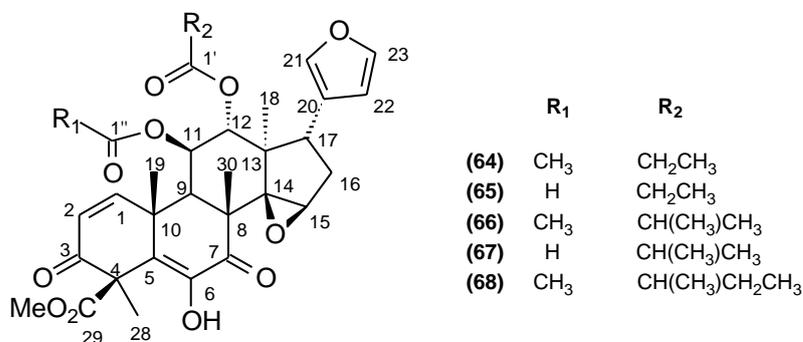


Figura 23: Estruturas dos limonoides (**64**), (**65**), (**66**), (**67**) e (**68**) isolados por Simmonds et al., 2001

Tabela 25: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da substância **I** em CDCl_3 , e as correlações observadas nos espectros de HSQC e HMBC. Deslocamentos químicos em δ_{C} e δ_{H} (ppm) e constantes de acoplamento (J , em parenteses) em Hz comparados com valores descritos para o limonoide 6-hidroxi-11 β -acetoxi-12-meliacadien-2-isobutiroxi-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila (Simmonds et al., 2001).

	I				Simmonds et al., 2001	
	HSQC		HMBC		δ_{C}	δ_{H}
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$		
C						
3	195,7	-	H-2	H-1; 3H-28	195,5	-
4	60,4	-	3H-28	H-2	59,3	-
5	129,1	-	-	H-1; HO-6; 3H-19; 3H-28	129,3	-
6	141,9	-	HO-6	-	141,9	-
7	196,2	-	-	HO-6; 3H30	196,2	-
8	46,2	-	3H-30	H-11	46,2	-
10	39,9	-	H-1; H-9; 3H-19	H-2	39,9	-
13	45,3	-	H-12; 3H-18	H-16 ^a	45,3	-
14	67,6	-	-	H-16a; 3H-18; 3H-30	67,6	-
29	170,1	-	-	3H-28; MeO-29	170,0	-
20	121,5	-	H-17; H-21; H-22	H-16b; H-23	121,5	-
1'	174,5	-	H-2'	3H-3'; 3H-4'	174,4	-
1''	169,4	-	3H-2''	-	169,3	-
CH						
1	150,6	7,00 (<i>d</i> ; 10,1)	-	3H-19	150,5	6.97 (<i>d</i> , 10.2)
2	125,8	6,20 (<i>d</i> ; 10,1)	-	-	126,9	6.15 (<i>d</i> , 10.1)
9	42,0	2,99 (<i>s</i>)	-	H-1; 3H19;3H-30	42,9	2.98 (<i>s</i>)
11	72,4	5,37 (<i>s</i>)	H-12	-	72,4	5.35 (<i>br s</i>)
12	77,8	5,23 (<i>s</i>)	H-11	H-9; H-17; 3H-18	77,9	5.20 (<i>br s</i>)
15	55,2	3,93 (<i>s</i>)	H-16a	3H-18; 3H-30	55,1	3.91 (<i>s</i>)
17	41,4	2,96 (<i>dd</i> ; 11,0; 6,7)	H-16b	H-15; 3H-18	41,5	2.93 (<i>dd</i> , 11.1, 6.8)
21	140,5	7,15 (<i>sl</i>)	-	-	140,5	7.12 (<i>m</i>)
22	111,2	6,19 (<i>sl</i>)	-	-	111,2	6.10 (<i>m</i>)
23	142,7	7,32 (<i>t</i> , 1,6)	H-22	H-21	142,7	7.29 (<i>t</i> ,1.7)
2'	34,1	2,47 (<i>sept</i> , 7,0)	3H-3'; 3H-4'	-	34,1	2.44 (<i>sept</i> , 7.1)
CH₂						
16	32,2	2,33 (<i>dd</i> , 13,8; 6,7) 2,02 (<i>dd</i> , 13,8; 11,0)	H-15; H-17	-	32,2	2.32 ((<i>ddd</i> , 13.8, 11.1, 0.9) 1.99 (<i>dd</i> , 13.9, 11.1)
CH₃						
18	15,8	0,84 (<i>s</i>)	-	H-17	15,6	0,81 (<i>s</i>)
19	26,0	1,45 (<i>s</i>)	-	H-9	25,3	1,43 (<i>s</i>)
28	22,9	1,85 (<i>s</i>)	-	-	22,9	1,83 (<i>s</i>)
30	22,5	1,43 (<i>s</i>)	-	H-9	22,5	1,40 (<i>s</i>)

MeO	53,1	3,79 (s)	-	-	53,0	3,76 (s)
3'	18,7	1,10 (<i>d</i> ; 7,0)	H-2'	-	18,5	1,07 (<i>d</i> ; 7,1)
4'	18,7	0,98 (<i>d</i> ; 7,0)	H-2'	-	18,7	0,97 (<i>d</i> ; 7,1)
2''	21,2	2,31 (s)	-	-	21,1	2,18 (s)
HO	-	6,47 (s)	-	-	-	6,41 (s)

Tabela 26: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da mistura das substâncias **I-Ac** e **II-Ac** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC. Deslocamentos químicos em δ_{H} e δ_{C} (ppm), e constantes de acoplamento (J) em Hz.

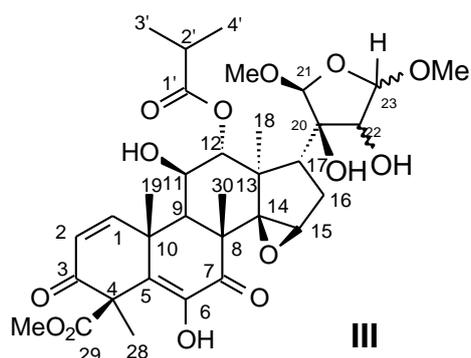
	I-Ac				I	
	HSQC		HMBC			
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H}
C						
3	194.78	-		H-1; 3H-19	195.66	-
4	59.47	-	3H-28		60.43	-
5	143	-		H-1; 3H-19; 3H-28	129.1	-
6	141.64	-			141.90	-
7	192.36	-		H-9; 3H-30	196.19	-
8	46	-	H-9; 3H-30	H-11	46.15	-
10	40.89	-	H-1; H-9; 3H-19	H-2	39.85	-
13	45.37	-	H-17; 3H-18	H-16a	45.32	-
14	67.42	-		H-16a; 3H-18; 3H-30	67.59	-
29	169.45	-		3H-28; MeO-29	170.06	-
20	121.53	-	H-21; H-22	H-23	121.48	-
1'	174.51	-	H-2'	3H-3'; 3H-4'; H-12	174.49	-
1''	168.89	-	3H-2''	H-11	169.39	-
1'''	168.10	-	3H-2'''	-	-	-
CH						
1	150.17	7.03 (d, 10.1)	-	3H-19	150.62	7.00 (d, 10.1)
2	127.24	6.24 (d, 10.1)	-		125.84	6.19 (d, 10.1)
9	42.52	3.04 (s)	H-11	H-12; 3H-19; 3H-30	42.01	2.99 (s)
11	72.54	5.36 (s)	H-12		72.41	5.37 (s)
12	77.88	5.29 (s)	H-11	H-17; 3H-18	77.76	5.23 (s)
15	55.26	3.87 (s)	H-16a		55.15	2.93 (s)
17	41.46	2.95 (dd, 10.5, 6.6)	-	H-15; 3H-18	41.37	2.96 (dd, 11.0, 6.7)
21	140.50	7.14 (sl)		H-17; H-22; H-23	140.48	7.15 (sl)
22	111.25	6.12 (sl)	H-23	H-17; H-21	111.22	6.2 (sl)
23	142.63	7.31 (sl)	H-22	H-21	142.69	7.32 (t, 1.6)
2'	34.09	2.48(sep, 6.9)	3H-3'; 3H-4'	-	34.10	2.47 (sept, 7.0)
CH₂						
16	32.20	2.91 (dd, 13.6, 6.6) 2.02 (dd, 13.6, 10.5)	H-15; H-17	-	32.15	2.33 (dd, 13.8, 6.7) 2.02 (dd, 13.8, 11.0)
2''	26,6	2,40	-	-	-	-
CH₃						
18	15.70	0.85 (s)	-	H-12; H-17	15.80	0.84 (s)
19	26.07	1.65 (s)	-	H-9	25.97	1.45 (s)
28	24.06	1.78 (s)	-	-	22.85	1.85 (s)
30	21.12	1.49 (s)	-	H-9	22.52	1.43 (s)

MeO	53.24	3.73 (s)	-	-	53.05	3.79 (s)
3'	18.69	1.10 (d, 6.9)	H-2'	3H-4'	18.70	1.10 (d, 7.0)
4'	18.62	0.99 (d, 6.9)	H-2	3H-3'	18.68	0.98 (d, 7.0)
2''	21.41	2.23			21.20	2.31 (s)
3''	11,5	0,90 (t, 7,2)	-	-	-	-
2'''	20.23	2.24				
HO	-	-	-	-	-	6.47 (s)

Tabela 27: Dados de comparação de RMN ¹H e RMN ¹³C da mistura das substâncias I e II com os limonoides relatados na literatura. Deslocamentos químicos em δ_H e δ_C (ppm), e constantes de acoplamento (*J*) em Hz (Simmondset *al.*, 2001).

	I		II		(64)		(65)		(66)		(68)		(67)
C	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_C	δ_H	δ_H
3	195.7	-	195.7	-	195.8	-	195.7	-	195.5	-	195.5	-	-
4	60.4	-	60.4	-	59.3	-	59.3	-	59.3	-	59.3	-	-
5	129.1	-	129.1	-	129.4	-	129.6	-	129.3	-	129.3	-	-
6	141.9	-	141.9	-	141.9	-	141.9	-	141.9	-	142.0	-	-
7	196.2	-	196.2	-	196.2	-	196.5	-	196.2	-	196.3	-	-
8	46.2	-	46.2	-	46.2	-	45.9	-	46.2	-	46.2	-	-
10	39.9	-	39.9	-	39.9	-	40.5	-	39.9	-	40.0	-	-
13	45.3	-	45.3	-	45.1	-	44.8	-	45.3	-	45.3	-	-
14	67.6	-	67.6	-	67.7	-	68.3	-	67.6	-	67.6	-	-
28	170.1	-	170.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29	-	-	-	-	170.0	-	170.2	-	170.0	-	170.0	-	-
20	121.5	-	121.5	-	121.7	-	121.9	-	121.5	-	121.5	-	-
1'	174.5	-	174.5	-	172.2	-	173.9	-	174.4	-	174.2	-	-
1''	169.4	-	169.4	-	169.4	-	-	-	169.3	-	169.3	-	-
CH													
1	150.6	7.00 (d, 10.1)	150.6	7.00 (d, 10.1)	150.7	7.01 (d, 10.2)	151.4	6.91 (d, 10.3)	150.5	6.97 (d, 10.2)	150.5	6.96 (d, 10.3)	6.87 (d, 10.2)
2	125.8	6.19 (d, 10.1)	125.8	6.19 (d, 10.1)	126.8	6.16 (d, 10.1)	126.5	6.13 (d, 10.3)	126.9	6.15 (d, 10.1)	126.8	6.14 (d, 10.2)	6.12 (d, 10.2)
9	42.0	2.99 (s)	42.0	2.99 (s)	42.9	2.97 (s)	43.9	2.71 (br s)	42.9	2.98 (s)	42.8	2.97 (s)	2.69 (s)
11	72.4	5.37 (s)	72.4	5.37 (s)	72.5	5.39 (br s)	73.2	4.21 (br s)	72.4	5.35 (br s)	72.4	5.36 (br s)	4.16 (br s)
12	77.8	5.23 (s)	77.8	5.23 (s)	78.5	5.22 (br s)	82.8	5.09 (br s)	77.9	5.20 (br s)	77.9	5.22 (br s)	5.10 (br s)
15	55.2	3.93 (s)	55.2	3.93 (s)	55.1	3.91 (s)	56.5	3.98 (s)	55.1	3.91 (s)	55.1	3.90 (s)	3.98 (s)
17	41.4	2.96 (dd, 11.0, 6.7)	41.4	2.96 (dd, 11.0, 6.7)	41.6	2.92 (dd, 11.0, 6.8)	42.2	2.92 (dd, 11.0, 6.6)	41.5	2.93 (dd, 11.1, 6.8)	41.5	2.94 (dd, 11.1, 6.9)	2.94 (dd, 11.0, 6.7)
21	140.5	7.15 (sl)	140.5	7.15 (sl)	140.5	7.11 (m)	140.1	7.13 (m)	140.5	7.12 (m)	140.6	7.13 (m)	7.13 (m)
22	111.2	6.20 (sept, 7.0)	111.2	6.20 (sept, 7.0)	111.1	6.08 (dd, 1.6, 0.7)	111.0	6.06 (dd, 1.7, 0.7)	111.2	6.10 (m)	111.5	6.10 (dd, 1.7, 0.7)	6.08 (dd, 1.6, 0.7)
23	142.7	7.32 (t, 1.6)	142.7	7.32 (t, 1.6)	142.7	7.30 (t, 1.6)	142.9	7.32 (t, 1.7)	142.7	7.29 (t, 1.7)	142.6	7.28 (t, 1.6)	7.32 (t, 1.6)
2'	34.1	2.47 (sept, 7.0)	34.1	2.47 (sept, 7.0)	27.7	2.19 (m) 2.27 (dq, 16.3, 7.6)	27.8	2.27 (m)	34.1	2.44 (sept, 7.1)	41.0	2.26 (sext, 7.0)	2.48 (sept, 7.0)
CH ₂													
16	32.2	2.33 (dd, 13.8, 6.7) 2.02 (dd, 13.8, 11.0)	32.2	2.33 (dd, 13.8, 6.7) 2.02 (dd, 13.8, 11.0)	32.1	2.00 (dd, 13.7, 11.1) 2.31 (ddd, 13.7, 6.7, 0.6)	31.6	1.98 (ddd, 13.9, 11.1, 0.7) 2.34 (ddd, 13.9, 6.6, 0.7)	32.2	1.99 (dd, 13.9, 11.1) 2.32 (ddd, 13.9, 6.6, 0.5)	32.3	1.99 (ddd, 13.9, 11.1, 0.7) 2.31 (ddd, 13.9, 6.9, 0.7)	2.01 (dd, 13.8, 11.1) 2.34 (dd, 13.8, 6.7)
2''	-	-	26.6	2.40	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CH ₃													
18	15.8	0.84 (s)	15.8	0.84 (s)	15.6	0.79 (s)	15.3	0.75 (s)	15.6	0.81 (s)	15.7	0.81 (s)	0.77 (s)
19	26.0	1.45 (s)	26.0	1.45 (s)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	25.4	1.43 (s)	26.5	1.67 (s)	25.3	1.43 (s)	25.2	1.43 (s)	1.66 (s)
29	22.9	1.85 (s)	22.9	1.85 (s)	22.9	1.82 (s)	22.8	1.83 (s)	22.9	1.83 (s)	22.9	1.83 (s)	1.83 (s)
30	22.5	1.43 (s)	22.5	1.43 (s)	22.5	1.40 (s)	22.5	1.41 (s)	22.5	1.40 (s)	22.5	1.40 (s)	1.41 (s)
MeO	53.1	3.79 (s)	53.1	3.79 (s)	53.0	3.76 (s)	52.9	3.76 (s)	53.0	3.76 (s)	53.0	3.76 (s)	3.76 (s)
3'	18.7	1.10 (d, 7.0)	18.7	1.10 (d, 7.0)	8.9	1.02 (t, 7.6)	9.0	1.07 (t, 7.6)	18.6	1.07 (d, 7.1)	16.3	0.96 (d, 7.0)	1.08 (d, 7.0)
4'	18.7	0.98 (d, 7.0)	18.7	0.98 (d, 7.0)	-	-	-	-	18.7	0.97 (d, 7.1)	26.6	1.42 (m), 1.62 (m)	1.03 (d, 7.0)
5'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11.5	0.88 (t, 7.5)	-
2''	21.2	2.31 (s)	-	-	21.1	-	-	-	21.1	2.18 (s)	21.1	2.18 (s)	-
3''	-	-	11.5	0.90 (t, 7.2)	-	2.19 (s)	-	-	-	-	-	-	-
HO-6	-	6.47 (s)	-	6.47 (s)	-	6.41 (s)	-	6.39 (s)	-	6.41 (s)	-	6.41 (s)	6.39 (s)

5.2.1.2 Determinação Estrutural da Substância III



A substância **III** foi isolada do extrato metanólico dos frutos da espécie *T. hirta* como um sólido de cor branca.

A análise do espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 62, p. 96, Tabela 28, p. 85**) da substância **III** permitiu reconhecer a presença de trinta e três átomos de carbono, sendo nove carbonos metílicos (CH_3) [incluindo dois grupos metoxila em δ_{C} 54,7 (MeO-21), δ_{C} 56,4 (MeO-23) e uma metila do grupo carbometóxi em δ_{C} 53,0 (Me-29)], apenas um átomo de carbono metilênico (CH_2), onze carbonos metínicos (CH) [dois sp^2 , correspondentes a uma ligação dupla em δ_{C} 151,9 (CH-1) e δ_{C} 126,3 (CH-2) e nove sp^3 , um ligado a um átomo de carbono que contém um grupo éster em δ_{C} 81,6 (CH-12), três ligados a átomos de carbono que contêm grupos hidroxila em δ_{C} 72,2 (CH-11), δ_{C} 50,2 (CH-17) e δ_{C} 78,2 (CH-22), dois ligados a átomos de carbono que contêm grupos metoxila em δ_{C} 109,3 (CH-21) e δ_{C} 107,9 (CH-23)], e doze carbonos não hidrogenados [seis sp^3 e seis sp^2 , onde um é característico de ligação dupla em δ_{C} 129,3 (C-5), um carbinólico em δ_{C} 142,0 (C-6), dois átomos de carbono contendo grupo carbonila de cetona α,β -insaturada em δ_{C} 195,9 (C-3) e δ_{C} 196,7 (C-7) e dois ligados a carbonila de éster em δ_{C} 170,4 (C-29), δ_{C} 178,0 (C-1')] (Silverstein et al., 2007; Breitmaier e Voelter, 1987).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas de alta resolução, EMAR, (**Figura 51, p. 79**), apresentando o valor de massa sodatado $[\text{M}+\text{Na}^+]^+ = 687,2621$ Daltons e o valor calculado $[\text{M}+\text{Na}^+]^+ = 687,2629$ Daltons, $\Delta_{m/z} = 0,0008$ Daltons; nos levou a propor a fórmula molecular $\text{C}_{33}\text{H}_{44}\text{O}_{14}\text{Na}$ (**Esquema 3, p. 79**).

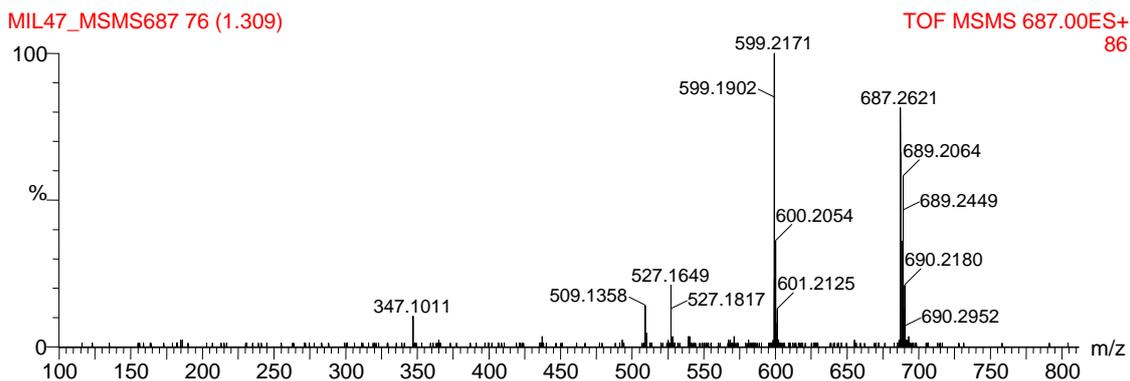
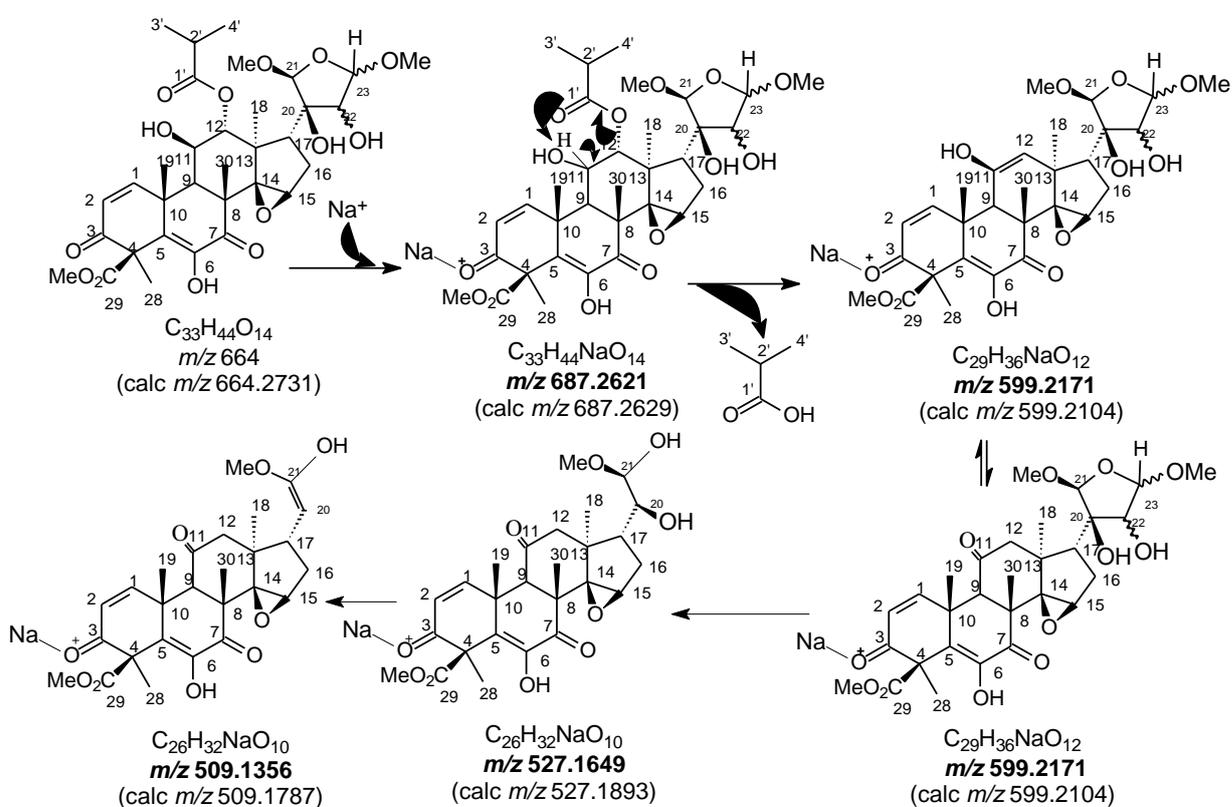


Figura 51: Espectro de Massas de Alta Resolução da substância III.



Esquema 3: Proposta de fragmentação dos principais íons da substância III.

A função cetona presente no átomo de carbono C-3 no anel A, pode ser comprovada através das correlações à longa distância, $^2J_{HC}$, entre o carbono C-3 em δ_C 195,9 com o sinal em δ_H 6,13 (d , $J=10,4$ Hz), referente ao hidrogênio H-2, e a $^3J_{HC}$ com o H-1 em δ_H 6,94 (d , $J=10,4$ Hz) e com os três hidrogênios do grupo metila em δ_H 1,85 (Me-28), apresentadas no espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figura 70, p. 104).

A ligação dupla, também presente no anel A, na posição CH-1/CH-2 pôde ser observada através das correlações heteronucleares em δ_C 151,9 (CH-1) com δ_H 6,94 (H-1); assim como em δ_C 126,3 (CH-2) com δ_H 6,13 (H-2) presentes no espectro de correlação heteronuclear HSQC (**Figura 66, p. 100**), e confirmada pela correlação à longa distância $^3J_{HC}$ entre o átomo de carbono CH-1 (δ_C 151,9) com os hidrogênios do grupo metila (3H-19) em δ_H 1,65; apresentada no espectro de correlação heteronuclear HMBC (**Figura 71, p. 105**).

No anel B, a presença da carbonila no átomo de carbono C-7 foi confirmada através das correlações heteronucleares à longa distância, $^3J_{HC}$, em δ_C 196,7 (C-7) com os três hidrogênios do grupo metila (3H-30) em δ_H 1,39 (s) e, também, com o hidrogênio H-9 em δ_H 2,70 (s), apresentadas no espectro de HMBC (**Figura 70, p. 104**).

A presença de uma ligação dupla entre os átomos de carbonos C-5/C-6 foi comprovada pelas correlações heteronuclear, à $^3J_{HC}$, em δ_C 129,3 (C-5) com os hidrogênios dos dois grupos metilas em δ_H 1,65 (3H-19) e δ_H 1,85 (3H-28); além do hidrogênio H-1 em δ_H 6,94; ambas no espectro de correlação heteronuclear HMBC (**Figura 71, p.105**).

Foi identificado um grupo éster presente no anel C ligado ao átomo de carbono CH-12 que pôde ser observado através dos deslocamentos químicos em δ_C 81,6; no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ e em δ_H 4,99; no espectro de RMN 1H (**Figura 63, p. 97** e **Figura 57, p. 91**); comprovado através da correlação heteronuclear à longa distância do carbono carbonílico em δ_C 178,0 (C-1'), à $^2J_{HC}$ com o hidrogênio H-2' em δ_H 2,67 (*sept*; $J=7,0$ Hz) e à $^3J_{HC}$, com os hidrogênios dos dois grupos metilas 3H-3' e 3H-4' ambos em δ_H 1,22 (*d*; $J=7,0$ Hz), todas observadas no espectro HMBC (**Figura 70, p. 104**).

Os deslocamentos químicos em δ_C 67,6 (C-14) e em δ_C 55,2 (CH-15), obtidos no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ, sugerem presença de grupo epóxido ligado aos átomos de carbonos C-14/CH-15, no anel D, (Ji et al, 2014) o qual foi confirmado através das correlações heteronucleares à longa distância, $^3J_{HC}$, do átomo de carbono C-14 em δ_C 68,4 com hidrogênio H-17 em δ_H 2,12 (*m*) e corroborada pela correlação $^3J_{HC}$ entre CH -15 em δ_C 56,4 com o mesmo hidrogênio H-17 em δ_H 2,12; ambas observadas no espectro de correlação heteronuclear HMBC (**Figura 72, p. 106**).

No espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 63, p. 97**) foi observada a presença de dois sinais de carbonos metínicos (CH) em δ_{C} 109,3 (CH-21) e 107,9 (CH-23) ambos referentes às ligações C-O de um anel de cinco membros tetrassubstituído.

A presença de dois grupos metoxila, ligados aos átomos de carbono CH-21 e CH-23, foram confirmados pelas correlações heteronucleares à longa distância, $^3J_{\text{HC}}$, do CH-21 em δ_{C} 109,3 com os três átomos de hidrogênio do grupo metoxila 3H-MeO-21 em δ_{H} 3,34 (s), assim como também do CH-23 em δ_{C} 107,9 com 3H-MeO-23 em δ_{H} 3,48 (s), observadas no espectro de correlação HMBC (**Tabela 28, p. 85; Figura 71, p. 105**).

O espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (**Figura 76, p. 110**) também certifica a presença deste anel através dos acoplamentos do hidrogênio H-23 em δ_{H} 4,82 com o hidrogênio H-22 em δ_{H} 4,16. As demais correlações encontram-se sumarizados na **Tabela 28**.

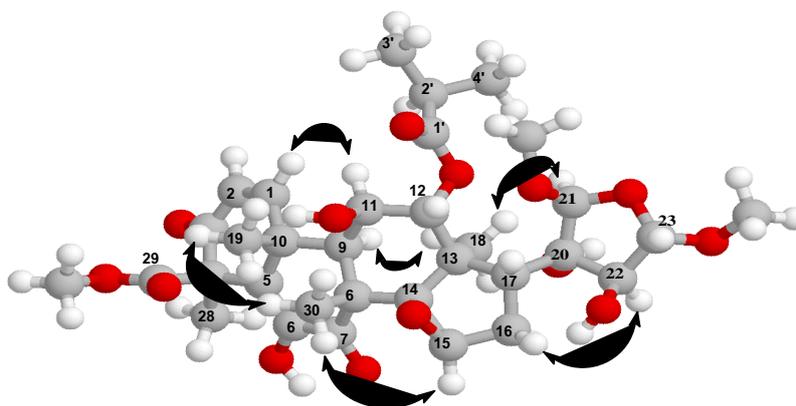


Figura 52: Correlação dipolar revelada pelo ^1H - ^1H -NOESY do limonóide **III**.

Quanto à estereoquímica do limonoide **III** pode-se observar que a posição do epóxido ligado nos átomos de carbono C-14 e CH-15 encontra-se na posição β , igual ao limonoide **I**. Isto pode ser confirmado claramente através da interação espacial entre o hidrogênio H-15 com os hidrogênios do grupo metila Me-30.

A estereoquímica da oxidação do grupo MeO-29 na posição β (axial) pôde ser confirmada através do valor do deslocamento químico em δ_{C} 170,9;

assim como a posição α (equatorial) do grupo metila Me-28 em δ_C 22,1 (Mahato e Kandu, 1994).

Esses dados em conjunto com os dados da literatura (Ji et al., 2014) nos permitiram propor a estrutura de um novo limonoide para a substância **III**.

A substância **III**, após ter sido identificada como um limonoide, foi submetida a uma reação de acetilação segundo os precedimentos descritos anteriormente no **item 4.2.7, p. 29** e novas análises espectrométricas de RMN uni e bidimensionais foram realizadas.

Essas análises nos permitiram comprovar a presença dos grupos hidroxila ligados aos átomos de carbonos CH-11 e CH-22, através dos efeitos de proteção sobre os seguintes átomos de carbonos: CH-12 antes em δ_C 81,6 e agora em δ_C 80,7; CH-21, antes em δ_C 109,3 e agora em δ_C 108,7; CH-23, antes em δ_C 107,9 e agora em δ_C 105,3; com exceção das hidroxilas ligadas aos átomos de carbono CH-17 e C-6 que não foram acetiladas (**Tabela 29, p. 87**)

A análise por EMAR nos permitiu ainda propor a estrutura de um novo derivado acetilado do limonoide **III**, **III-Ac**, podendo ser observado $\Delta_{m/z} = 84,008$ Daltons (comparado ao limonoide **III**) referente a acetilação de dois grupos hidroxila.

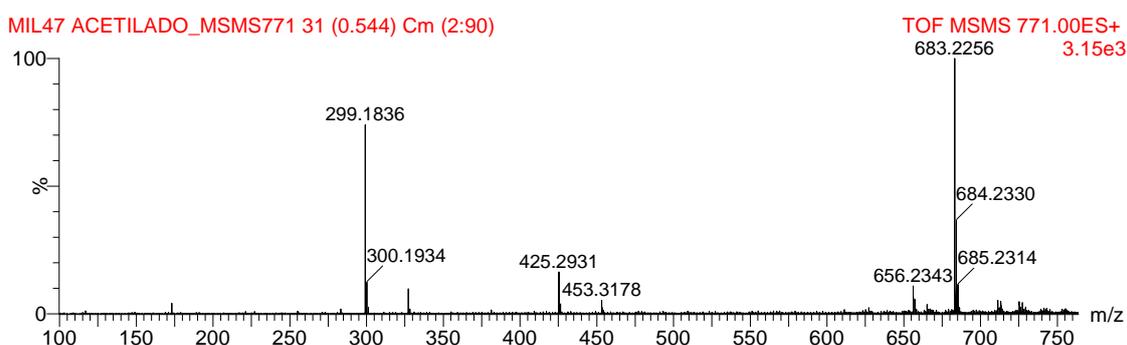
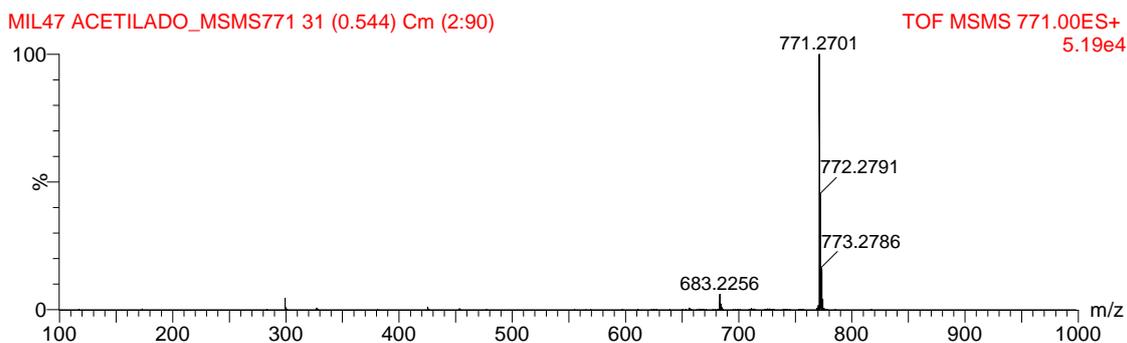
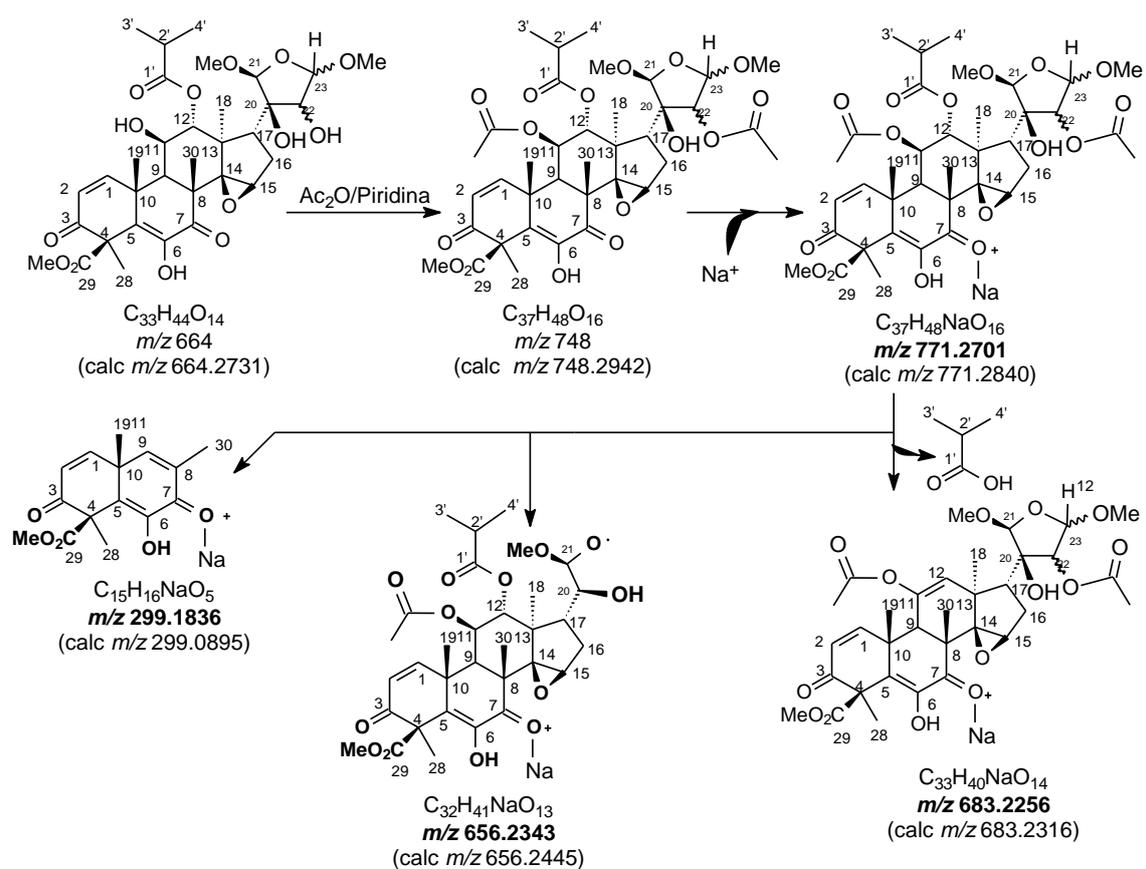


Figura 53: Espectro de Massas de Alta Resolução da substância **III-Ac**.



Esquema 4: Proposta de fragmentação dos principais íons da substância **III-Ac**.

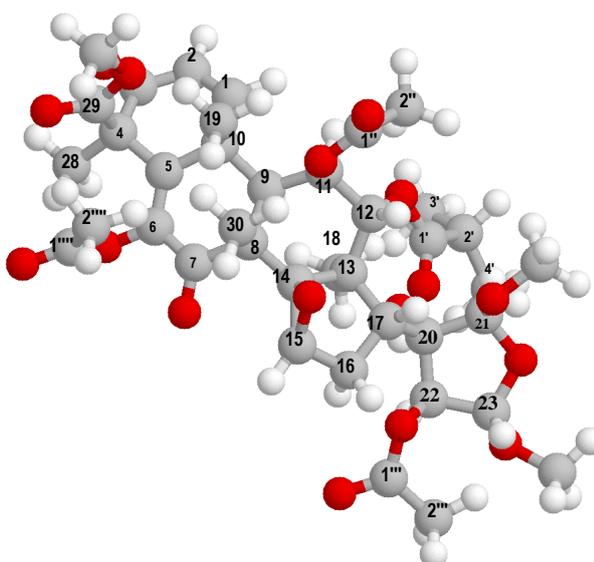


Figura 54: Correlação dipolar revelada pelo 1H - 1H -NOESY do limonoide **III-Ac**.

No espectro de correlação dipolar homonuclear ^1H - ^1H -NOESY foram observadas as interações entre a metila Me-30 com os hidrogênios da metila Me-19 e com hidrogênio H-11; assim como entre a metila Me-18 com os hidrogênios da metoxila MeO-21 e com hidrogênio H-9

Portanto, foi possível concluir que a substância denominada marcocurcino (III) foi caracterizada como um novo limonóide, assim como a **III-Ac** como o novo derivado acetilado, que no melhor do nosso conhecimento, não encontram-se descritos na literatura até o momento.

Tabela 28: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e RMN ^{13}C (100 MHz) da substância **III** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para as misturas das substâncias **I e II** e **IV e V**.

	III							
	HSQC		HMBC		I e II		IV e V	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
C								
3	195,9	-	H-2	H-1; 3H-28	195,7	-	216,8	-
4	59,3	-	3H-28	H-2	60,4	-	47,9	
5	129,3	-		H-1; HO-6; H-9; 3H-19; 3H-28	129,1	-	-	-
6	142,0	-	HO-6		141,9	-	-	-
7	196,7	-		HO-6; H-9; 3H-30	196,2	-	-	-
8	45,9	-	H-9; 3H-30	H-11	46,2	-	145,1	-
10	40,4	-	H-1; H-9; 3H-19	H-2	39,9	-	34,9	-
13	45,0	-	H-12; H-17; 3H-18	H-20	45,3	-	43,7	-
14	68,4	-		H-17; 3H-18; 3H-30	67,6	-	50,4	-
29	170,4	-		3H-28; MeO-29	170,1	-	-	-
20	80,6	-	H-17; HO-20; H-21		121,5	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	77,3	-
1'	177,8	-	H-2'	H-12; 3H-3'; 3H-4'	174,5	-	-	-
1''	-	-			169,4	-	-	-
CH								
1	151,9	6,94 (<i>d</i> , 10,4)		H-9; 3H-19	150,6	7,00 (<i>d</i> , 10,1)	-	-
2	126,3	6,13 (<i>d</i> , 10,4)			125,8	6,19 (<i>d</i> , 10,1)	-	-
5	-	-	-	-	-	-	52,4	1,80
7	-	-	-	-	-	-	118,1	5.32 (<i>sl</i>)
9	43,2	2,70 (<i>sl</i>)		H-1; H-12; 3H-19; 3H-30	42,0	2,99 (<i>s</i>)	49,2	1,85
11	72,2	4,17 (<i>m</i>)	H-9; H-12		72,4	5,37 (<i>s</i>)	-	-
12	81,6	4,99 (<i>s</i>)	H-11	H-9; H-17; 3H-18	77,8	5,23 (<i>s</i>)	-	-
15	56,4	3,93 (<i>s</i>)		H-17	55,2	2,93 (<i>s</i>)	-	-
17	50,2	2,12 (<i>m</i>)		H-12; H-15; 3H-18	41,4	2,96 (<i>dd</i> ; 11,0; 6,7)	48,3	2,35
20	-	-		-	-	-	48,0	2,10
21	109,3	4,82 (<i>s</i>)	H-20	H-17; HO-20; H-23; MeO-21	140,5	7,15 (<i>sl</i>)	108,7	4,80
22	78,2	4,16 (<i>m</i>)	H-23	HO-20; H-21	111,2	6,2 (<i>sl</i>)	-	-
23	107,9	4.82 (<i>d</i> , 4,1)		H-21; MeO-23	142,7	7,32 (<i>t</i> , 1,6)	74,8	4,18 (<i>dd</i> ; 17,0; 4,2)

24	-	-	-	-	-	-	76,2	3,38 (<i>dd</i> ; 10,7; 6,3)
2'	34,5	2,64 (<i>sept</i> , 7,0)	3H-3'/3H-4'		34,1	2,47 (<i>sept</i> , 7,0)	-	-
CH₂								
15	-	-	-	-	-	-	33,9	1,55
16	27,9	2,55 (<i>dd</i> ; 15,5; 13,5) 2,08 (<i>m</i>)	H-15; H-17	H-20	32,2	2,33 (<i>dd</i> ; 13,8; 6,7) 2,02 (<i>dd</i> ; 13,8; 11,0)	27,4	1,90; 1,60
22					-	-	36,1	2,00; 1,60
CH₃								
18	15,4	1,07 (<i>s</i>)		H-12; H-17	15,8	0,84 (<i>s</i>)	22,4	0,86 (<i>s</i>)
19	26,1	1,65 (<i>s</i>)		H-9	26,0	1,45 (<i>s</i>)	12,8	1,02 (<i>s</i>)
26	-	-	-	-	-	-	21,5	1,28 (<i>s</i>)
27	-	-	-	-	-	-	20,1	1,16 (<i>s</i>)
28	22,6	1,85 (<i>s</i>)		-	22,9	1,85 (<i>s</i>)	24,5	1,06 (<i>s</i>)
29	-	-	-	-	-	-	21,6	1,13 (<i>s</i>)
30	22,8	1,39 (<i>s</i>)		H-9	22,5	1,43 (<i>s</i>)	27,2	1,02 (<i>s</i>)
3'	19,0	1,22 (<i>d</i> ; 7,0)	H-2'	-	18,7	1,10 (<i>d</i> ; 7,0)	-	-
4'	19,1	1,22 (<i>d</i> ; 7,0)	H-2'	-	18,7	0,98 (<i>d</i> ; 7,0)	-	-
2''	-	-	-	-	21,2	2,31 (<i>s</i>)	-	-
MeO-21	54,7	3,34 (<i>s</i>)	-	H-23	-	-	55,5	3,36 (<i>s</i>)
MeO-23	56,4	3,48 (<i>s</i>)	-	H-21	-	-	48,3	3,24 (<i>s</i>)
MeO-29	53,0	3,78 (<i>s</i>)	-	-	53,1	3,79 (<i>s</i>)	-	-
HO-6	-	-	-	-	-	6,47 (<i>s</i>)	-	-
HO-24	-	-	-	-	-	-	-	2,65 (<i>d</i> ; 6,3)

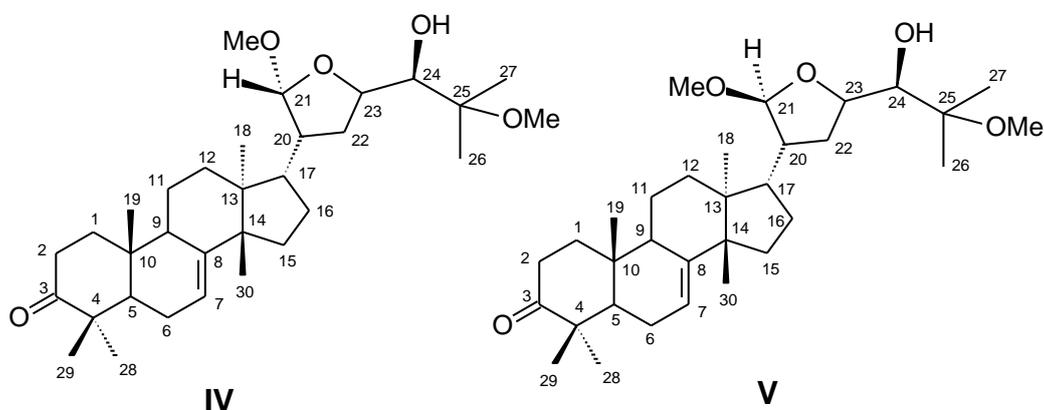
Tabela 29: Dados de RMN ¹H (500 MHz) e RMN ¹³C (125 MHz) da substância **III-Ac** em CDCl₃, e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (*J*) em Hz, e comparação com valores de referência para o limonoide **III**.

	III		III-Ac	
	HSQC	HMBC	HSQC	HMBC

18	15,4	1,07 (s)		H-12; H-17	15,1	1,06 (s)		H-12
19	26,1	1,65 (s)		H-9	23,9	1,75 (s)		
28	22,6	1,85 (s)			21,0	1,78 (s)		
30	22,8	1,39 (s)		H-9	21,3	1,45 (s)		
3'	19,0	1,22 (d, 7,0)	H-2'		19,1	1,22 (s)		H-2'
4'	19,1	1,22 (d, 7,0)	H-2'		19,1	1,21 (s)		H-2'
MeO-21	54,7	3,34 (s)		H-23	54,8	3,34 (s)		
MeO-23	56,4	3,48 (s)		H-21	56,1	3,44 (s)		
MeO-29	53,0	3,78 (s)			53,2	3,73 (s)		

5.2.2 Protolimonoides

5.2.2.1 Determinação Estrutural da Mistura das Substâncias IV e V



As substâncias foram obtidas dos frutos do extrato metanólico de *T. hirta* como mistura na forma de um sólido de cor branca.

A análise do espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 105, p. 143, Tabela 30, p. 138**) da mistura permitiu reconhecer a presença de trinta e dois (32) átomos de carbono, sendo nove carbonos metílicos (CH_3) [incluindo dois grupos metoxila em δ_{C} 55,5 (MeO-21) e δ_{C} 48,3 (MeO-25)], oito carbonos metilênicos (CH_2), oito carbonos metínicos (CH) [um sp^2 correspondente a uma ligação dupla em δ_{C} 118,1 (CH -7) e sete sp^3 , sendo um deste ligado ao grupo metoxila em δ_{C} 108,7 (CH -21) e outro carbinólico em δ_{C} 76,2 (HO-C -24)], e sete carbonos não hidrogenados [cinco sp^3 e dois sp^2 , onde um é característico de ligação dupla em δ_{C} 145,1 (C-8) e o outro de carbonila em δ_{C} 216,9 (C-3)] (Silverstein et al., 2007; Breitmaier e Voelter, 1987).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Figura 98, p. 132**), o qual apresentou o pico do íon molecular em m/z 516 Daltons, permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{32}\text{H}_{52}\text{O}_5$ para a amostra analisada, sugerindo a presença de um protolimonóide (triterpeno tetracíclico) (Hisham et al., 2001).

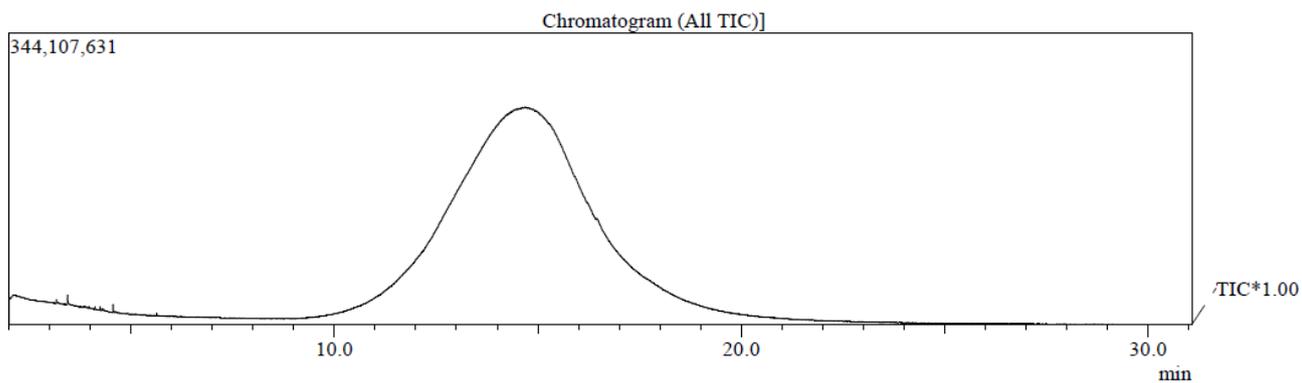


Figura 97: Inserção direta da mistura das substâncias IV e V.

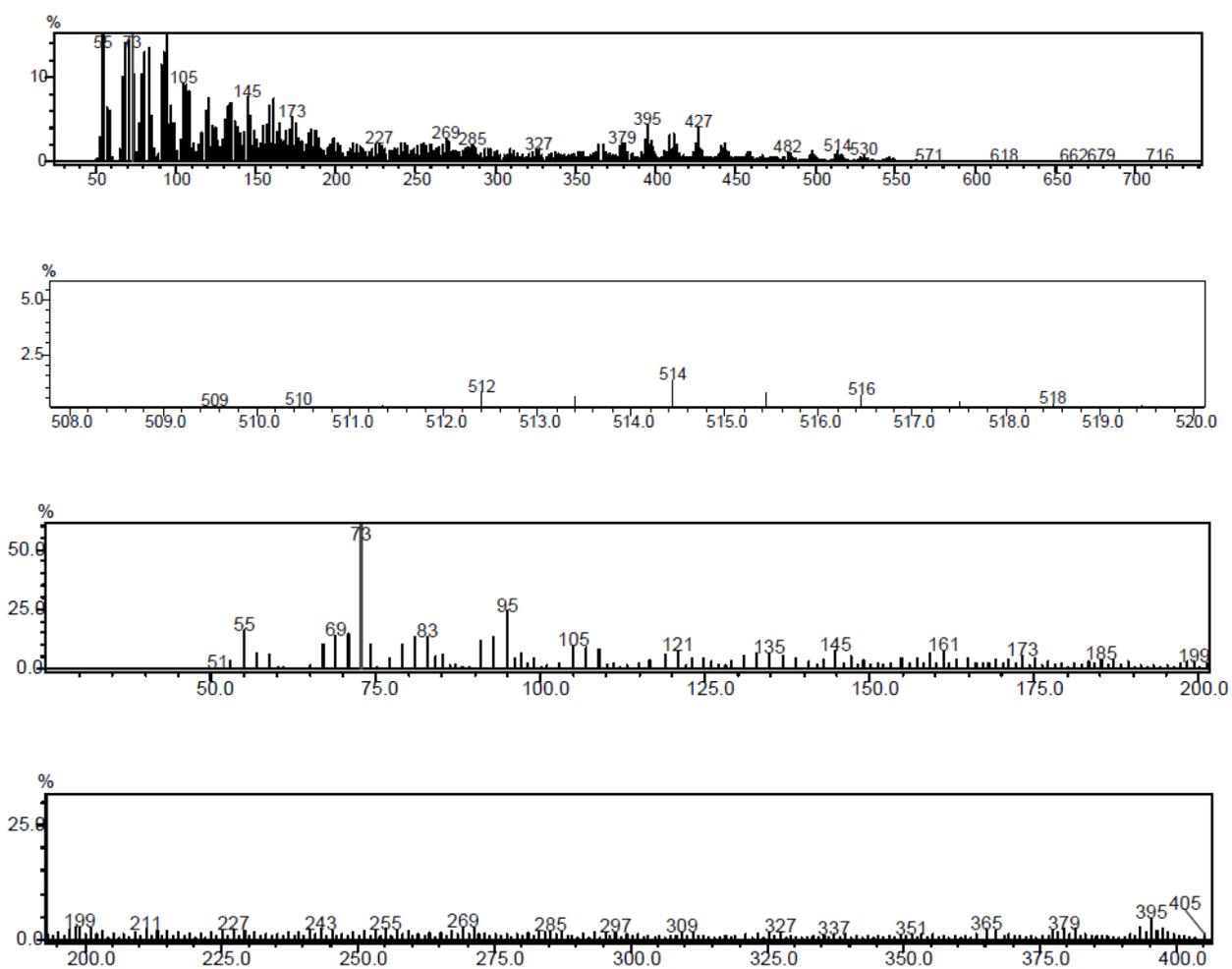
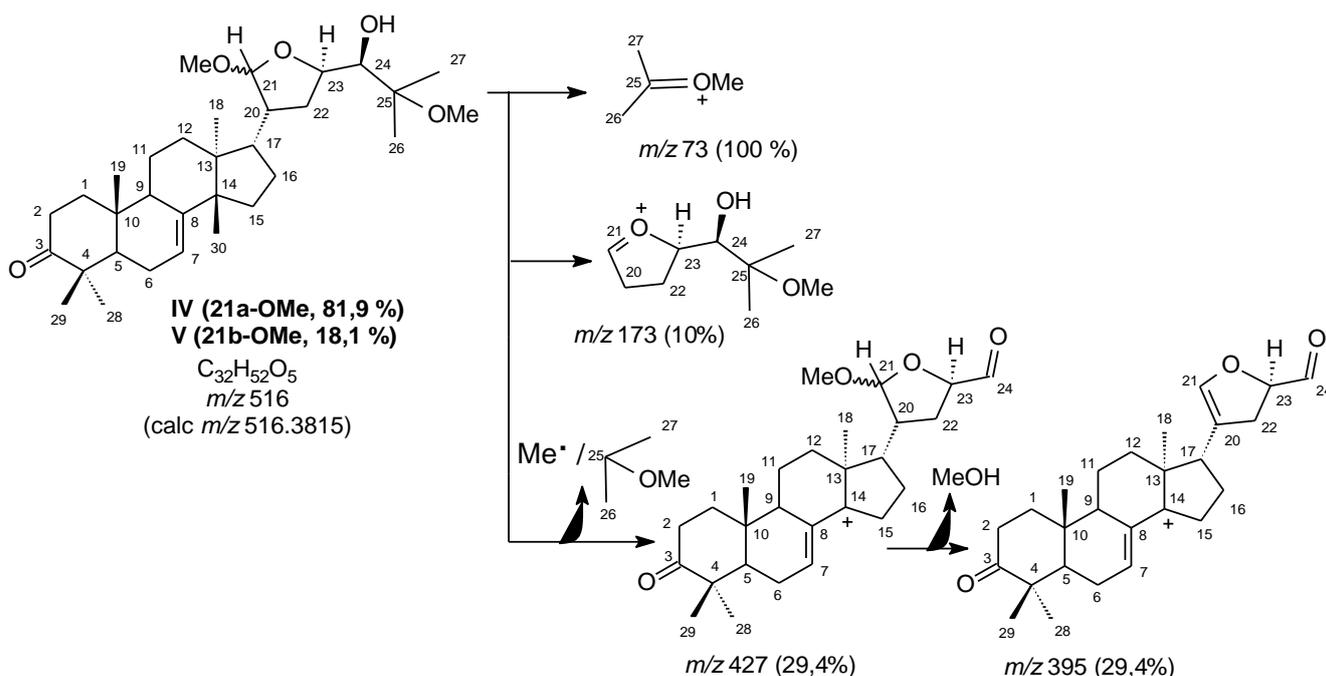


Figura 98: Espectro de Massas da mistura das substâncias IV e V.



Esquema 5: Proposta de fragmentação dos principais íons das substâncias **IV** e **V**.

O espectro de massas da mistura **IV** e **V** apresentou um fragmento em m/z 173 (**Esquema 5**), característico de fragmentação envolvendo a perda da cadeia lateral em triterpenos pentacíclicos que apresentam esqueleto do tipo tirucalanico (Budzikiewicz, 1964) confirmando ainda mais a presença deste tipo de esqueleto nas substâncias **IV** e **V**.

O espectro de RMN 1H (**Figuras 103**, p. 141, **Tabela 30**, p. 138) apresentou um simpleto largo em δ_H 5,32; correspondente a um hidrogênio olefínico. A presença deste hidrogênio olefínico pôde ser comprovada pela correlação $^1J_{HC}$ entre δ_H 5,32 (*sl*, H-7) e δ_C 118,1 (CH-7), apresentada no espectro de correlação heteronuclear HSQC (**Figura 109**, p. 147).

A presença de uma ligação dupla entre os átomos de carbono CH-7 e C-8 pôde ser observada no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 106**, p. 144, **Tabela 30**, p. 138), através dos deslocamentos químicos relativos aos carbonos em δ_C 118,1 (CH-7) e 145,1 (C-8), compatíveis com triterpenos tetracíclicos do tipo tirucalânico (Olea e Roque, 1990; Ahmad e Rahman, 1994).

A localização da ligação dupla nos átomos de carbono CH-7 e C-8 pôde ser confirmada através da correlação a longa distância, $^2J_{HC}$ e $^3J_{HC}$, entre o

átomo de carbono CH-7 em δ_C 118,1 com os dois átomos de hidrogênio 2H-6 em δ_H 2,08; e com o hidrogênio H-9 em δ_H 1,85, respectivamente.

O valor do deslocamento em δ_C 216,9 apresentado para o átomo de carbono C-3, confirma a presença de um grupo carbonila, de acordo com os dados da literatura (Hisham et al., 2001).

No espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 105, p. 143**) foi observada à presença de quatro sinais metínicos (CH) em δ_C 108,7 (CH-21) e 74,8 (CH-23), assim como em δ_C 104,8 (CH-21) e 77,8 (CH-23); ambos referentes às ligações C-O de um anel de cinco membros. Através da presença desses sinais foi possível confirmar a existência de uma mistura de epímeros. A composição da mistura foi determinada através da diferença entre os valores dos picos integrados do espectro de RMN ^1H (**Figura 102, p. 140**). Através da integração do sinal do hidrogênio H-21 para cada epímero, tornou-se possível determinar a percentagem de cada um dos constituintes da mistura, resultando em 81,9 % do protolimonóide *R* e 18,1 % do *S*.

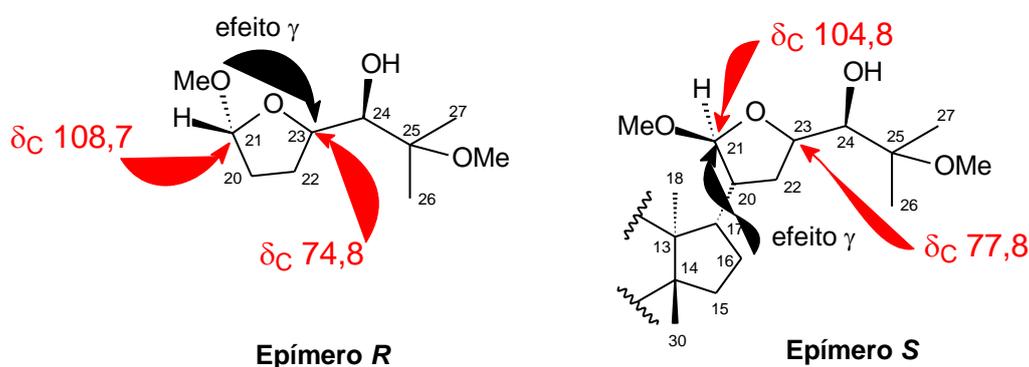


Figura 99: Representação do efeito γ -proteção presente na mistura dos epímeros IV e V.

É válido ressaltar a presença do efeito γ -proteção em ambos os epímeros. No epímero de estereoquímica *R*, este efeito se dá entre o grupo metoxila ligado ao átomo de carbono CH-21 em δ_C 108,7 com o átomo de carbono CH-23 em δ_C 74,8. Já no epímero de estereoquímica *S*, o efeito γ -proteção é estabelecido entre o átomo de carbono CH₂-16 em δ_C 27,4 e o átomo de carbono CH-21 em δ_C 104,8; representados na **Figura 99** acima.

O grupo metoxila, ligado ao átomo de carbono CH-21, pode ser confirmado pela correlação heteronuclear a longa distância, $^3J_{\text{HC}}$, do CH-21 em

δ_C 108,7 com os três átomos de hidrogênio do grupo metoxila MeO-21 em δ_H 3,36 (s), observada no espectro de correlação heteronuclear HMBC (**Tabela 30, p. 138; Figura 111, p. 149**).

No espectro de correlação heteronuclear a longa distância, HMBC, pôde-se comprovar a posição do grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono CH-24, através da correlação, $^2J_{HC}$, entre CH-24 em δ_C 76,2 com o hidrogênio da hidroxila OH-24 em δ_H 2,65 (*d*; $J= 6,3\text{Hz}$).

A presença de dois grupos metilas (CH₃-26 e CH₃-27) ligados ao átomo de carbono C-25 da cadeia lateral puderam ser comprovadas através da correlação heteronuclear do CH₃-26 em δ_C 21,5 com os três hidrogênios da metila 3H-26 em δ_H 1,28 (s) assim como do CH₃-27 em δ_C 20,1 com os três hidrogênios da metila 3H-27 em δ_H 1,16 (s), ambos observados no espectro de correlação heteronuclear HSQC (**Figura 110, p. 148**).

A localização destas metilas foi ainda corroborada pelas correlações heteronucleares a longa distância, $^3J_{HC}$, no mapa HMBC, através do sinal do CH₃-26 em δ_C 21,5 com 3H-27 em δ_H 1,16 e do CH₃-27 em δ_C 20,1 com 3H-26 em δ_H 1,28 (**Figura 111, p. 149**).

A localização do grupo metoxila ligado ao átomo de carbono C-25 pôde ser afirmado através da correlação heteronuclear a longa distância, $^3J_{HC}$, do C-25 em δ_C 77,3 com os três hidrogênios MeO-25 em δ_H 3,24 (s), no espectro correlação heteronuclear HMBC (**Figura 111, p. 149**).

As demais correlações a longa distância encontram-se descritas na **Tabela 30, p. 138**.

O espectro de correlação homonuclear $^1\text{H}-^1\text{H}$ -COSY (**Figura 112, p. 150**) também certifica a presença da mistura dos epímeros através dos acoplamentos do hidrogênio H-20 em δ_H 2,10 tanto com o H-21*R* em δ_H 4,80; quanto com o H-21*S* em δ_H 4,69. As demais correlações encontram-se sumarizados na **Tabela 30**.

No espectro de interação espacial homonuclear $^1\text{H}-^1\text{H}$ -NOESY (**Figura 114, p. 152**) foi possível observar a interação dos três átomos de hidrogênios do grupo metoxila (MeO-21) em δ_H 3,36 com o hidrogênio H-21 em δ_H 4,80 confirmando a estereoquímica do epímero *R* para o protolimonóide.

O conjunto dos dados obtidos em comparação com os dados da literatura (Azevedo, 2013; Hisham et al., 2001; Bravatti, et al., 2002), permitiu identificar a mistura dos epímeros do protolimonóide 21,25-dimetoximelianodiol.

A mistura das substâncias **IV** e **V**, após ter sido identificada como os epímeros do protolimonóide, foi submetida a uma reação de acetilação segundo os procedimentos descritos anteriormente no **item 4.2.7, p. 29** e novas análises espectrométricas de RMN uni e bidimensionais foram realizadas.

Essas análises nos permitiram comprovar a presença do grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono CH-24 através da correlação heteronuclear do carbono da metila (do grupo éster) em δ_C 21,1 com seus respectivos hidrogênios em δ_H 2,18, observada no espectro correlação heteronuclear HSQC (**Figura 127, p. 165**). A acetilação do grupo hidroxila também pode ser corroborada pela presença de um novo sinal em δ_C 170,8 referente ao carbono carbonílico da função éster, visualizado no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 120, p. 158**)

A análise por EM nos permitiu ainda a comprovação de que a reação de acetilação da mistura dos epímeros do protolimonóide 21,25-dimetoximelianodiol foi realizada com êxito. Nela, foi possível verificar o valor do pico do íon molecular em m/z 558 Daltons, justificando exatamente o incremento da massa do grupo éster (42 Daltons), comparado ao valor obtido desta análise realizada antes do processo de acetilação (m/z 516 Daltons).

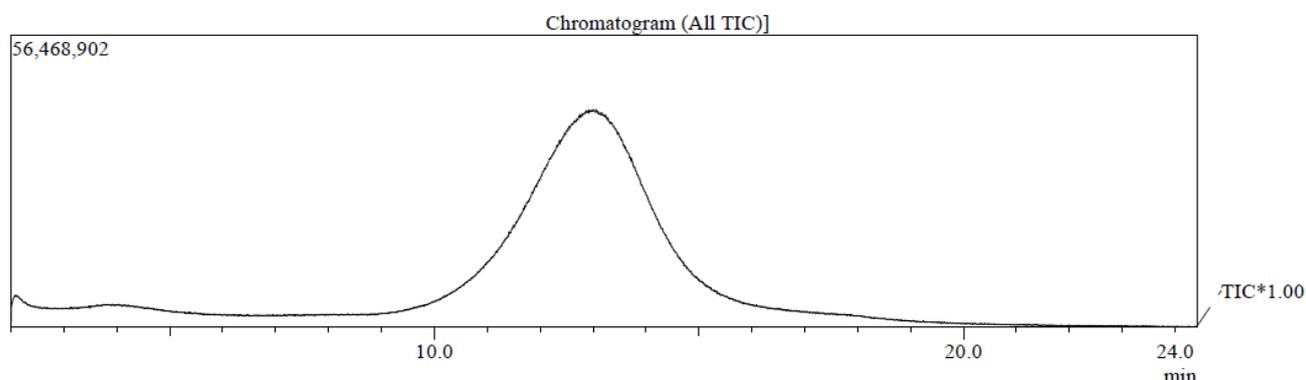


Figura 100: Inserção direta da mistura das substâncias **IV** e **V** acetilada (**IV-Ac** e **V-Ac**).

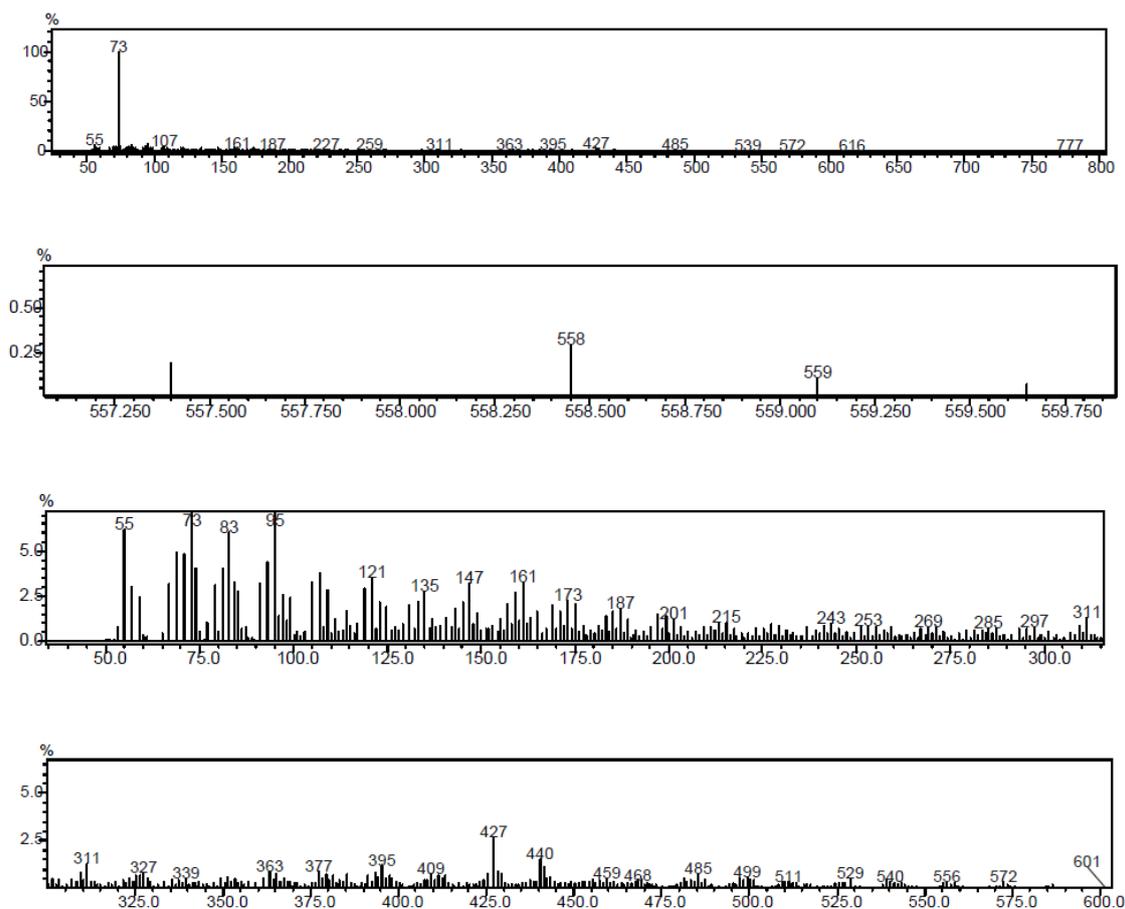
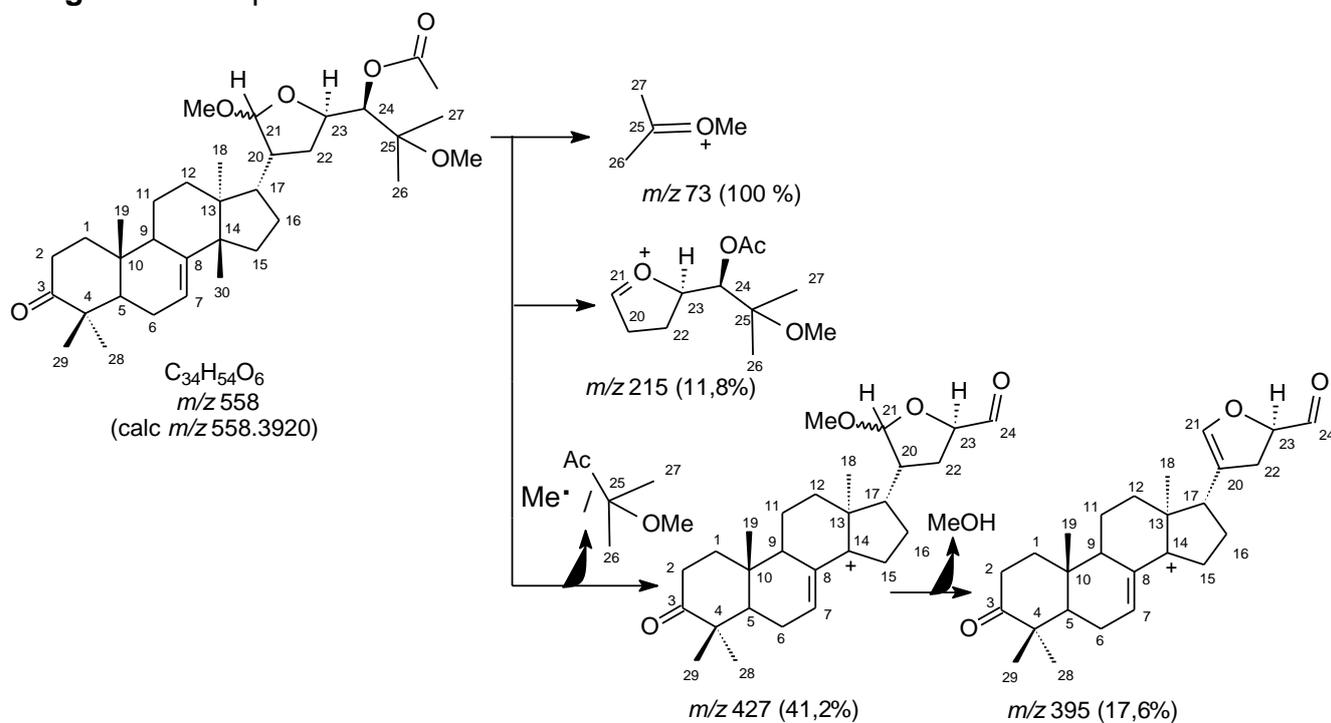


Figura 101: Espectro de Massas da mistura das substâncias IV-Ac e V-Ac.



Esquema 6: Proposta de fragmentação dos íons principais da mistura das substâncias IV-Ac e V-Ac.

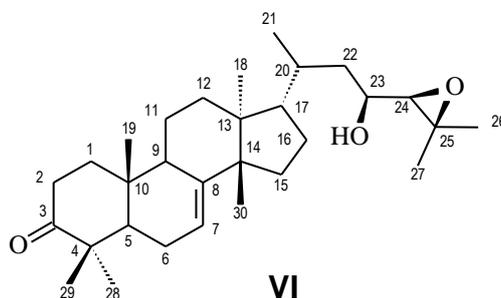
Tabela 30: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da mistura **IV** e **V** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para a mistura dos epímeros *R* e *S* do protolimonoide 21,25-dimetoximeliano diol (Hisham et al., 2001).

	IV		V		HMBC		Hisham et al., 2001	
	HSQC		HSQC					
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_{C}	δ_{H}
C								
3	216,9	-		-		-	216,9	-
4	47,9	-		-	3H-28; 3H-29	-	47,9	-
8	145,1	-		-	H-9	H-6; 3H-30	145,1	-
10	34,9	-	35,1	-	H-5; 3H-19	-	35,1	-
13	43,7	-		-	3H-18	3H-30	43,7	-
14	50,4	-		-	3H-30	3H-18	51,0	-
25	77,3	-		-	3H-26; 3H-27	MeO-25	73,1	-
CH								
5	52,4	1,80		-	-	3H-19; 3H-28; 3H-29	52,4	1,72
7	118,1	5,32 (sl)		-	H-6	H-9	113,1	5,32
9	49,2	1,85		-	-	H-5	48,3	2,32
17	48,0	2,35	46,4	2,00	-	-	50,4	1,79
20	48,3	2,10	45,0	2,05	-	-	47,9	2,20
21	108,7	4,80 (<i>d</i> ; 1,7)	104,8	4,69 (sl)	H-20	H-22a; MeO-21	107,8	4,89 (<i>d</i> ; 3,7)
23	74,8	4,18 (<i>dd</i> ; 17; 4,2)	77,8	4,46 (tl)	-	-	76,8	4,24 (<i>ddd</i>)
24	76,2	3,38 (<i>dd</i> ; 10,7; 6,3)	76,7	3,26 (tl; 7,5)	HO-24	-	75,4	3,24 (<i>d</i> ; 8,3)
CH₂								
1	38,5	2,01; 1,50			-	3H-19	38,5	1,99; 1,48
2	34,2	2,77 (<i>dt</i>); 2,27			-	-	34,9	2,75; 2,25
6	24,4	2,08			-	-	24,3	2,10 (<i>m</i>)
11	17,8	1,60			-	-	17,8	1,60 (<i>m</i>)
12	31,1	1,80; 1,60			-	3H-18	31,6	1,75; 1,50
15	33,9	1,55			-	3H-30	33,8	1,55; 1,50
16	27,4	1,90; 1,30			-	-	27,5	1,95; 1,30
22	36,1	2,00; 1,60			-	-	34,4	1,95; 1,75
CH₃								
18	22,4	0,86 (<i>s</i>)			-	-	22,3	
19	12,8	1,02 (<i>s</i>)			-	H-5	12,7	
26	21,5	1,28 (<i>s</i>)			-	3H-27	26,4	1,27 (<i>s</i>)
27	20,1	1,16 (<i>s</i>)			-	3H-26	26,5	1,25 (<i>s</i>)
28	24,5	1,06 (<i>s</i>)			-	H-5; 3H-29	24,5	1,05 (<i>s</i>)
29	21,6	1,13 (<i>s</i>)			-	H-5; 3H-28	21,6	1,12 (<i>s</i>)
30	27,2	1,02 (<i>s</i>)			-	-	37,3	1,02 (<i>s</i>)
MeO-21	55,5	3,36 (<i>s</i>)			-	-	-	
MeO-25	48,3	3,24 (<i>s</i>)			-	-	-	
HO-24	-	2,65 (<i>d</i> ; 6,3)			-	-	-	

Tabela 31: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da mistura **IV-Ac** e **V-Ac** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores da mistura dos epímeros *R* e *S* do protolimonóide 21,25-dimetoximelianodiol.

	IV-Ac e V-Ac				IV		V	
	HSQC		HMBC		HSQC		HSQC	
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
C								
3	216,9	-	-	-	216,9	-	-	-
4	47,1	-	3H-28; 3H-29	-	47,9	-	-	-
8	145,6	-		3H-30	145,1	-	-	-
10	35,1	-	3H-19	-	34,9	-	-	-
13	43,7	-	3H-18	3H-30	43,7	-	-	-
14	50,9	-	3H-30	3H-18	50,4	-	-	-
25	76,3/76,2	-	3H-26; 3H-27	MeO-25	77,3	-	-	-
Ac	170,8	-	-	-	-	-	-	-
CH								
5	52,4	1,80	-	3H-19; 3H-28; 3H-29	52,4	1,80	-	-
7	118,1	5,32 (<i>m</i>)	-	-	118,1	5,32 (<i>sl</i>)	-	-
9	48,3	2,35	-	3H-19	49,2	1,85	-	-
17	50,4	1,85	-	3H-18	48,3	2,35	46,4	-
20	48,0	2,15	-	-	48,0	2,10	45,0	2,05
21	107,9/107,7	4,79 (<i>d</i> ; 3,5)/ 4,78 (<i>d</i>)	-	MeO-21	108,7	4,80 (<i>d</i> ; 1,7)	104,8	4,69 (<i>sl</i>)
23	74,7/74,9	4,19 (<i>m</i>)	-	-	74,8	4,18 (<i>dd</i> ; 1,7; 4,2)	77,8	4,46 (<i>tl</i>)
24	75,4/75,5	5,05/5,04 (<i>d</i> ; 3,5)	-	-	76,2	3,38 (<i>dd</i> ; 10,7; 6,3)	76,7	3,26 (<i>tl</i> ; 7,5)
CH₂								
1	38,5	2,10; 1,50	-	3H-19	38,5	2,01; 1,50	-	-
2	33,9	2,80; 2,35	-	-	34,2	2,77 (<i>dt</i>); 2,27	-	-
6	24,4	2,18	-	-	24,4	2,08	-	-
11	17,8	1,54	-	-	17,8	1,60	-	-
12	31,4/31,9	1,80	-	3H-18	31,1	1,80; 1,60	-	-
15	34,9	2,30; 1,85	-	3H-30	33,9	1,55	-	-
16	27,3	1,95; 1,45	-	-	27,4	1,90; 1,30	-	-
22	35,7	2,05; 1,30	-	-	36,1	2,00; 1,60	-	-
CH₃								
18	22,6	0,87 (<i>s</i>)	-	-	22,4	0,86 (<i>s</i>)	-	-
19	12,8	1,03 (<i>s</i>)	-	-	12,8	1,02 (<i>s</i>)	-	-
26	21,5	1,25 (<i>s</i>)	-	3H-27	21,5	1,28 (<i>s</i>)	-	-
27	21,4	1,27 (<i>s</i>)	-	3H-26	20,1	1,16 (<i>s</i>)	-	-
28	24,5	1,07 (<i>s</i>)	-	3H-29	24,5	1,06 (<i>s</i>)	-	-
29	21,6	1,13 (<i>s</i>)	-	3H-28	21,6	1,13 (<i>s</i>)	-	-
30	27,3	1,02 (<i>s</i>)	-	-	27,2	1,02 (<i>s</i>)	-	-
MeO-21	55,4/54,0	3,37 (<i>s</i>)/3,36 (<i>s</i>)	-	-	55,5	3,36 (<i>s</i>)	-	-
MeO-25	49,5	3,35 (<i>s</i>)	-	-	48,3	3,24 (<i>s</i>)	-	-
Ac	21,1	2,18 (<i>s</i>)	-	-	-	-	-	-
HO-24	-	-	-	-	-	2,65 (<i>d</i> ; 6,3)	-	2,91 (<i>d</i> ; 5,6)

5.2.2.2 Determinação Estrutural da Substância VI



A substância **VI**, obtida do extrato metanólico dos frutos de *T. hirta*, apresentou-se como um óleo de cor amarela.

O espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 140, p. 180**) apresentou sinais para 30 átomos de carbono, sendo oito sinais para grupos metílicos (CH_3), oito sinais para grupos metilênicos (CH_2), sete sinais para grupos metínicos (CH) sendo um característico de ligação dupla em δ_{C} 118,0 (CH -7) e dois ligados a átomo de oxigênio em δ_{C} 69,2 (CH -23) e 68,5 (CH -24), e sete sinais para átomos de carbono não ligados a átomo de hidrogênio, sendo um em δ_{C} 217,0 (característico de grupo carbonila, $\text{O}=\text{C}$ -3), um ligado a átomo de oxigênio em δ_{C} 60,3 (C-25) e outro em δ_{C} 145,7 (C-8) característico carbono quaternário de ligação dupla.

Os sinais no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figuras 141 e 143, págs. 181 e 183**) em δ_{C} 118,0 (CH -7), 145,7 (C-8) e 19,9 (CH_3 -21), indicam que o triterpeno em questão trata-se de um triterpeno com esqueleto tirucalânico tetracíclico (Olea e Roque, 1990; Vieira, 1995)

O espectro de massas (**Figura 134, p. 172**), apresentou o pico do íon molecular $m/z = 456$ Daltons. Diante disto, a fórmula molecular expandida foi proposta baseada, principalmente, nos dados de RMN ^{13}C e de massas, e nos remetendo a $(\text{C})_6(\text{C}=\text{O})(\text{CH}-\text{OH})(\text{CH})_4(\text{CH}-\text{O}-\text{CH})(\text{CH}_2)_8(\text{CH}_3)_8 = \text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}_3$.

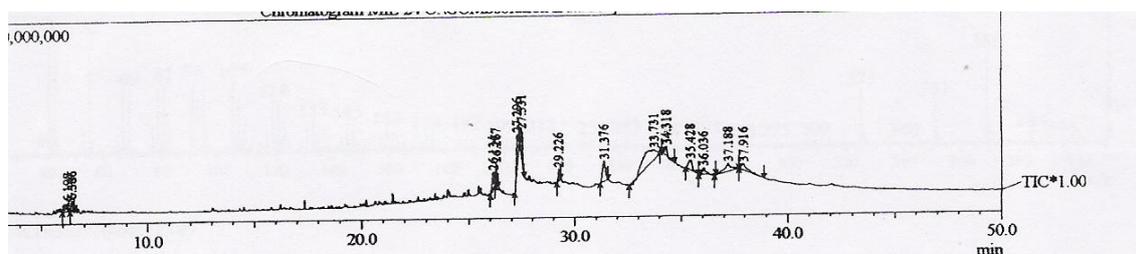


Figura 133: Cromatograma gasoso da substância VI.

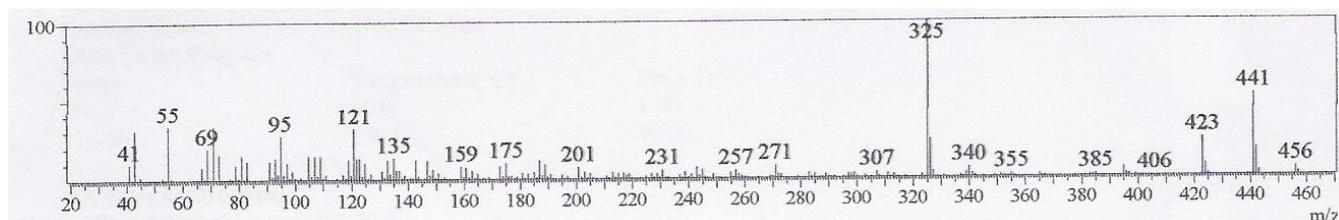
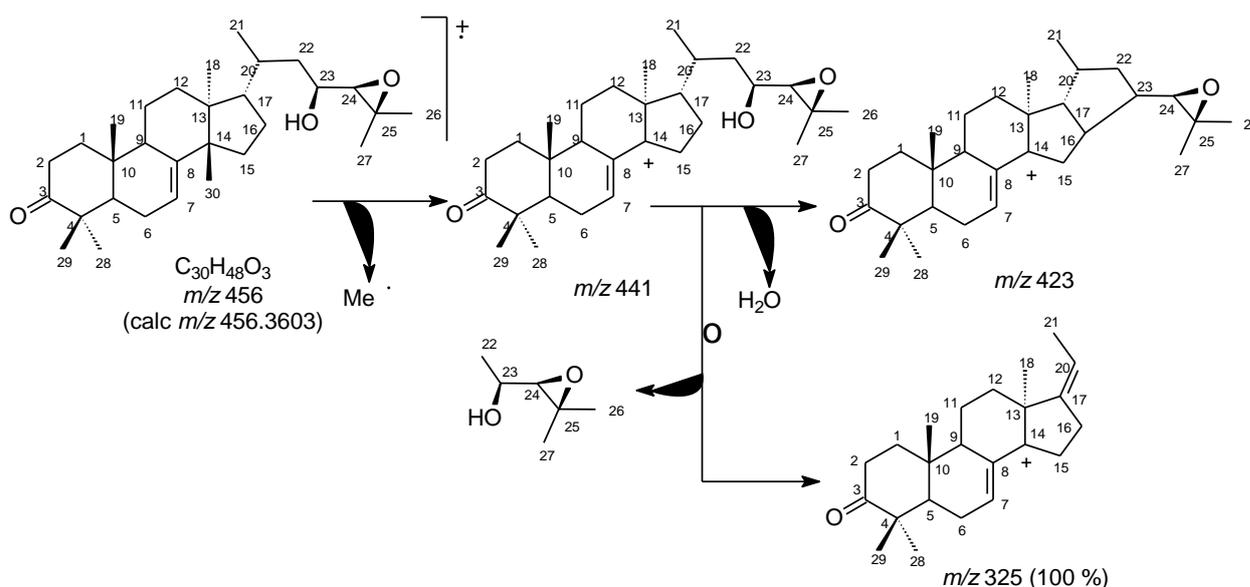


Figura 134: Espectro de Massas da substância VI.



Esquema 7: Proposta de fragmentação dos principais íons da substância VI.

A análise dos espectros de RMN 1H (Figura 137, p. 177 e Figura 138, p. 178) para o triterpeno VI revela a presença do grupo cetona no átomo de carbono C-3 no anel A, através do deslocamento químico e da multiplicidade dos hidrogênios 2H-2 em δ_H 2,78 (*dt*, $J = 5,4$ e $14,5$ Hz) e 2,26 (*dt*, $J = 3,3$ e $14,5$ Hz).

A ligação dupla na posição CH-7/C-8 pode ser observada através dos sinais em δ_C 118,0 (CH-7), 145,7 (C-8) presentes no espectro de RMN ^{13}C (Figura 140, p. 180), e confirmada pela correlação à longa distância $^3J_{HC}$ entre

o átomo de carbono C-8 (δ_C 145,7) com os hidrogênios do grupo metila (CH₃-30) em δ_H 1,02, apresentada no espectro de correlação heteronuclear HMBC (**Figura 147, p. 187**).

O espectro de RMN ¹H (**Figura 139, p. 179**) do triterpeno **VI** apresentou, ainda, na região de absorção de hidrogênios metilênicos e metílicos, um duplete em δ_H 0,98 ($J= 6,0$ Hz), referente ao grupo metila Me-21 o qual, juntamente com os outros sete sinais simples, completou os oito grupos metílicos do esqueleto tirucalânico, comprovando assim a não oxidação de nenhum destes grupos.

A análise do espectro de RMN ¹³C (**Figura 141, p. 181**) do triterpeno **VI** apresentou três sinais na região de absorção de carbonos carbinólicos em δ_C 69,2, 68,5 e 60,3, relativos aos carbonos CH-23, CH-24 e C-25, reforçando a proposta de oxidação da cadeia lateral do triterpeno.

A presença de um duplete em δ_H 2,68 (CH-24; $J= 8,3$ Hz) no espectro RMN ¹H (**Figura 137, p. 177**) é típico de um hidrogênio oximetínico de uma função epóxido (Vieira, 1995).

A presença da função epóxido na cadeia lateral foi confirmada pelas correlações a longa distância, ²J_{HC}, entre o átomo de carbono C-25 (δ_C 60,3) com os hidrogênios dos grupos metila (CH₃-26 e CH₃-27) em δ_H 1,35 e 1,34, como também com o hidrogênio H-24 em δ_H 2,68 ($d, J= 8,3$ Hz) apresentadas no espectro heteronuclear HMBC (**Figura 149, p. 189**).

A posição (CH-24 e C-25) e presença da função epóxido também pôde ser corroborada através do acoplamento do hidrogênio H-23 em δ_H 3,61 com o hidrogênio H-24 em δ_H 2,68, observado no espectro de correlação homonuclear ¹H-¹H-COSY (**Figura 152, p. 192**). As demais correlações e acoplamentos encontram-se sumarizados na **Tabela 32**.

A oxidação da cadeia lateral foi corroborada pelo espectro de massas da substância **VI**, com a perda da cadeia lateral contendo o grupo epóxido, juntamente com um grupo hidroxila, gerando o pico principal em $m/z= 325$ (100%) Daltons (**Esquema 7, p. 172**).

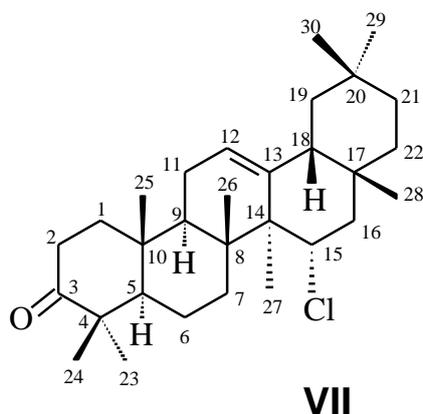
Os dados espectrais da substância **VI** estão de acordo com os dados descritos em literatura para o triterpeno nilocitina (Azevedo, 2013) (**Tabela 32**), confirmando assim a proposta estrutural para o triterpeno **VI**.

Tabela 32: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) do triterpeno **VI** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para o triterpeno nilocitina (Azevedo, 2013).

	VI				[Azevedo, 2013]	
	HSQC		HMBC		δ_c	δ_H
	δ_c	δ_H	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$		
C						
3	217,0	-	-	-	216,8	-
4	47,9	-	3H-28; 3H-29	-	47,8	-
8	145,7	-	H-9	3H-30	145,6	-
10	35,0	-	3H-19	-	34,9	-
13	43,5	-	3H-18	3H-30	43,5	-
14	51,2	-	3H-30	3H-18	51,2	-
25	60,3	-	H-24; 3H-26; 3H-27	-	60,2	-
CH						
5	52,3	1,70	-	3H-19; 3H-28; 3H-29	52,3	1,70
7	118,0	5,33 (m)	-	H-9	117,9	5,29
9	48,5	2,28	-	3H-19	48,4	2,25
17	53,3	1,60	-	3H-18; 3H-21	53,2	1,54
20	33,6	1,40	H-17; 3H-21	-	33,5	1,36
23	69,2	3,61 (m)	H-24	-	69,2	3,55
24	68,5	2,68 (d, 8,3)	H-23	3H-26; 3H-27	68,4	2,64
CH ₂						
1	38,6	2,10; 1,45;	H-2a	3H-19	38,5	1,26; 1,44
2	34,9	2,78 (dt, 14,5; 5,4) 2,26 (dt, 14,5; 3,3)	-	-	34,9	2,74; 2,22
6	24,4	2,10	-	-	24,3	2,08
11	18,1	1,55	-	-	18,2	1,54
12	33,6	1,80; 1,60	-	3H-18	33,5	1,80; 1,61
15	34,0	1,50	-	3H-30	33,9	1,49; 1,47
16	28,7	2,05; 1,22	-	-	28,7	2,03; 1,19
22	40,6	1,65; 1,42	H-23	H-24; 3H-21	40,6	1,63; 1,39
CH ₃						
18	21,8	0,83 (s)	-	-	21,7	0,79 (s)
19	12,8	1,02 (s)	-	-	12,7	0,98
21	19,9	0,98 (d, 6,0)	-	-	19,8	0,95
26	24,9	1,35 (s)	-	3H-27	24,8	1,31
27	19,8	1,34 (s)	-	3H-26	19,8	1,30
28	24,5	1,04 (s)	-	3H-29	24,47	1,03
29	21,5	1,13 (s)	-	3H-28	21,53	1,09
30	27,4	1,02 (s)	-	-	27,33	1,00

5.2.3 Triterpenos

5.2.3.1 Determinação Estrutural da Substância VII



A substância **VII** foi isolada do extrato hexânico das cascas da madeira de *T. hirta*, como um sólido amorfo de coloração branca.

O espectro de RMN ^{13}C DEPTQ (**Figura 158, p. 201**) apresentou sinais correspondentes a 30 átomos de carbonos que, juntamente com as correlações fornecidas pela análise bidimensional no espectro de HSQC, pôde-se atribuir a oito sinais para carbonos não hidrogenados (C) [seis sp^3 e dois sp^2 correspondentes a um grupo carbonila em δ_{C} 182,7 e um olefínico em δ_{C} 145,0], cinco metínicos (CH) [quatro sp^3 (incluindo um átomo de cloro ligado ao carbono em δ_{C} 62,6) e um sp^2 olefínico em δ_{C} 142,2], nove metilênicos (CH_2) [todos sp^3] e oito metílicos (CH_3) [todos ligados a átomos de carbonos quaternários], remetendo-se a fórmula molecular expandida $(\text{C})_7(\text{C}=\text{O})(\text{CH})_3(\text{CH}=\text{C})(\text{CHCl})(\text{CH}_2)_9(\text{CH}_3)_8$.

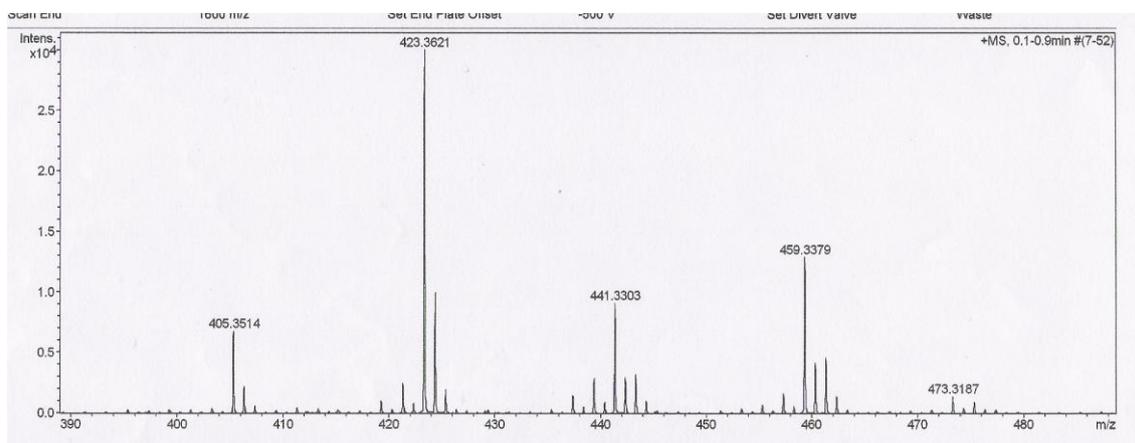
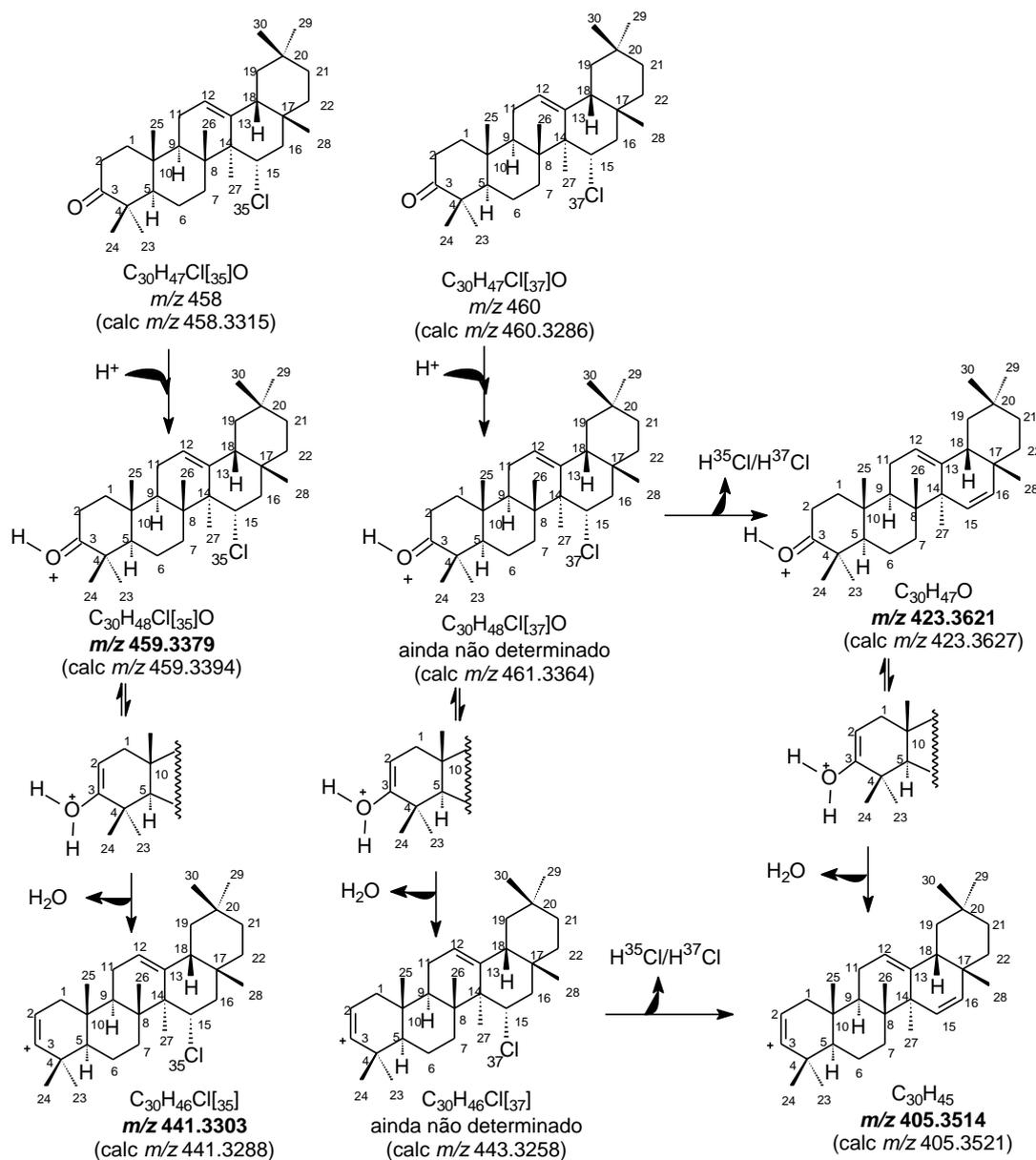


Figura 153: Espectro de Massas de Alta Resolução da substância **VII**.



Esquema 8: Proposta de fragmentação dos principais íons da substância VII.

O espectro de massas de alta resolução (EMAR) confirmou a presença do átomo de cloro através dos picos correspondentes a íon molecular protonado $[M+H]^+$ em m/z 459,3379 ($C_{30}H_{48}Cl[35]O = m/z$ 459.3394, $\Delta_{m/z}$ 0.0015) e m/z 461.3368 ($C_{30}H_{48}Cl[37]O = 461.3364$, $\Delta_{m/z}$ 0.0004), revelando uma abundância relativa cerca de 3:1 Daltons, como previsto pela abundância natural (**Esquema 8**). Esses dados, em conjunto com os espectros de RMN 1H e ^{13}C -DEPTQ, contribuíram para propor a fórmula molecular $C_{30}H_{47}Cl[35]O/C_{30}H_{47}Cl[37]O$ para a substância VII, apresentando Índice de Deficiência de Hidrogênio (IDH) = 7 e consistente com a estrutura do

triterpenóide, sustentando a presença de um átomo de cloro no carbono CH-15 para estrutura básica de um esqueleto oleanano.

A presença da ligação dupla foi inferida pelos sinais do átomo de carbono metínico em δ_C 124,2 e do átomo de carbono quaternário em δ_C 145,0; presentes no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 158, p.201**).

No espectro de correlação heteronuclear HSQC foi possível notar a correlação $^1J_{HC}$, entre o átomo de carbono CH-12 em δ_C 124,2 com um tripleto largo em δ_H 5,38; correspondente ao hidrogênio H-12 (**Figura 162, p. 205**). A presença da ligação dupla em C-13/CH-12 ainda foi corroborada pela correlação $^3J_{HC}$ observada entre o átomo de carbono quaternário (C-13) em δ_C 145,0 com um singlete em δ_H 1,33; correspondente aos hidrogênios do grupo metil CH₃-27 (**Figura 165, p. 208**).

A presença do átomo de cloro ligado ao átomo de carbono CH-15 foi revelada pelo espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ através do sinal em δ_C 62,2 correlacionado ao espectro de correlação heteronuclear HSQC, com um sinal duplo duplete para hidrogênio em δ_H 4,63 ($^1J_{HC}$) (**Figura 162, p. 205**) corroborada pelo espectro de correlação heteronuclear HMBC, com 3H-27 ($^3J_{HC}$) consistente com a presença do átomo de cloro (**Figura 167, p. 210**).

As demais correlações a longa distancia estão sumarizadas na **Tabela 33, p. 196**.

A estereoquímica equatorial para o átomo de cloro foi definida pelos valores correspondentes a interação *vicinal* ($^3J_{H,H}$) entre os hidrogênios H-15 e H-16ax ($J=12,4$ Hz, interação axial-axial com H-15ax e cloro equatorial) observada no duplo duplete para hidrogênio H-15 em δ_H 4,63 ($J=12,4$ e 4,7 Hz) como consequência da interação com 2H-16 (Olea e Roque, 1990), que foram confirmados pela interação homonuclear spin-spin no espectro de 1H - 1H -COSY (**Figuras 168, 169 e 170, págs. 211, 212 e 213**).

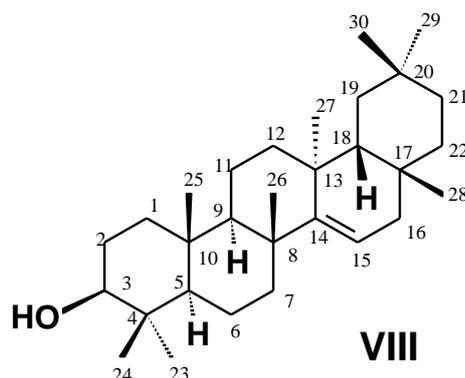
A localização do átomo de cloro ligado ao átomo de carbono CH-15 também pode ser confirmada pelo efeito β -desproteção no átomo de carbono CH₂-16 em δ_C 40,5 (Pretsch et al., 2000).

Este triterpeno, aqui descrito de *T. hirta*, está sendo pela primeira vez relatado na literatura. A ele foi dado o nome de 15 α -cloro- β -amirona.

Tabela 33: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da substância **VII** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência da substância **IX** (Ahmad e Rahman, 1994).

	VII				IX	
	HSQC		HMBC		δ_{C}	δ_{H}
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$		
C						
3	217,6	-	-	-	212,4	-
4	47,3	-	3H-23; 3H-24	-	47,6	-
8	38,4	-	-	-	36,7	-
10	36,9	-	3H-25	-	37,7	-
13	145,0	-	-	3H-27	38,4	-
14	41,9	-	H-15; 3H-27	3H-26	157,6	-
17	31,9	-	3H-28	-	36,7	-
20	31,0	-	3H-29; 3H-30	-	28,8	-
CH						
5	54,6	1.35	-	3H-23; 3H-24; 3H-25	55,8	1.32
9	46,2	1.62	-	3H-25; 3H-26	48,8	0.98
12	124,2	5.38 (<i>tt</i>)	-	-	-	-
15	62,6	4.63 (<i>dd</i> , 12.4, 4.7)	-	3H-27	117,2	5.58 (<i>dd</i> , 8.1)
18	48,1	2.01	-	H-12; 3H-28	48,7	1.52
CH₂						
1	39,4	1.92, 1.45	-	3H-25	38,4	1.90; 1.50
2	34,2	2.60, 2.40	-	-	34,2	2.60 (<i>m</i>); 2.35 (<i>m</i>)
6	19,8	1.65-1.60	-	-	20,0	1.65; 0.86
7	35,7	1.95, 1.80	-	3H-26	35,1	1.50; 1.10
11	23,6	2.00-1.90	-	-	17,5	1.75; 1.60
12	-	-	-	-	36,7	
15	-	-	-	-	26,2	
16	40,5	2.50, 1.50	-	3H-28	37,7	2.05; 1.75
19	45,9	1.72, 1.10	-	3H-29; 3H-30	40,7	2.10; 1.50
21	34,4	1.35, 1.15	-	3H-29; 3H-30	33,6	1.80; 1.60
22	36,3	1.45, 1.30	-	3H-228	33,1	1.50; 1.20
CH₃						
23	26,5	1.10 (<i>s</i>)	-	3H-24	26,1	1.05 (<i>s</i>)
24	21,5	1.08 (<i>s</i>)	-	3H-23	21,5	1.04 (<i>s</i>)
25	15,3	1.09 (<i>s</i>)	-	-	14,8	1.07 (<i>s</i>)
26	17,3	1.11 (<i>s</i>)	-	-	29,9	0.85 (<i>s</i>)
27	22,7	1.33 (<i>s</i>)	-	-	25,6	1.16 (<i>s</i>)
28	28,3	0.92 (<i>s</i>)	-	-	29,9	0.91 (<i>s</i>)
29	33,2	0.92 (<i>s</i>)	-	3H-30	33,4	0.96 (<i>s</i>)
30	23,6	0.89 (<i>s</i>)	-	3H-29	21,4	0.93 (<i>s</i>)

5.2.3.2. Determinação Estrutural da Substância VIII



A substância **VIII** foi isolada do extrato hexânico da casca da madeira de *Trichilia hirta* como um sólido de cor branca, apresentando ponto de fusão 284-286 °C.

A análise do espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 178, p. 224, Tabela 34, p. 218**) da substância **VIII** permitiu reconhecer a presença de trinta (30) átomos de carbono, dos quais, observou-se oito átomos de carbono metílicos (CH_3), dez átomos de carbono metilênicos (CH_2), cinco átomos de carbono metínicos (CH) [sendo um sp^2 correspondente a uma ligação dupla em δ_{C} 116,9 (CH -15); quatro sp^3 e um carbinólico em δ_{C} 79,1 (HO -C-3)], e sete átomos de carbono não hidrogenados [seis sp^3 e um sp^2 característico de ligação dupla em δ_{C} 158,1 (C-14)] (Silverstein et al., 2007; Breitmaier e Voelter, 1987).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Figura 172, p. 215**), o qual apresentou o pico do íon molecular em m/z 426 Daltons (**Esquema 9, p. 215**), permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ para a substância **VIII**, sugerindo a presença de um triterpeno pentacíclico (Ahmad e Rahman, 1994).

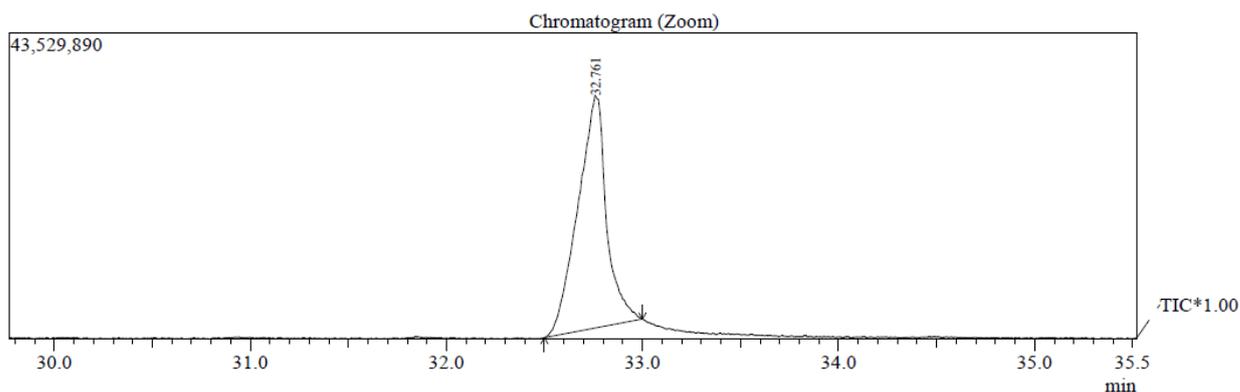


Figura 171: Inserção direta da substância VIII.

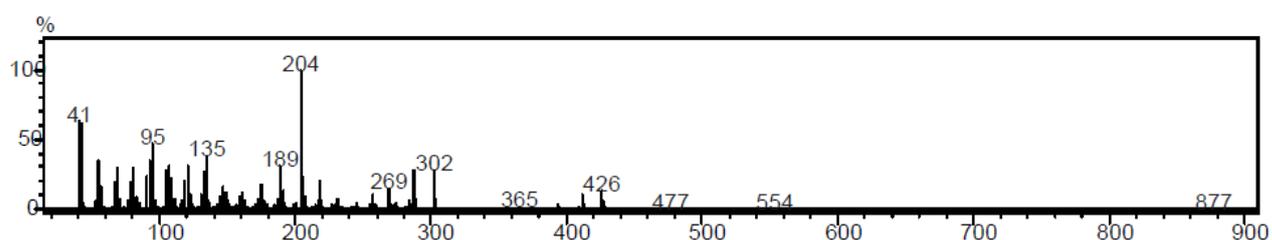
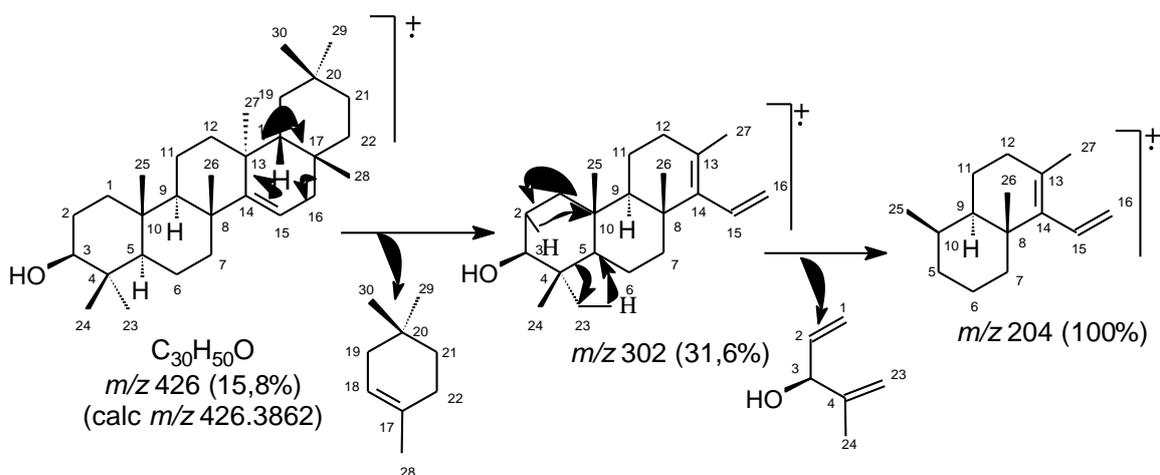


Figura 172: Espectro de Massas da substância VIII.



Esquema 9: Proposta de fragmentação contendo os íons principais da substância VIII.

O espectro de RMN ^1H da substância VIII (Figura 173, p. 219, Tabela 34, p. 218) apresentou sinais de deslocamentos químicos (δ_{H}) característicos de vários grupos metilas e metilênicos, além da presença de um hidrogênio referente à uma ligação dupla, e um hidrogênio ligado a um átomo de carbono carbinólico (Silverstein et al., 2007; Breitmaier e Voelter, 1987; Ahmad e Rahman, 1994).

O espectro de RMN ^1H (**Figura 175, p. 221**) apresentou um sinal múltiplo em δ_{H} 5,52 correspondentes a um hidrogênio olefínico. A presença deste hidrogênio olefínico pôde ser comprovada pela correlação heteronuclear $^1J_{\text{HC}}$ entre δ_{H} 5,52 (*m*, H-15) e o átomo de carbono em δ_{C} 116,9 (CH-15), apresentada no espectro de correlação HSQC (**Figura 181, p. 227**).

A presença de uma ligação dupla entre os átomos de carbono CH-14 e C-15 pôde ser observada no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 178, p. 224**) através dos deslocamentos químicos relativos aos átomos de carbono em δ_{C} 158,1 (CH-14) e 116,9 (C-15), compatíveis com triterpenos pentacíclicos da série friedoolean-14-eno (Olea e Roque, 1990).

A localização da ligação dupla nos átomos de carbono CH-14 e C-15 pode ser confirmada através das correlações heteronucleares a longa distância $^2J_{\text{HC}}$ apresentadas no espectro de correlação HMBC entre o átomo de carbono CH-15 em δ_{C} 116,9 com os dois átomos de hidrogênio 2H-16 em δ_{H} 1,94 e 1,70. A posição dessa insaturação foi corroborada pelo acoplamento homonuclear entre os átomos de hidrogênios H-15 em δ_{H} 5,52 e o H-16a em δ_{H} 1,94, visualizado no espectro de correlação homonuclear ^1H - ^1H -COSY (**Figura 186, p. 232**).

O espectro de massas da substância **VIII** (**Figura 172, p. 215**) apresentou um fragmento em m/z 302 (**Esquema 9, p. 215**), característico de fragmentação envolvendo uma reação do tipo retro-Diels-Alder em triterpenos pentacíclicos que apresentam esqueleto da série friedoolean-14-eno (Budzikiewicz et al., 1964), confirmando ainda mais a presença deste tipo de esqueleto, e a posição da ligação dupla na substância **VIII**.

A presença de um grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono CH-3, pôde ser observada no espectro de RMN ^1H (**Figura 175, p. 221**), através de um sinal duploduplete em δ_{H} 3,25 ($J= 11,1$ e $4,4$ Hz), característico de hidrogênio ligado a carbono carbinólico (Silverstein et al., 2007; Breitmaier e Voelter, 1987; Ahmad e Rahman, 1994). A localização do grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono CH-3 foi confirmada pela correlação $^1J_{\text{HC}}$ entre δ_{H} 3,25 (dd, $J= 11,1$ e $4,4$ Hz; H-3) com δ_{C} 79,1 (CH-3), apresentada no espectro de correlação heteronuclear HSQC (**Figura 181, p. 227**).

A localização do grupo hidroxila no átomo de carbono CH-3 em δ_C 79,1 foi corroborada através das correlações a longa distância $^3J_{HC}$ entre o átomo de carbono CH-3 com respectivos hidrogênios em δ_H 0,99 e 0,82, relativos aos hidrogênios dos grupos metila Me-23 e Me-24, apresentadas no espectro de correlação heteronuclear HMBC (**Tabela 34, p. 218**).

O valor de δ_C 79,1 apresentado para o átomo de carbono CH-3, confirma a estereoquímica β -equatorial, pois, para valores de δ_C $76,1 \pm 0,5$, o grupo hidroxila encontra-se em conformação axial (Abreu, 2002).

As demais correlações a longa distância encontram-se sumarizadas na **Tabela 34, p. 218**.

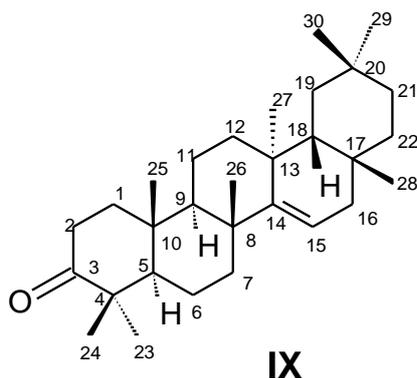
O conjunto destes dados permitiu definir um esqueleto oleanano, e propor a estrutura **VIII** para o triterpeno isolado. Prova final desta estrutura veio da comparação dos dados de RMN ^{13}C com dados da literatura (Ahmad e Rahman, 1994) para o triterpeno β -taraxerol (**VIII**).

A estereoquímica relativa dos átomos de carbono estereogênicos proposta para **VIII** foi feita com base em dados biogénéticos, visto que esqueletos de triterpenos do tipo oleanano apresentam as configurações dos carbonos estereogênicos como apresentadas em **VIII** (Olea e Roque, 1990; Dewick, 2001).

Tabela 34: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) do triterpeno **VIII** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para o triterpeno β -taraxerol (Ahmad e Rahman, 1994).

	VIII				[Ahmad e Rahman, 1994]
	HMQC		HMBC		
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	
C					
4	39,0	-	3H-23; 3H-24	-	39,1
8	38,0	-	H-7a; 3H-26	-	38,9
10	37,7	-	3H-25	-	37,9
13	37,7	-	3H-27	-	37,9
14	158,1	-	-	2H-16; 3H-26; 3H-27	158,1
17	37,6	-	3H-28	-	38,1
20	29,7	-	3H-29; 3H-30	-	29,0
CH					
3	79,1	3,25 (<i>dd</i> , 11,1; 4,4)	2H-2	3H-23; 3H-24	79,2
5	55,5	0,79	H-6a	2H-7; 3H-23; 3H-24; 3H-25	55,7
9	49,3	1,45	-	2H-7; 3H-25; 3H-26	48,9
15	116,9	5,52 (<i>m</i>)	2H-16	-	117,0
18	48,7	0,95	-	3H-27; 3H-28	49,4
CH₂					
1	38,8	1,35; 1,00	-	3H-25	38,1
2	27,1	1,60	-	-	27,3
6	18,8	1,63; 1,05	-	-	19,0
7	35,1	2,04 (<i>dd</i> , 12,7; 3,2); 1,35	-	3H-26	35,3
11	17,5	1,65; 1,48	-	-	17,7
12	35,8	1,40; 1,05	-	3H-27	35,9
16	36,7	1,94 (<i>dd</i> , 12,7; 2,9); 1,70	H-15	3H-28	36,9
19	41,3	1,35; 1,00	-	3H-29; 3H-30	41,4
21	33,7	1,37; 1,25	-	3H-29; 3H-30	33,9
22	33,1	1,63; 1,57	-	3H-28	33,2
CH₃					
23	28,0	1,25 (<i>s</i>)	-	H-3; 3H-24	28,1
24	15,4	0,80 (<i>s</i>)	-	H-3; 3H-23	15,6
25	15,5	0,95 (<i>s</i>)	-	-	15,6
26	29,9	0,91 (<i>s</i>)	-	-	30,1
27	25,9	1,09 (<i>s</i>)	-	-	26,0
28	29,8	0,82 (<i>s</i>)	-	2H-16	30,1
29	33,4	0,95 (<i>s</i>)	-	3H-30	33,5
30	21,3	0,91 (<i>s</i>)	-	3H-29	21,5

5.2.3.3 Determinação Estrutural da Substância IX



A substância **IX** foi isolada do extrato hexânico da casca da madeira de *Trichilia hirta* como um sólido de cor branca apresentando ponto de fusão 241-243 °C.

A análise do espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 194, p. 243, Tabela 35, p. 238**) da substância **IX** permitiu reconhecer a presença de trinta (30) átomos de carbono, dos quais oito átomos carbonos metílicos (CH_3), dez átomos de carbono metilênicos (CH_2), quatro átomos de carbono metínicos (CH) [sendo um sp^2 correspondente a uma ligação dupla em δ_{C} 117,2 (CH -15)] e oito átomos de carbono não hydrogenados [sendo seis sp^3 e dois sp^2 : dos quais um em δ_{C} 157,6 (C-14) característico de ligação dupla e outro em δ_{C} 212,4 (C-3) característico de átomo de carbono carbonílico] (Silverstein et al., 2007; Breitmaier e Voelter, 1987).

Esses dados, em conjunto com os dados do espectro de massas (**Figura 189, p. 235**), o qual apresentou o pico do íon molecular em m/z 424 Daltons (**Esquema 10, p. 235**) permitiram propor a fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{48}\text{O}$ para a substância **IX**, sugerindo a presença de um triterpeno pentacíclico.

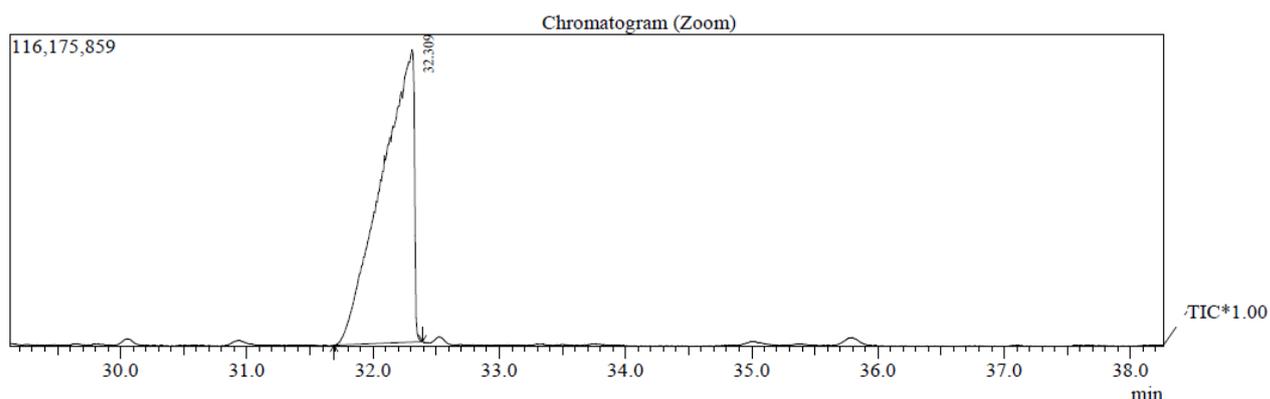


Figura 188: Inserção direta da substância IX.

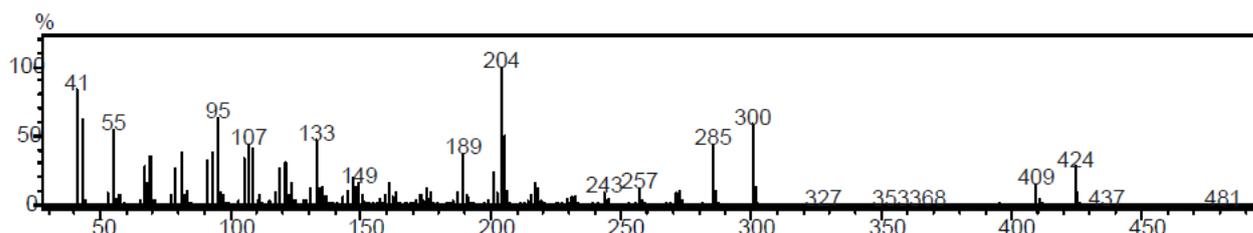
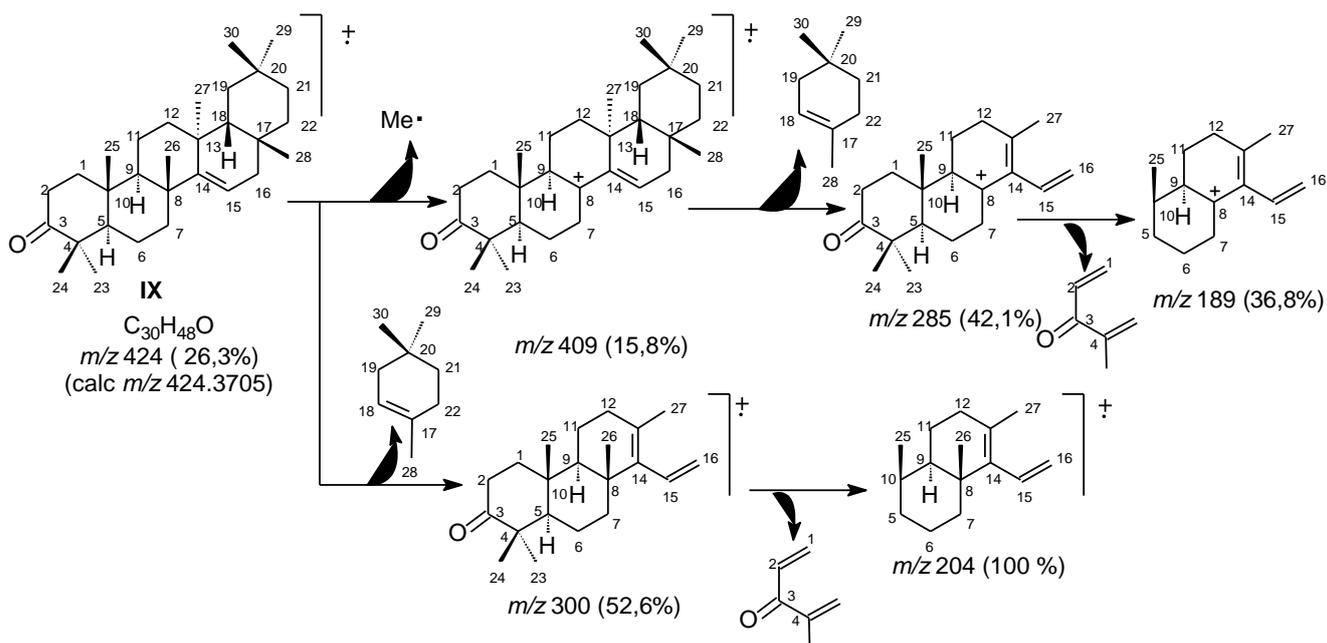


Figura 189: Espectro de Massas da substância IX.



Esquema 10: Proposta de fragmentação dos íons principais da substância IX.

O espectro de RMN ^1H da substância IX (Figura 190, p. 239, Tabela 35, p. 238) apresentou sinais de deslocamentos químicos (δ_{H}) característicos de vários grupos metilas e metilênicos, além da presença de um hidrogênio referente à uma ligação dupla e um hidrogênio ligado a um átomo de carbono carbonílico (Silverstein et al., 2007; Breitmaier e Voelter, 1987).

O espectro de RMN ^1H (**Figura 193, p. 242**) apresentou um sinal duploduplete em δ_{H} 5,58 correspondente a um hidrogênio olefínico. A presença deste hidrogênio olefínico pôde ser comprovada pela correlação $^1J_{\text{HC}}$ entre δ_{H} 5,58 (*dd*, H-15) e δ_{C} 117,2 (CH-15), apresentada no espectro de correlação heteronuclear HSQC (**Figura 197, p. 246**).

A presença de uma ligação dupla entre os átomos de carbono C-14/CH-15 pôde ser observada no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 194, p. 243**), através dos deslocamentos químicos relativos aos carbonos em δ_{C} 157,6 (C-14) e 117,2 (CH-15), compatíveis com triterpenos pentacíclicos da série friedoolean-14-eno (Ahmad e Rahman, 1994; Olea e Roque, 1990).

A localização da ligação dupla nos átomos de carbono C-14/CH-15 pôde ser confirmada através das correlações a longa distância $^2J_{\text{HC}}$ apresentadas no espectro de correlação heteronuclear HMBC entre o átomo de carbono CH-15 em δ_{C} 117,2 com o átomo de hidrogênio H-16a em δ_{H} 2,05.

O espectro de massas da substância **IX** (**Figura 189, p. 235**) apresentou um fragmento em m/z 285 (**Esquema 10, p. 235**), característico de fragmentação envolvendo uma reação do tipo retro-Diels-Alder em triterpenos pentacíclicos que apresentam esqueleto da série friedoolean-14-eno (Budzikiewicz et al., 1964), confirmando ainda mais a presença deste tipo de esqueleto, e a posição da ligação dupla na substância **IX**.

A presença de um grupo carbonila ligado ao átomo de carbono C-3, pôde ser observada no espectro de RMN ^{13}C (**Figura 194, p. 243**), através do valor de deslocamento em δ_{C} 212,4; característico de carbono do grupo cetona (Silverstein et al., 2007; Breitmaier e Voelter, 1987).

As demais correlações a longa distância encontram-se descritas na **Tabela 35, p. 238**.

O espectro de ^1H - ^1H -COSY (**Figura 204, p. 253**) em conjunto com o espectro de RMN ^1H (**Figura 190, p. 239, Tabela 35, p. 238**) permitiu confirmar os acoplamentos dos demais átomos de hidrogênio da substância **IX**.

O conjunto destes dados permitiu definir um esqueleto oleanano, e propor a estrutura **IX** para o triterpeno isolado. Prova final desta estrutura veio da comparação dos dados de RMN ^{13}C com dados da literatura (Ahmad e Rahman, 1994) para o triterpeno taraxerona (**IX**).

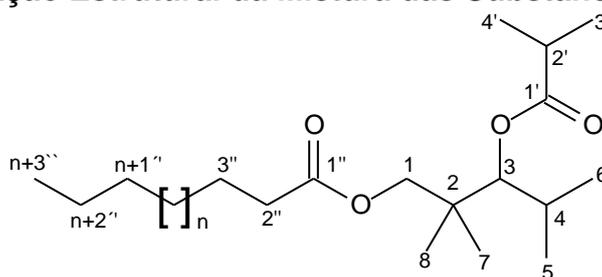
A estereoquímica relativa dos átomos de carbono estereogênicos proposta para **IX** foi feita com base em dados biogenéticos, visto que esqueletos de triterpenos do tipo oleanano apresentam as configurações dos carbonos estereogênicos como apresentadas em **IX** (Ahmad e Rahman, 1994; Dewick, 1997).

Tabela 35: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C -DEPTQ (125 MHz) do triterpeno **IX** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para o triterpeno taraxerona (Ahmad e Rahman, 1994).

	IX				Ahmad e Rahman, 1994
	HSQC		HMBC		
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	
C					
3	212,4	-	-	-	217,3
4	47,6	-	3H-23; 3H-24	-	47,6
8	36,7	-		-	38,9
10	37,7	-	3H-25	-	37,6
13	38,4	-	3H-27	-	37,7
14	157,6	-	-	H-16b; 3H-26; 3H-27	157,6
17	36,7	-	3H-28	-	37,7
20	28,8	-	3H-29; 3H-30	-	28,8
CH					
5	55,8	1,32	-	3H-23; 3H-24; 3H-25	55,8
9	48,8	0,98	-	3H-25; 3H-26	48,7
15	117,2	5,52 (<i>dd</i> ; 8,1)	H-16a	-	117,2
18	48,7	1,52	-	3H-27; 3H-28	48,8
CH₂					
1	38,4	1,90; 1,40	-	3H-25	38,4
2	34,2	2,60 (<i>m</i>); 2,35 (<i>m</i>)	-	-	34,1
6	20,0	1,65; 0,86	-	-	20,0
7	35,1	1,50; 1,10	-	3H-26	35,2
11	17,5	1,75; 1,60	-	-	17,5
12	40,7	2,10; 1,50	-	3H-27	35,8
16	37,7	2,05; 1,75	-	3H-28	36,7
19	36,7	1,40; 1,00	-	3H-29; 3H-30	40,7
21	33,6	1,80; 1,60	-	3H-29; 3H-30	33,6
22	33,1	1,50; 1,20	-	3H-28	33,1
CH₃					
23	26,1	1,05 (<i>s</i>)	-	3H-24	26,2
24	21,5	1,04 (<i>s</i>)	-	3H-23	21,5
25	14,8	1,07 (<i>s</i>)	-	-	14,8
26	29,9	0,91 (<i>s</i>)	-	-	29,9
27	25,6	1,16 (<i>s</i>)	-	-	25,6
28	29,9	0,85 (<i>s</i>)	-	-	29,9
29	33,4	0,96 (<i>s</i>)	-	3H-30	33,4
30	21,4	0,93 (<i>s</i>)	-	3H-29	21,4

5.2.4 Ésteres

5.2.4.1 Determinação Estrutural da Mistura das Substâncias X e XI



X n=10

XI n=12

A mistura das substâncias **X** e **XI** foi obtida do extrato hexânico das cascas da madeira de *T. hirta* na forma de um óleo amarelo, contendo vários ésteres em mistura.

Na análise do espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 212, p. 266**) foram atribuídos três sinais para carbonos não hidrogenados (C) [um sp^3 e dois sp^2 correspondendo a dois grupos carbonila em δ_{C} 174 (C-1'') e 177,3 (C-1')], três metínicos (CH) [todos sp^3 , incluindo um ligado ao átomo de oxigênio (CH-3) em δ_{C} 79,5], vários metilênicos (CH_2) [todos sp^3 , incluindo um ligado ao átomo de oxigênio (CH₂-1) em δ_{C} 71,4] e sete metílicos (CH_3) [representados no RMN ^1H com a presença de quatro dupletos, dois singletos e um triplete].

De acordo com os resultados da cromatografia gasosa (CG) foi possível notar a presença de uma mistura de 17 substâncias, das quais as fórmulas moleculares $\text{C}_{28}\text{H}_{54}\text{O}_4$ e $\text{C}_{30}\text{H}_{58}\text{O}_4$ foram as que se apresentaram em maiores percentagens com 27,42% (R. time 19,1 min.) e 13,76% (R. time 20,4 min.), respectivamente (**Figura 207, p. 256**). Essa dedução foi consistente com o espectro de CG/EM para os picos em m/z 239 [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CO}^+$] e m/z 267 [$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CO}^+$], correspondendo a parte do ácido palmítico e esteárico, além dos picos em m/z 111 ($^+\text{CH}_2\text{CMe}_2\text{CH}=\text{CMe}_2$) e m/z 71 (Me_2CHCO^+) correspondendo a parte do 2,2,4-trimetilpentano e isobutirato, ambos respectivamente.

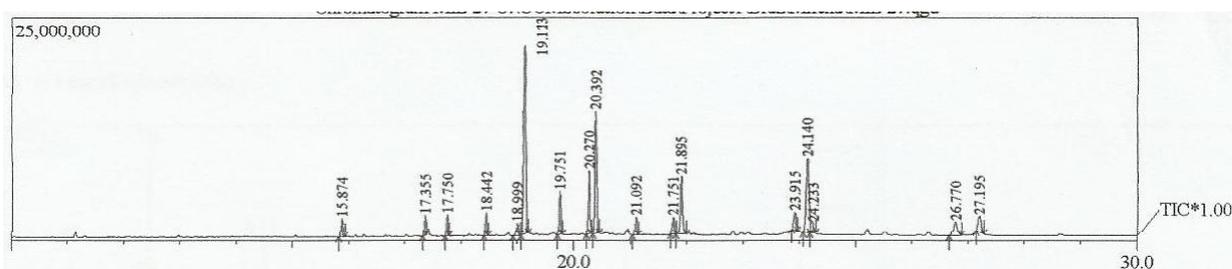


Figura 206: Cromatograma gasoso da mistura das substâncias X e XI.

A unidade isobutiriloxi ligada ao átomo de carbono CH-3 pode ser notada no espectro de RMN ^1H através dos sinais em δ_{H} 2,58 (septeto, H-2') e dois dupletos em δ_{H} 1,23 e δ_{H} 1,22; relativos aos hidrogênios 3H-4' e 3H-3' (Tabela 36, p. 261).

A presença dessa unidade foi corroborada pelas correlações observadas entre o átomo de carbono carbonílico (C-1') em δ_{C} 177,3 com o septeto em δ_{H} 2,58 (H-2', $^2J_{\text{HC}}$) e dois dupletos em δ_{H} 1,23 (3H-4', $^3J_{\text{HC}}$) e 1,22 (3H-3', $^3J_{\text{HC}}$) observadas no espectro de correlação à longa distância HMBC (Figura 221, p. 275). Esta unidade também pode ser confirmada pelo pico em m/z 71 Daltons presente na CG/EM (Esquema 11, p. 260).

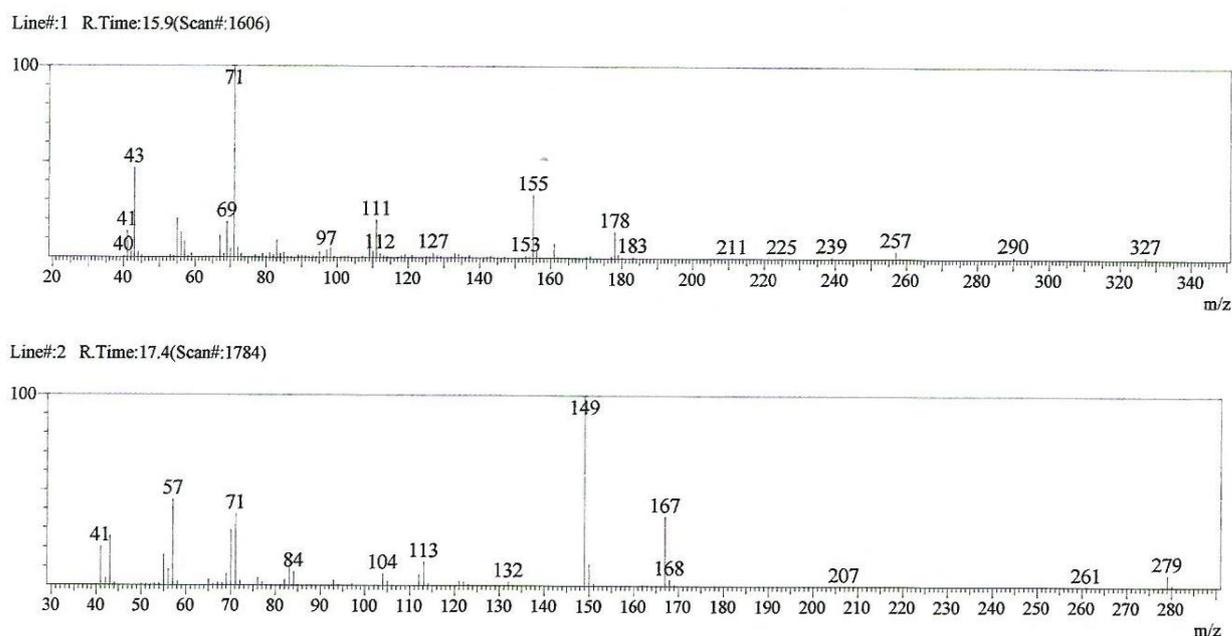
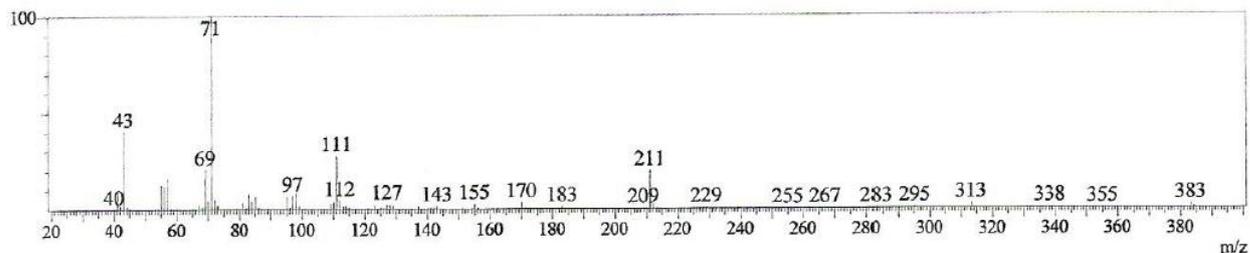


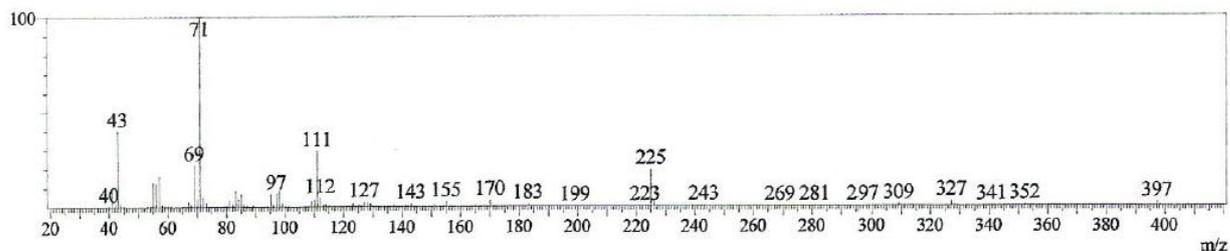
Figura 207: Espectros de Massas da mistura das substâncias X e XI.

Continuação da **Figura 207**

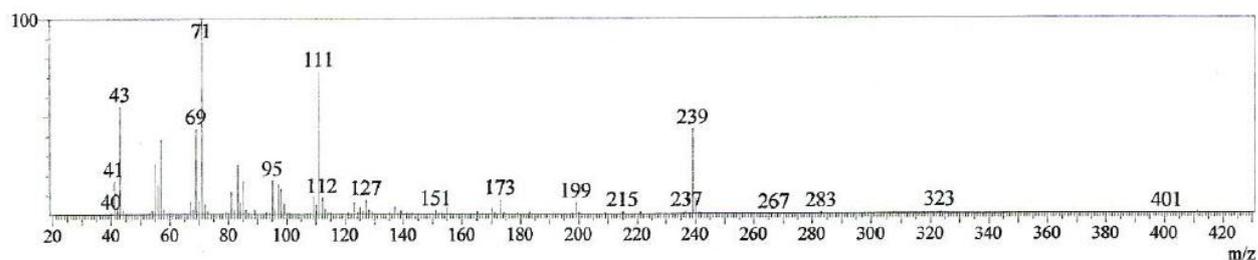
Line#:3 R.Time:17.8(Scan#:1831)



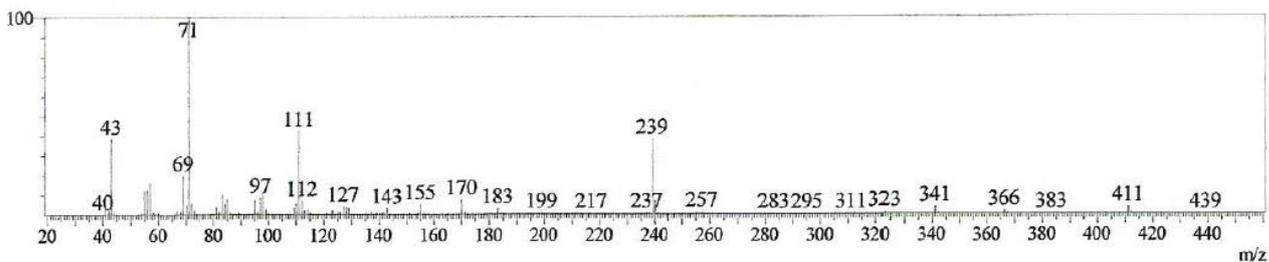
Line#:4 R.Time:18.4(Scan#:1914)



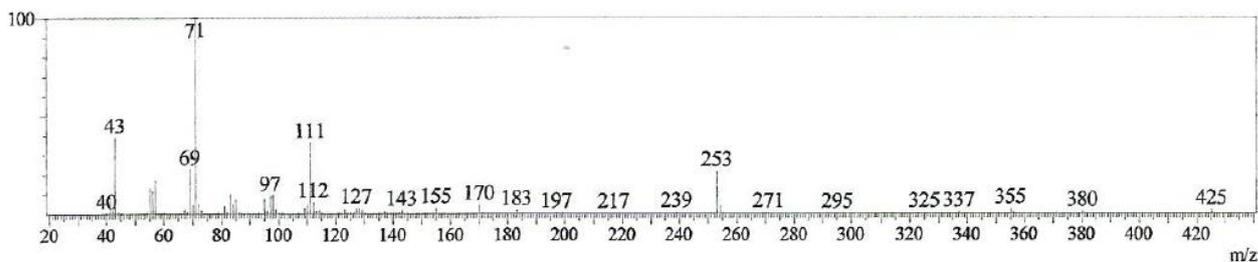
Line#:5 R.Time:19.0(Scan#:1981)



Line#:6 R.Time:19.1(Scan#:1996)

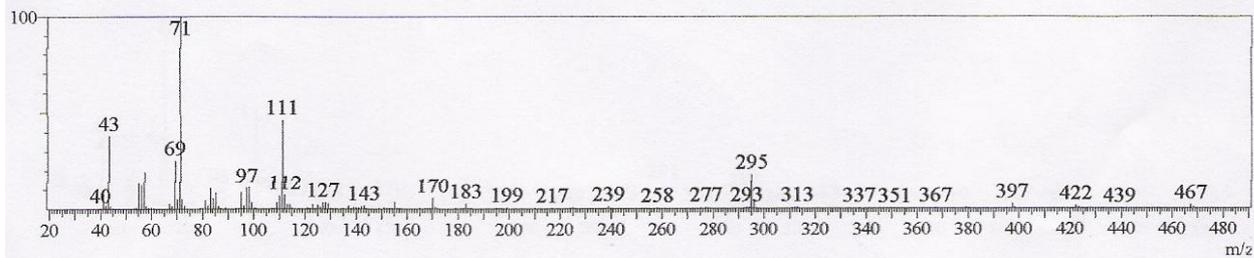


Line#:7 R.Time:19.8(Scan#:2071)

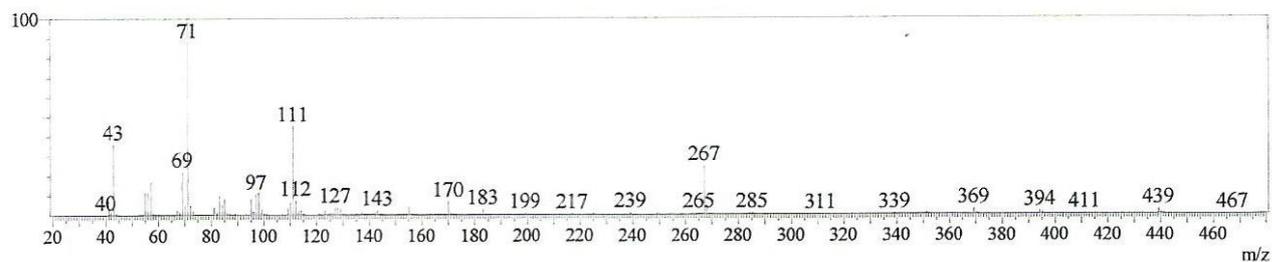


Continuação da Figura 207

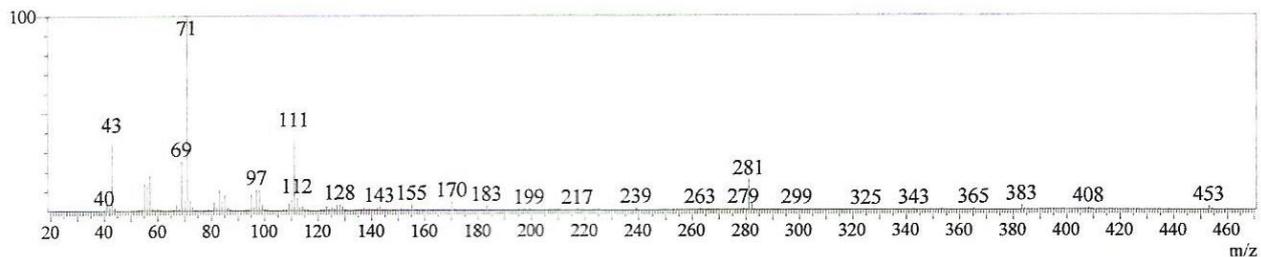
Line#:12 R.Time:21.9(Scan#:2328)



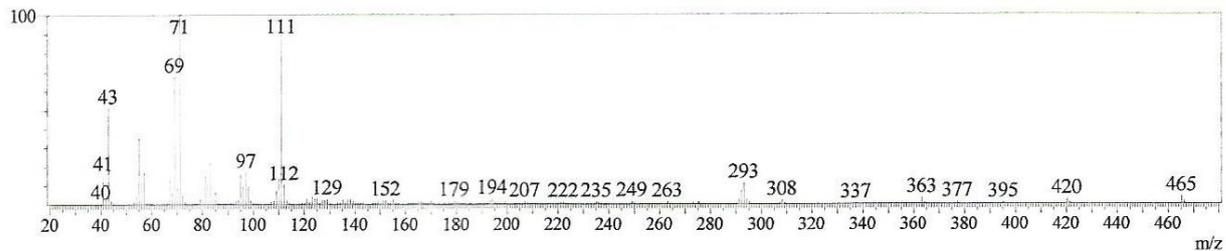
Line#:9 R.Time:20.4(Scan#:2148)



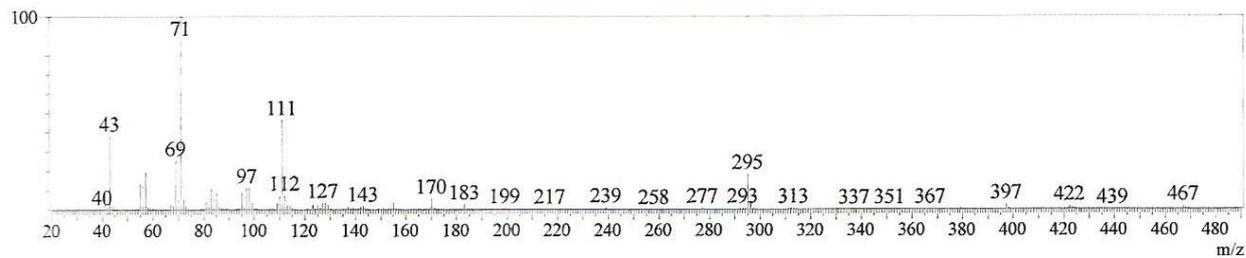
Line#:10 R.Time:21.1(Scan#:2232)



Line#:11 R.Time:21.8(Scan#:2311)

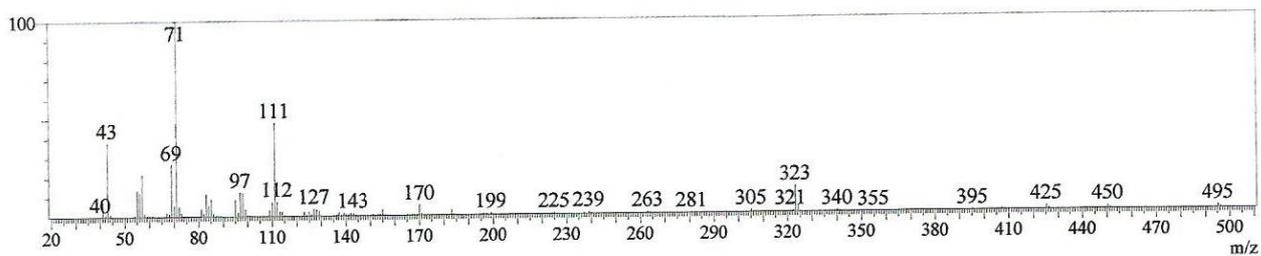


Line#:12 R.Time:21.9(Scan#:2328)

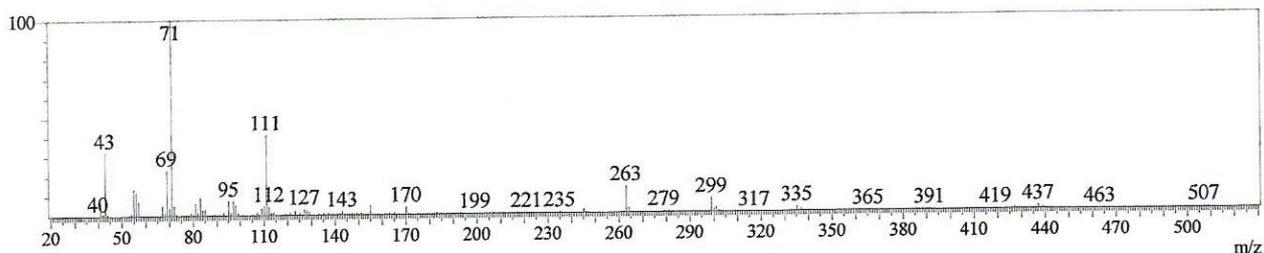


Continuação da Figura 207

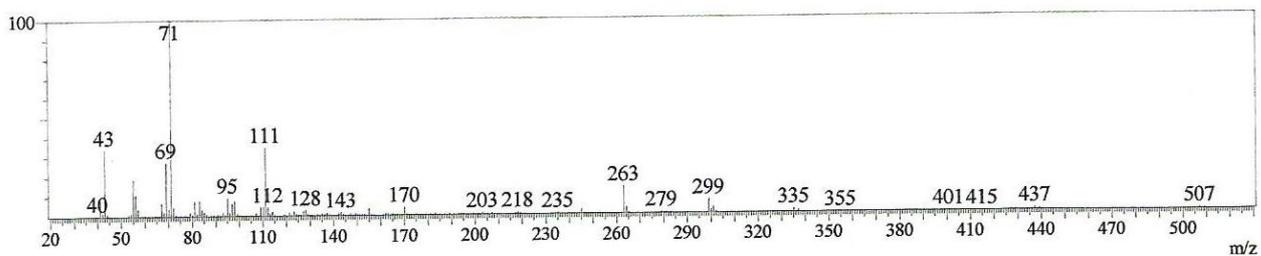
Line#:13 R.Time:23.9(Scan#:2571)



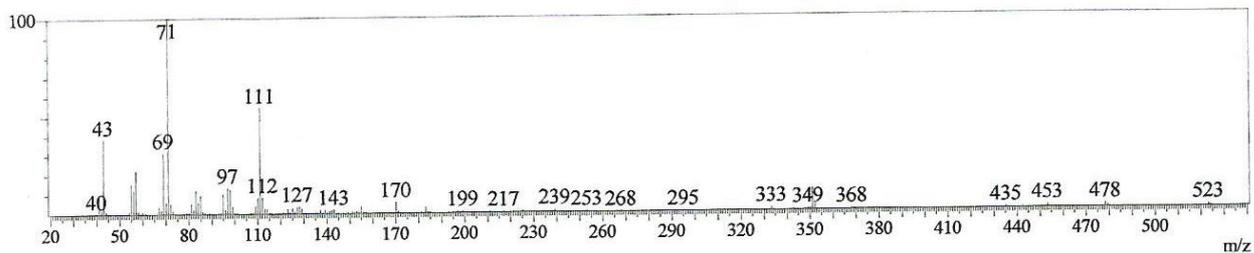
Line#:14 R.Time:24.1(Scan#:2598)



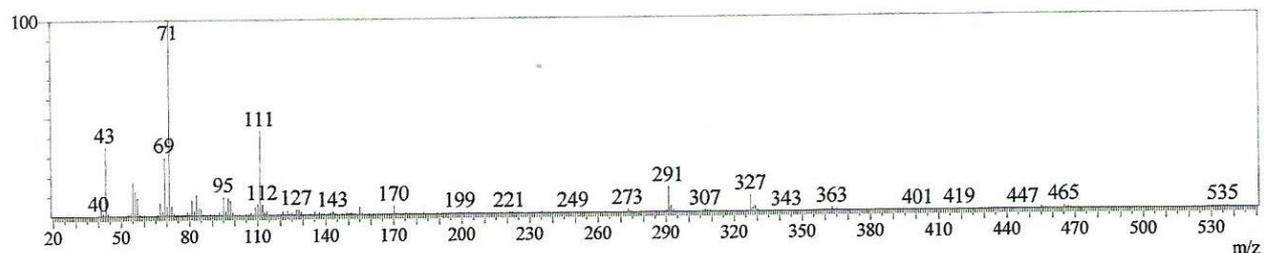
Line#:15 R.Time:24.2(Scan#:2609)

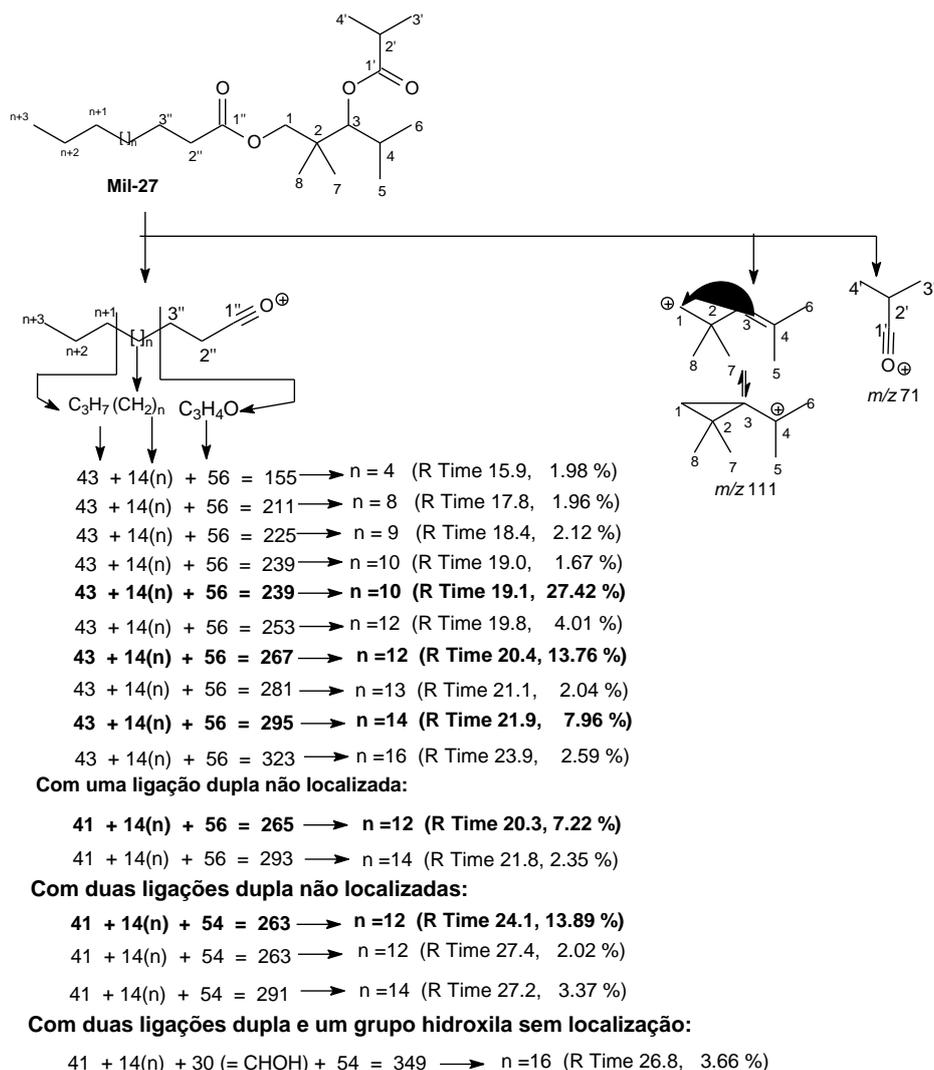


Line#:16 R.Time:26.8(Scan#:2913)



Line#:17 R.Time:27.2(Scan#:2964)





Esquema 11: Propostas de fragmentações dos principais íons da mistura das substâncias **X** e **XI**.

A presença e a localização da metade (2,2,4-trimetilpentano) do fragmento correspondente ao $^+CH_2CMe_2CH=CMe_2$ [formado pelo rearranjo McLafferty envolvendo a eliminação molecular do $Me_2CHCOOH$ e radical $CH_3(CH_2)_{14}COO\cdot$] representado pelo pico em m/z 111 Daltons presente na CG/EM, pôde ser deduzido pelas correlações ($^3J_{HC}$) observadas no espectro de correlação heteronuclear HMBC, entre o átomo de carbono carbinólico CH-3 em δ_C 79,5 com dois hidrogênios 2H-1 [δ_H 4,12 (*d*, $J = 11,0$ Hz) e 3,76 (*d*, $J = 11,0$ Hz)] e com quatro grupos metilas em δ_H 1,01 (3H-7, *s*); 0,97 (3H-8, *s*); 0,92 (3H-5, *d*, $J = 6,7$ Hz) e 0,98 (3H-6, *d*, $J = 6,7$ Hz) (**Figura 220, p. 274**).

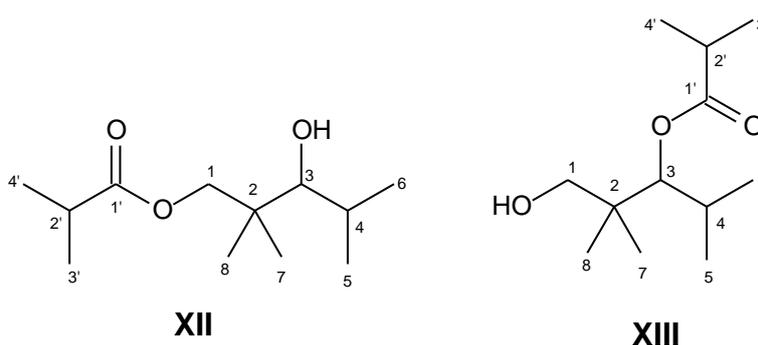
As demais correlações heteronucleares à longa distância encontram-se sumarizadas na **Tabela 36**.

O conjunto desses dados nos levou a propor, pela primeira vez na literatura, a estrutura de dois novos ésteres nomeados 3-(isobutiriloxi)-2,2,4-trimetilpentil palmitato (**X**) e 3-(isobutiriloxi)-2,2,4-trimetilpentil estearato (**XI**).

Tabela 36: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da mistura dos ésteres em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência da literatura (Li et al., 2014).

	X e XI				Li et al., 2014	
	HSQC		HMBC		δ_{C}	δ_{H}
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$		
C						
2	39,3	-	2H-1; H-3; 3H7; 3H-8	-	39,3	-
1'	177,3	-	H-2'	H-3; 3H-3'; 3H-4'	177,4	-
1''	174	-	2H-2''	2H-1	-	-
CH						
3	79,5	4,79 (<i>d</i> , 3,0)	-	2H-1; 3H-5; 3H-6; 3H-7; 3H-8	79,3	3,22 (<i>d</i>)
4	28,7	1,93 (<i>m</i>)	H-3; 3H-5; 3H-6	-	28,9	1,85 (<i>m</i>)
2'	34,4	2,58 (<i>sept</i> , 7,0)	3H-3; 3H-4'	-	34,0	2,54 (<i>m</i>)
CH₂						
1	71,4	4,12 (<i>d</i> , 11,0) 3,76 (<i>d</i> , 11,0)	-	H-3; 3H-7; 3H-8	71,5	3,94 (<i>m</i> ; 10,9)
2''	34,2	2,33 (<i>t</i> , 7,6)	-	2H-4''	-	-
3''	25,0	1,60 (<i>s</i>)	2H-2	-	-	-
n	29,8- 29,2	1,40-1,20 (<i>m</i>)	-	-	-	-
(n+1)''	31,9	1,28	2H-15''	3H-16''	-	-
(n+2)''	22,7	1,31	3H-16''	-	-	-
CH₃						
5	16,7	0,92 (<i>d</i> , 6,7)	H-4	H-3; 3H-6	16,6	0,97 (<i>d</i>)
6	23,6	0,98 (<i>d</i> , 6,7)	H-4	H-3; 3H-5	23,4	0,87 (<i>d</i>)
7	21,8	1,01 (<i>s</i>)	-	H-3; 2H-1; 3H-8	22,0	0,93 (<i>s</i>)
8	21,3	0,97 (<i>s</i>)	-	H-3; 2H-1; 3H-7	20,5	0,91 (<i>s</i>)
3'	19,1	1,23 (<i>d</i> , 7,0)	H-2'	3H-4'	19,2	1,15 (<i>d</i>)
4'	19,0	1,22 (<i>d</i> , 6,9)	H-2'	3H-3'	19,2	1,15 (<i>d</i>)
(n+3)''	14,2	0,90 (<i>t</i> , 7,0)	-	-	-	-

5.2.4.2 Determinação Estrutural da Mistura das Substâncias XII e XIII



As substâncias **XII** e **XIII** foram obtidas do extrato hexânico das cascas da madeira da espécie *T. hirta* como mistura e na forma de um sólido branco.

O espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 228**, p. 285) apresentou sinais para 24 átomos de carbono, sendo quatro carbonos não hidrogenados [dois sp^3 e dois carbonílicos em δ_{C} 177,4 (C-1'- **XII**) e δ_{C} 178,5 (C-1'- **XIII**)], seis metínicos (CH) [quatro sp^3 , um carbinólico em δ_{C} 79,5 (CH-3- **XII**) e outro ligado ao átomo de oxigênio em δ_{C} 79,2 (CH-3- **XIII**)], dois metilênicos (CH_2) [um ligado ao átomo de oxigênio em δ_{C} 70,0 (CH_2 -1-**XII**) e outro carbinólico em δ_{C} 71,4 (CH_2 -1-**XIII**)] e doze metílicos (CH_3).

Esses dados em conjunto com os dados do espectro de massas de alta resolução (EMAR), apresentando o valor de massa sodatado $[\text{M}+\text{Na}^+]^+ = 239,1616$ Daltons e o valor calculado $[\text{M}+\text{Na}^+]^+ = 239,1623$ Daltons, $\Delta_{m/z} = 0,0007$ Daltons; levou-nos a propor a fórmula molecular $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{NaO}_3$ (**Figura 223** e **Esquema 12**, p. 279)

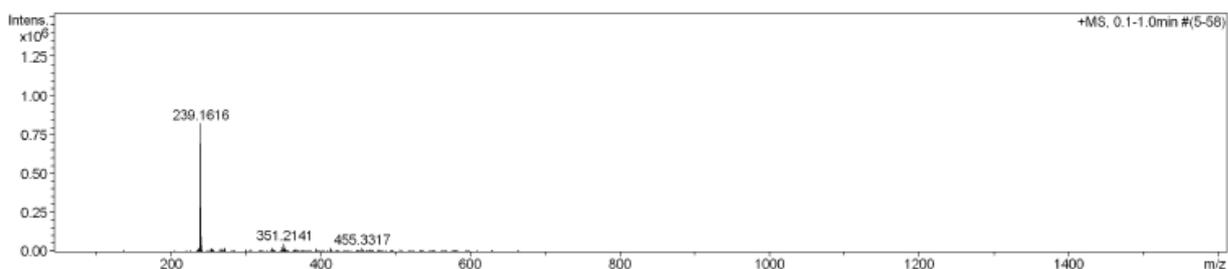
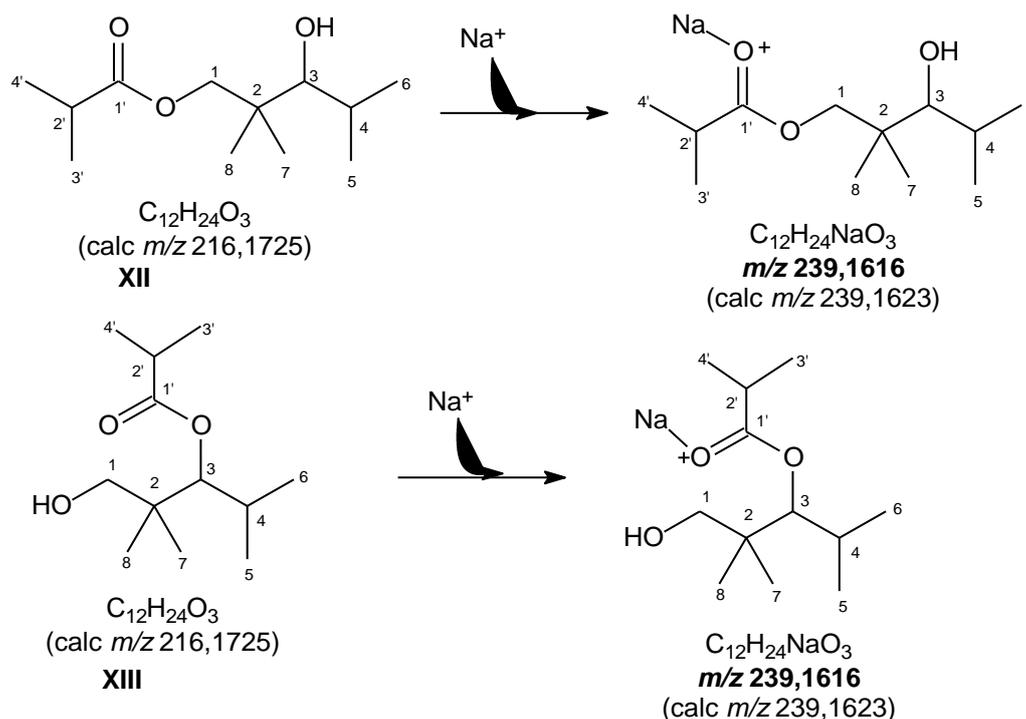


Figura 224: Espectro de Massas de Alta Resolução da mistura das substâncias **XII** e **XIII**.



Esquema 12: Proposta de fragmentação dos principais íons da mistura das substâncias **XII** e **XIII**.

Em sequência foi realizado um CG/EM onde foi possível notar a presença de uma mistura de 14 substâncias, da qual a fórmula molecular $C_{12}H_{24}O_3$ é uma das que se apresenta em maiores percentagens com 40,87% (R. time 6,367 min.) e 35,56% (R. time 6,117 min.), evidenciando a estrutura de dois ésteres isoméricos (**Figura 225**).

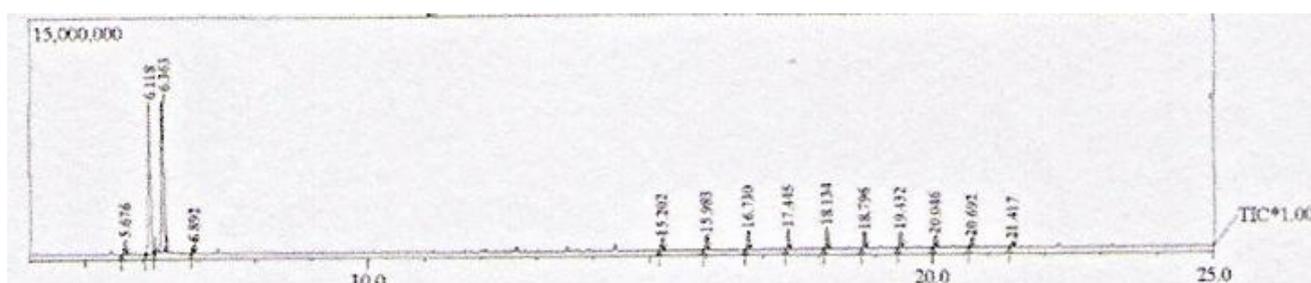
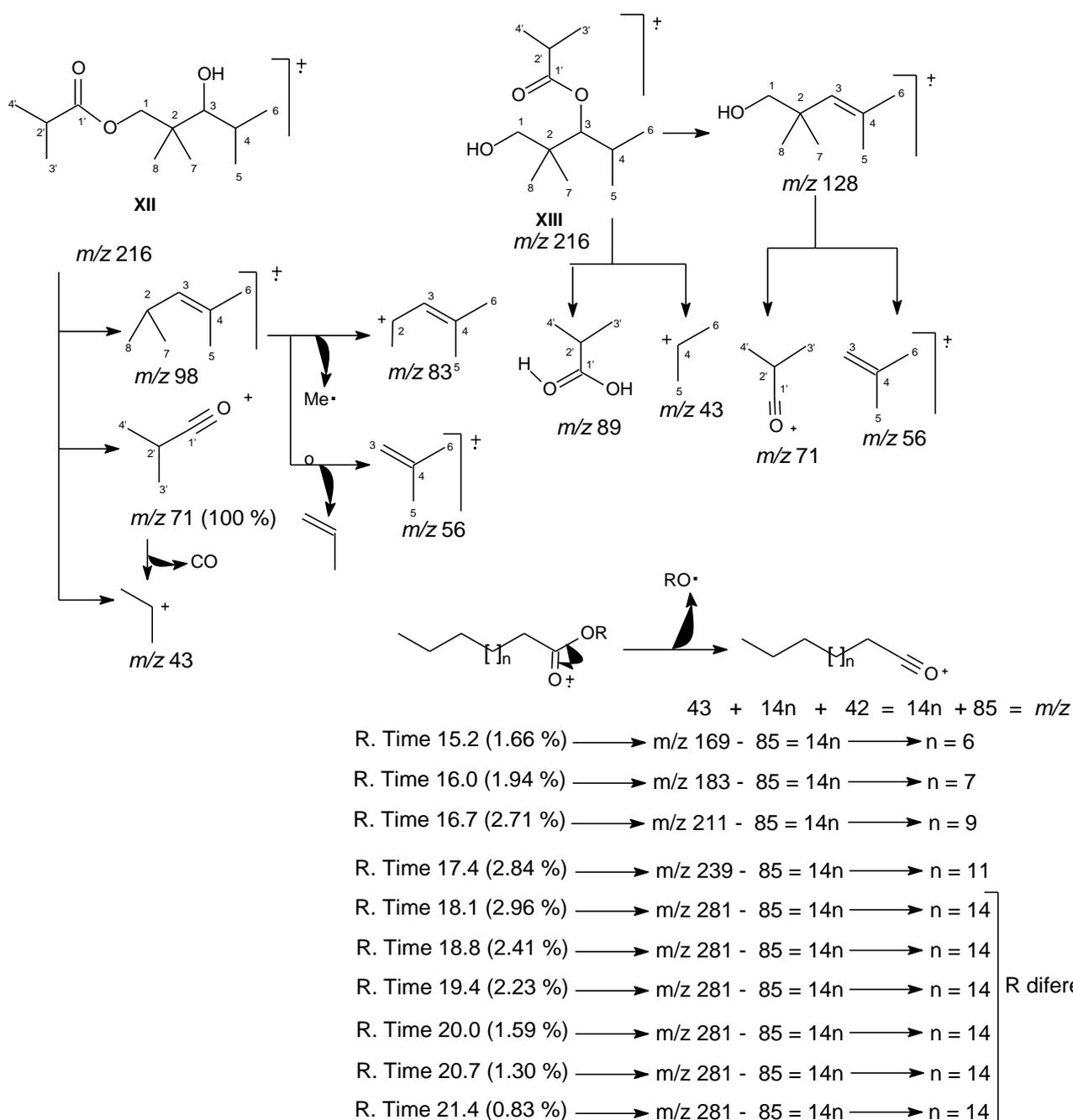


Figura 225: Cromatograma gasoso da mistura das substâncias **XII** e **XIII**.



Esquema 13: Proposta de fragmentação dos principais íons da mistura das substâncias **XII** e **XIII**.

A presença de uma hidroxila ligada ao átomo de carbono CH-3 do isômero **XII** pôde ser confirmada através da presença de um singlete largo em δ_H 3,27 representado no espectro de RMN 1H (**Figura 226, p. 283**). Sua localização foi corroborada pelas correlações heteronucleares à longa distância, $^3J_{HC}$, do CH-3 em δ_C 79,5 com os dois átomos de hidrogênios 2H-1 em δ_H 4,14 (d ; $J=10,9$ Hz) e em δ_H 3,78 (d ; $J=10,9$ Hz), assim como com os

três hidrogênios dos quatro grupos metilas: 3H-5 em δ_H 0,94 (*d*; $J=6,5$ Hz); 3H-6 em δ_H 1,03 (*d*; $J=7,1$ Hz); 3H-7 em δ_H 0,99 (*s*) e 3H-8 em δ_H 0,98 (*s*), no espectro correlação heteronuclear HMBC (**Figura 235, p. 292**)

Em relação ao grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono CH₂-1 do isômero **XIII**, sua presença pôde ser confirmada pela constatação de dois sinais duplos em δ_H 3,26 (*d*, $J=11,7$ Hz) e em δ_H (*d*, $J=11,7$ Hz), obtidos no espectro de RMN ¹H (**Figura 226, p. 283**); corroborada pelas correlações heteronucleares à longa distância, ³J_{HC}, do CH₂-1 em δ_C 70,0 com os três átomos de hidrogênios dos grupos metilas 3H-7 em δ_H 1,04 (*s*) e 3H-8 em δ_H 0,88 (*s*), visualizadas no espectro correlação heteronuclear HMBC (**Figura 235, p. 292**).

A localização e presença do grupo caracterizado pela função éster, no isômero **XII**, foram confirmadas pelas correlações heteronucleares à longa distância, ³J_{HC}, do átomo de carbono C-1' em δ_C 177,4 com os dois átomos de hidrogênio 2H-1 em δ_H 4,14 (*d*, $J=10,9$ Hz) e δ_H 3,78 (*d*, $J=10,9$ Hz); além dos três átomos de hidrogênio dos grupos metilas 3H-3' em δ_H 1,21 (*d*; $J=7,0$ Hz) e 3H-4' em δ_H 1,21 (*d*; $J=7,0$ Hz), no espectro correlação heteronuclear HMBC.

Esta mesma função éster, agora no isômero **XIII**, foi confirmada também por correlações heteronucleares a longa distância, ³J_{HC}, do C-1' em δ_C 178,5 com os três hidrogênios dos grupos metilas 3H-3' e 3H-4' ambos em δ_H 1,24 (*d*; $J=7,0$ Hz), observadas no espectro correlação heteronuclear HMBC.

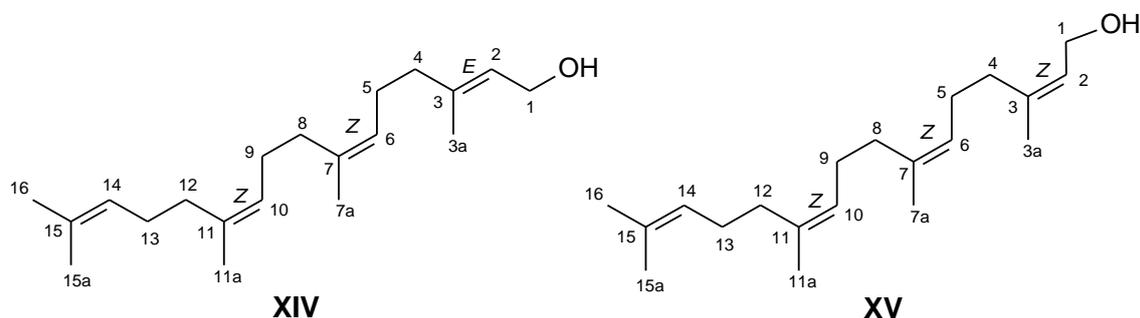
Portanto, o conjunto destes dados permitiu propor a estrutura para a mistura das substâncias **XII** e **XIII** para os ésteres isolados. Prova final desta estrutura veio da comparação com os dados da literatura (Li et al., 2014) para o éster isobutirato de 3-hidroxi-2,2,4-trimetilpentan-1-ila (**XII**) e para o éster isobutirato de 1-hidroxi-2,2,4-trimetilpentan-3-ila (**XIII**) que no melhor do nosso conhecimento, este último, não encontra-se descrito na literatura até o momento.

Tabela 37: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) dos ésteres **XII** e **XIII** em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HSQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para o éster isobutirato de 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol (Li et al., 2014).

	XII				XIII				Li et al., 2014	
	HSQC		HMBC		HSQC		HMBC			
	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_{C}	δ_{H}
C										
2	38,4	-	3H-7; 3H-8		39,6	-	3H-7; 3H-8		39,3	-
1'	177,4	-		2H-1; 3H-3'/3H-4'	178,5	-		3H-3'/3H-4'	177,4	-
CH										
3	79,5	3,27 (<i>s</i>)		2H-1; 3H-5; 3H-6; 3H-7; 3H-8	79,2	4,78		3H-5; 3H-6; 3H-7; 3H-8	79,3	3,22 (<i>d</i>)
4	28,6	1,95 (<i>m</i>)	3H-5; 3H-6		28,3	2,10 (<i>m</i>)	3H-5; 3H-6;		28,9	1,85 (<i>m</i>)
2'	34,2	2,67 (<i>m</i>)			34,6	2,67 (<i>m</i>)	3H-3'/3H-4'		34,0	2,54 (<i>m</i>)
CH₂										
1	71,4	4,14 (<i>d</i> ; 10,9) 3,78 (<i>d</i> ; 10,9)		3H-7; 3H-8	70,0	3,26 (<i>d</i> ; 11,7) 3,04 (<i>d</i> ; 11,7)		3H-7; 3H-8	71,5	3,94 (<i>m</i> ; 10,9)
CH₃										
5	16,7	0,94 (<i>d</i> ; 6,5)		3H-6	17,7	1,00 (<i>d</i> ; 6,0)		3H-6	16,6	0,93 (<i>s</i>)
6	23,6	1,03 (<i>d</i> ; 7,1)		3H-5	23,0	0,95 (<i>d</i> ; 6,7)		3H-5	23,4	0,97 (<i>d</i>)
7	22,1	0,99 (<i>s</i>)		2H-1; 3H-8	22,3	1,04 (<i>s</i>)		3H-8	22,0	0,91 (<i>s</i>)
8	20,5	0,98 (<i>s</i>)		2H-1; 3H-7	19,5	0,88 (<i>s</i>)		3H-7	20,5	0,87 (<i>d</i>)
3'	19,3	1,21 (<i>d</i> ; 7,0)			19,1	1,24 (<i>d</i> ; 7,0)			19,2	1,15 (<i>d</i>)
4'	19,3	1,21 (<i>d</i> ; 7,0)			19,0	1,24 (<i>d</i> ; 7,0)			19,2	1,15 (<i>d</i>)

5.2.5 Diterpenos

5.2.5.1 Determinação Estrutural da Mistura das Substâncias XIV e XV



A mistura das substâncias **XIV** e **XV** foi obtida do extrato hexânico da madeira de *T. hirta*, na forma de um óleo de cor amarelo.

No espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 242, p. 301**) foram observados vários sinais de átomos de carbono, dos quais, cinco metílicos (CH_3); sete metilênicos (CH_2) [um carbinólico em δ_{C} 59,0 (CH_2OH -1)]; quatro metínicos (CH) [todos caracterizando ligações duplas em uma faixa de sinais em δ_{C} 125,0 – 124,1] e quatro átomos de carbono não hidrogenados (C) [todos sp^2 correspondentes a ligações duplas].

Os sinais em δ_{C} entre 16,0 e 39,4 de uma cadeia alifática ramificada foram confirmados através das correlações heteronucleares à longa distância, $^3J_{\text{HC}}$, observadas no mapa HMBC (**Figura 252, p. 311**) entre CH_3 -7a (δ_{C} 23,4) e H-6 (δ_{H} 5,2 – 5,1); entre CH_3 -11a (δ_{C} 23,4) e H-10 (δ_{H} 5,2 – 5,1); entre CH_3 -15a (δ_{C} 17,7) e H-14 (δ_{H} 5,2 – 5,1) e 3H-16 (δ_{H} 1,7) assim como entre CH_3 -16 (δ_{C} 25,7) e H-14 (δ_{H} 5,2 – 5,1) e 3H-15a (δ_{H} 1,6).

O sinal triplo em δ_{H} 5,5 ($J=7,1$ Hz) referente ao H-2 também confirma a presença de uma insaturação neste átomo de carbono.

A presença de um grupo hidroxila pode ser confirmada pela correlação observada no espectro de correlação heteronuclear HSQC em δ_{C} 59,0 (CH_2 -1) com δ_{H} 4,12 (2H-1, *dd*, $J=7,1$ e 0,8 Hz).

Uma mistura de dois estereoisômeros como componentes principais foi corroborada pelas correlações heteronucleares, $^1J_{\text{HC}}$, no mapa de HSQC para o átomo de carbono CH_2 -4 em δ_{C} 39,4 com δ_{H} 2,01 (*m*) e também em δ_{C} 32,2 com δ_{H} 2,15 representando os estereoisômeros *E* e *Z*, respectivamente (**Tabela 38, p. 297**) (Tanaka et al., 1985).

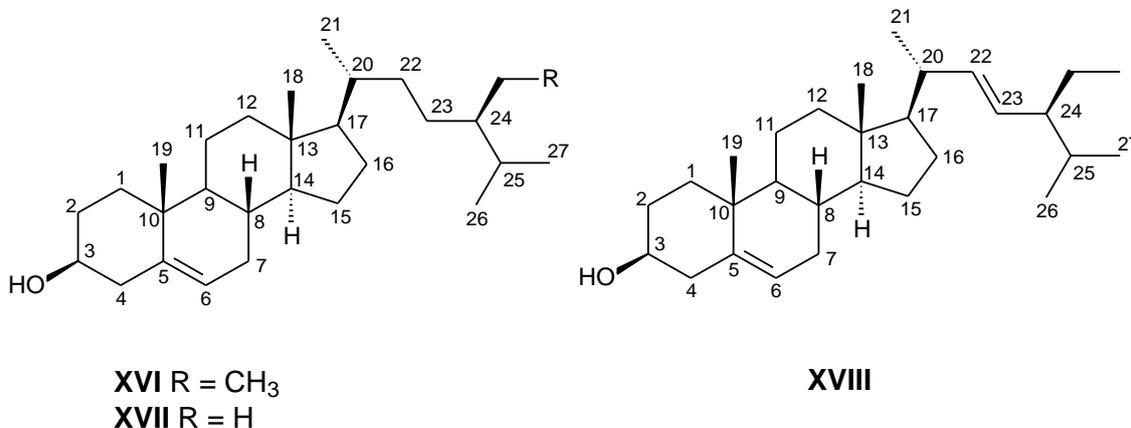
Os dados obtidos em comparação com os dados da literatura (Tanaka et al., 1985), permitiu identificar a mistura de dois estereoisômeros como componentes principais do tetraprenol: (2*E*,6*Z*,10*Z*)-3,7,11,15-tetrametilhexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol [XIV] e (2*Z*,6*Z*,10*Z*)-3,7,11,15-tetrametilhexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol [XV].

Tabela 38: Dados de RMN ^1H (400 MHz) e RMN ^{13}C -DEPTQ (100 MHz) da mistura XIV e XV em CDCl_3 , e as correlações observadas no espectro de HMQC e HMBC. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para a mistura dos estereoisômeros *E* e *Z* do álcool tetraprenol (Tanaka et al., 1985).

	XIV		XV		HMBC		Mo-1	Mo-2
	HSQC		HSQC				[Tanaka et al., 1985]	[Tanaka et al., 1985]
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	$^2J_{\text{HC}}$	$^3J_{\text{HC}}$	δ_{C}	δ_{C}
C								
3	140,0	-	-	-	2H-4; 3H-3a	2H-1, 2H-5	139,8	139,9
7	135,4-135,0	-	136,1	-	2H-8; 3H-7a	2H-9	135,4	136,5
11	135,1-135,0	-	-	-	2H-12; 3H-11a	2H-13	135,5	135,1
15	131,2	-	-	-	3H-15a; 3H-16	-	131,5	131,5
CH								
2	125,0-124,1	5,47 (t; 7,1)	-	-	2H-1	2H-4; 3H-3a	125,0 ^b	124,9 ^b
6	125,0-124,1	5,15 – 5,10	-	-	-	2H-8; 3H-7a	124,6 ^b	124,5 ^b
10	125,0-124,1	5,15 – 5,10	-	-	-	2H-12; 3H-11a	124,4 ^b	124,5 ^b
14	125,0-124,1	5,15 – 5,10	-	-	-	2H-16; 3H-15a	123,4 ^b	124,3 ^b
CH₂								
1	59,0	4,12 (dd; 7,1, 0,8)	-	-	-	-	59,4	59,0
4	39,4	2.01 (m)	32,2	2,15	2H-5	H-6; 3H-3a	39,8	32,2
5	26,8-26,3	2.12-1.99 (m)	-	-	H-6; H-4	-	26,2	26,4
8	32,2	2.12-1.99 (m)	32,2	-	2H-9	H-10; 3H-7a	32,3	32,2
9	26,8-26,3	2.12-1.99 (m)	-	-	H-10; H-8	-	26,4	26,3
12	32,0	2.12-1.99 (m)	32,0	-	2H-13	H-14; 3H-11a	32,0	31,9
13	26,8-26,3	2.12-1.99 (m)	-	-	H-14; H-12	3H-11a	26,7	26,1
CH₃								
3a	16,0	1,62	23,5	1,77 (q)	-	-	16,3	23,4
7a	23,4	1,70	23,4	-	-	H-6	23,4	23,4
11a	23,4	1,70	-	-	-	H-10	23,4	23,4
15a	17,7	1,62	-	-	-	H-14; 3H-16	17,6	17,6
16	25,7	1,70	-	-	-	H-14; 3H15a	25,7	25,7

5.2.6 Esteroides

5.2.6.1 Determinação Estrutural da Mistura das Substâncias XVI, XVII e XVIII



Os esteroides são triterpenoides modificados que perderam três grupos metilas, duas ligadas ao átomo de carbono C-4 e uma no átomo de carbono C-14, e são frequentemente encontrados no reino vegetal.

O β -sitosterol (**XVI**), exemplo mais comum de substância desta classe, geralmente é identificado em mistura com outros esteroides por apresentarem estruturas muito semelhantes, dificultando assim sua separação, por isso na maioria das vezes, a identificação desta classe de esteroides tem sido realizada principalmente através de CG/EM e dados RMN ¹³C.

A mistura das substâncias **VXI**, **XVII** e **XVIII** foi obtida do extrato hexânico da madeira de *T. hirta*, apresentando-se como cristais incolores de formato pontiagudo.

A proposta estrutural para o esteroide **XVI** foi baseada em técnicas de RMN uni ¹H e ¹³C, estabelecendo uma completa atribuição dos sinais de ¹H e de ¹³C da substância e comparando-as com dados descritos por Rodrigues, V.F. (2009) e Gonçalves, M.S. (2011), e também comparado com amostras padrões.

Os dados de RMN ¹³C-DEPTQ para mistura dos esteroides (**Figura 260**, p. 322) indicaram, inicialmente, somente a presença dos esteroides β -sitosterol (**XVI**) e estigmasterol (**XVIII**), no entanto a análise da mesma fração analisada por espectroscopia de massas indicou a presença, em menor proporção, do esteroide campesterol (**XVII**) (**Figura 253**).

O espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 260, p. 322**) apresentou sinais para 29 átomos de carbono, sendo seis sinais para grupos metílicos (CH_3) em δ_{C} 12,1 (CH_3 -18), 19,4 (CH_3 -19), 18,8 (CH_3 -21), 21,2 (CH_3 -26), 19,8 (CH_3 -27), 11,9 (CH_3 -29), onze sinais para grupos metilênicos (CH_2) em δ_{C} 37,2 (CH_2 -1), 31,9 (CH_2 -2), 42,3 (CH_2 -4), 33,9 (CH_2 -7), 21,1 (CH_2 -11), 39,8 (CH_2 -12), 24,3 (CH_2 -15), 28,9 (CH_2 -16), 32,4 (CH_2 -22), 26,0 (CH_2 -23) e 23,1 (CH_2 -28), nove sinais para grupos metínicos (CH) em δ_{C} 71,8 (CH -3), 121,7 (CH -6), 31,9 (CH -8), 50,1 (CH -9), 56,8 (CH -14), 56,0 (CH -17), 39,7 (CH -20), 45,8 (CH -24) e 29,0 (CH -25) e três sinais para átomos de carbono quaternário em δ_{C} 140,7 (C-5), 36,1 (C-10) e 42,3 (C-13).

Os sinais no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (**Figura 260, p. 322**), na região de carbonos carbinólicos em δ_{C} 71,8 (CH -3), sugerem uma estrutura monohidroxilada.

Ainda no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ pode-se observar os sinais em δ_{C} 140,7 (C-5) e 121,7 (CH -6), que sugere a ocorrência de uma insaturação entre esses dois átomos de carbono.

O espectro de RMN ^1H (**Figura 258, p. 320**) apresenta um duplete em δ_{H} 5,37 (H-6) com uma constante de acoplamento de $J = 5,25$ Hz que confirma a insaturação na estrutura, além de um multiplete em δ_{H} 3,55 (H-3), confirmando a presença de um grupo hidroxila nesta posição.

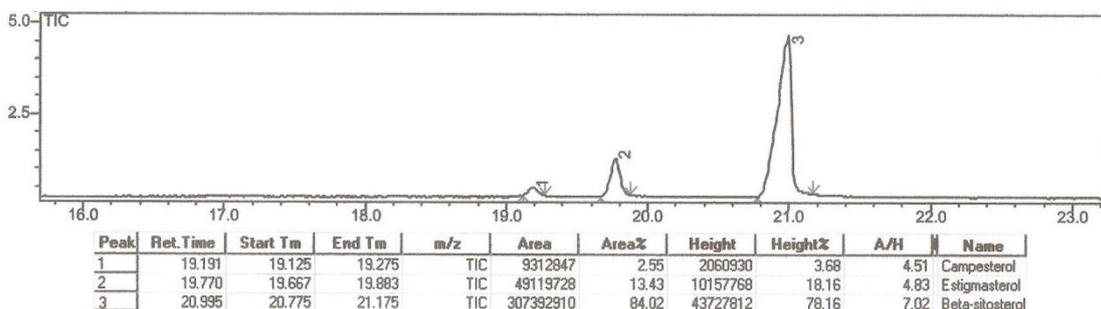


Figura 253: Cromatograma mistura dos esteroides **XVI**, **XVII** e **XVIII**.

Como os três esteroides apresentam fatores de sensibilidade ao detector semelhantes, foi determinada a porcentagem média dos três esteroides, resultando em 84,02 % de β -sitosterol, 13,43% de estigmasterol e 2,55 % de campesterol.

O pico cromatográfico com o tempo de retenção de 21 min. apresentou um espectro de massas (**Figura 254**) com sinal em $m/z = 414$ Daltons que coincide com o valor referente ao íon molecular do β -sitosterol (**XVI**). A proposta de fragmentação do esteroide **XVI** consiste basicamente na perda da cadeia lateral ($m/z = 273$), seguida da perda de 18 unidades de massa ($m/z = 255$) referentes à perda de uma molécula de água. Outras perdas, também

comuns de ocorrerem, puderam ser observadas, tais como, perda de 15 unidades de massa ($m/z = 399$), referentes à perda de um grupo metila (CH_3), e perda de 18 unidades de massa ($m/z = 381$), referente à perda de uma molécula de H_2O (Esquema 14, p. 315).

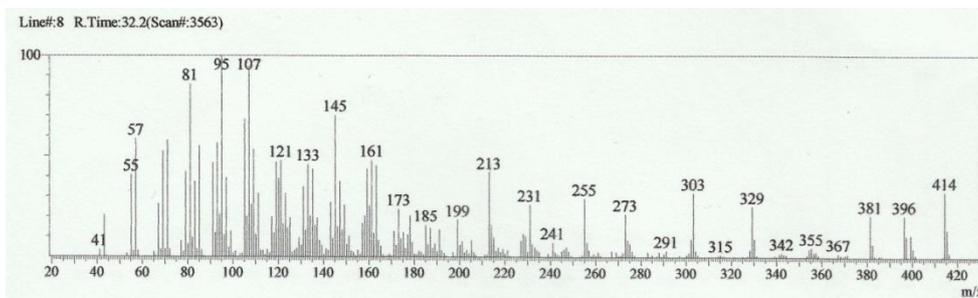
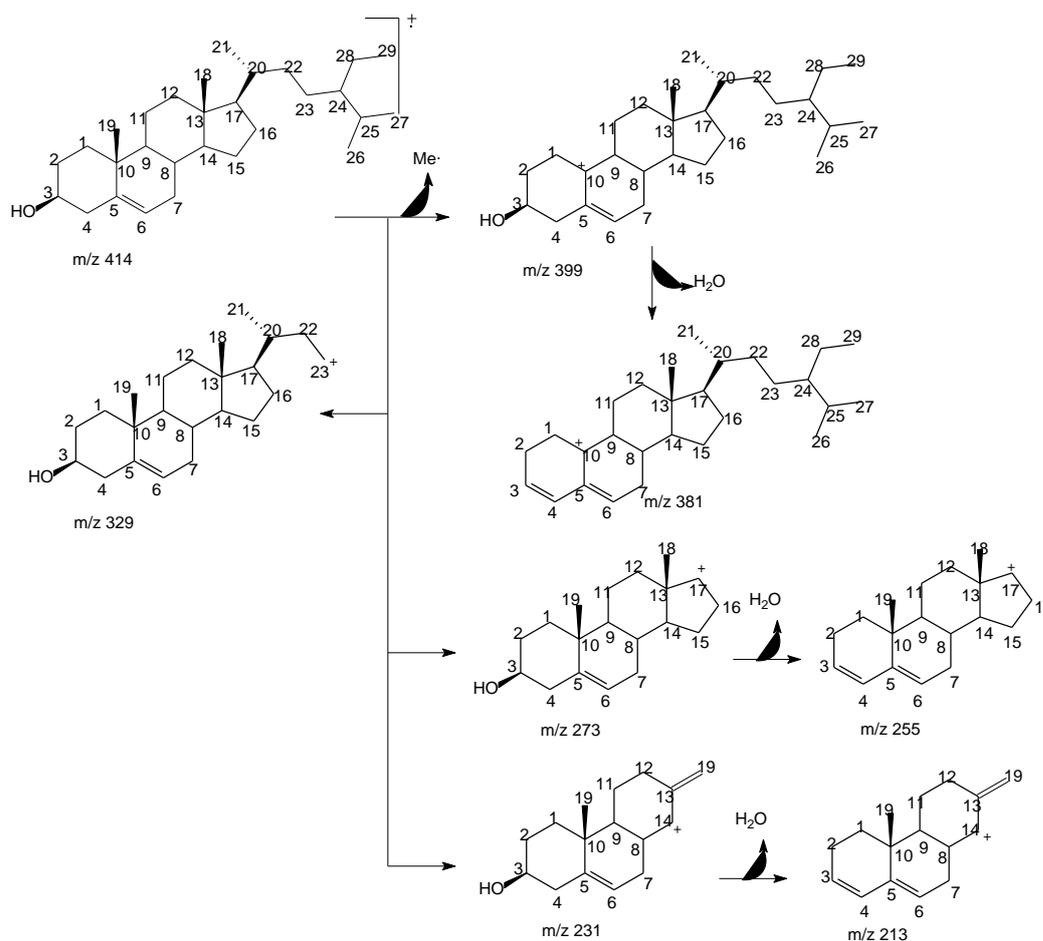


Figura 254: Espectro de Massas do esteroide XVI.



Esquema 14: Proposta de fragmentação para o esteroide XVI.

O pico cromatográfico com o tempo de retenção de 19,8 min. apresentou um espectro de massas (Figura 255, p. 316) com sinal em $m/z = 412$ Daltons

que coincide com o valor referente ao íon molecular do estigmasterol (**XVIII**). A proposta de fragmentação do esteroide **XVIII** consiste basicamente na perda da cadeia lateral ($m/z = 273$), seguida da perda de 18 unidades de massa ($m/z = 255$) referentes à perda de uma molécula de água. A perda de 18 unidades de massa ($m/z = 381$) da cadeia principal, referentes à perda de outra molécula de H_2O , também foi observada. A proposta de fragmentação para o composto e apresentada no **Esquema 15**.

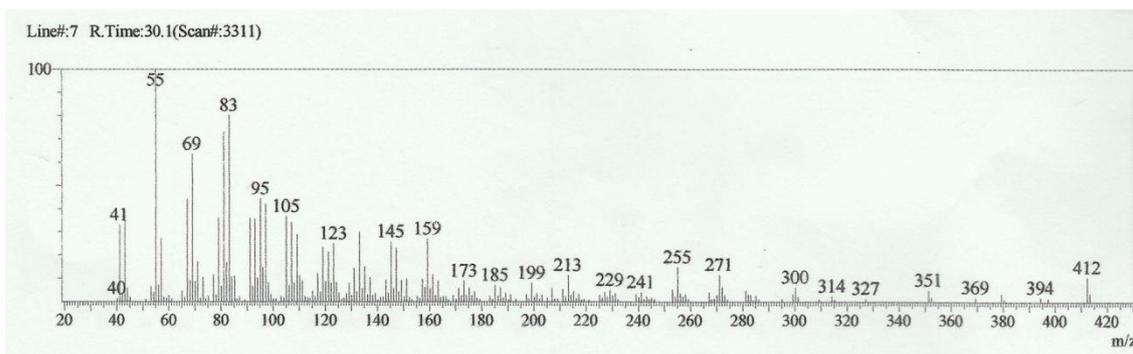
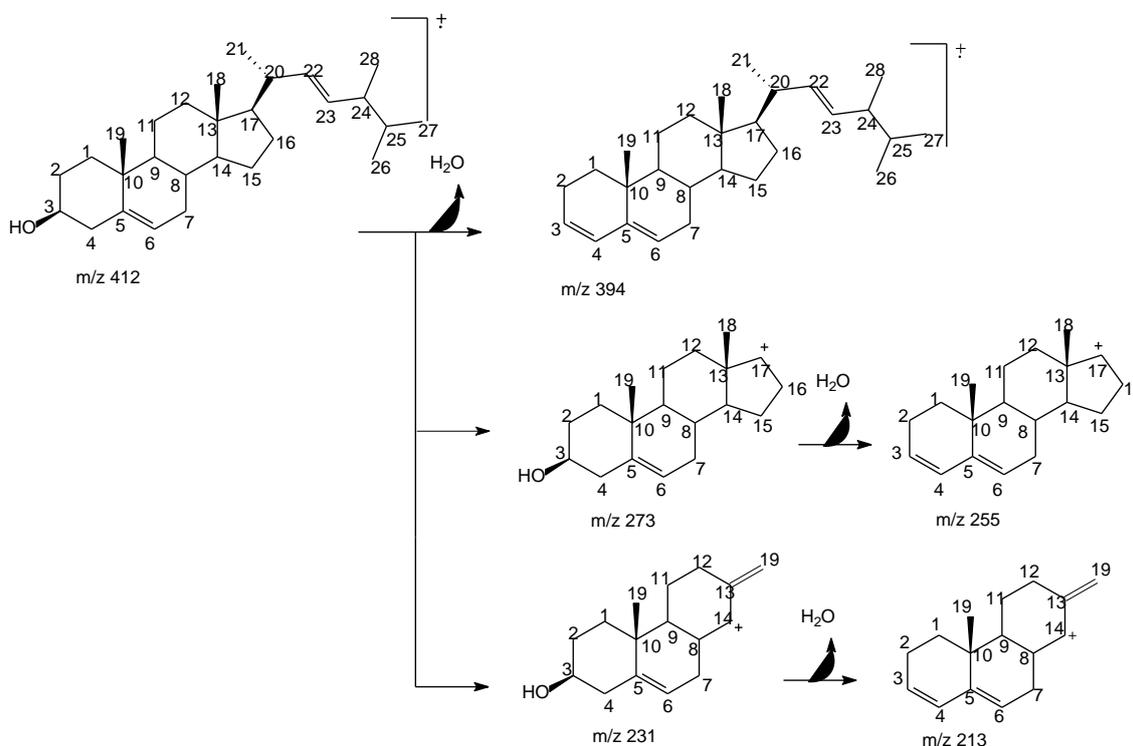


Figura 255: Espectro de Massas do esteroide **XVIII**.



Esquema 15: Proposta de fragmentação para o esteroide **XVIII**.

O pico cromatográfico com o tempo de retenção de 19,2 min. apresentou um espectro de massas (**Figura 256, p. 317**) com sinal em $m/z = 400$ Daltons que coincide com o valor referente ao íon molecular do campesterol (**XVII**). A proposta de fragmentação do esteroide **XVII** é bastante similar à fragmentação dos esteroides β -sitosterol e estigmasterol, possuindo os mesmos íons $m/z = 273$ e 255 , provenientes da perda da cadeia lateral seguida da perda de uma molécula de água (**Esquema 16, p. 317**).

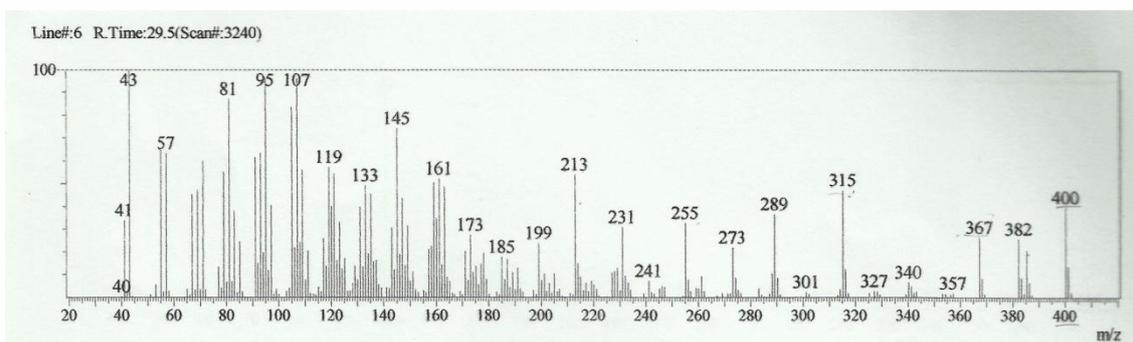
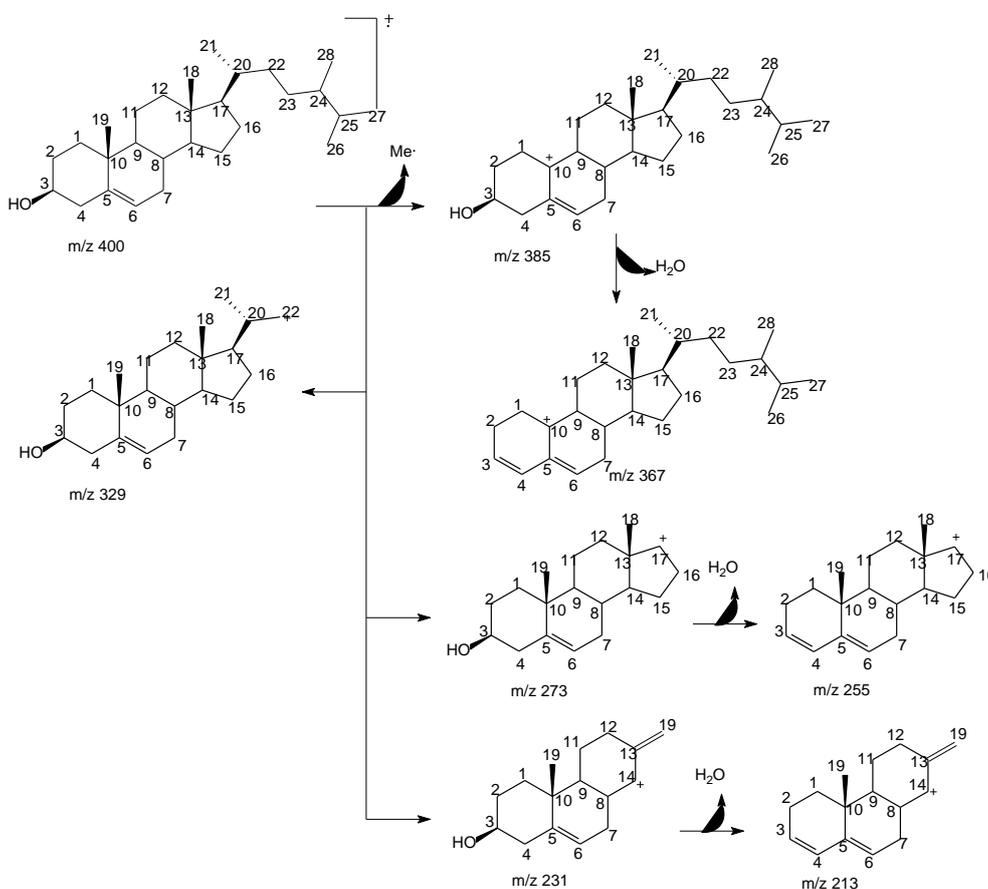


Figura 256: Espectro de Massas do esteroide **XVII**.

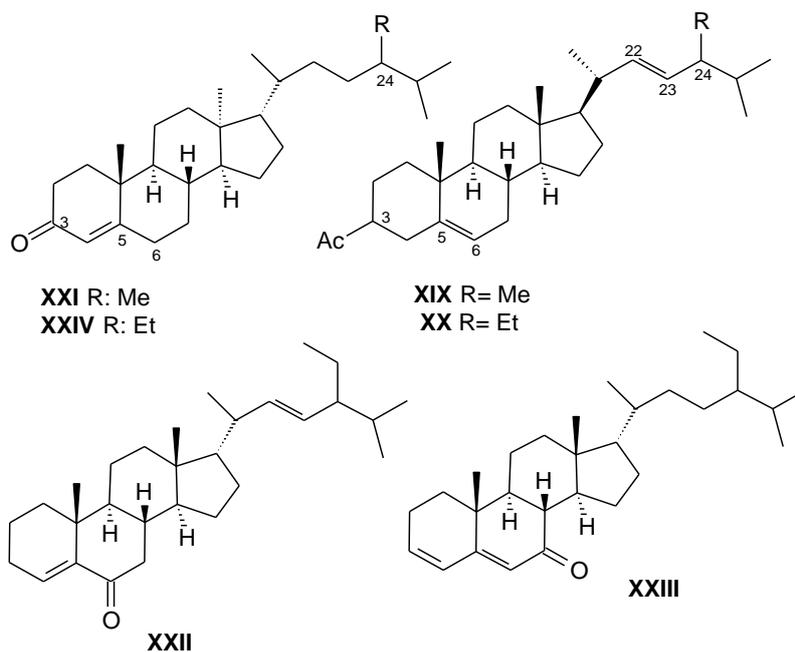


Esquema 16: Proposta de fragmentação para o esteroide **XVII**.

Tabela 39: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) da mistura das substâncias **XVI**, **XVII** e **XVIII** em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para a mistura dos esteroides β -sitosterol, estigmasterol e campesterol (Vieira, 1995).

C	XVI	[Vieira, 1995]	XVII	[Vieira, 1995]	XVIII	[Vieira, 1995]
	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c
1	37,3	37,2	37,3	37,2	37,3	37,2
2	31,9	31,9	31,9	31,9	31,9	31,9
3	71,8	71,8	71,8	71,8	71,8	71,8
4	42,3	42,3	42,3	42,3	42,3	42,3
5	140,8	140,7	140,8	140,8	140,8	140,7
6	121,7	121,7	121,7	121,7	121,7	121,7
7	33,7	33,7	33,9	33,7	33,7	33,7
8	31,9	31,9	31,9	31,9	31,9	31,9
9	50,1	50,1	50,1	50,1	50,1	50,1
10	36,2	36,1	36,2	36,2	36,2	36,1
11	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1	21,1
12	39,8	39,8	39,8	39,8	39,8	39,8
13	42,3	42,3	42,3	42,3	42,3	42,3
14	56,8	56,8	56,8	56,8	56,8	56,8
15	24,3	24,3	24,4	24,4	24,3	24,3
16	29,0	28,9	29,0	28,9	29,0	28,9
17	56,0	56,0	56,0	56,0	56,0	56,0
18	12,1	12,1	12,3	12,3	12,1	12,1
19	19,4	19,4	19,4	19,4	19,4	19,4
20	39,7	39,7	39,7	39,7	39,7	39,7
21	18,8	18,8	20,6	20,5	15,4	14,1
22	32,4	32,4	138,4	138,3	32,4	32,4
23	26,0	26,1	129,3	129,5	31,6	31,6
24	45,8	45,8	51,2	51,2	45,8	45,8
25	29,1	29,0	31,9	31,9	31,9	31,9
26	20,2	20,2	21,2	21,2	21,2	21,2
27	19,8	19,8	19,8	19,8	20,2	20,2
28	23,1	23,1	25,4	25,4	18,2	18,2
29	11,9	11,8	12,0	11,9	-	-

5.2.6.2 Determinação Estrutural da Mistura das Substâncias XIX, XX, XXI, XXII, XXIII e XXIV



As substâncias foram obtidas do extrato hexânico da madeira de *Trichilia hirta*, apresentando-se como única mancha em CCDA utilizando vários sistemas de eluentes.

A análise por CG/EM (**Figura 263**) destas indicou a presença da mistura dos seis esteroides: acetato (3 β ,22*E*)-ergosta-5,22-dien-3-ol (**XIX**), acetato estigmastenona (**XX**), campestenona (**XXI**), (22*E*)-estigmasta-4,22-dien-6-ona (**XXII**), estigmasta-3,5-dien-7-ona (**XXIII**) e β -sitostenona (**XXIV**); apresentando as percentagens (%) de 3,54; 9,91; 13,67; 9,61; 7,02 e 56,25, respectivamente.

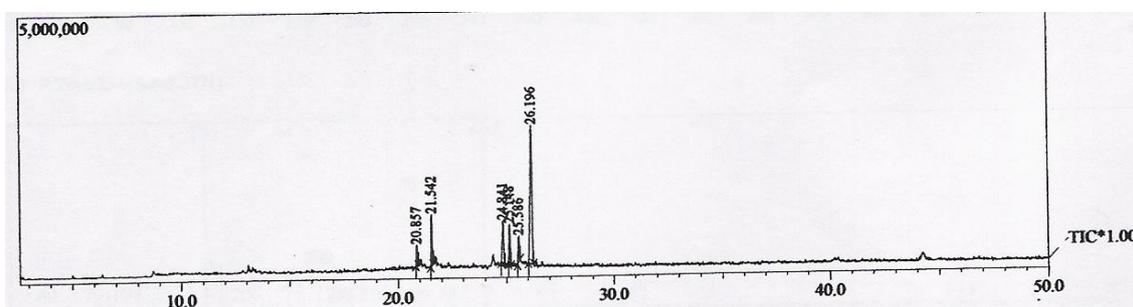


Figura 263: Cromatograma gasoso da mistura das substâncias XIX, XX, XXI, XXII, XXIII e XXIV.

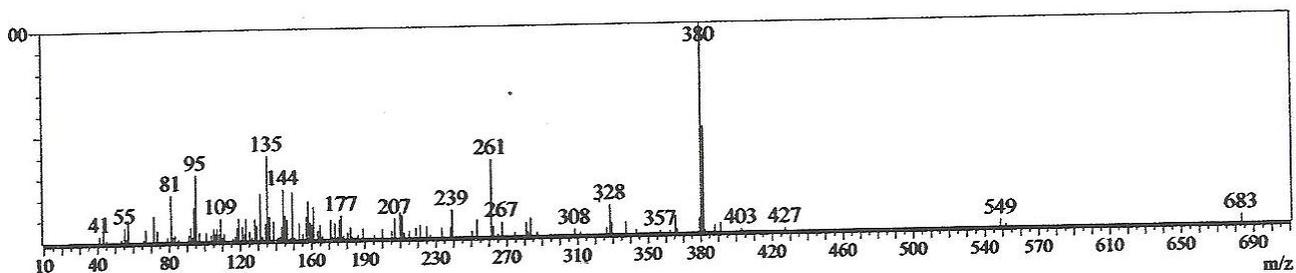
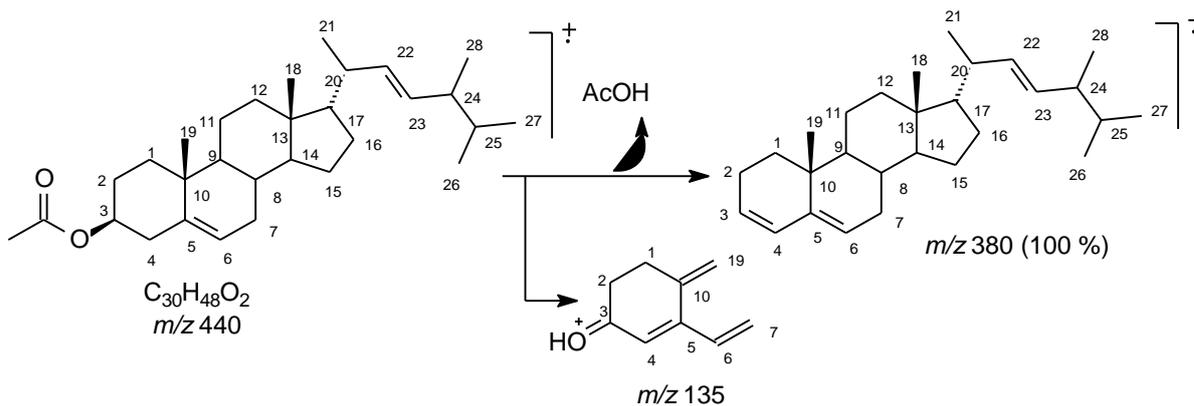


Figura 264: Espectro de Massas do esteroide XIX.



Esquema 17: Proposta de fragmentação dos principais íons do esteroide XIX.

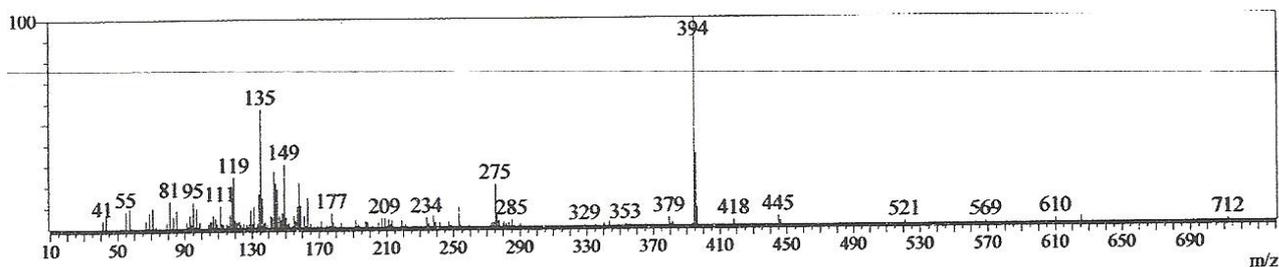
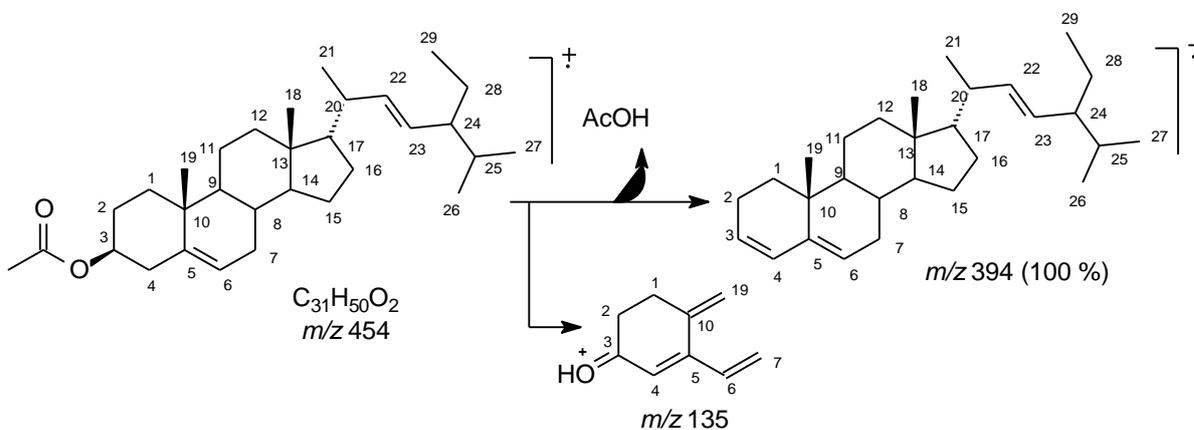


Figura 265: Espectro de Massas do esteroide XX.



Esquema 18: Proposta de fragmentação dos principais íons do esteroide XX.

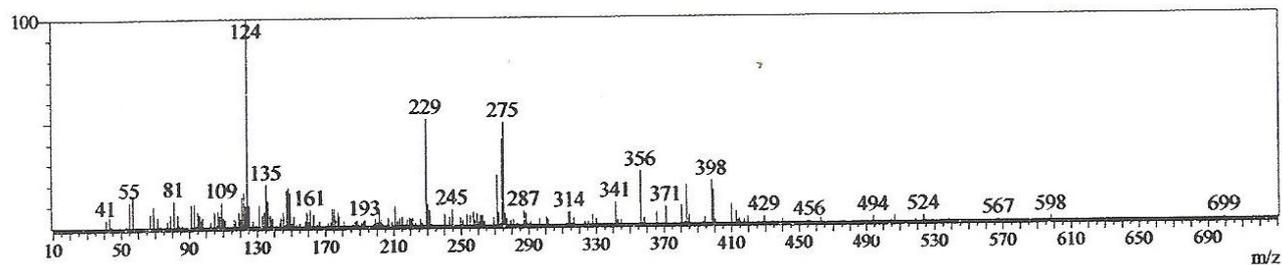
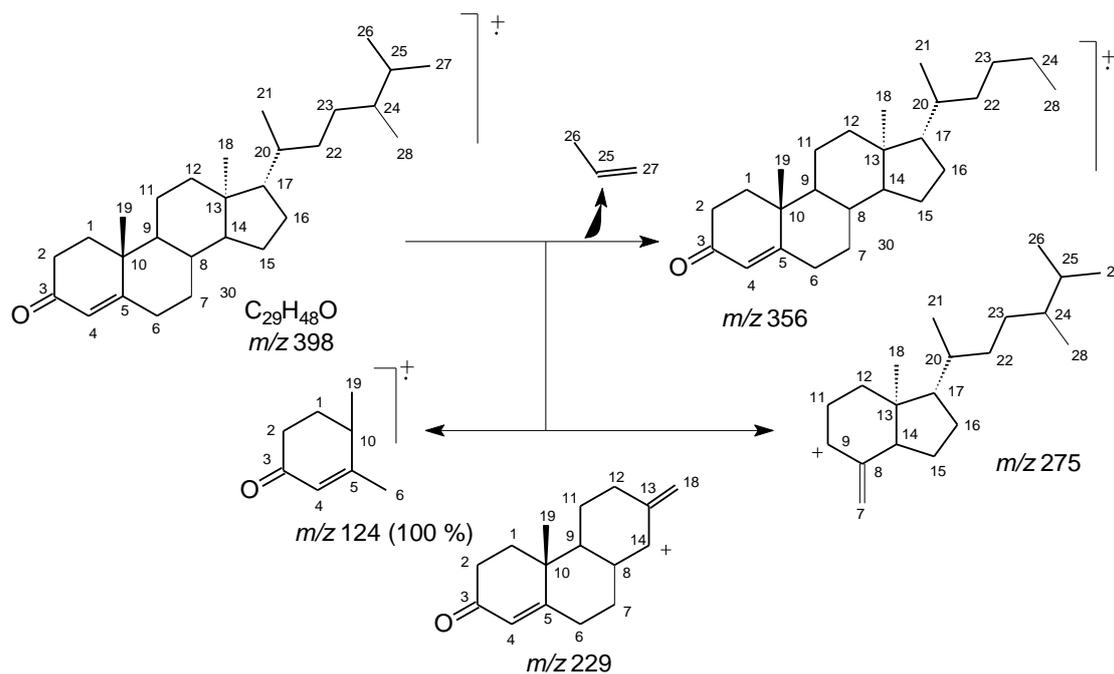


Figura 266: Espectro de Massas do esteroide XXI.



Esquema 19: Proposta de fragmentação dos principais íons do esteroide XXI.

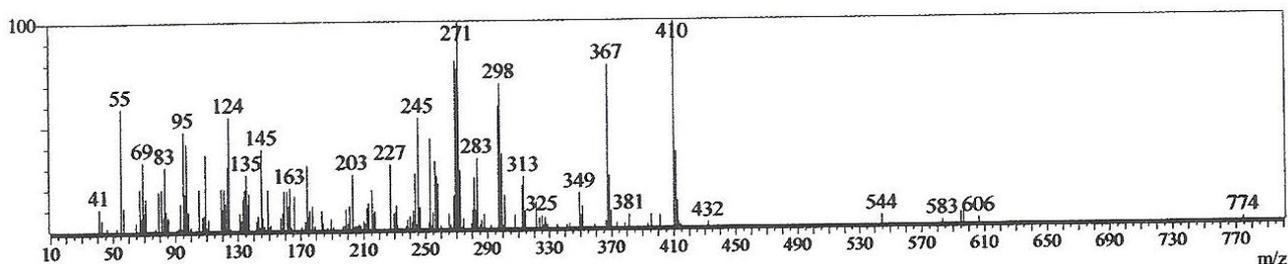
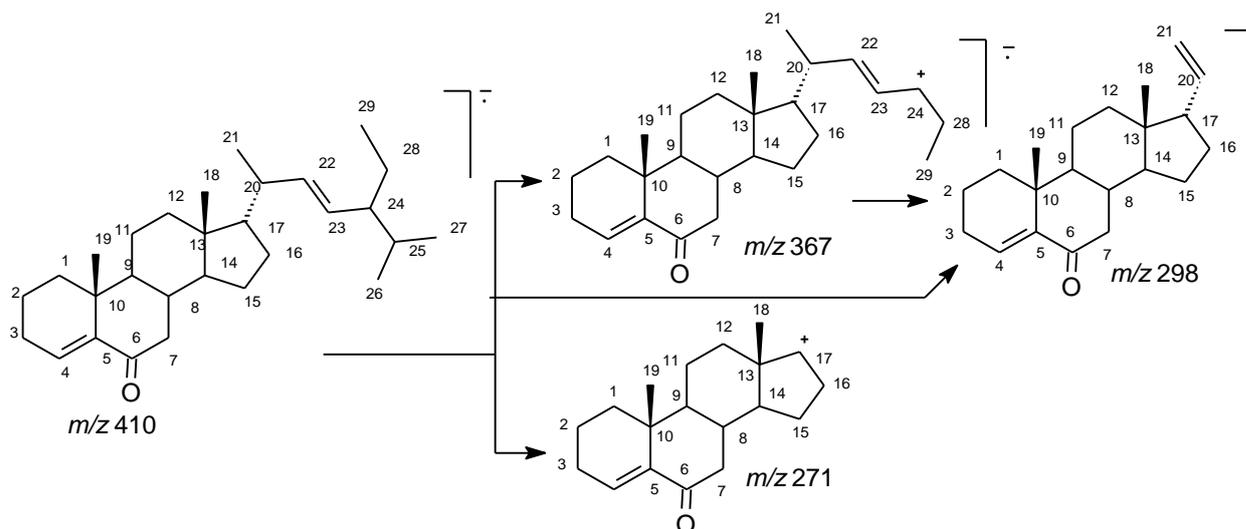


Figura 267: Espectro de Massas do esteroide XXII.



Esquema 20: Proposta de fragmentação dos principais íons do esteroide XXII.

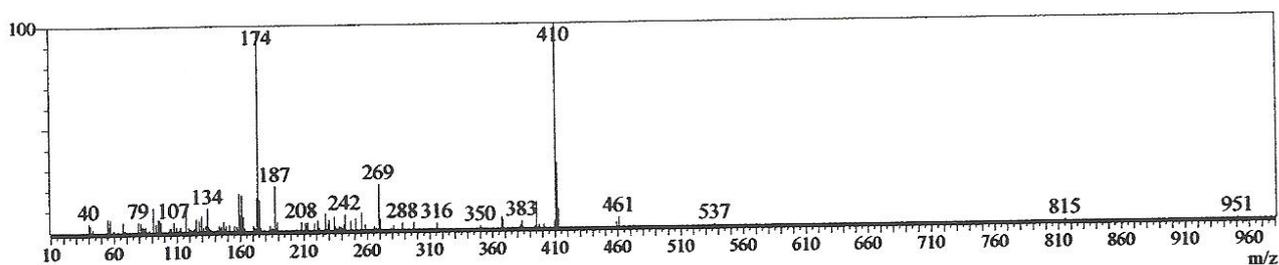
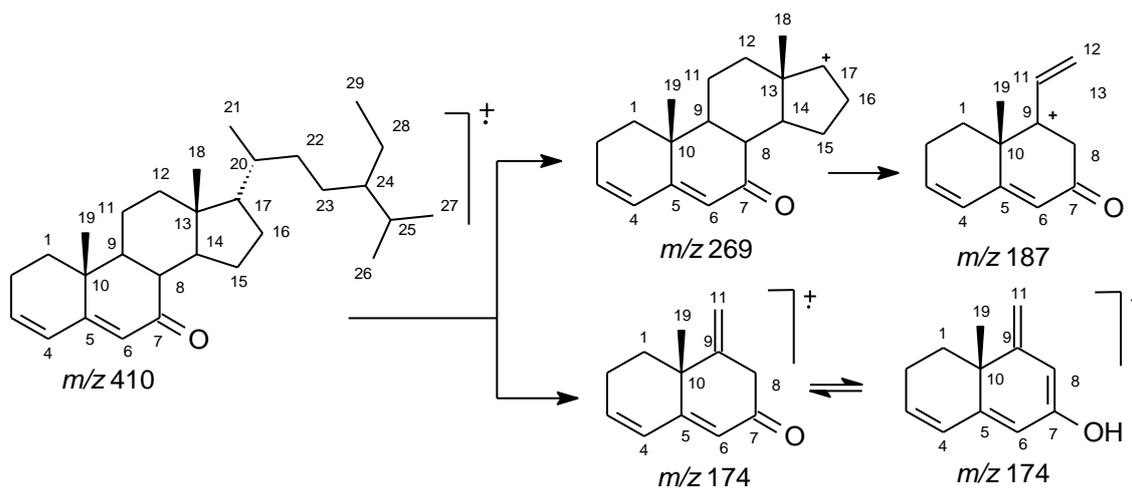


Figura 268: Espectro de Massas do esteroide XXIII.



Esquema 21: Proposta de fragmentação dos principais íons do esteroide XXIII.

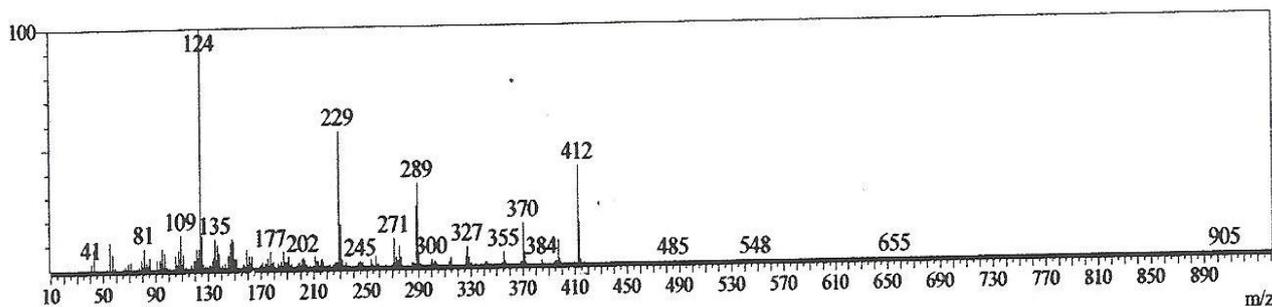
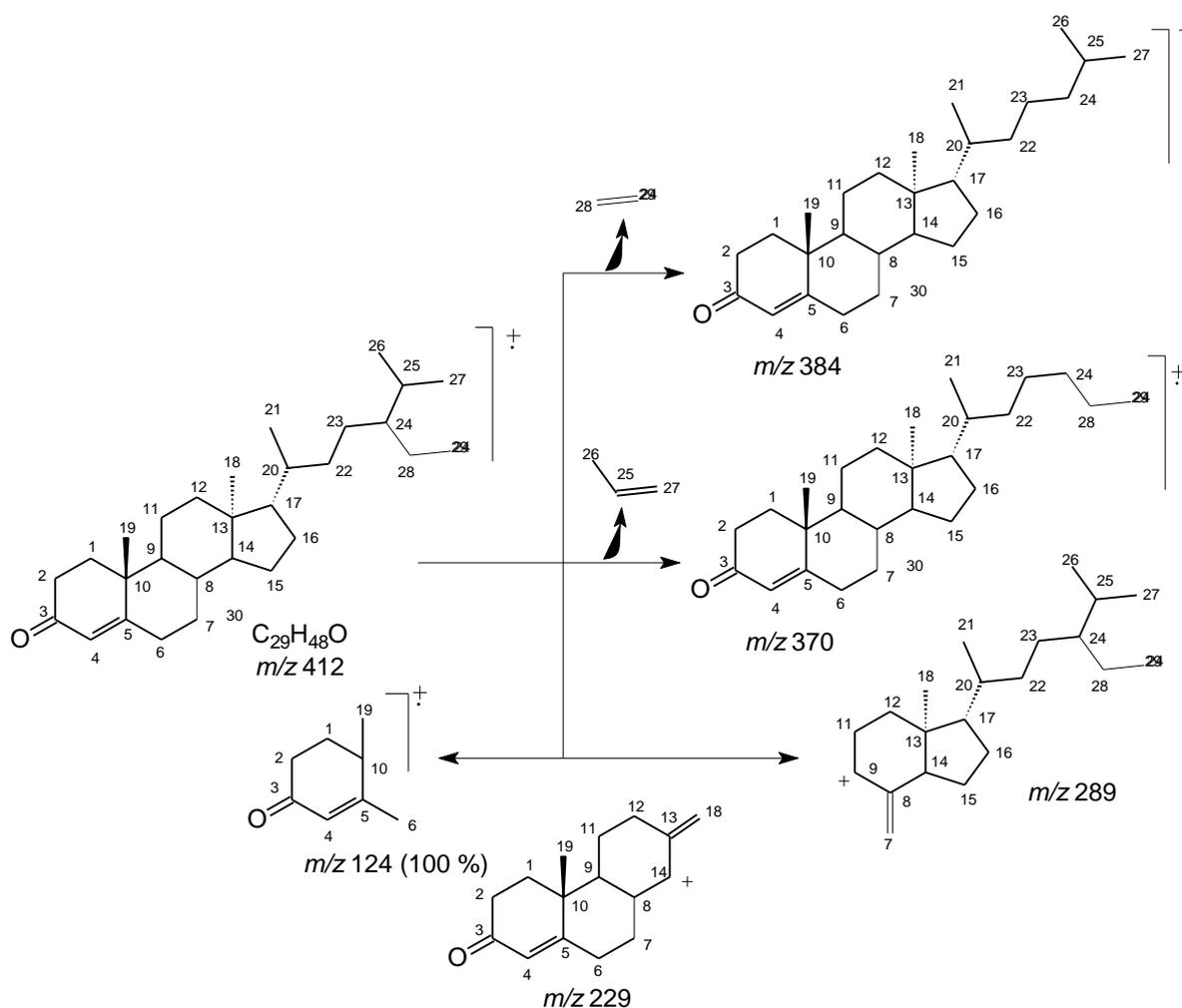


Figura 269: Espectro de Massas do esteroide XXIV.



Esquema 22: Proposta de fragmentação dos principais íons do esteroide XXIV.

A presença da ligação dupla na posição CH-4/C-5 pôde ser observada através dos deslocamentos em δ_c 123,8 e δ_c 173,4 para os átomos de carbono CH-4 e C-5, respectivamente, no espectro de RMN ^{13}C -DEPTQ (Figura 273, p. 334) além do deslocamento em δ_H 5,13 (s) representado no espectro de RMN 1H (Figura 270, p. 331).

Os dados fornecidos pelos espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C (**Figura 270, p. 331** e **Figura 272, p. 333**), permitiram uma completa atribuição dos sinais do esteróide β -sitostenona que se apresentou em maior quantidade na mistura (56,23%) com bastante coerência, além de comparação com os dados relatados na literatura para esse esteroide (Vieira, 1995).

Tabela 40: Dados de RMN ^1H (500 MHz) e RMN ^{13}C (125 MHz) do esteroide **XXIV** em CDCl_3 . Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento (J) em Hz, e comparação com valores de referência para o esteroide β -sitostenona (Vieira, 1995).

	XXIV	
		[Vieira, 1995]
	δ_c	δ_c
C		
3	-	200,1
5	173,4	172,5
10	35,7	36,1
13	39,7	42,7
CH		
4	123,8	123,8
8	35,7	35,8
9	50,0	54,0
14	56,0	55,9
17	56,7	56,1
20	36,2	36,3
24	45,8	45,9
25	29,3	29,3
CH₂		
1	38,2	38,8
2	34,7	34,1
6	31,9	32,1
7	31,8	32,0
11	21,0	21,2
12	39,6	39,8
15	24,3	24,3
16	29,5	29,3
22	34,0	34,0
23	26,0	26,2
28	23,1	23,3
CH₃		
18	12,0	12,2
19	17,4	17,5
21	18,8	18,9
26	19,8	19,2
27	18,3	18,6
29	11,9	12,2

6. CONCLUSÃO

Diante do atual levantamento bibliográfico, realizado aqui neste trabalho, foi possível comprovar um total de 380 diferentes substâncias isoladas e identificadas no gênero *Trichilia*, até Março de 2015. E o presente estudo fitoquímico da madeira, casca da madeira e frutos da espécie *T. hirta* veio para contribuir com a química deste gênero permitindo o isolamento e a identificação de vinte e quatro substâncias (destas, seis são inéditas na literatura, até o momento) sendo três limonoides, três protolimonoides, três triterpenos, quatro ésteres, dois diterpenos e nove esteroides; além de cinco novos derivados acetilados, sendo três limonoides e dois protolimonoides.

Os limonoides são eles: 6-hidroxi-11 β -acetoxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila (**I**) e 6-hidroxi-11 β -propanoiloxi-12 α -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-14 β ,15 β -epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila (**II**), obtidos como mistura e marcocurcino (**III**); os protolimonoides: (21*R*)-21,25-dimetoximelianodiol (**IV**) e (21*S*)-21,25-dimetoximelianodiol (**V**), obtidos como mistura e nilocitina (**VI**); os triterpenos: 15 α -cloro- β -amirona (**VII**), β -taraxerol (**VIII**), taraxerona (**IX**); os ésteres: palmitato de 3-(2-metilpropanoiloxi)-2,2,4-trimetilpentila (**X**) e estearato de 3-(2-metilpropanoiloxi)-2,2,3-trimetilpentila (**XI**), obtidos como mistura e isobutirato

de 3-hidroxi-2,2,4-trimetilpentan-1-ila (**XII**) e isobutirato de 1-hidroxi-2,2,4-trimetilpentan-3-ila (**XIII**), obtidos como mistura; os diterpenos: (2*E*,6*Z*,10*Z*)-3,7,11,15-tetrametilhexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol (**XIV**) e (2*Z*,6*Z*,10*Z*)-3,7,11,15-tetrametilhexadeca-2,6,10,14-tetraen-1-ol (**XV**), obtidos como mistura e os esteroides: β -sitosterol (**XVI**), campesterol (**XVII**) e estigmasterol (**XVIII**), obtidos como mistura e acetato (3 β ,22*E*)-ergosta-5,22-dien-3-ol (**XIX**), acetato estigmasterol (**XX**), campestenona (**XXI**), (22*E*)-estigmasterol-4,22-dien-6-ona (**XXII**), estigmasterol-3,5-dien-7-ona (**XXIII**) e β -sitostenona (**XXIV**), obtidos como mistura. Somando-se a estes, os novos derivados acetilados das substâncias (**I**), (**II**), (**III**), (**IV**) e (**V**): (**I-Ac**), (**II-Ac**), (**III-Ac**), (**IV-Ac**) e (**V-Ac**), respectivamente.

Pelo melhor do nosso conhecimento, as substâncias (**II**), (**III**), (**VII**), (**X**), (**XI**) e (**XIII**) estão sendo relatadas pela primeira vez na literatura. E as substâncias (**IV**), (**V**), (**VIII**), (**IX**), (**XII**), (**XIV**), (**XV**), (**XIX**), (**XX**), (**XXI**), (**XXII**) e (**XXIII**) estão sendo descritas pela primeira vez no gênero *Trichilia*. Portanto, podemos somar às 380 substâncias, já descritas, 18 novas substâncias (sendo seis inéditas na literatura e doze inéditas no gênero *Trichilia*) totalizando 398 substâncias diferentes isoladas e identificadas neste gênero.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abreu, L.F. Estudo Fitoquímico de *Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. Allem. (Fabaceae). Dissertação de Mestrado. Campos dos Goytacazes-RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense, **2002**.

Ahmad, V.U; Rahman, A. *Handbook of natural products data*. Vol 2: Pentacyclic Triterpenoids. Elsevier. Amsterdam, **1994**

Azevedo, O.A. Constituintes químicos dos frutos de *Trichilia hirta* (Meliaceae). Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) – Campos dos Goytacazes – RJ. Laboratório de Química, Universidade Estadual do Norte Fluminense, **2013**.

Banerji, B., Nigam, S.K. Constituents of Meliaceae: a review. *Fitoterapia*, **1984**, 55, 336.

Bravatti, M.W.; Vieira, P.C.; Da Silva, M.F.G.F.; Fernandes, J.B.; Albuquerque, S. Triterpenoid constituents of *Raulinoa echinata*. *Journal of Natural Products*, **2002**, *65*, 562-565.

Braz-Filho, R. Contribuição da Fitoquímica para o Desenvolvimento de um País Emergente. *Quím. Nova*, **2010**, *33* (1): p.229.

Budzikiewicz, H.; Djerassi, C.; Williams, D. *Structure Elucidations of Natural Products*. Vol. 1: Alkaloids. Holden-Day, Inc., San Francisco – USA, **1964**.

Breitmaier, E.; Voelter, W. *Carbon-13 NMR Spectroscopy: High-Resolution Methods and Applications in Organic Chemistry and Biochemistry*. 3 ed. Weinheim, VCH, **1987**

Chan, W.R.; Taylor, D.R. Hirtin and Deacetylhirtin: New “Limonoids” from *Trichilia hirta*. *Chemistry Communications*, **1966**, *7*, 206-207.

Chang, H.M.; But, P.P.H. Pharmacology and Applications of Chinese *Materia Medica*. Singapore: World Scientific Publishing, **1986**, 2 v.

Chauret, D.C; Durst, T.; Arnason, J.; Sanches-Vindas, P.; Roman, L.S.; Poveda Keifer, P.A. Novel steroids from *Trichilia hirta* as indentified by nanoprobe INADEQUATE 2D-NMR spectroscopy. *Tetrahedron Letters*, **1996**, *37*, 7875-7878.

Cortez, D.A.G.; Vieira, P.C.; Fernandes, J.B.; Silva, M.F.G.F.; Ferreira, A.G. Limonoids from *Trichilia hirta*. *Phytochemistry*, **1992**, *31*, 625-628.

Dewick, P.M. *Medicinal Natural Products – A Biosynthetic Approach*. (2nd Ed.). John Wiley, Inc., New York - NY, **2001**

Di Stasi, L.C. Plantas Mediciniais: arte e ciência - um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora UNESP, **1996**, p.230.

Eldeen, I.M.S.; Heerden, F.R.V.; Staden; J.V. Biological activities of cycloart-23-ene-3,25-diol isolated from the leaves of *Trichilia dregeana*. *South African journal of botany*, **2007**, 73, 366-371.

Figueiredo, E.R. Estudo Fitoquímico de *Trichilia casarettii* e *Trichilia silvatica*. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Laboratório de Química da Universidade Estadual do Norte Fluminense, **2010**.

Gaspar, Lúcia. *Plantas medicinais*. Pesquisa Escolar Online, Fundação Joaquim Nabuco, Recife. Disponível em: <<http://basilio.fundaj.gov.br/pesquisaescolar/>>. Acesso em: 27/03/2015

Gonçalves, M.S. Constituintes Químicos de *Tabernaemontana catharinensis* (APOCYNACEAE). Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Campos dos Goytacazes – RJ, Laboratório de Química da Universidade Estadual do Norte Fluminense, **2011**.

Hantos, S.M.; Tripathy, S.; Alibhai, N.; Durst, T. Synthesis of trichiliasterones A and B-16-ketosteroids isolated from *Trichilia hirta* and *Trichilia Americana*. *Canada Journal Chemistry*, **2001**, 79, 1747-1753.

Hisham, A.; Ajitha Bai, M.D.; JayaKumar, G.; Nair, M.S.; Fujimoto, Y. Triterpenoids from *Dysoxylum malabaricum*. *Phytochemistry*, **2001**, 56, 331-334.

Ji, K.L.; Zhang, P.; Hu, H.B.; Hua, S.; Liao, S.G.; Xu, Y.K. Limonoids from the leaves and twigs of *Walsura yunnanensis*. *Journal Natural Products*, **2014**, 77, 1764-1769.

Kapoor, L.D. Handbook of Ayurvedic Medicinal plants. Boca Raton: CRC Press, **1990**.

Komane, B.M.; Olivier, E.I.; Viljoen, A.M. *Trichilia emetica* (Meliaceae) – A review of traditional uses, biological activities and Phytochemistry. *Phytochemistry Letters*, **2011**, *4*, 1-9.

Li, Y.G.; Luo, C.; Qian, C.; Chen, X.Z. Trimerization of aldehydes with one α -hydrogen catalyzed by sodium hydroxide. *Chemical Papers*, **2014**, *68*, 422-426.

Liu, C.P.; Xu, J.B.; Han, Y.S.; Wainberg, M.A.; Yue, J.M. Trichiconins A–C, Limonoids with New Carbon Skeletons from *Trichilia connaroides*. *Organic Letters*, **2014**, *16*, 5478-5481.

Mahato, S. B.; Kundu, A. P. ^{13}C NMR Spectra of Pentacyclic Triterpenoids – A compilation and some salient features”. *Phytochemistry*, **1994**, *37*, 1517-1575.

Malafrente, N.; Sanogo, R.; Vassallo, A; Tommasi, N.D.; Bifulco, G.; Piazz, F.D. Androstanes and pregnanes from *Trichilia emetica* ssp. *suberosa* J.J. de Wilde. *Phytochemistry*, **2013**, *16*, 437-442.

Marinho, A.M.R. Metabolismo secundário de fungos endofíticos do gênero *Penicillium* associados às plantas *Murraya paniculata* (Rutaceae) e *Melia azedarach* (Meliaceae). Dissertação (Doutor em Ciências) – São Carlos – SP, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, **2005**.

Matos, A.P. Busca de compostos inseticidas: Estudo de espécies do gênero *Trichilia* (Meliaceae). Tese (Doutorado em Ciências –Química Orgânica) São Carlos- SP, Universidade Federal de São Carlos- Instituto de Química, **2006**.

Mosqueta, I.S. Morfologia e desenvolvimento dos frutos, sementes e plântulas de *Cabralea canjerana* Vell. Mart., *Guarea kunthiana* A. Juss e *Trichilia catigua* A. Juss (Meliaceae- melioideae). Tese (Doutorado em ciências biológicas)- Rio claro-SP, Universidade Estadual Paulista- Instituto de Biociência, **1995**.

Musza, L.L.; Killar, L.M.; Speight, P.; Mcelhiney, S.; Barrow, C.J.; Gillum, A.M.; Cooper, R. Potent new cell adhesion inhibitory compounds from the root of *Trichilia rubra*. *Tetrahedron*, **1994**, *50*, 11369-11378.

Olea, R.S.G.; Roque, N.F. Análise de misturas de triterpenos por RMN ¹³C. *Química Nova*, **1990**, *13*, 278-281.

Patricio, P.C.; Cervi, A.C. O gênero *Trichilia* (Meliaceae) no estado do Paraná, Brasil, *Acta Biológica Paranaense*, **2005**, *34*, 27-71.

Pennigton, T.D. Flora da reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Meliaceae – *Floresta Neotropical*, **1981**, *28*, 1-470.

Pretsch, E, Bühlmann, P, Affolter, C. *Structure Determination of Organic Compounds: Tables of Spectral Data*, 1^a ed., Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany, **2000**, 93-199.

Pupo, M.T. Constituintes químicos de *Trichilia clausenii* (Meliaceae). Tese (Doutorado em Química) - São Carlos – SP, Universidade Federal de São Carlos - UFSCar, **1997**.

Rocha, W.C. Busca de substâncias bioativas em plantas amazônicas: *Adiscanthus fusciflorus* (Rutaceae), *Trichilia pallida* e *T. rubra* (Meliaceae). Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, São Carlos – SP, **2004**.

Rodriguez, B.; Caballero, C.; Ortego, F.; Castañera, P. A new tetranortriterpenoid from *Trichilia havanensis*. *Journal of Natural Products*, **2003**, *66*, 452-454.

Rodrigues, V.F. Estudo fitoquímico da espécie *Trichilia quadrijuga* (Meliaceae) e seu potencial antimicrobiano. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF, Campos dos Goytacazes – RJ, **2009**

Salles, L.R. Evolução de limonóides em Meliaceae e estudo fitoquímico de *Khaya senegalensis* (Meliaceae). Tese (doutorado em Química)- São Carlos - SP, Universidade Federal de São Carlos-UFSCar, **1995**.

Silverstein, R.M.; Webster, F.X.; Kiemle, D.J. *Identificação espectrométrica de Compostos Orgânicos* (7 Ed.). Rio de Janeiro, Brasil, **2007**.

Simmonds, M.S.J.; Stevenson, P.C.; Porter, E.A.; Veitch, N.C. Insect Antifeedant Activity of Three New Tetranortriterpenoids from *Trichilia pallida*. *Journal Natural Products*, **2001**, *64*, 1117-1128.

Simões, C.M.O.; Schenkel, E.P.; Gosmann, G. et al. *Farmacognosia: Da planta ao medicamento*. 4 ed. Florianópolis, SC: Editora da UFSC; Porto Alegre, RS: Editora da UFRS, **2002**.

Sosa, E.H.; Castejón, Y.M.; Duharte, A.B.; Portuondo, D.; Tamayo, V.; Quevero, H.J.M.; Manrique, C.E.M. Leukocyte-Stimulating Effect and Phytochemistry Screening of *Trichilia hirta* Extracts. *Journal of Medicinal Food*, **2011**, *14*, 1057 – 1059.

Tang, W.; Hioki, H.; Harada, K.; Kubo, M.; Fukuyama, Y. Antioxidant Phenylpropanoid-Substituted picatechins from *Trichilia catigua*. *Journal of Natural Products*, **2007**, *70*, 2010–2013.

Terra, W.S. Constituintes químicos de *Trichilia lepidota* (Meliaceae) e avaliação biológica frente a microrganismos e linhagens de células cancerígenas. Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) – Campos dos Goytacazes – RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, **2012**.

Tontsa, AT.; Mkounga, P.; Njyou, F.N.; Manautou, J.; Kirk, M.; Hultin, P.G.; Nkengfack, A.E. Rubescins A, B and C: New Havanensin Type Limonoids from Root Bark of *Trichilia rubescens* (Meliaceae). *Chemistry Pharmaceutical Bulletin*, **2013**, *61*, 1178-1183.

Tsamo, A.; Langat, M.K.; Nkouna, P.; Waffo, A.F.K.; Nkengfack, A.E.; Mulholland, D.A. Limonoids from the West African *Trichilia welwitschii* (Meliaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, **2013**, *50*, 368-370.

Vieira, I.J.C. Uma contribuição à química da família Simaroubaceae. Tese de Doutorado. São Carlos – SP, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, **1995**.

Vieira, I.J.C.; Azevedo, O.A.; Souza, J.J.; Braz-Filho, R.; Gonçalves, M.S.; Araújo, M.F. Hirtinone, a novel cycloartane-type triterpene and other compounds from *Trichilia hirta* L. (Meliaceae). *Molecules*, **2013**, *18*, 2589-2597.

Vieira, I.J.C.; Figueiredo, E.R.; Freitas, V.R.; Mathias, L.; Braz-Filho, R. Araújo, R.M. A new sesquiterpene from *Trichilia casareti* (Meliaceae). *American Journal of Analytical Chemistry*, **2010**, *1*, 70-72.

Vieira, I.J.C.; Terra, W.S.; Gonçalves, M.S.; Braz-Filho, R. Secondary Metabolites of the Genus *Trichilia*: Contribution to the Chemistry of Meliaceae Family. *American Journal of Analytical Chemistry*, **2014**, *5*, 91-121.

Wang, H.Y.; Wang, J.S.; Shan, S.M.; Wang, X.B.; Luo, J.; Yang, M.H.; Kong, L.Y. Chemical Constituents from *Trichilia connaroides* and Their Nitric Oxide Production and α -Glucosidase Inhibitory Activities. *Planta Médica*, **2013**, *79*, 1767-1774.

Wang, H.Y.; Wang, J.S.; Zhang, Y.; Luo, J.; Yang, M.H.; Wang, X.B.; Kong, L.Y. Inhibitory Effect of Four Triterpenoids from *Trichilia connaroides* on Nitric Oxide Production in Lipopolysaccharide-Stimulated RAW264.7 Cells. *Chemistry Pharmaceutical Bulletin*, **2013**, *61*, 1075-1080.

Xu, J.B.; Lin, Y.; Dong, S.H.; Wang, F.; Yue, J.M. Trichinenlides A–T, Mexicanolide-Type Limonoids from *Trichilia sinensis*. *Journal of Natural Products*, **2013**, *76*, 1872–1880.