

CONSTITUÍNTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Trichilia quadrijuga*
(MELIACEAE)

HADRIA MACHADO DO CARMO

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO – 2012

CONSTITUÍNTES QUÍMICOS ISOLADOS DE *Trichilia quadrijuga*
(MELIACEAE)

HADRIA MACHADO DO CARMO

Monografia apresentada ao Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do Grau de Licenciada em Química.

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

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO – 2012

HADRIA MACHADO DO CARMO

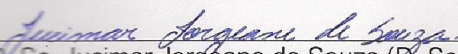
Constituintes químicos isolados de *Trichilia quadrijuga* (Meliaceae)

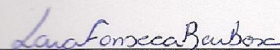
Monografia apresentada ao Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para a obtenção do Grau de Licenciada em Química.

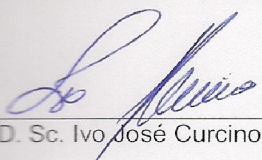
Campos dos Goytacazes, 15 de março de 2012.

Aprovada por:

BANCA EXAMINADORA:


Prof. D. Sc. Jucimar Jorgeane de Souza (D. Sc., Ciências Naturais) –IFF


M. Sc. Lara Fonseca Barbosa (M. Sc., Ciências Naturais) –UENF


Prof. D. Sc. Ivo José Curcino Vieira (D. Sc., Química Orgânica) –UENF
(Orientador)

***“A educação tem raízes amargas,
mas os seus frutos são doces.”***

Aristóteles

**Aos meus pais, João e Marilúcia,
pela confiança, amor e dedicação.
Aos meus irmãos, Cláudia e João Victor,
pelo incentivo e carinho.**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, por me guiar e me dar forças para realizar meus sonhos.

Ao professor Ivo José Curcino Vieira, pela oportunidade, orientação e paciência durante esta jornada.

Ao professor Raimundo Braz Filho, pela sua imensa colaboração na identificação das substâncias.

À Virginia Freitas Rodrigues, pelos ensinamentos, por sempre me atender a qualquer momento e, principalmente, pela amizade. Palavras são poucas para demonstrar minha gratidão durante todo este trabalho.

Aos amigos de laboratório: Lara Fonseca, Jucimar Jorgeane, Virgínia Freitas, Heloisa Alves, Amanda Azevedo, Marina Meireles, Michele Rocha, Wagner Terra, Milena Gonçalves, Vinícius Moreira, Marcelo Araújo, Jéssica Rohem, Elaine Figueiredo e Cecília Monnerat, obrigada pelo companheirismo, ensinamentos e pela ótima convivência dentro e fora do laboratório.

Às minhas amigas de república Aline Faria e Laura Côrtes, pela amizade, momentos de descontração e principalmente por me aturar nos momentos críticos.

Aos meus amigos Rodolfo Gonçalves, Marconi Sampaio, Juliana Contarini, Layse Campos, Flávia Neves, Gisele Teixeira e Clariana Nogueira, por me proporcionarem muitos momentos divertidos.

Aos meus pais: João e Marilúcia e aos meus irmãos: Cláudia e João Victor, pelo apoio, incentivo, confiança e amor.

SUMÁRIO

LISTA DE ESPECTROS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	xi
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE FLUXOGRAMAS.....	xiii
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVEATURAS.....	xiv
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivo geral.....	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	4
3.1. A família Meliaceae.....	4
3.2. O gênero <i>Trichilia</i>	6
3.2.1. Metabólitos secundários do gênero <i>Trichilia</i>	7
3.2.2. A espécie <i>Trichilia quadrijuga</i>	10
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	14
4.1. Materiais.....	14
4.2. Metodologia.....	15
4.2.1. Coleta do material.....	15
4.2.2. Preparação dos extratos brutos.....	15
4.2.3. Fracionamento cromatográfico do extrato EHTQ (27,29g)....	16
4.2.4. Análise da fração EHTQ-4 (4,55g).....	17
4.2.5. Análise da fração EHTQ-5 (1,84g).....	19
4.2.6. Análise da fração EHTQ-7 (1,97g).....	20
4.2.6.1 Análise da fração EHTQ-7.6 (992.5 mg).....	21
4.2.6.2 Análise da fração EHTQ-7.6.2 (809,0mg).....	22
4.2.7. Identificação das substâncias isoladas.....	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	24
5.1. Substâncias isoladas.....	24
5.2. Identificação da substância F-1.....	25

5.3. Identificação das substâncias F-2 E F-3.....	33
5.4. Identificação da substância F-4.....	42
6. CONCLUSÃO.....	53
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1. Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 do sesquiterpeno F-1.....	27
Espectro 2. Ampliação da região de δ_{H} 0,45 – 0,90 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 do sesquiterpeno F-1.....	28
Espectro 3. Ampliação da região de δ_{H} 1,00 – 1,30 do espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 do sesquiterpeno F-1.....	29
Espectro 4. Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz) em CDCl_3 do sesquiterpeno F-1.....	30
Espectro 5. Ampliação da região de δ_{C} 16 – 44 do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz) em CDCl_3 do sesquiterpeno F-1.....	31
Espectro 6. Ampliação da região de δ_{C} 60 – 150 do espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz) em CDCl_3 do sesquiterpeno F-1.....	32
Espectro 7. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da mistura de substância F-2 e F-3.....	36
Espectro 8. Ampliação da região de δ_{H} 0,60 – 1,16 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da mistura de substâncias F-2 e F-3.....	37
Espectro 9. Ampliação da região δ_{H} 3,00 – 5,36 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da mistura de substâncias F-2 e F-3.....	38
Espectro 10. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz) em CDCl_3 da mistura de substâncias F-2 e F-3.....	39
Espectro 11. Ampliação da região δ_{C} 71 – 140 do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 da mistura de substâncias F-2 e F-3.....	40
Espectro 12. Espectro de massa da mistura das substâncias F-2 e F-3.....	41
Espectro 13. Espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância F-4.....	45
Espectro 14. Ampliação da região δ_{H} 0,66 – 1,47 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância F-4.....	46
Espectro 15. Ampliação da região δ_{H} 1,25 – 2,27 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância F-4.....	47
Espectro 16. Ampliação da região δ_{H} 1,74 – 3,58 do espectro de RMN ^1H (400 MHz) em CDCl_3 da substância F-4.....	48

Espectro 17. Ampliação da região δ_H 3,48 – 7,27 do espectro de RMN ¹ H (400 MHz) em CDCl ₃ da substância F-4.....	49
Espectro 18. Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz) em CDCl ₃ da substância F-4..	50
Espectro 19. Ampliação da região δ_C 38 – 77 do espectro de RMN ¹³ C (100 MHz) em CDCl ₃ da substância F-4.....	51
Espectro 20. Espectro de massas da substância F-4.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Subfamílias e gêneros da família Meliaceae.....	4
Tabela 2. Atividades biológicas de extratos de <i>Trichilia</i>	7
Tabela 3. Extratos obtidos por maceração.....	15
Tabela 4. Estudo cromatográfico do extrato hexânico (27,29 g) das folhas de <i>Trichilia quadrijuga</i>	17
Tabela 5. Estudo cromatográfico das frações coletadas de EHTQ-4 (4,55 g)..	18
Tabela 6. Estudo cromatográfico das frações coletadas de EHTQ-5 (1,84 g)..	19
Tabela 7. Estudo cromatográfico das frações coletadas de EHTQ-7 (1,97 g)..	20
Tabela 8. Estudo cromatográfico das frações coletadas de EHTQ-7.6 (992,5 mg).....	21
Tabela 9. Estudo cromatográfico das frações coletadas de EHTQ-7.6.2 (809,0 mg).....	22
Tabela 10. Dados espectrais de RMN ¹ H (500 MHz) e ¹³ C (125 MHz) da substância F-1, em CDCl ₃ e comparação com os valores da literatura para a substância Espatulenol. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento entre parênteses estão em Hz.....	26
Tabela 11. Dados de RMN ¹³ C (100 MHz) em CDCl ₃ , deslocamentos químicos δ (ppm) das substâncias F-2 e F-3 comparados com valores de referência do modelo Mo-1 e Mo-2, respectivamente.....	35
Tabela 12. Dados espectrais de RMN ¹ H (400 MHz) e ¹³ C (100 MHz) da substância F-4, em CDCl ₃ e comparação com os valores da literatura (Mo-1) para a substância nilocitina. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento entre parênteses estão em Hz.....	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Meliacinas de <i>Azadirachta indica</i>	5
Figura 2. Unidade de isopreno.....	8
Figura 3. Triterpenos eufol (7) e tirucalol (8).....	8
Figura 4. Alguns triterpenos isolados de espécies do gênero <i>Trichilia</i>	9
Figura 5. Alguns sesquiterpenos isolados de espécies do gênero <i>Trichilia</i>	9
Figura 6. Alguns esteróides isolados de espécies do gênero <i>Trichilia</i>	10
Figura 7. Foto da espécie <i>Trichilia quadrijuga</i> (www.kew.org).....	11
Figura 8. Triterpenos isolados de <i>Trichilia quadrijuga</i>	11
Figura 9. Sesquiterpenos isolados de <i>Trichilia quadrijuga</i>	12
Figura 10. Fitoesteróides isolados de <i>Trichilia quadrijuga</i>	12
Figura 11. Esteróides pregnanos isolados de <i>Trichilia quadrijuga</i>	13
Figura 12. Substâncias isoladas de <i>Trichilia quadrijuga</i>	24

LISTA DE FLUXOGRAMAS

Fluxograma 1. Preparação dos extratos brutos das folhas de <i>Trichilia quadrijuga</i>	16
Fluxograma 2. Isolamento da substância F-1.....	18
Fluxograma 3. Isolamento da mistura das substâncias F-2 e F-3.....	20
Fluxograma 4. Isolamento da substância F-4.....	23

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

δ	Deslocamento químico em partes por milhão
APT	Attached Proton Test
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
CG/EM	Cromatografia gasosa/ Espectro de massas
d	Sinal duplo
dd	Sinal duplo duplete
ddd	Sinal duplo duplo duplete
dt	Sinal duplo tripleto
EHTQ	Extrato Hexânico das folhas de <i>Trichilia quadrijuga</i>
EMTQ	Extrato Metanólico das folhas de <i>Trichilia quadrijuga</i>
EM	Espectrometria de Massas
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamento
m	Multiplete
Me	Metila
Mo	Modelo
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
MHz	Megahertz
R _f	Índice de retenção
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
s	Sinal simpleto
sl	Sinal simpleto largo
t	Sinal tripleto
td	Sinal triplo duplete
UV	Ultravioleta

RESUMO

CARMO, Hadria Machado do; **Constituintes químicos isolados de *Trichilia quadrijuga* (Meliaceae)**. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Março de 2012. Prof. Orientador Ivo José Curcino Vieira.

A família Meliaceae é constituída de 51 gêneros que se distribuem entre as regiões tropicais e subtropicais dos dois hemisférios, sendo conhecida pela sua importância comercial devido à qualidade de suas madeiras e pelas diversas atividades biológicas atribuídas às suas espécies, principalmente a inseticida. O gênero *Trichilia*, pertencente à família Meliaceae, se destaca pela presença dos terpenóides (triterpenos, limonóides, esteróides e outros metabólitos oriundos da rota biossintética dos terpenos), sendo os limonóides considerados como os marcadores quimiotaxonômicos do gênero. A espécie *Trichilia quadrijuga* apresenta, na literatura, poucas referências quanto à composição química sendo, portanto, de grande interesse o presente trabalho. Através de técnicas cromatográficas foi possível isolar quatro substâncias: dois esteróides (β -sitosterol e estigmasterol), um sesquiterpeno (espatulenol) e um triterpeno (nilocitina). A elucidação destas substâncias foi determinada através de técnicas espectroscópicas: espectrometria de massas (EM) e de RMN ^1H e ^{13}C , que possibilitaram as atribuições dos sinais de ^1H e ^{13}C das substâncias que foram comparados com os valores encontrados na literatura.

ABSTRACT

CARMO, Hadria Machado do; **Constituintes químicos isolados de *Trichilia quadrijuga* (Meliaceae)**. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Março de 2012. Prof. Orientador Ivo José Curcino Vieira.

The Meliaceae family is constituted of 51 genera which distribute themselves among the tropical and subtropical regions of the two hemispheres, being recognized by its commercial importance due to the quality of its pieces of wood and by the biological activities attributed to its species, mainly the insecticide one. The *Trichilia* genus, which belongs to the Meliaceae family, distinguishes because of the presence of the terpenoids (triterpenes, limonoids, steroids and other metabolites originated from the biosynthetic pathway of the terpenes) – being the limonoids regarded as the chemotaxonomic markers of the genus. The species *Trichilia quadrijuga* presents, in the literature, few references concerning the chemical composition what makes the present work, therefore, of great interest. Through chromatographic techniques, it was possible to isolate four substances: two steroids (β -sitosterol and stigmasterol), a sesquiterpene (spathulenol) and a triterpene (nilocitine). The elucidation of these substances was determined through spectroscopic techniques: mass spectrometry (MS) and of $^1\text{H-NMR}$ and ^{13}C , which made possible the attributions of the signal ^1H and ^{13}C from the substances that were compared with the values found within the literature.

1 INTRODUÇÃO

A utilização de produtos naturais como recurso terapêutico é tão antiga quanto a civilização humana e, há muito tempo, produtos minerais, vegetais e animais constituem o arsenal terapêutico. Entretanto, com o desconhecimento sobre a biodiversidade das florestas tropicais, como a da Amazônia, o uso dos produtos naturais e plantas medicinais ainda são pequenos e escassos (CORDEIRO, et al, 2005).

O valor dos produtos naturais das plantas medicinais para a sociedade e para a economia de um país é incalculável. As plantas são muito importantes no descobrimento de novas drogas, pois servem como fornecedoras de princípio ativo ou como protótipo para produção de medicamentos semi-sintéticos ou sintéticos, baseados em compostos secundários das mesmas (GARCIA, 1995). Segundo o autor, um em cada quatro produtos vendidos nas farmácias é fabricado a partir de materiais extraídos de plantas das florestas tropicais ou de estruturas químicas derivadas desses vegetais.

O Brasil possui uma característica territorial muito diferente dos países industrializados, marcada, principalmente, pela sua imensa biodiversidade, sendo, portanto, ainda um celeiro para a busca de substâncias novas de interesse biológico ou não. Neste contexto, os pesquisadores desta área têm à mão a matéria prima mais abundante e diversificada do planeta (PINTO, et al, 2002).

Nos últimos anos tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas e isto pode ser claramente observado pelo aumento de trabalhos publicados nesta área. Com o desenvolvimento de novas técnicas espectroscópicas, os químicos orgânicos têm conseguido elucidar rapidamente estruturas moleculares complexas de constituintes naturais, até há pouco tempo difíceis de serem identificadas (FILHO & YUNES, 1998).

A família Meliaceae apresenta-se como uma das mais importantes famílias com espécies de grande interesse econômico, pois suas espécies são conhecidas pelo alto potencial madeireiro e pela produção de substâncias

bioativas (GOUVÊA, 2005). Apesar de ser uma das famílias produtoras de madeira economicamente mais importantes do mundo, sua taxonomia ainda não é satisfatoriamente definida (BARTH, 1998).

Levando-se em consideração a importância da diversidade química das substâncias a serem selecionadas para o descobrimento de um fármaco e o valor da natureza como fonte de novos medicamentos, a espécie *Trichilia quadrijuga* A. Juss., foi escolhida para ter sua composição química elucidada (RODRIGUES, 2009).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo geral isolar substâncias oriundas do metabolismo secundário da espécie *Trichilia quadrijuga*.

2.2 Objetivos específicos

- 1- Realizar o estudo da composição química da espécie;
- 2- Adquirir gradativa experiência nas técnicas de separação de substâncias orgânicas e,
- 3- Elucidar as estruturas das substâncias isoladas de *T. quadrijuga*,

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 A família Meliaceae

A família Meliaceae, pertence à Ordem Rurales e divide-se em quatro subfamílias: Swietenioideae, Melioideae, Quivisianthoideae, Capuronianthoideae (**Tabela 1**) (WATERMAN & GRUNDON, 1983).

Os 51 gêneros da família Meliaceae encontram-se distribuídos nas regiões tropicais e subtropicais de ambos os hemisférios, constituídos de aproximadamente 1400 espécies de árvores de grande porte (PUPO, 1997). No Brasil são encontrados os gêneros *Cabralea*, *Carapa*, *Cedrela*, *Guarea*, *Khaya*, *Swietenia* e *Trichilia* (TERRA, 2009), que são conhecidos principalmente pela qualidade de suas madeiras (mogno, cedro e canjerana) (PUPO, 1997; GOUVÊA, 2005).

Tabela 1. Subfamílias e gêneros da família Meliaceae.

Subfamílias	Tribos	Gêneros
Capuronianthoideae		<i>Capuronianthus</i>
Quivisianthoideae		<i>Quivisianthe</i>
Swietenioideae	Cedreleae	<i>Cedrela</i> , <i>Toona</i>
	Swietenieae	<i>Khaya</i> , <i>Neobeguea</i> , <i>Soymida</i> , <i>Chukrasia</i> , <i>Pseudocedrela</i> , <i>Entandrophragma</i> , <i>Schmardeae</i> , <i>Swietenia</i> , <i>Lovoa</i>
	Xylocarpeae	<i>Carapa</i> , <i>Xylocarpus</i>

Melioidae	Turraeeae	<i>Munronia, Naregamia, Turraea, Nymania, Humbertioturraea, Calodecaryia</i>
	Melieae	<i>Melia, Azadirachta</i>
	Vavaeeae	<i>Vavaea</i>
	Trichilieae	<i>Trichilia, Walsura, Pseudobersama, Pterorhachis, Cipadessa, Ekebergia, Lepidotrichilia, Owenia, Malleastrum, Astrotrichilia</i>
	Aglaieae	<i>Aglaia, Lansium, Aphanamixis, Reinwardtiodendron, Sphaerosacme</i>
	Guareeae	<i>Heckeldora, Cabralea, Ruagea, Turreanthus, Guarea, Chisocheton, Megaphyllaea, Synoum, Anthocarapa, Pseudocarap, Dysoxylum</i>
	Sandoriceae	<i>Sandoricum</i>

Dentre as diversas famílias botânicas, a família Meliaceae vem se destacando como fonte de produtos inseticidas, pois a maioria de suas espécies possui compostos com ação contra insetos e baixa toxicidade em relação a humanos (GONÇALVES, 2010). Os limonóides são os maiores representantes da classe dos terpenos com atividade inseticida, e são conhecidos como meliacinas. Sob esse aspecto, a planta mais estudada nesta família é a *Azadirachta indica* A. Juss, também conhecida como “nim”, que produz, entre outras substâncias inseticidas, os seguintes limonóides: azadiractina (1), 7-desacetil-17β-hidroxiadiradiona (2), Khayanolideo A (3), Khayanolideo B (4) e 1-cinamoilmelianona (5) (Figura 1) (JUNIOR, 2003; PITTA, 2010).

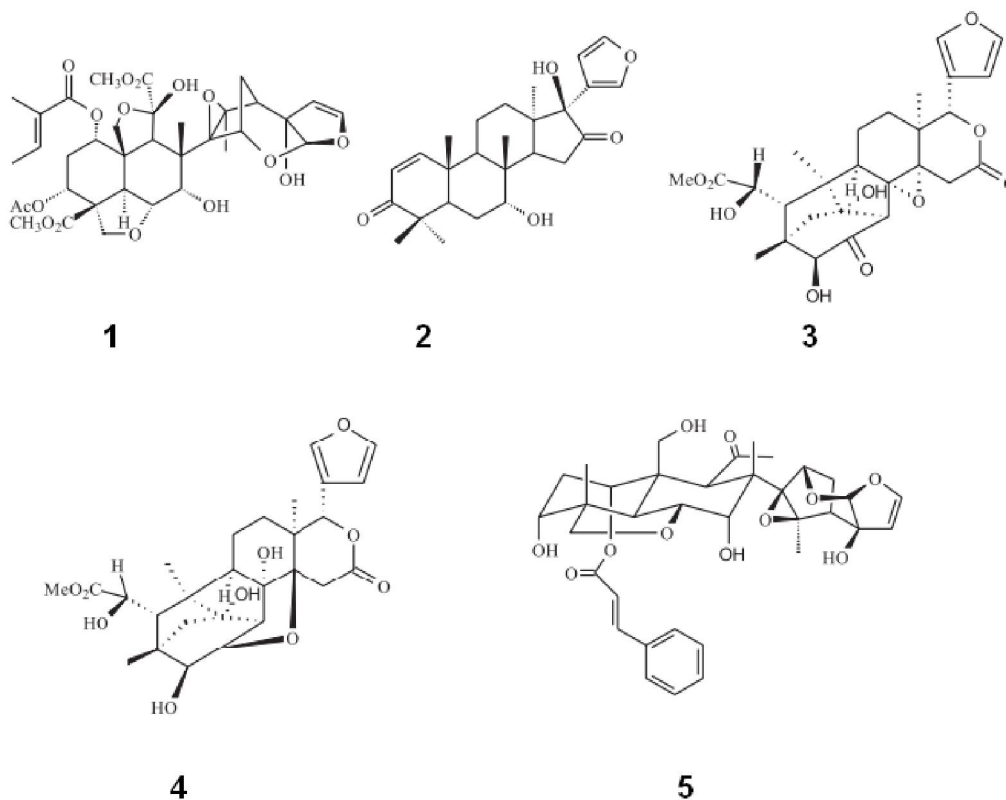


Figura 1. Meliacinas de *Azadirachta indica*

Os tetranortriterpenóides ou simplesmente limonóides, são derivados dos triterpenos tetracíclicos, sendo também considerados os marcadores quimiossistemáticos da família Meliaceae (PUPO, 1997; RODRIGUES, 2009).

3.2 O gênero *Trichilia*

O gênero *Trichilia*, pertence à família Meliaceae, à subfamília Melioideae e à tribo Trichilieae, é constituído de aproximadamente 70 espécies, sendo a maioria distribuída na América Tropical e, uma menor parte, na África e Indonésia. No Brasil, é geralmente encontrada na Amazônia (JUNIOR e MING, 2002) e com, aproximadamente, 43 espécies (RODRIGUES, 2009).

Este gênero possui um grande número de limonóides além de outros metabólitos oriundos da rota biossintética dos terpenos (TERRA, 2009), que

despertam grande interesse devido suas diversas atividades biológicas (**Tabela 2**) (PUPO,1997; RODRIGUES, 2009).

Tabela 2. Atividades biológicas de extratos de *Trichilia*

Espécie	Atividade
<i>T. pallida</i>	Controle de <i>Spodoptera frugiperda</i> (lagarta-do-cartucho-do-milho) e de <i>Tuta absoluta</i> (traça-do-tomateiro)
<i>T. connaroides</i> , <i>T. roka</i> , <i>T. prieuriana</i>	Atividade fago-inibidora contra <i>Spodoptera frugiperda</i> e <i>Acalymma vittalum</i>
<i>T. glabra</i>	Atividade antiviral sobre o vírus da pólio, estomatite e herpes simples
<i>T. catigua</i> A. Juss. (catuaba)	As cascas são utilizadas como tônico físico e mental
<i>T. heudelotti</i>	Atividade antimicrobiana
<i>T. roka</i>	Atividade antipirética
<i>T. rubra</i>	Atividade antiplaquetária
<i>T. emética</i>	Atividade antiplasmódica e antifúngica

Segundo Terra (2009), apenas vinte e seis espécies de *Trichilia* foram estudadas quimicamente até o ano de 2009, são elas: *T. americana*, *T. casarettii*, *T. catigua*, *T. claussenni*, *T. connaroides*, *T. cuneata*, *T. dregeana*, *T. elegans*, *T. estipulata*, *T. havanensis*, *T. heudelotti*, *T. hirta*, *T. hispida*, *T. lepidota*, *T. martiana*, *T. pallida*, *T. prieuriana*, *T. quadrijuga*, *T. ramalhoi*, *T. reticulata*, *T. roka*, *T. rubescens*, *T. rubra*, *T. schomburgkii*, *T. silvatica* e *T. trifolia*.

3.2.1 Metabólitos secundários do gênero *Trichilia*

Todas as substâncias formadas por unidades de isopreno (**6**) (molécula com 5 átomos de carbono) (**Figura 2**) são denominadas terpenos, e quando sofrem alguma modificação química como oxidação ou reorganização do esqueleto será denominados terpenóides (BOLZAN, 2007; DEWICK, 2009). Assim sendo, os esqueletos dos terpenóides são formados pela junção de um número variável de unidades de isopreno, sendo representados por $(C_5)_n$ e classificados como: hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), sesterterpenos (C_{25}), triterpenos (C_{30}) e tetraterpenos (C_{40}) (DEWICK, 2009).

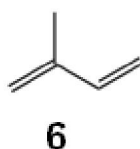


Figura 2. Unidade de isopreno

Os limonóides, conhecidos como tetranortriterpenóides, estruturalmente são derivados de triterpenos tetracíclicos dos tipos eufol (**6**) ou tirucalol (**7**) (**Figura 3**) (MATOS, 2006), através da perda de quatro átomos de carbono, oxidações e rearranjos moleculares (JUNIOR, 2009).

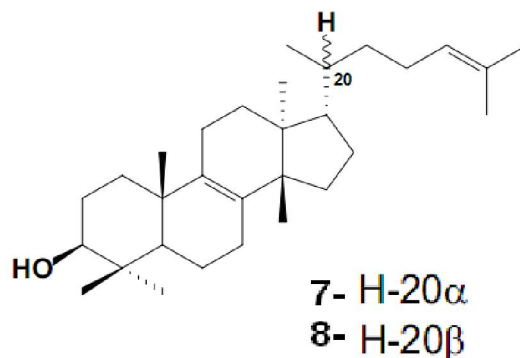


Figura 3. Triterpenos eufol (**7**) e tirucalol (**8**)

Estudos químicos sobre o gênero *Trichilia* proporcionaram o isolamento de vários metabólitos secundários, dentre alguns exemplos estão os triterpenos 24-metilenocicloarta-3- β -ol (**9**), 24-metilenocicloarta-3- β -26-diol (**10**) e cicloarta-23-eno-3- β -25-diol (**11**) (CUNHA, 2008) (**Figura 4**), os sesquiterpenos 14-hidroxi elemol (**12**), germacra-10(14)-em-9,11,15-triol (**13**), germacra-3,10(14)-

dien-9,11-diol-4-carbaldeído (14), β -eudesmol (15) e criptomeridiol (16) (MATOS, 2006) (Figura 5), e os esteróides 24-metileno-3,22-dihidroxicolesterol (17), 24-metilenocolesterol (18), 24-metileno-3 β ,4 β ,22-trihidroxicolesterol, (19) (CUNHA, 2008), β -sitosterol (20) e estigmasterol (21) (FIGUEIREDO, 2010) (Figura 6).

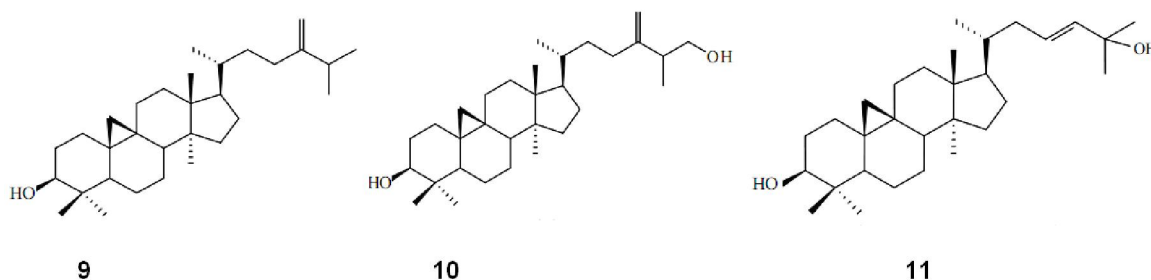


Figura 4. Alguns triterpenos isolados de espécies do gênero *Trichilia*

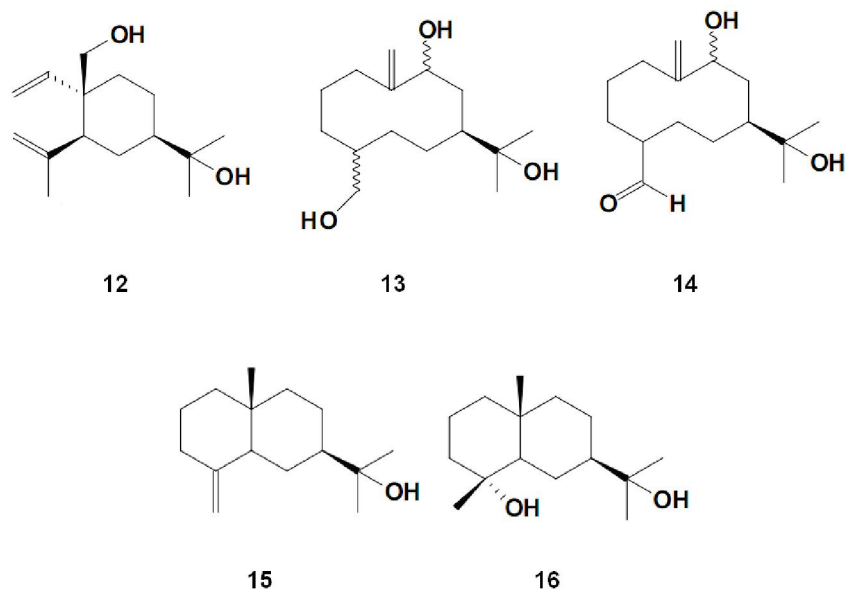


Figura 5. Alguns sesquiterpenos isolados de espécies do gênero *Trichilia*

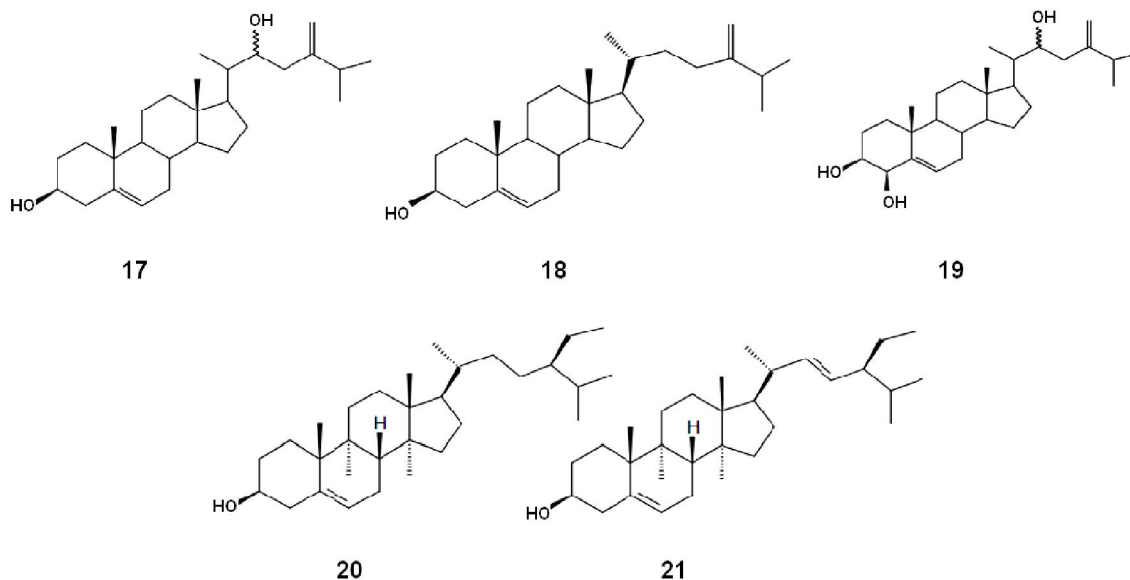


Figura 6. Alguns esteróides isolados de espécies do gênero *Trichilia*

3.2.2 A espécie *Trichilia quadrijuga*

Até o ano de 2009 a literatura não apresenta nenhum relato quanto à composição química e atividade biológica de *Trichilia quadrijuga* (**Figura 7**), o que torna de grande interesse o estudo fitoquímico da espécie. Sendo assim, Rodrigues (2009), expõe na literatura o primeiro estudo a respeito da composição química de *T. quadrijuga*, descrevendo um total de treze substâncias isoladas dos extratos das folhas e galhos da espécie. As substâncias isoladas foram separadas em:

Triterpenos (**Figura 8**): nilocitina (**22**), dihidronilocitina (**23**), piscidinol (**24**) e bourjotinolona B (**25**).

Sesquiterpenos (**Figura 9**): espatulenol (**26**), kuditidiol (**27**) e quadrijugol (**28**).

Fitoesteróides (**Figura 10**): sitosterol (**29**), estigmasterol (**30**), itesmól (**31**) e 3-O- β -glicopiranosil- β -sitosterol (**32**).

Esteróides pregnanos (**Figura 11**): 2 β ,3 β ,4 β -triidroxipregnan-16-ona (**33**) e 3 β ,4 β -dihidroxipregnan-16-ona (**34**) (RODRIGUES, et al, 2009).



Figura 7. Foto da espécie *Trichilia quadrijuga* (www.kew.org).

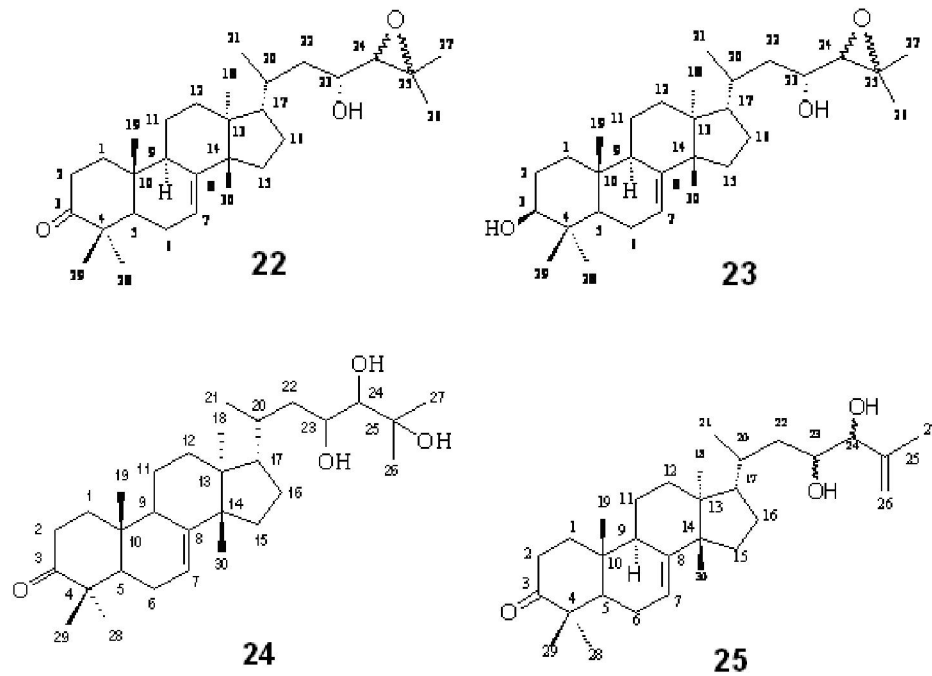


Figura 8. Triterpenos isolados de *Trichilia quadrijuga*

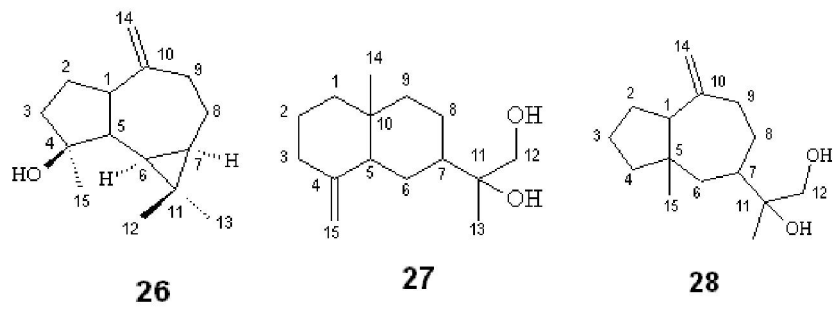


Figura 9. Sesquiterpenos aislados de *Trichilia quadrijugata*

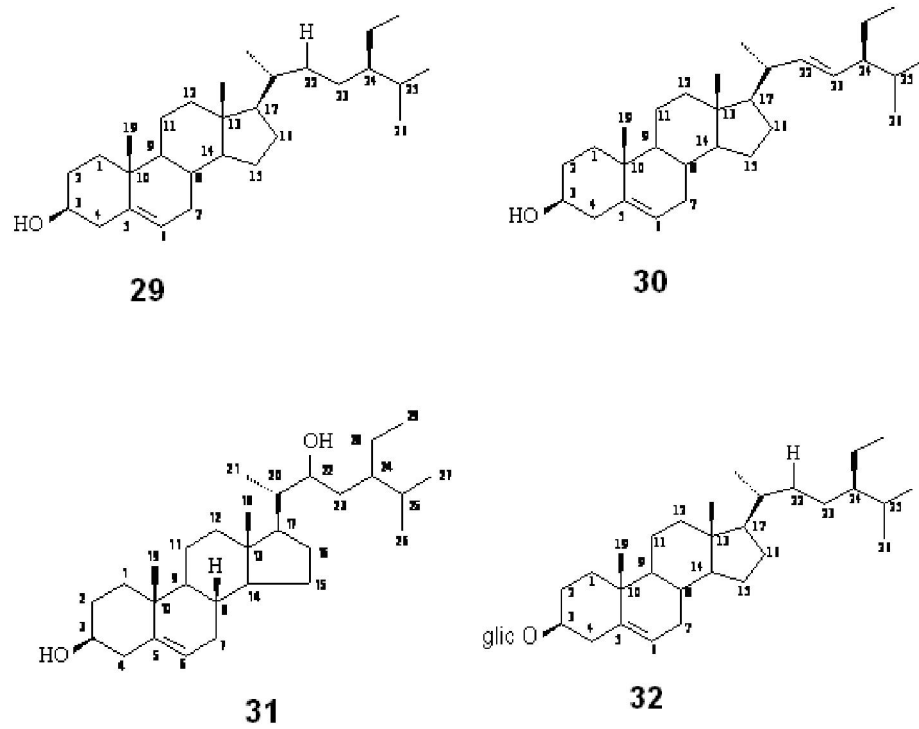


Figura 10. Fitoesteroides aislados de *Trichilia quadrijugata*

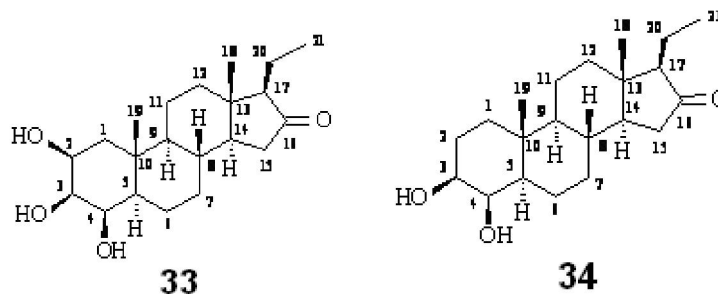


Figura 11. Esteróides pregnanos isolados de *Trichilia quadrijuga*

O esteróide itesmol (**31**), o triterpeno bourjotinolona B (**25**) e o sesquiterpeno Kuditiol (**27**) são descritos pela primeira vez na família Meliaceae. O sesquiterpeno quadrijugol (**28**) e o esteróide pregnano 3 β ,4 β -dihidroxipregnan-16-ona (**34**) são descritos pela primeira vez na literatura e, sendo assim, inéditos.

Quanto à atividade biológica, os extratos em acetato de etila (folhas e galhos) e o extrato butanólico (folhas) apresentaram-se promitentes em relação a atividade antimicrobiana sobre diferentes cepas de *Staphylococcus* (RODRIGUES, 2009).

4 PARTE EXPERIMENTAL

4.1 Materiais

Para moer o material vegetal foi utilizado o Moinho de Martelos da marca Nogueira com rotação de 4000 RPM;

Evaporador rotativo da Fisatom 802 para preparação dos extratos brutos;

Espectrômetro Jeol modelo Eclipse do Laboratório de Ciências Químicas da Universidade Estadual do Norte Fluminense, operando a uma frequência de 400 MHz para ^1H e 100 MHz para ^{13}C para registro dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear. Espectrômetro Brüker modelo DRX-500 do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da Universidade Federal do Ceará e da FIOCRUZ, operando a uma frequência de 500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C para registro dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear;

Para a realização dos espectros de RMN utilizou-se o solvente deuterado CDCl_3 da marca MERCK;

Para realização das separações cromatográficas em coluna foi utilizado Gel de sílica 60G (0,063-0,200 mm) da MERCK;

Gel de sílica 60 GF₂₅₄ da MERCK e placas de vidro 20x20 cm, 1 mm de espessura para cromatografia em camada delgada em escala preparativa;

Cromatofolhas de gel de sílica 60 F₂₅₄ da marca MERCK para análises comparativas através de cromatografia em camada analítica;

As cromatoplasmas foram reveladas através da radiação UV e/ou com o revelador universal de vanilina;

Os solventes utilizados nas análises cromatográficas, foram solventes P.A. das marcas SYNTH e VETEC;

Cromatógrafo gasoso CG/EM-QP-5050 SHIMADZU, acoplado ao espectrofotômetro de massas;

Balança analítica da marca QUIMIS tipo QIL A2104.

4.2 Metodologia

4.2.1 Coleta do material

O material botânico (folhas) da espécie vegetal *Trichilia quadrijuga* foi coletado próximo à reserva da Cia Vale do Rio Doce –Linhares (ES) em novembro de 2005, onde sua exsicata encontra-se depositada com o código CVRD-112.

4.2.2 Preparação dos extratos brutos

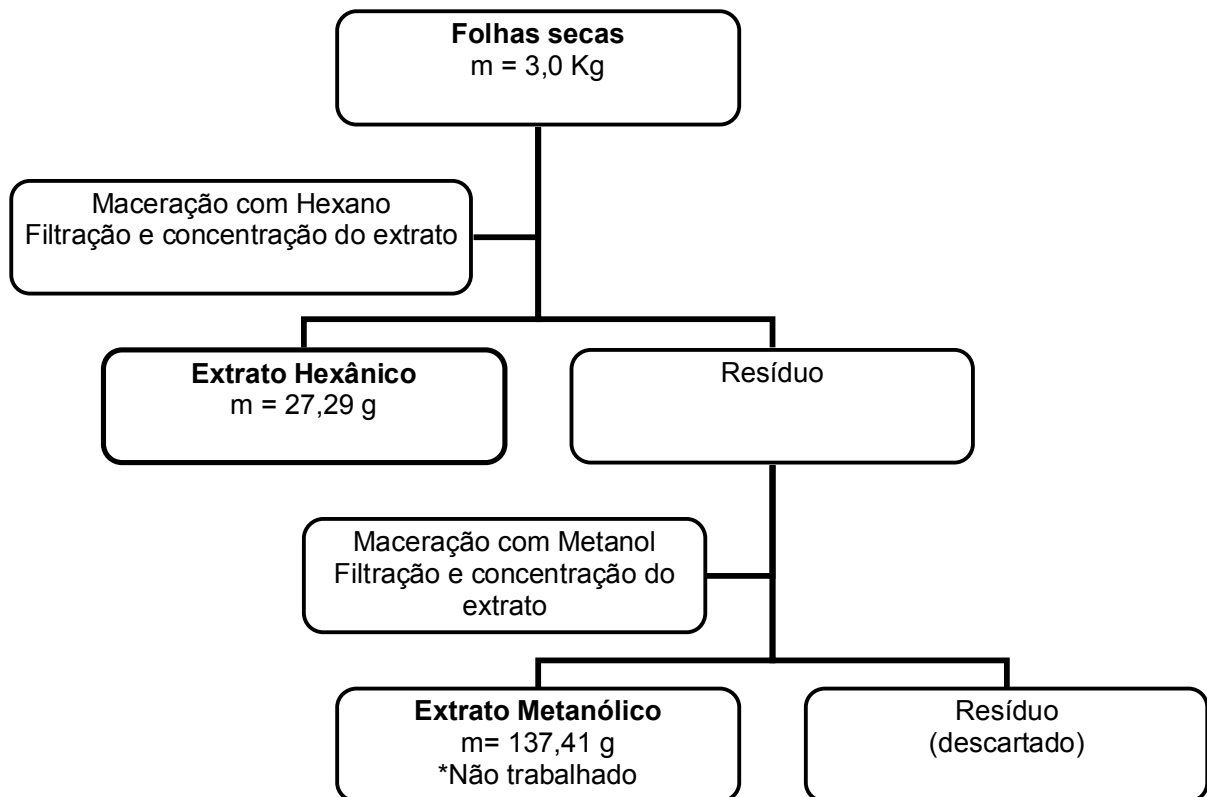
As folhas de *Trichilia quadrijuga* foram secas ao ar livre, e moídas em moinho de martelos, obtendo-se 3 kg de material seco.

A extração dos componentes químicos das folhas foi feita a frio, através do processo de maceração usando em ordem crescente de polaridade os solventes orgânicos: hexano e metanol. O processo foi repetido por três vezes para cada um dos tipos de solventes utilizados. As soluções obtidas foram destiladas a pressão reduzida em evaporador rotativo obtendo-se, então, os extratos brutos (**Tabela 3, fluxograma 1**).

Tabela 3. Extratos obtidos por maceração

Material	Peso seco	Solvente	Peso extrato	Código
Folhas	3 kg	Hexano	27,29 g	EHTQ
		Metanol	137,41 g*	EMTQ

*Extrato não trabalhado



Fluxograma 1. Preparação dos extratos brutos das folhas de *Trichilia quadrijuga*.

4.2.3 Fracionamento cromatográfico do extrato EHTQ (27,29 g)

O extrato hexânico EHTQ (27,29 g) foi submetido a uma cromatografia em coluna que foi inicialmente empacotada com gel de sílica e o solvente hexano. A coluna cromatográfica foi inicialmente eluída utilizando os solventes hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade até a concentração de acetato de etila 100%. Através deste procedimento foram obtidas 28 frações que, após análise por CCDA foram agrupadas em 11 novas frações. A **Tabela 4** mostra o estudo cromatográfico das frações coletadas.

Tabela 4. Estudo cromatográfico do extrato hexânico (27,29 g) das folhas de *Trichilia quadrijuga*

Frações reunidas	Código	Quantidade (g)	Substâncias
1 – 4	EHTQ-1	3,99	*
5 – 6	EHTQ-2	1,49	*
7 – 12	EHTQ-3	2,37	*
13 – 17	EHTQ-4	4,55	F-1
18 – 19	EHTQ-5	1,84	F-2 e F-3
20 – 21	EHTQ-6	2,11	*
22	EHTQ-7	1,97	F-4
23	EHTQ-8	1,97	*
24 – 25	EHTQ-9	2,03	*
26 – 27	EHTQ-10	1,65	*
28	EHTQ-11	0,12	*

*Frações não trabalhadas

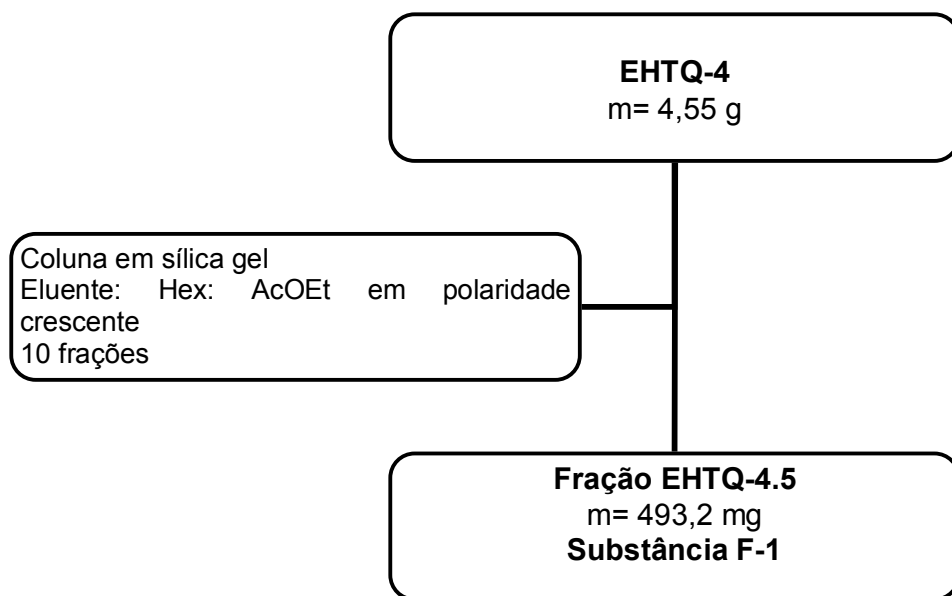
4.2.4 Análise da fração EHTQ-4 (4,55 g)

A fração EHTQ-4 foi fracionada em coluna cromatográfica empacotada com sílica gel, inicialmente eluída com hexano e com gradiente crescente de polaridade até a concentração de acetato de etila 100%, dando origem inicialmente a 25 frações. Através de análises em CCDA reveladas em vanilina, as frações que possuíam o mesmo R_f foram agrupadas em 10 novas frações, conforme a **Tabela 5**. A fração EHTQ-4.5, eluída com hexano:acetato de etila (9:1, v/v), apresentou-se pura na análise feita em CCDA revelada em vanilina, dando origem a primeira substância isolada, de código F-1 (493,2 mg) (**Fluxograma 2**).

Tabela 5. Estudo cromatográfico das frações coletadas de EHTQ-4 (4,55 g)

Frações reunidas	Código	Quantidade (mg)	Observações
1 - 4	EHTQ-4.1	51,0	*
5	EHTQ-4.2	18,7	*
6	EHTQ-4.3	19,8	*
7 - 9	EHTQ-4.4	156,9	contém F-1
10 - 12	EHTQ-4.5	493,9	F-1
13 - 15	EHTQ-4.6	494,5	contém F-1
16 - 19	EHTQ-4.7	467,2	*
20	EHTQ-4.8	127,7	*
21 - 22	EHTQ-4.9	429,6	*
23 - 25	EHTQ-4.10	199,5	*

*Frações não trabalhadas



Fluxograma 2. Isolamento da substância F-1.

4.2.5 Análise da fração EHTQ-5 (1,84 g)

A fração EHTQ-5 foi submetida a uma coluna cromatográfica de sílica gel com os solventes hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade. Inicialmente foi utilizado o hexano puro até a concentração de acetato de etila 100%. As 26 frações obtidas foram analisadas por CCDA e reveladas com vanilina, e as frações que apresentaram o mesmo Rf foram agrupadas em 7 novas frações (**Tabela 6**).

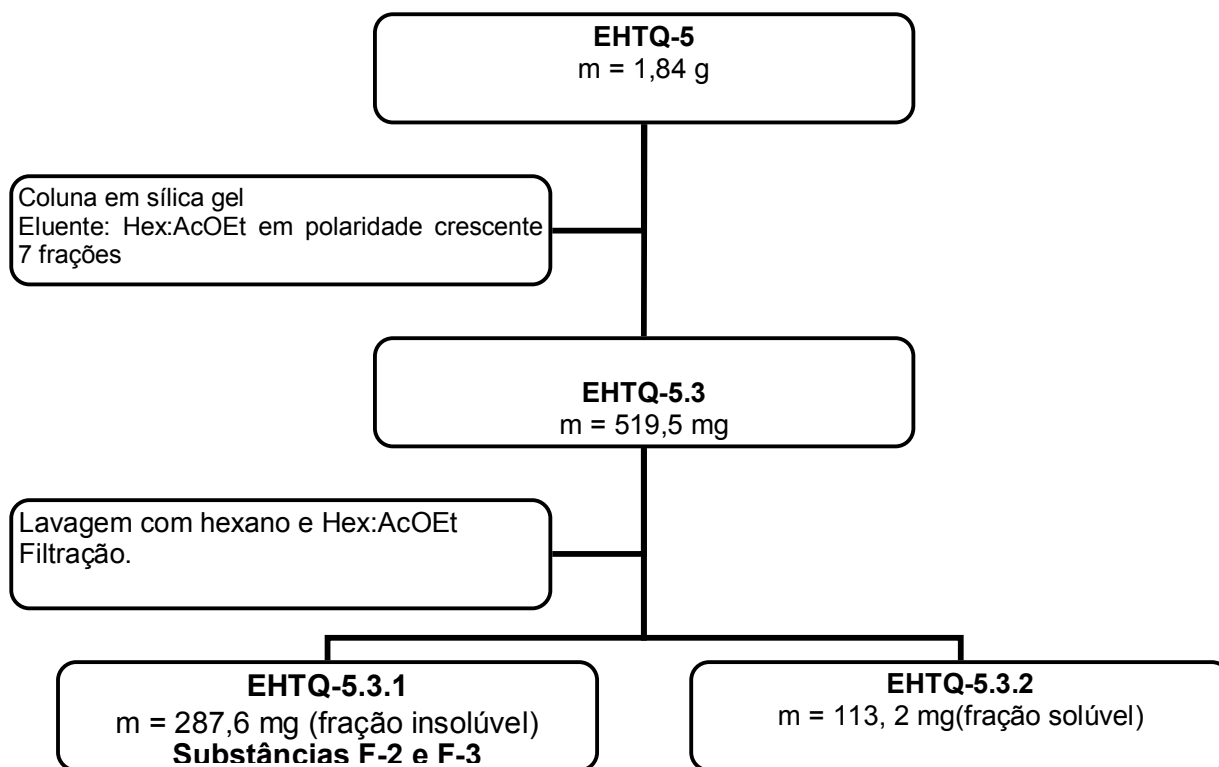
Tabela 6. Estudo cromatográfico das frações coletadas de EHTQ-5 (1,84 g)

Frações reunidas	Código	Quantidade (mg)	Observações
1 – 3	EHTQ-5.1	56,8	*
4 – 11	EHTQ-5.2	397,5	Contém F-2 e F-3
12 – 16	EHTQ-5.3	519,5	Contém F-2 e F-3
17 – 20	EHTQ-5.4	188,7	Contém F-2 e F-3
21 – 23	EHTQ-5.5	82,2	*
24 – 25	EHTQ-5.6	45,6	*
26	EHTQ-5.7	553,6	*

*Frações não trabalhadas

4.2.5.1 Lavagem da fração EHTQ-5.3 (519,5 mg)

A fração EHTQ-5.3, eluída com hexano:acetato de etila (9:1, v/v), apresentou-se semi-pura, sendo então, submetida a uma lavagem com mistura dos solventes hexano e acetato de etila em polaridades crescentes. Foi obtido um cristal em forma de agulhas que se apresentou puro em análise por CCDA revelada em vanilina. No entanto, as análises espectrais mostraram de que se tratam de uma mistura de duas substâncias, denominadas F-2 e F-3 (**Fluxograma 3**).



Fluxograma 3. Isolamento da mistura das substâncias F-2 e F-3.

4.2.6 Análise da fração EHTQ-7 (1,97 g)

A fração EHTQ-7 foi submetida a uma coluna cromatográfica empacotada com sílica gel em hexano, e eluída com os solventes hexano e acetato de etila em ordem crescente de gradiente até a concentração de acetato de etila 100%. As 51 frações obtidas foram analisadas por CCDA, sendo reveladas com vanilina, e as frações que apresentaram o mesmo R_f foram agrupadas em 9 novas frações (**Tabela 7**).

Tabela 7. Estudo cromatográfico das frações coletadas de EHTQ-7 (1,97 g)

Frações reunidas	Código	Quantidade (mg)	Observações
1 – 5	EHTQ-7.1	4,40	*
6 – 12	EHTQ-7.2	33,1	*
13 – 15	EHTQ-7.3	36,7	*

16 – 17	EHTQ-7.4	73,8	*
18	EHTQ-7.5	56,8	*
19 – 29	EHTQ-7.6	992,5	Contém F-4
30 – 41	EHTQ-7.7	514,0	*
42 – 44	EHTQ-7.8	43,9	*
45 - 51	EHTQ-7.9	52,8	*

*Frações não trabalhadas

4.2.6.1 Análise da fração EHTQ-7.6 (992,5 mg)

A fração EHTQ-7.6, eluída com hexano:acetato de etila (9:2, v/v), apresentou-se semi-pura, sendo então, submetida a uma nova coluna cromatográfica de sílica gel com os solventes hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade. Inicialmente foi utilizado o hexano puro até a concentração de acetato de etila 100%. As 61 frações obtidas foram analisadas por CCDA e reveladas com vanilina, e as frações que apresentaram o mesmo Rf foram agrupadas em 6 novas frações (**Tabela 8**).

Tabela 8. Estudo cromatográfico das frações coletadas de EHTQ-7.6 (992,5 mg)

Frações reunidas	Código	Quantidade (mg)	Observações
1 – 7	EHTQ-7.6.1	21,5	*
8 – 39	EHTQ-7.6.2	809,0	Contém F-4
40 – 44	EHTQ-7.6.3	52,1	*
45 – 54	EHTQ-7.6.4	42,3	*
55 – 60	EHTQ-7.6.5	23,8	*
61	EHTQ-7.6.6	30,1	*

*Frações não trabalhadas

4.2.6.2 Análise da fração EHTQ-7.6.2 (809,0 mg)

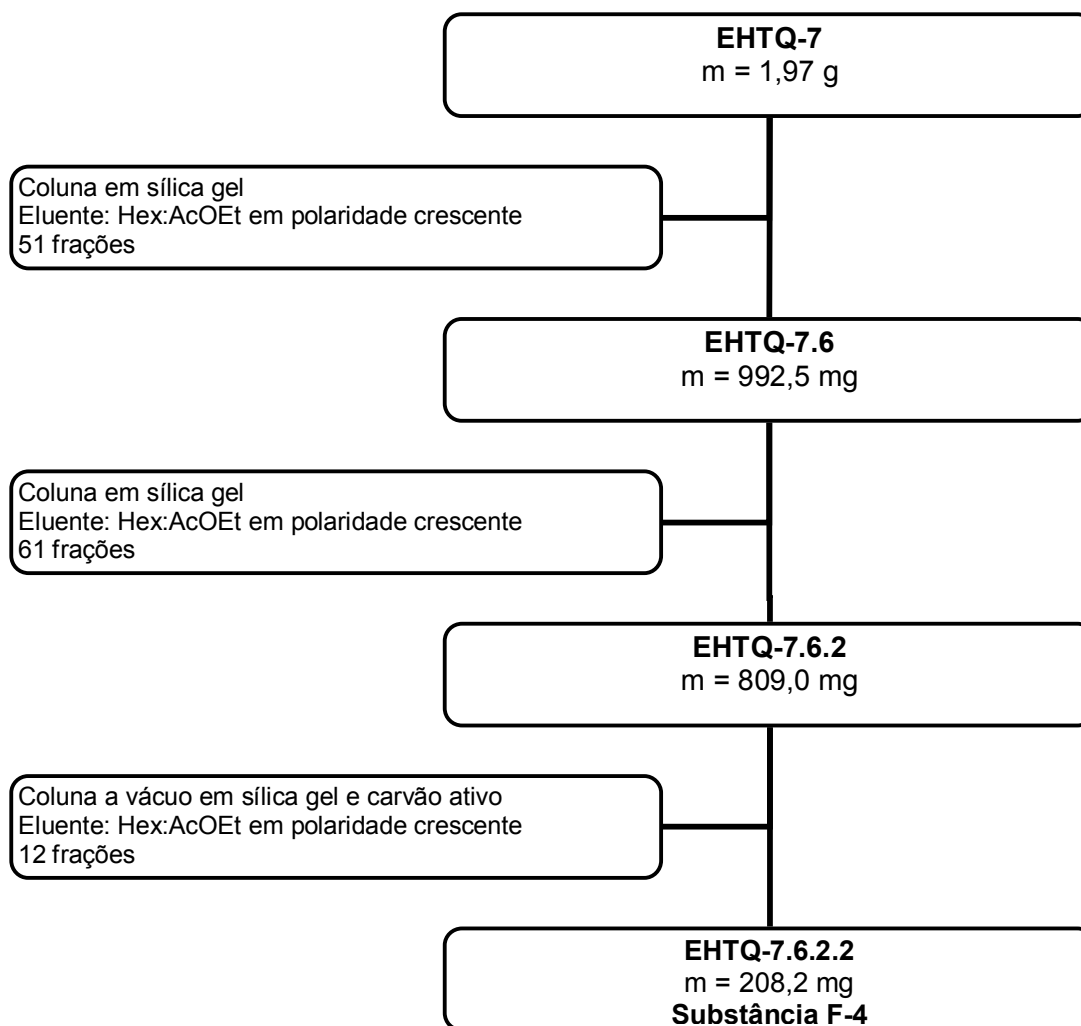
Das 6 frações obtidas, a fração EHTQ-7.6.2 foi submetida a uma coluna cromatográfica a vácuo empacotada com sílica gel e carvão ativo em camadas alternadas, eluindo com hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade. As 12 frações obtidas foram agrupadas através da análise em CCDA reveladas com vanilina, obtendo 5 novas frações (**tabela 9**), da qual a fração EHTQ-7.6.2.2 (208,2 mg) apresentou-se pura e foi denominada **F-4**.

Tabela 9. Estudo cromatográfico das frações coletadas de EHTQ-7.6.2 (809,0 mg)

Frações reunidas	Código	Quantidade (mg)	Observações
1 – 4	EHTQ-7.6.2.1	18,3	*
5 – 6	EHTQ-7.6.2.2	208,2	F-4
7	EHTQ-7.6.2.3	200,3	*
8 – 9	EHTQ-7.6.2.4	321,0	*
10 – 12	EHTQ-7.6.2.5	22,6	*

*Frações não trabalhadas

O **Fluxograma 4** exemplifica a análise da fração EHTQ-7 até chegar à substância isolada F-4.



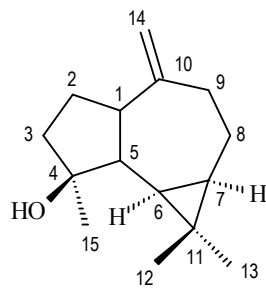
Fluxograma 4. Isolamento da substância F-4

4.2.7 Identificação das substâncias isoladas

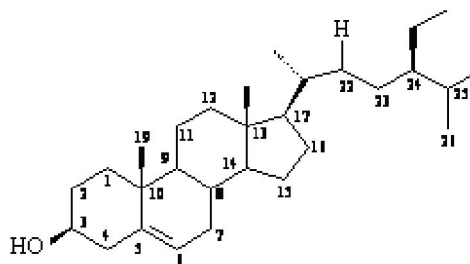
A pureza das substâncias foi avaliada através da técnica de cromatografia em camada delgada analítica revelada em revelador universal de vanilina. Os métodos cromatográficos e os métodos espectrométricos (ressonância magnética nuclear RMN ^1H e ^{13}C , e massas (EM)) comparados com dados da literatura foram utilizados na identificação das substâncias isoladas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

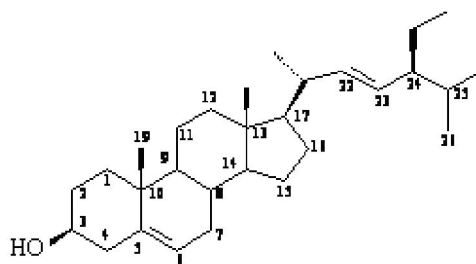
5.1 Substâncias isoladas



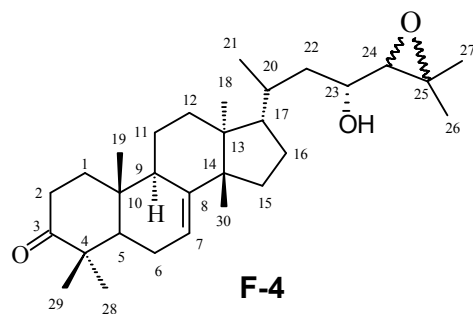
F-1



F-2



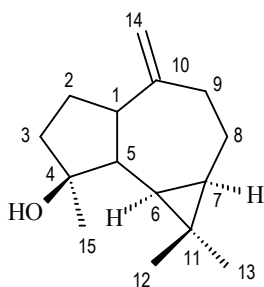
F-3



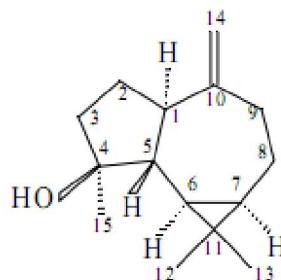
F-4

Figura 12. Substâncias isoladas de *Trichilia quadrijuga*

5.2 Identificação da substância F-1



F-1



Mo-1

A substância **F-1** apresentou-se como um óleo de cor amarelo claro, e quando revelada com vanilina sulfúrica sob radiação UV apresentou coloração violeta.

A análise do espectro de RMN ^{13}C -APT (**Espectros 4- 6, p. 30-32**) apresentou sinais característicos de um sesquiterpeno, assim apresentando 15 átomos de carbono, sendo três sinais para carbonos metílicos em δ_{C} 28,6 (CH_3 -12), 16,2 (CH_3 -13) e 26,0 (CH_3 -15), cinco sinais para carbonos metilênicos em δ_{C} 26,6 (CH_2 -2), 41,7 (CH_2 -3), 24,4 (CH_2 -8), 38,8 (CH_2 -9) e 106,2 (CH_2 -14), quatro sinais para carbonos metínicos em δ_{C} 53,3 (CH -1), 54,3 (CH -5), 29,4 (CH -6) e 27,5 (CH -7), e três sinais para átomos de carbono quaternários em δ_{C} 80,3 (C-4), 153,4 (C-10) e 20,2 (C-11).

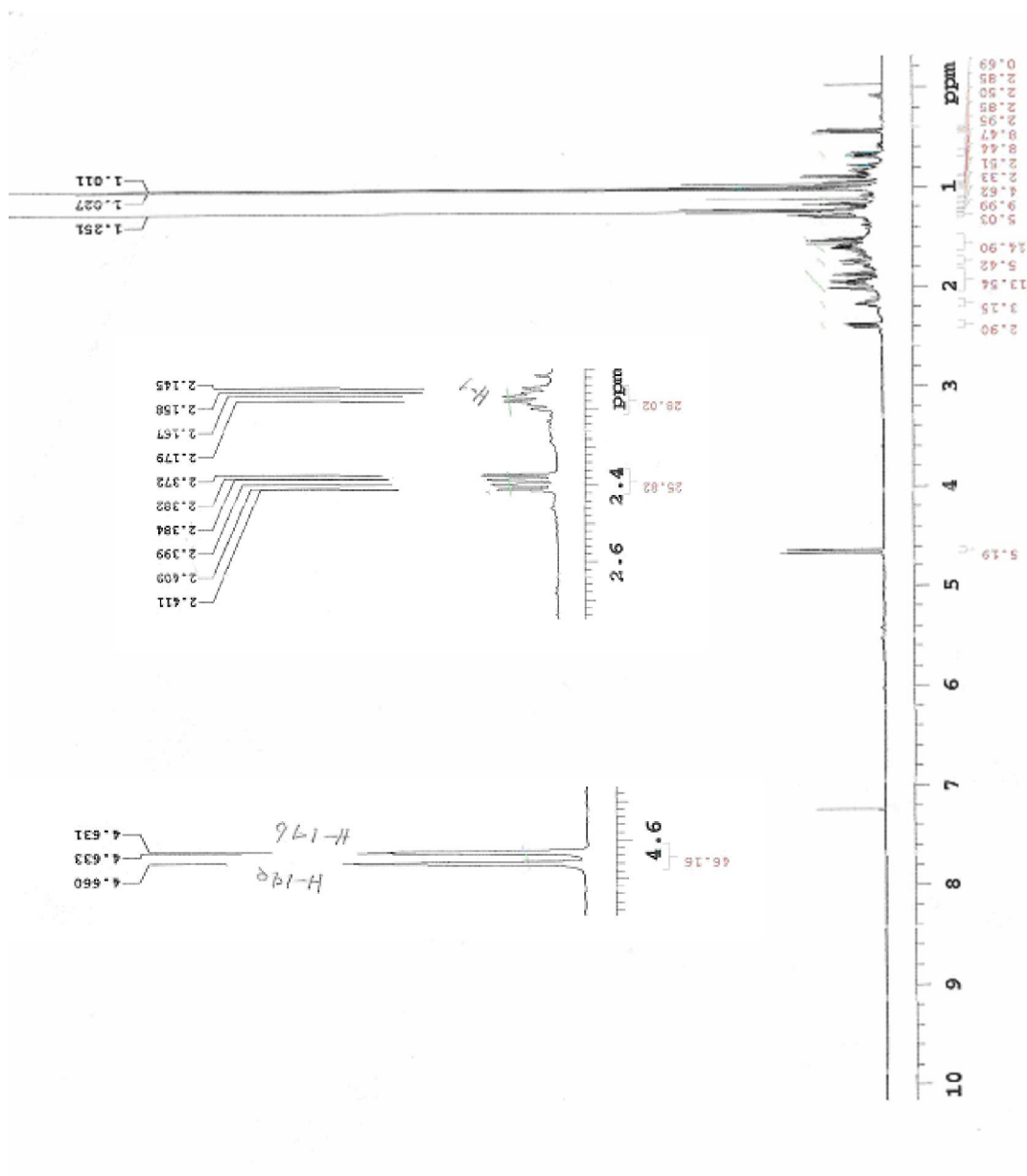
No espectro de RMN ^{13}C (**Espectros 4- 6, p. 30-32**) observou-se um sinal em δ_{C} 80,33 (C-4), que confirma a presença do grupo hidroxila nesta posição. O espectro de RMN ^1H (**Espectros 1- 3, p. 22-24**) apresentou três sinais simples em δ_{H} 1,01 (CH_3 -12), 1,02 (CH_3 -13) e 1,25 (CH_3 -15), correspondendo a três grupos metila ligados a carbono quaternário, confirmando assim, uma oxidação do quarto grupo metila presente em esqueletos sesquiterpênicos.

Baseando-se nos dados de RMN ^{13}C , foi possível propor a fórmula molecular da substância **F-1**: $(\text{C})(=\text{C})(\text{C}-\text{OH})(\text{CH})_4(\text{CH}_2)_4(=\text{CH}_2)(\text{CH}_3)_3 = \text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$. A análise dos dados obtidos também permitiu sugerir para a substância **F-1**, a estrutura do sesquiterpeno Espatulanol, uma vez que, comparando os valores dos deslocamentos químicos de RMN ^1H e ^{13}C

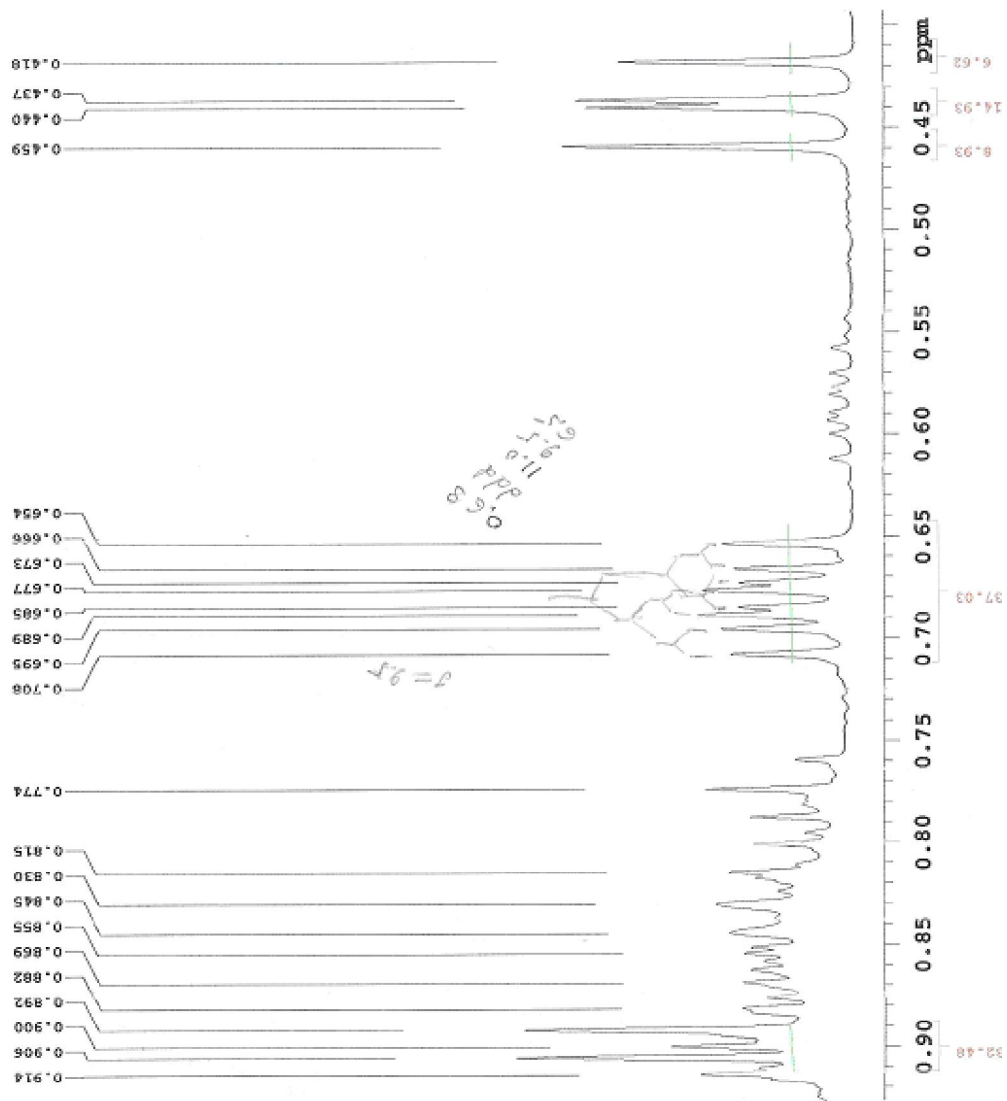
(Espectros 1 e 4, p. 27 e 30) da substância F-1, com os valores encontrados na literatura (Mo-1) (BOLZAN, 2007), confirmou a semelhança entre as substâncias (Tabela 10, p. 26).

Tabela 10. Dados espectrais de RMN ^1H (500 MHz) e ^{13}C (125 MHz) da substância F-1, em CDCl_3 e comparação com os valores da literatura para a substância Espatulenol. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento entre parênteses estão em Hz.

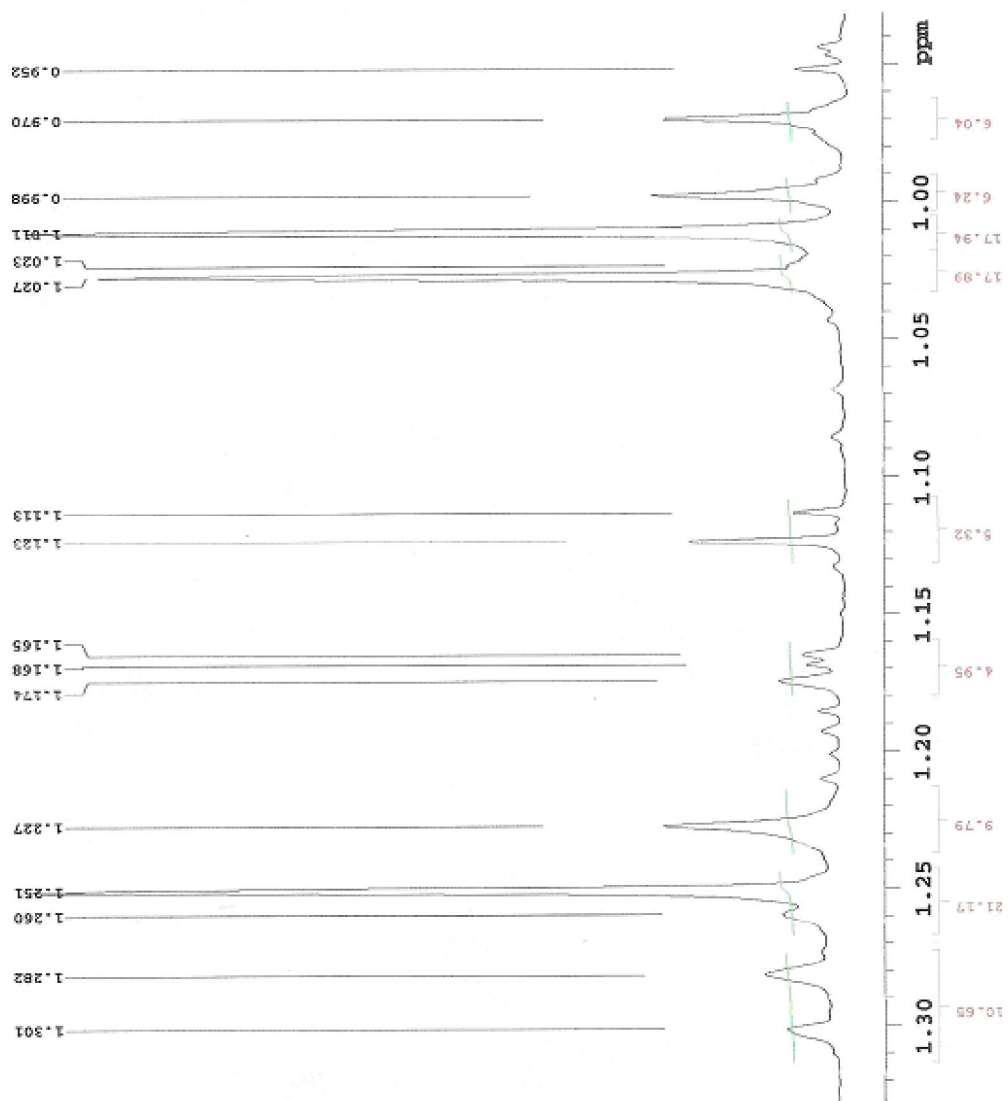
	F-1		Mo-1	
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}
C				
4	80,3	-	80,9	-
10	153,4	-	153,4	-
11	20,2	-	20,3	-
CH				
1	53,4	2,16 (m)	53,4	2,19 (m)
5	54,3	1,28 (t, 3,5)	54,3	1,33 (m)
6	29,4	0,4 (dd, 11,0; 9,5)	29,9	0,46 (dd, 9,4, 11,0)
7	27,6	0,68 (ddd, 11,0; 9,5; 6,5)	27,4	0,74 (m)
CH₂				
2	26,7	1,88 (m), 1,60 (m)	26,7	1,90 (m), 1,65 (m)
3	41,7	1,73 (m), 1,59 (m)	41,7	1,77 (m), 1,56 (m)
8	24,5	1,95 (m), 0,98 (m)	24,7	1,98 (m), 0,88 (m)
9	38,8	2,39 (dd, 13,0; 6,0)	38,8	2,42 (dd, 5,4; 13,1)
14	106,2	4,66 (sl), 4,63 (s)	106,2	4,69 (sl), 4,67 (sl)
CH₃				
12	28,6	1,01 (s)	28,6	1,06 (s)
13	16,2	1,02 (s)	16,3	1,04 (s)
15	26,0	1,25 (s)	26,0	1,28 (s)



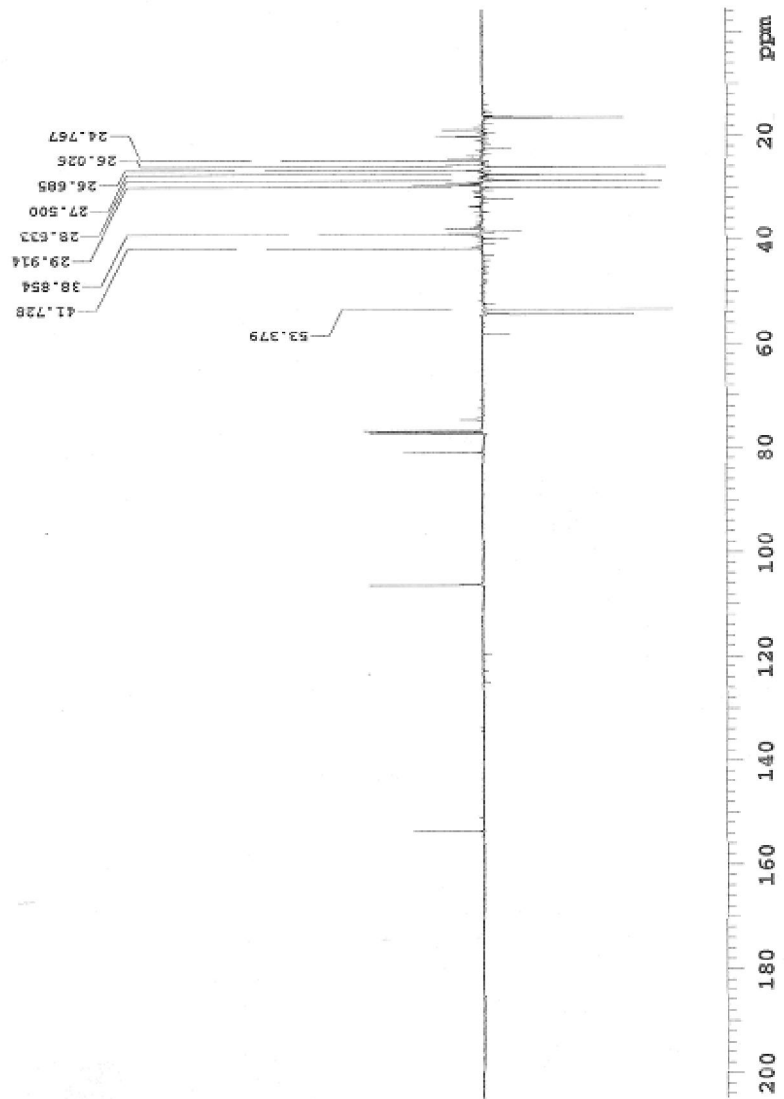
Espectro 1: Espectro de RMN ^1H (500 MHz) em CDCl_3 do sesquiterpene F-1.



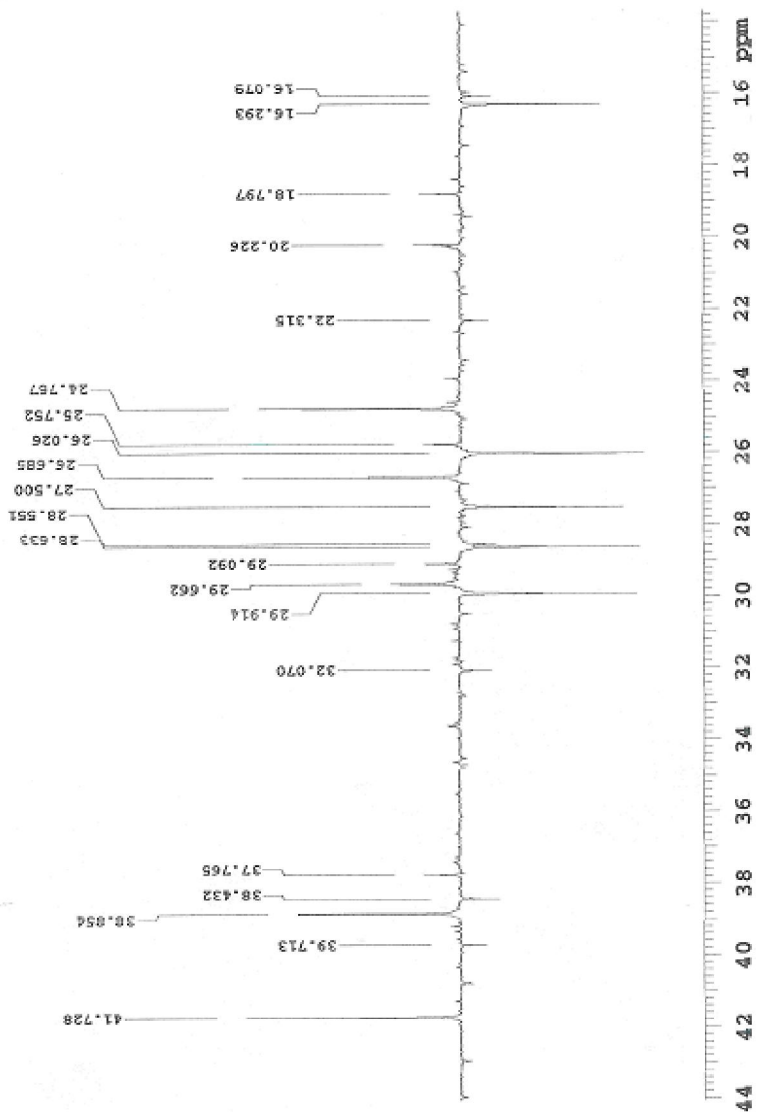
Espectro 2: Ampliação da região de δ_{H} 0,45 – 0,90 do espectro de RMN¹H (500 MHz) em CDCl₃ do sesquiterpeno **F-1**.



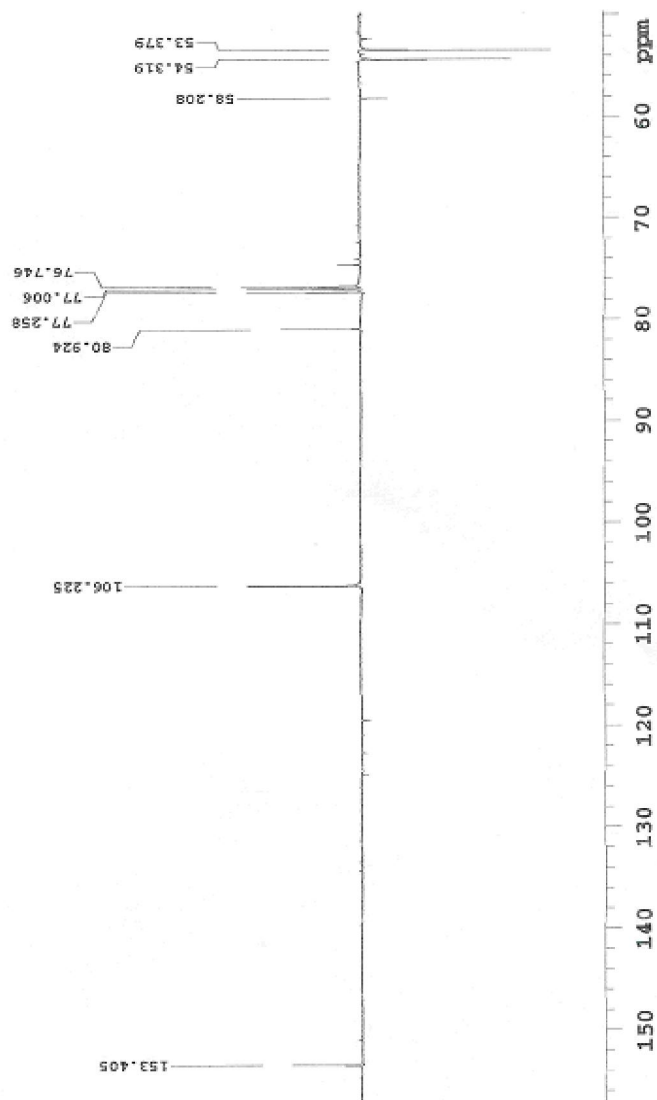
Espectro 3: Ampliação da região de δ_H 1,00 – 1,30 do espectro de RMN 1H (500 MHz) em $CDCl_3$ do sesquiterpeno **F-1**.



Espectro 4: Espectro de RMN ^{13}C -APT (125 MHz) em CDCl_3 do sesquiterpeno F-1.

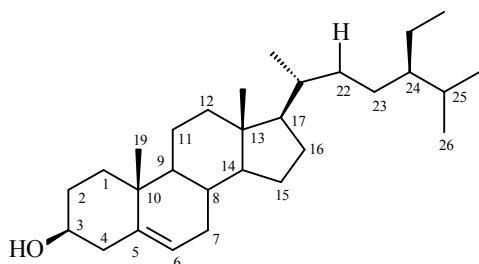


Espectro 5: Ampliação da região de δ_C 16 – 44 do espectro de RMN ¹³C-APT (125 MHz) em CDCl₃ do sesquiterpeno **F-1**.

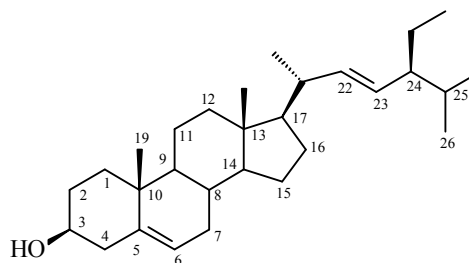


Espectro 6: Ampliação da região de δ_C 60 – 150 do espectro de RMN¹³C-APT (125 MHz) em CDCl₃ do sesquiterpene **F-1**.

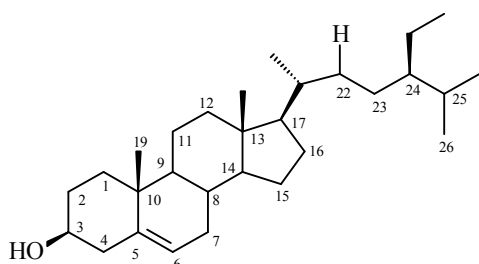
5.3 Identificação das substâncias F-2 e F-3



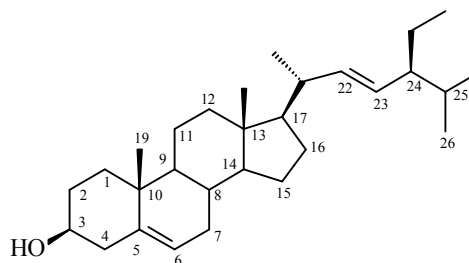
F-2



F-3



Mo-1



Mo-2

Os fitoesteróides são de ampla ocorrência nos vegetais, sendo os mais comuns os esteróides β -sitosterol e estigmasterol, que são encontrados na maioria das vezes em misturas, devido às suas estruturas serem semelhantes. Suas identificações são feitas, principalmente pelas técnicas de RMN ^{13}C , RMN ^1H e CG/EM (TERRA, 2009 e AMBROZIN, 2004).

O β -sitosterol foi identificado juntamente com o estigmasterol, e de acordo com a intensidade dos sinais apresentados nos espectros de RMN, foi possível observar que o β -sitosterol encontra-se em maior quantidade que o estigmasterol.

A análise do espectro de RMN ^1H (**Espectro 7, p. 36**) da mistura das substâncias **F-2** e **F-3**, mostra para a substância **F-2** muitos sinais (δ_{H}) na região de δ 0,6 a 2,2 do espectro, atribuído aos vários grupos de hidrogênios metílicos, metilênicos e metínicos do esqueleto esteroidal do β -sitosterol e do estigmasterol. O referente espectro ainda apresenta um duplete em δ_{H} 5,34 (H-6) confirmando a insaturação na estrutura, e um multiplete em δ_{H} 3,51 (H-3) confirmando a presença de um grupo hidroxila nesta posição.

Através da análise do espectro de ^1H RMN (**Espectro 9, p. 38**) foi possível notar a presença do estigmasterol através da presença dos sinais em

δ_H 5,00 (dd, $J= 8,8$ e $15,2$ Hz, H-22) e 5,13 (dd, $J= 8,8$ e $15,2$ Hz, H-23), confirmando a presença de insaturação na cadeia lateral.

O espectro de RMN ^{13}C APT (**Espectro 10, p. 39**), apresentou sinais para 29 átomos de carbono, sendo: seis sinais para grupos metílicos em δ_C 12,5 (CH₃-18), 19,6 (CH₃-19), 19,4 (CH₃-21), 20,0 (CH₃-26), 20,0 (CH₃-27) e 11,8 (CH₃-29); onze sinais para grupos metilênicos em δ_C 37,2 (CH₂-1), 31,9 (CH₂-2), 42,3 (CH₂-4), 34,1 (CH₂-7), 21,1 (CH₂-11), 39,8 (CH₂-12), 24,3 (CH₂-15), 28,8 (CH₂-16), 32,1 (CH₂-22), 26,3 (CH₂-23) e 23,3 (CH₂-28); nove sinais para grupos metínicos em δ_C 71,8 (CH-3), 121,8 (CH-6), 31,8 (CH-8), 50,1 (CH-9), 56,7 (CH-14), 56,0 (CH-17), 42,8 (CH-20), 45,8 (CH-24) e 29,1 (CH-25); e três sinais para átomos de carbono quaternário em δ_C 140,8 (C-5), 36,5 (C-10) e 42,3 (C-13).

A diferença entre as substâncias **F-2** e **F-3** pode ser confirmada através dos sinais no espectro de ^{13}C RMN (**Espectros 10 e 11, p. 39 e 40**) em δ_C 32,1 (CH₂-22) para **F-2** e 138,5 (CH₂-22) para **F-3**, e em δ_C 26,3 (CH₂-23) para **F-2** e 129,4 (CH₂-23) para **F-3**.

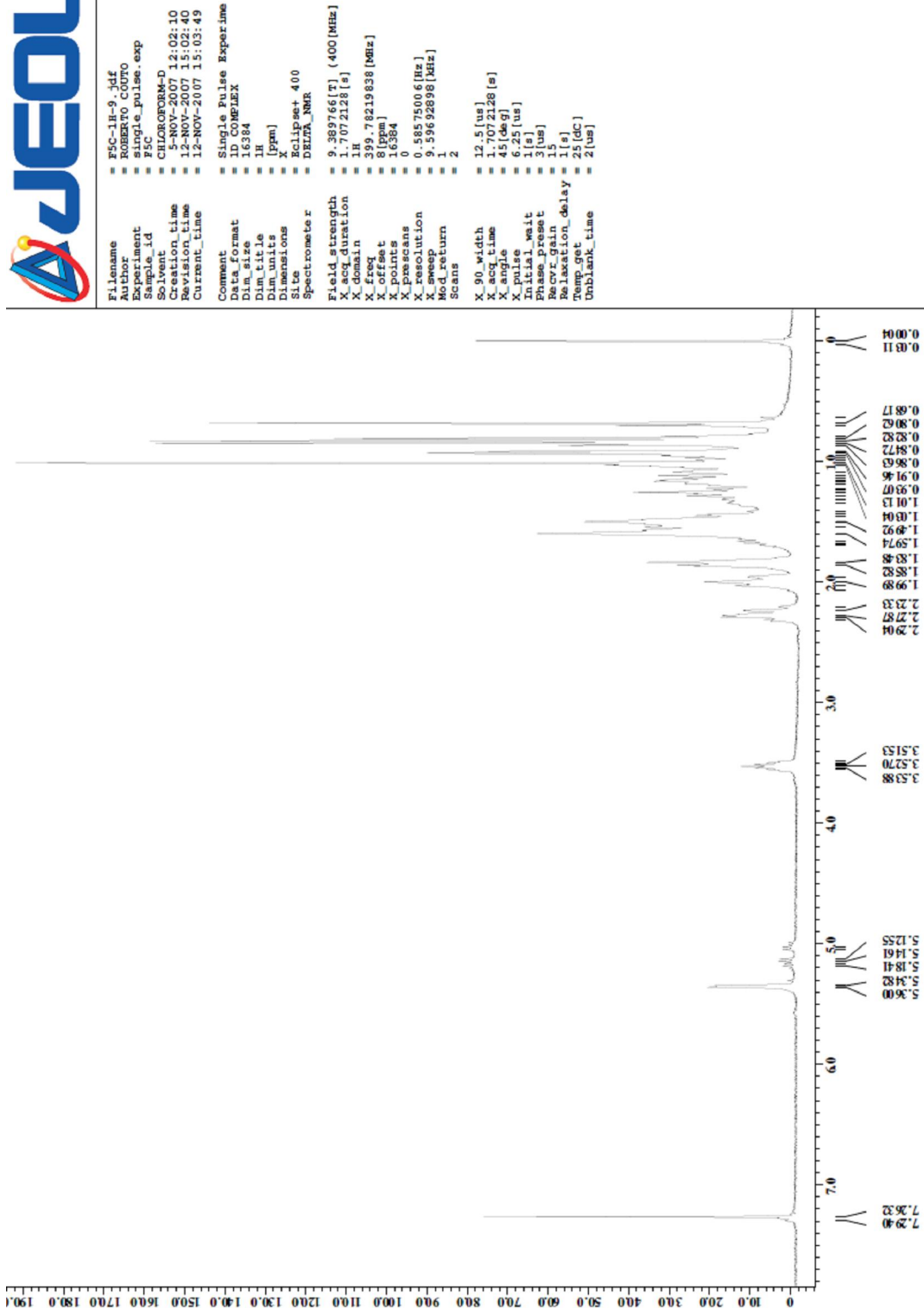
A análise por CG/EM da amostra (**Espectro 12, p. 41**) confirmou a presença da mistura dos dois esteróides β -sitosterol (**F-2**) e estigmasterol (**F-3**) com razões de massa carga $m/z= 414$ Dalton, que é compatível com a massa molecular do sitosterol (C₂₉H₅₀O), e $m/z= 397$ Dalton, referente a perda da hidroxila. O espectro de massas não revelou o íon molecular do estigmasterol ($m/z= 412$ Dalton).

Diante dos dados descritos, foi possível propor a fórmula molecular: (C)₃(CH-OH)(CH)₇(=CH)(CH₂)₁₁(CH₃)₆ = C₂₉H₅₀O.

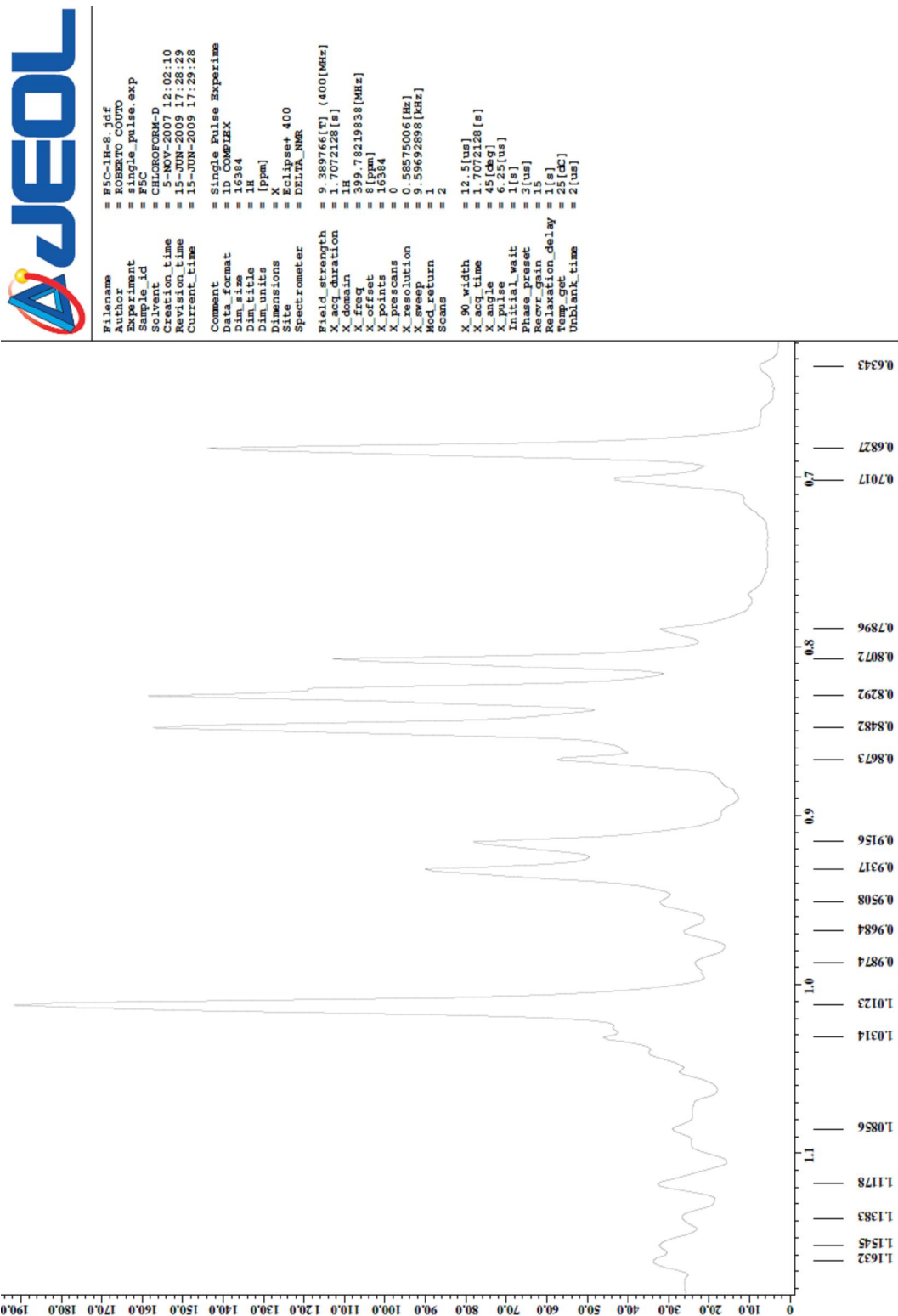
A distinção entre os esteróides pôde ser confirmada através dos dados de RMN ^{13}C APT (**Espectro 10, p. 39**) que foram descritos e comparados com dados da literatura (**Mo-1 e Mo-2**) (GUALBERTO, 2009), e que estão dispostos na **Tabela 11**.

Tabela 11. Dados de RMN ^{13}C (100 MHz) em CDCl_3 , deslocamentos químicos δ (ppm) das substâncias **F-2** e **F-3** comparados com valores de referência do modelo Mo-1 e Mo-2, respectivamente.

	F-2	Mo-1	F-3	Mo-2
	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
1	37,2	37,2	37,2	37,2
2	31,9	31,6	31,9	31,6
3	71,8	71,8	71,8	71,8
4	42,3	42,3	42,3	42,3
5	140,8	140,7	140,8	140,7
6	121,8	121,7	121,8	121,7
7	34,1	34,0	34,1	34,0
8	31,8	31,9	31,8	31,9
9	50,1	50,1	50,1	50,1
10	36,5	36,5	36,5	36,5
11	21,1	21,0	21,1	21,0
12	39,8	39,3	39,8	39,3
13	42,3	42,3	42,3	42,3
14	56,7	56,7	56,7	56,7
15	24,3	24,3	24,3	24,3
16	28,8	29,0	28,8	29,0
17	56,0	56,0	56,0	56,0
18	12,0	12,0	12,0	12,0
19	19,6	19,3	19,6	19,3
20	42,8	39,7	42,8	39,7
21	19,4	19,0	19,4	19,0
22	32,1	31,9	138,5	138,3
23	26,3	26,1	129,4	129,2
24	45,8	45,8	45,8	51,2
25	29,1	29,7	29,1	31,6
26	20,0	19,3	20,0	21,0
27	20,0	19,3	20,0	19,3
28	23,3	24,3	23,3	24,3
29	11,8	11,8	11,8	11,9



Espectro 7: Espectro de RMN¹H (400 MHz) em CDCl₃ da mistura de substância F-2 e F-3

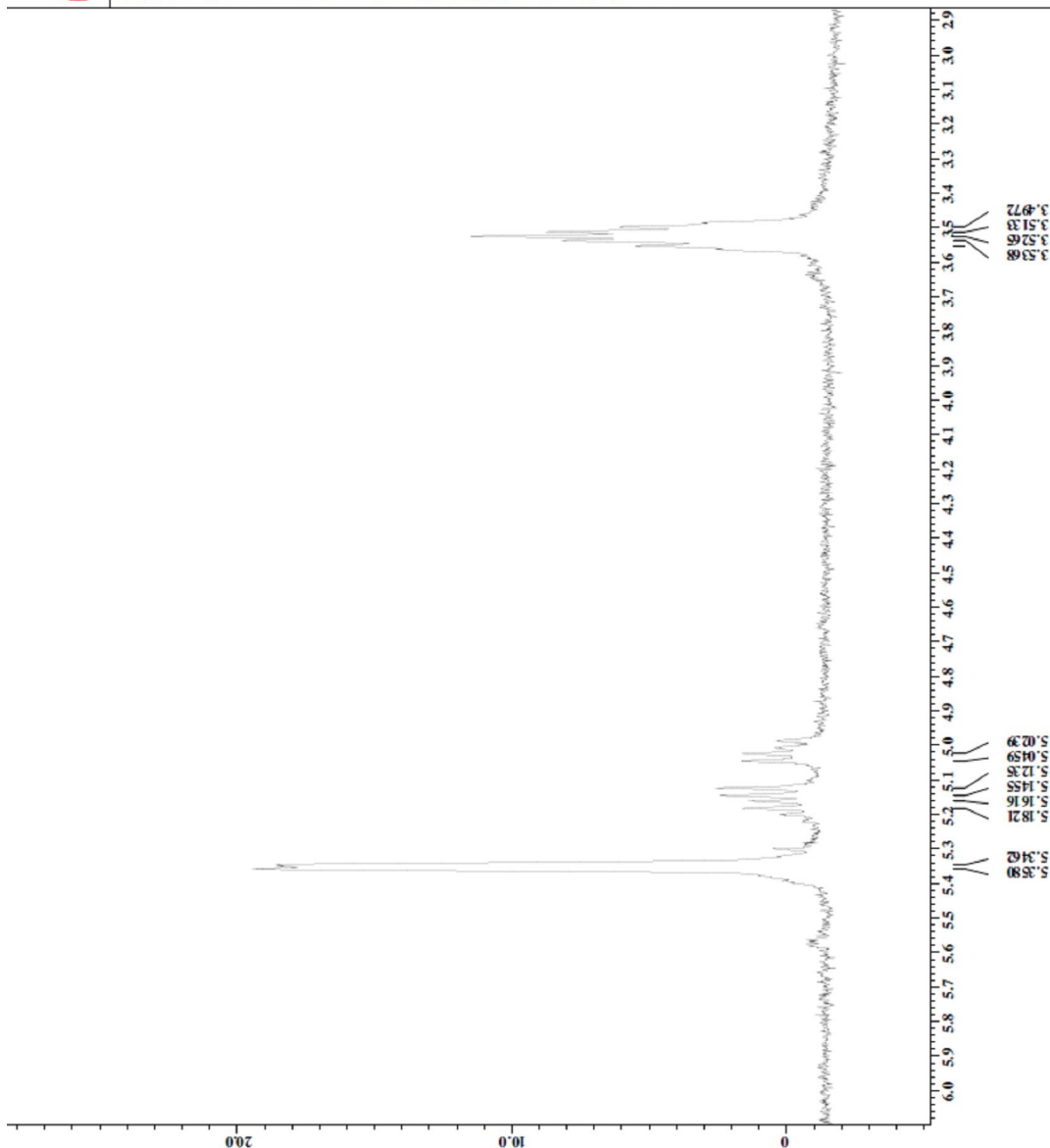


Espectro 8: Ampliação da região de δ 0,60 – 1,16 do espectro de RMN¹H (400 MHz) em CDCl₃ da mistura de substâncias F-2 e F-3



```

= F5C-1H-18.jdf
= ROBERTO COUTO
= Single_pulse.exp
= 16384
= CHLOROPORM-D
= 5-NOV-2007 11:53:05
= 18-MAY-2009 16:12:54
= 18-MAY-2009 16:13:03
= Single Pulse Experiment
= 1D COMPLEX
= 16384
= [Hz]
= [ppm]
= X
= Eclipse+ 400
= DELTA_NMR
= 9.389766[T] (400[MHz])
= 1.7072128[s]
= 16
= 78219838[MHz]
= 839.0
= 16384
= 0
= 0.58575006[Hz]
= 9.58632898[MHz]
= 1
= 2
= 12.5[us]
= 1.7072128[s]
= 45[deg]
= 6.25[us]
= 1[s]
= 3[us]
= 15
= 1[s]
= 25[dc]
= 2[us]
  
```



Espectro 9: Ampliação da região δ 3,00 – 5,36 do espectro de RMN¹H (400 MHz) em CDCl₃ da mistura de substâncias F-2 e F-3



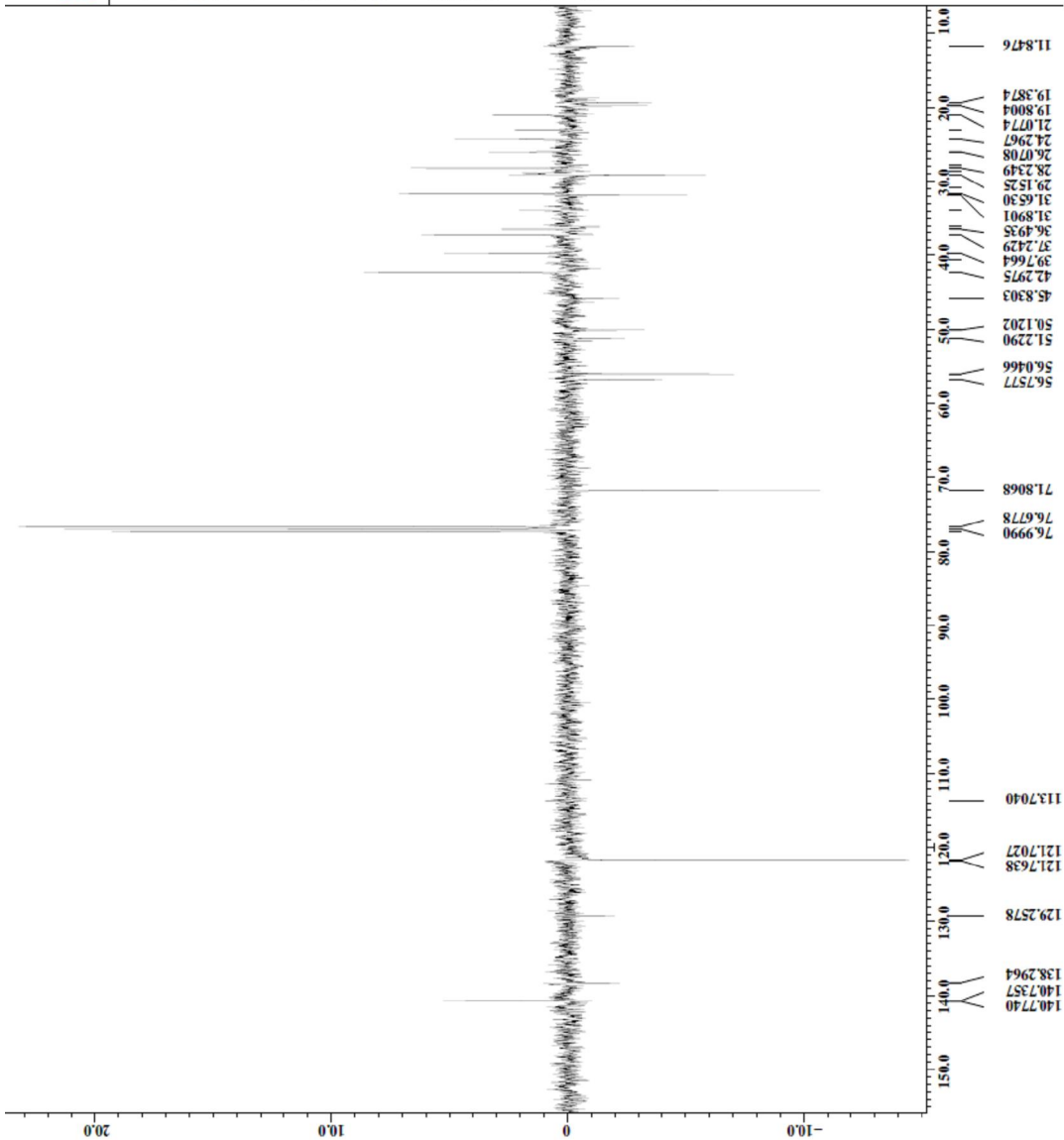
```

= F5C-13C_PENNANT-7 . jdf
Filename
= ROBERTO COUTO
Author
= Pennant.exp
Experiment
= CHLOROPFORM-D
Sample_id
= 5-NOV-2007 15:26:22
Creation_time
= 12-NOV-2007 15:07:26
Revision_time
= 12-NOV-2007 15:23:02
Current_time

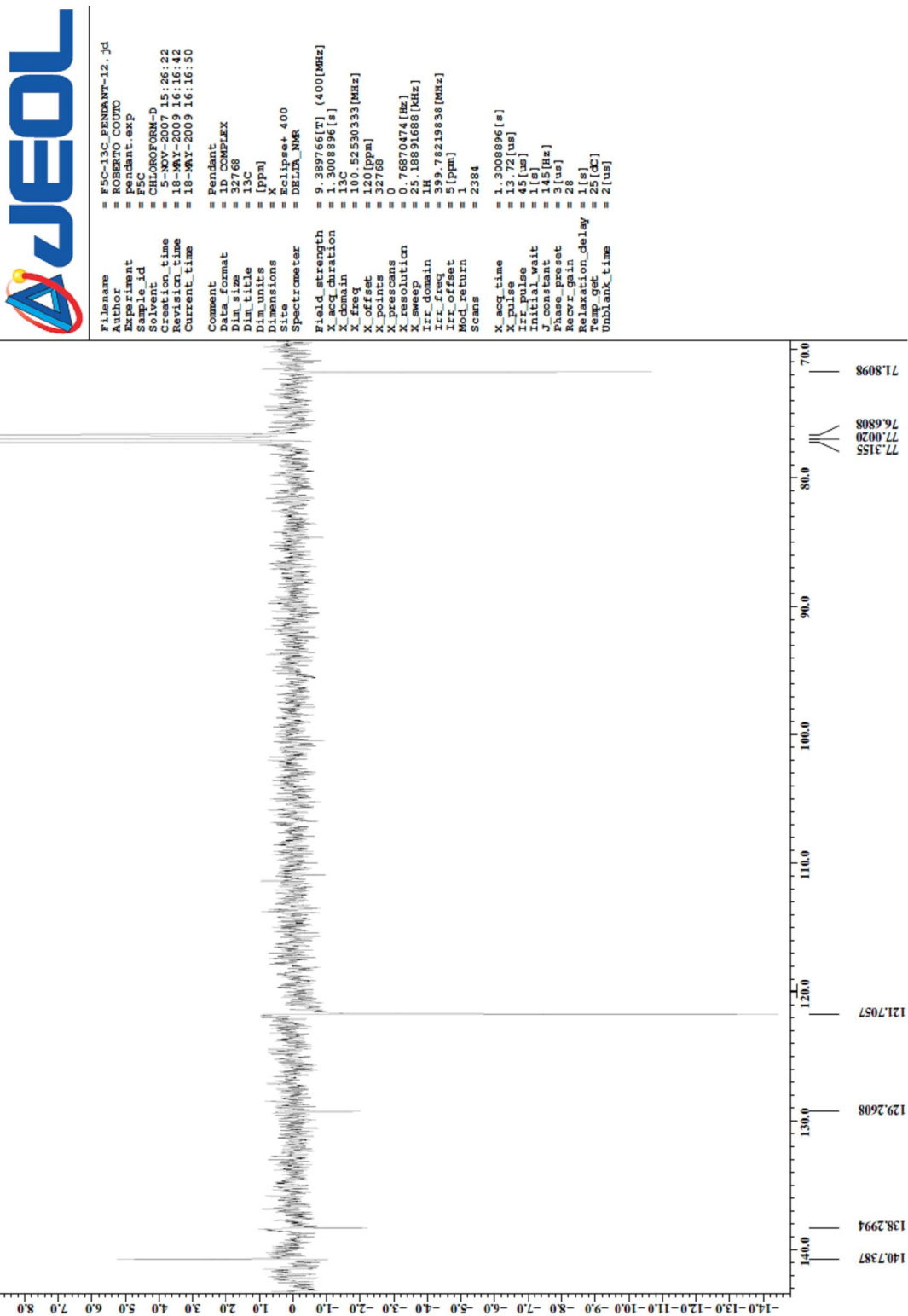
= Pennant
Comment
= 1D COMPLEX
Data_format
= 32768
Sca
= 13c
Dim_title
= [ppm]
Dim_units
= X
Dimensions
= Eclipse+ 400
Site
= DELTA_NMR
Spectrometer

Field_strength = 9.389766[T] (400[MHz])
X_acquisition = 13c
X_domain = 13c
X_freq = 100.52530333[MHz]
X_offset = 120[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 0
X_resolution = 0.76870474[Hz]
X_sweep = 25.18891688[MHz]
Irr_domain = 13c
Irr_freq = 399.78219838[MHz]
Irr_offset = 5[ppm]
Mod_return = 1
Scans = 2384

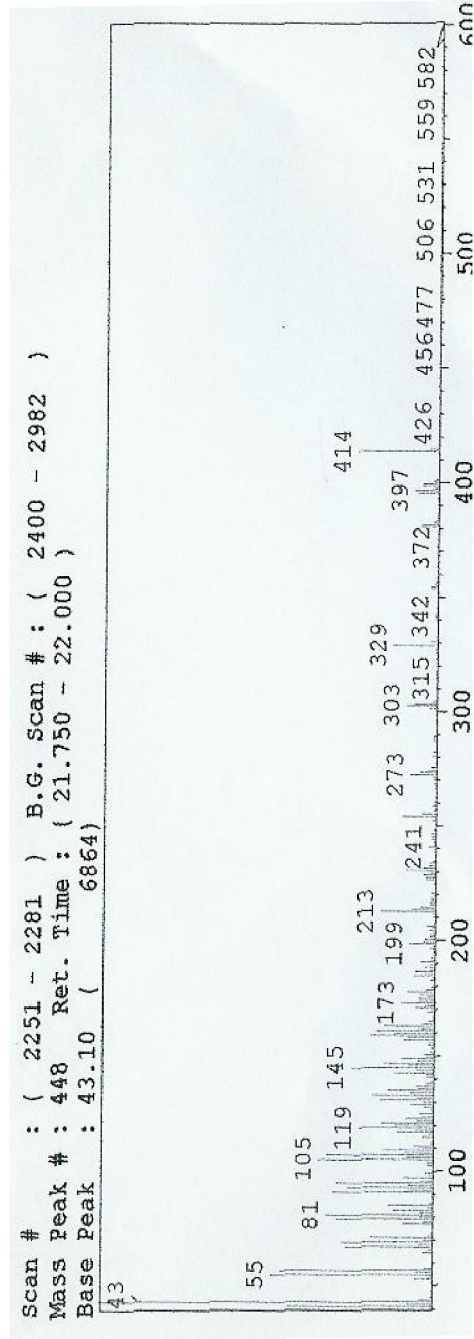
X_acq_time = 1.3008896[s]
X_pulse = 13.72[us]
Irr_pulse = 1[us]
Irr_wait = 1[us]
J_constant = 145[Hz]
Phase_preset = 3[us]
Recvr_gain = 28
Relaxation_delay = 1[s]
Temp_get = 25[dc]
Unblank_time = 2[us]
    
```



Espectro 10: Espectro de RMN¹³C (400 MHz) em CDCl₃ da mistura de substâncias F-2 e F-3

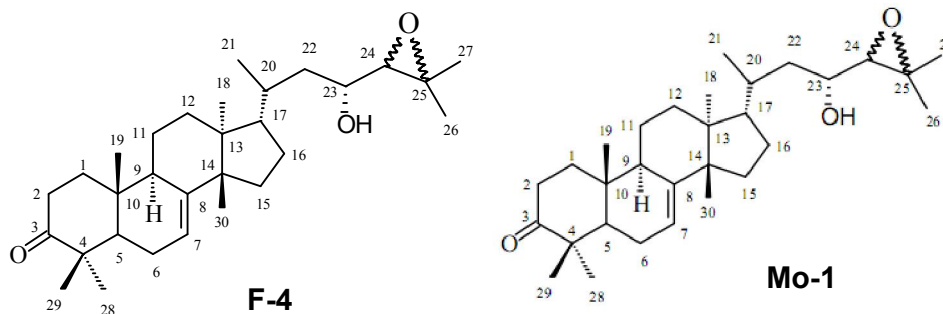


Espectro 11: Ampliação da região δ 71 – 140 do espectro de RMN¹³C (100 MHz) em CDCl₃ da mistura de substâncias F-2 e F-3



Espectro 12: Espectro de massa da mistura das substâncias F-2 e F-3

5.4 Identificação da substância F-4



A substância analisada **F-4** apresentou coloração amarelada e com aspecto oleoso. O espectro de RMN ^{13}C APT (**Espectro18, p. 50**), apresentou sinais para 30 átomos de carbono, sendo: oito sinais para grupos metílicos (CH_3) em δ_{C} 12,7 (CH_3 -18), 21,7 (CH_3 -19), 19,9 (CH_3 -21), 19,8 (CH_3 -26), 24,5 (CH_3 -27), 24,8 (CH_3 -28), 21,5 (CH_3 -29) e 27,3 (CH_3 -30), oito sinais para grupos metilênicos (CH_2) em δ_{C} 38,5 (CH_2 -1), 34,9 (CH_2 -2), 24,3 (CH_2 -6), 18,2 (CH_2 -11), 34,0 (CH_2 -12), 33,6 (CH_2 -15), 28,7 (CH_2 -16) e 40,7 (CH_2 -22), sete sinais para grupos metínicos (CH) em δ_{C} 52,3 (CH -5), 118,0 (CH -7), 48,4 (CH -9), 53,2 (CH -17), 33,5 (CH -20), 69,2 (CH -23) e 68,5 (CH -24), e sete sinais para átomos de carbono quaternário em δ_{C} 216,9 ($\text{O}=\text{C}$ -3), 47,8 (C -4), 145,7 (C -8), 35,0 (C -10), 43,5 (C -13), 51,2 (C -14) e 60,2 (C -25).

No espectro de RMN ^{13}C APT (**Espectro18, p. 50**) é possível observar a presença da dupla ligação na posição entre os átomos de carbono 7 e 8 através dos sinais em δ_{C} 118,0 (CH -7) e 145,7 (C -8). Os sinais em δ_{C} 118,0 (CH -7), 145,7 (C -8) e 27,3 (CH_3 -C30) presentes no espectro de RMN ^{13}C APT (**Espectro18, p. 50**) indicam que a substância **F-4** trata-se de um triterpeno tirucalânico que possui um esqueleto tetracíclico (RODRIGUES, 2009). A estrutura da cadeia lateral é confirmada através dos sinais em δ_{C} 69,2 (CH -23), 68,4 (CH -24) e 60,2 (C -25) na região de carbonos carbinólicos observada no espectro de RMN ^{13}C APT (**Espectro19, p. 51**)

Os espectros de RMN ^1H (**Espectro 13, p. 45** e **Espectro 16, p. 48**) revelaram no átomo de carbono C-3 a presença de um grupo cetona. A região de absorção de hidrogênios metilênicos e metílicos presentes no espectro de RMN ^1H (**Espectro 14, p. 46**) apresentou um duplete em δ 0,96 ($J= 6,4$ Hz) referente ao grupo metila Me-21, que junto com os outros sete sinais simples completou os grupos metílicos do esqueleto tirucalânico. O hidrogênio

oximetínico da função epóxido é observada no sinal apresentado pelo duplete em δ_H 2,66 ($J= 8,2$ Hz) no espectro de RMN 1H (**Espectro 16, p. 48**) (RODRIGUES, 2009).

O espectro de massas (**Espectro 20, p. 52**) apresentou o sinal $m/z = 384$ Dalton que é referente à perda de parte da cadeia lateral. Outras perdas comuns como de um grupo metila (CH_3) com 15 unidades de massa, e uma molécula de água (H_2O) com 18 unidades de massa, foram observadas, respectivamente, através dos sinais em $m/z = 369$ e $m/z = 351$ Dalton.

Diante dos dados dos espectros de RMN ^{13}C APT, RMN 1H e CG/EM foi proposta para a substância **F-4** a seguinte fórmula molecular: $(C)_6(C=O)(CH-OH)(CH)_4(CH-O-CH)(CH_2)_8(CH_3)_8 = C_{30}H_{48}O_3$.

Os dados de RMN ^{13}C da substância **F-4** (**Tabela 12, p. 44**) foram comparados com dados da literatura (**Mo-1**) (RODRIGUES, 2009) e se mostraram idênticos aos dados apresentados para o triterpeno nilocitina.

Tabela 12. Dados espectrais de RMN ^1H (400 MHz) e ^{13}C (100 MHz) da substância **F-4**, em CDCl_3 e comparação com os valores da literatura (Mo-1) para a substância nilocitina. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm, e as constantes de acoplamento entre parênteses estão em Hz.

	F-4		Mo-1
	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
C			
3	216,92	-	217,0
4	47,84	-	47,9
8	145,69	-	145,7
10	34,99	-	35,0
13	43,53	-	43,5
14	51,19	-	51,2
25	60,25	-	60,3
CH			
5	52,32	-	52,3
7	117,97	5,30 (sl)	118,0
9	48,45	-	48,5
17	53,25	-	53,3
20	33,51	-	33,7
23	69,22	3,57 (m)	69,2
24	68,46	2,66 (d, 8,2)	68,5
CH₂			
1	38,52	-	38,5
2	34,88	2,76 (dt); 2,25 (td)	34,9
6	24,33	2,06	24,5
11	18,23	-	18,2
12	33,97	-	33,6
15	33,58	-	34,0
16	28,72	-	28,8
22	40,66	-	40,4
CH₃			
18	21,75	0,82 (s)	13,0
19	21,73	1,01 (s)	19,8
21	19,86	0,96 (d, 6,4)	19,9
26	19,77	1,32 (s)	21,6
27	24,50	1,32 (s)	24,8
28	24,82	1,12 (s)	24,9
29	21,55	1,05 (s)	21,8
30	27,35	1,02 (s)	27,4

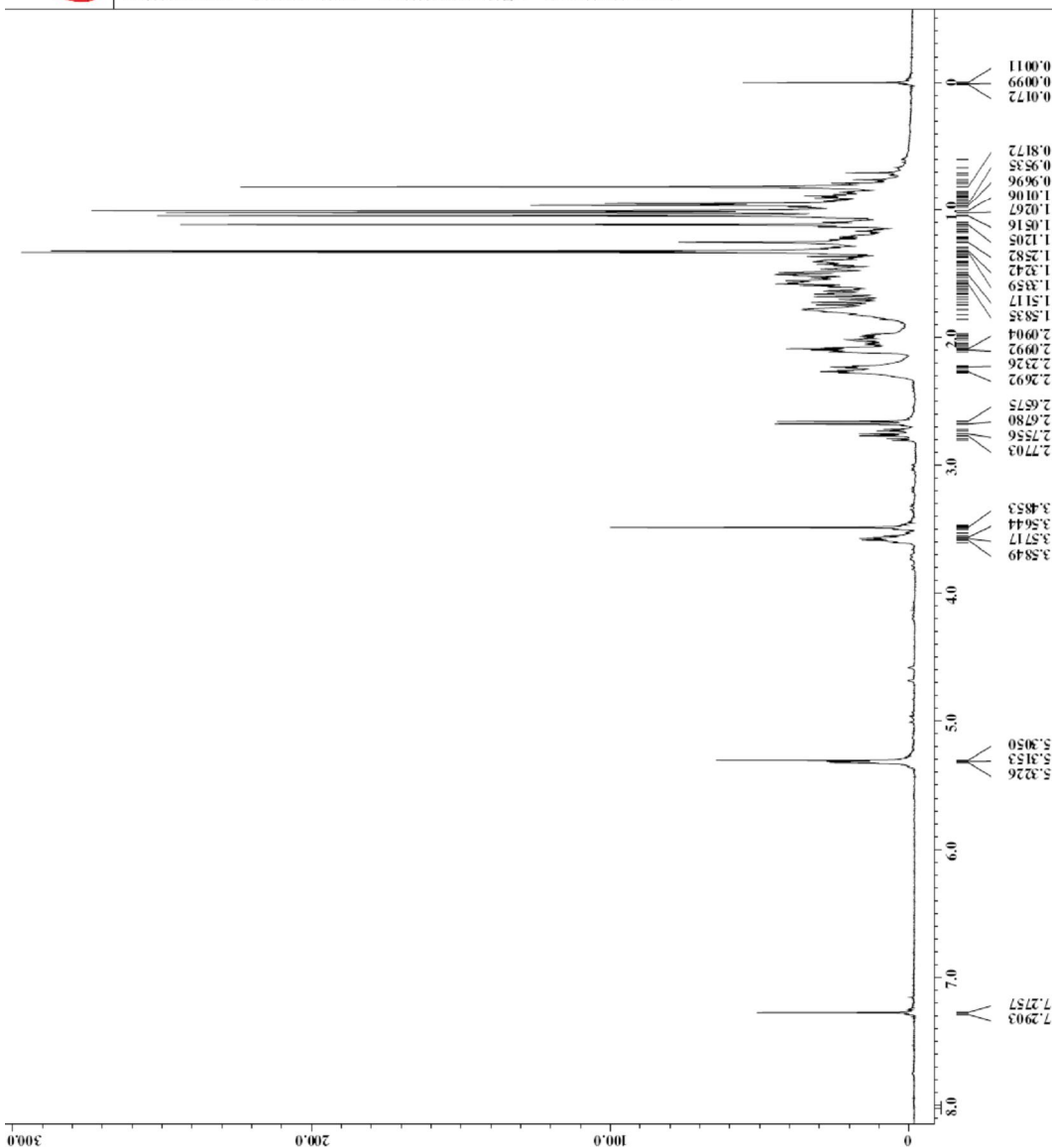


```
Filename = F7632-1H-8-.jdf
Author = ROBERTO COUTO
Experiment = single_pulse.exp
Sample_id = F7632
Solvent = CDCl3
Pulse_program = zgpg30
Revision_time = 15-NOV-2007 15:13:41
Revision_time = 7-MAY-2008 15:35:31
Current_time = 7-MAY-2008 15:35:44

Comment = Single Pulse Experiment
Data_format = ID COMPLEX
Dim_size = 16384
Dim_title = 1H
D1 = 1.7072128
D1_units = s
D1_value = 1.7072128
D1_resolution = 0.58575006 [Hz]
D1_sweep = 9.5962898 [kHz]
D1_mod_return = 1
D1_scans = 2

Spectrometer = DELTA_NMR
Field_strength = 9.389766 [T] (400 [MHz])
X_acq_duration = 1.7072128 [s]
X_domain = 1H
X_freq = 76219938 [MHz]
X_points = 16384
X_prescans = 0
X_resolution = 0.58575006 [Hz]
X_sweep = 9.5962898 [kHz]
Mod_return = 1
Scans = 2

X_90_width = 12.5 [us]
X_acq_time = 1.7072128 [s]
X_angle = 45 [deg]
X_pulse = 6.25 [us]
Initial_wait = 1 [s]
Phase_preset = 3 [us]
Recvr_gain = 12
Relaxation_delay = 1 [s]
Sweep_rate = 1 [kHz]
Unblank_time = 2 [us]
```



Espectro 13: Espectro de RMN¹H (400 MHz) em CDCl₃ da substância F-4.



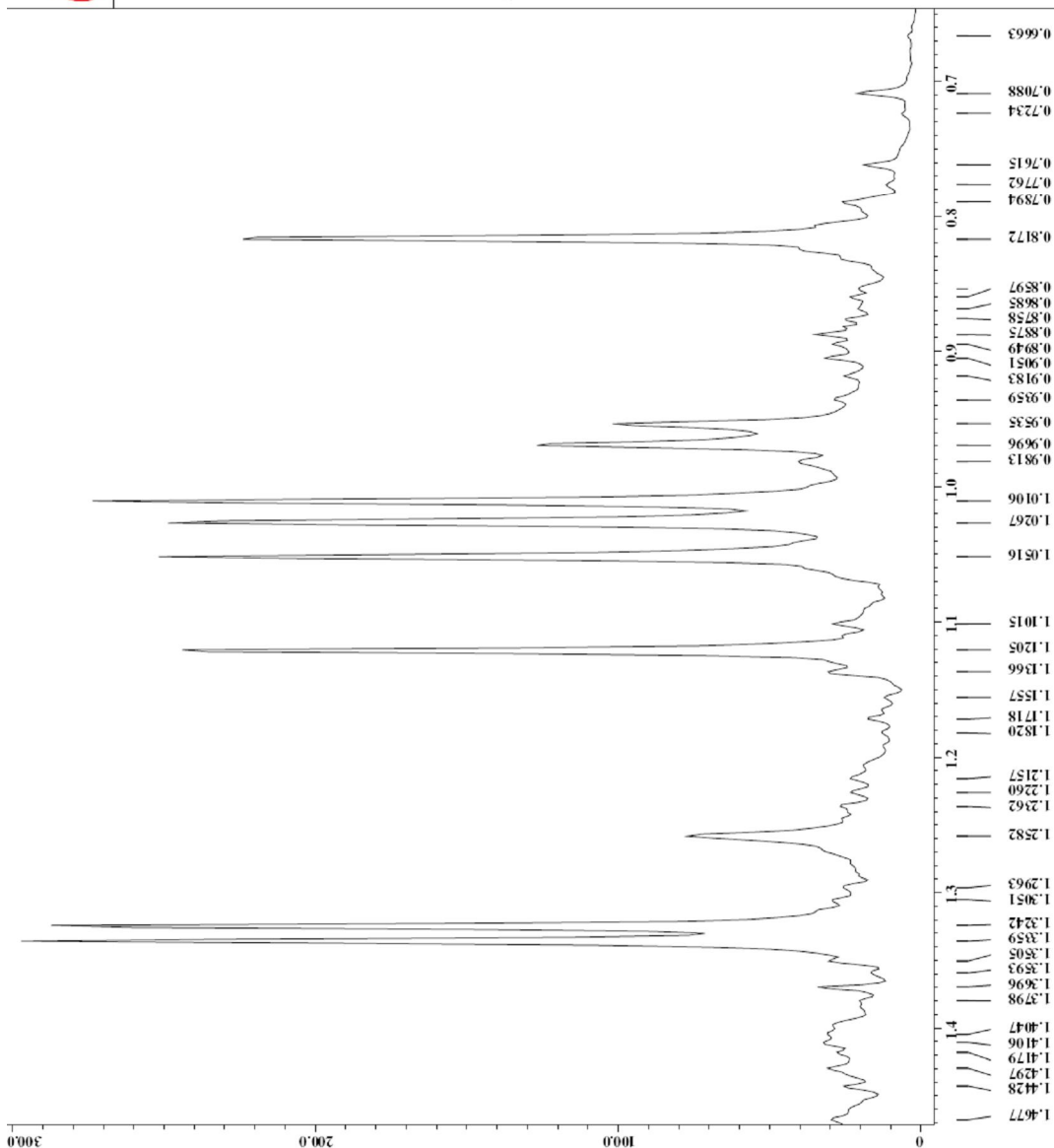
```

Filename = F7632-1R-8.jdf
Author = ROBERTO COUTO
Experiment = single_pulse.exp
Sample_id = F7632
Solvent = CDCl3
PulseProgram = zgpg30
Acquisition_time = 13-NOV-2007 15:13:41
Revision_time = 7-MAY-2008 15:35:31
Current_time = 7-MAY-2008 15:37:48

Comment = Single Pulse Experiment
Data_format = ID COMPLEX
Data_size = 16384
Dim_title = IR
Dim_units = [ppm]
Dimensions = X1
Site = Eclipsat 400
Spectrometer = DELTA_NMR

Field_strength = 9.389766[T] (400[MHz])
X_acq_duration = 1.7072128[s]
X_domain = IR
X_freq = 399.78219838[MHz]
X_gain = 16384
X_points = 0
X_prescans = 0
X_resolution = 0.58875006[Hz]
X_sweep = 9.59692898[KHz]
Mod_return = 1
Scans = 2

X_90_width = 12.5[us]
X_acq_time = 1.7072128[s]
X_angle = 45[deg]
X_pulse = 6.25[us]
Initial_wait = 1[s]
Phase_preset = 3[us]
Recvr_gain = 12
Relaxation_delay = 1[s]
Temp_get = 25[degC]
Unblank_time = 2[us]
    
```



Espectro 14: Ampliação da região δ_H 0,66 – 1,47 do espectro de RMN¹H (400 MHz) em CDCl₃ da substância F-4.



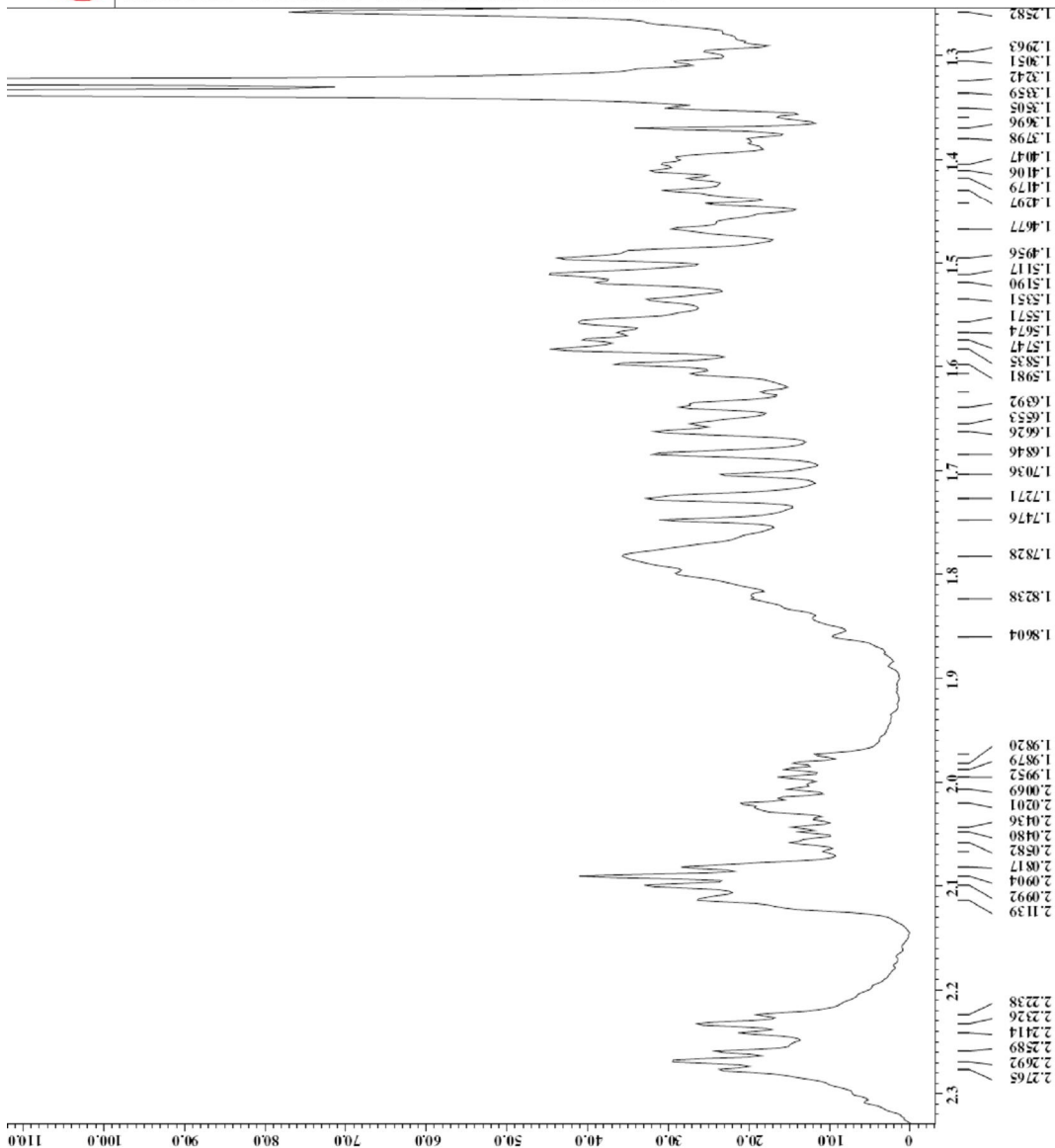
```

FileNames = F7632-1H-8-.jdf
Author = ROBERTO COUTO
Experiment = single_pulse.exp
Sample_id = F7632
Solvent = CDCl3
Solvent_purity = 99.999%
Acquisition_time = 13-MAY-2007 15:13:41
Revision_time = 7-MAY-2008 15:35:31
Current_time = 7-MAY-2008 15:39:50

Comment = Single Pulse Experiment
Data_format = ID COMPLEX
Dim_size = 16384
Dim_title = 1H
Dim_units = [ppm]
Dimensions = 1
Site = Eclipset_400
Spectrometer = DELTA_NMR

Field_strength = 9.389766[T] (400[MHz])
X_acq_duration = 1.7072128[s]
X_domain = 1H
X_freq = 399.70219838[MHz]
X_gain = 16384
X_points = 0
X_prescans = 0
X_resolution = 0.58575006[Hz]
X_sweep = 9.59692898[kHz]
Mod_return = 1
Scans = 2

X_90_width = 12.5[us]
X_acq_time = 1.7072128[s]
X_angle = 45[deg]
X_pulse = 6.25[us]
Initial_wait = 1[s]
Phase_preset = 3[us]
Recvr_gain = 12
Relaxation_delay = 1[s]
Temp_get = 25[degC]
Unblank_time = 2[us]
    
```

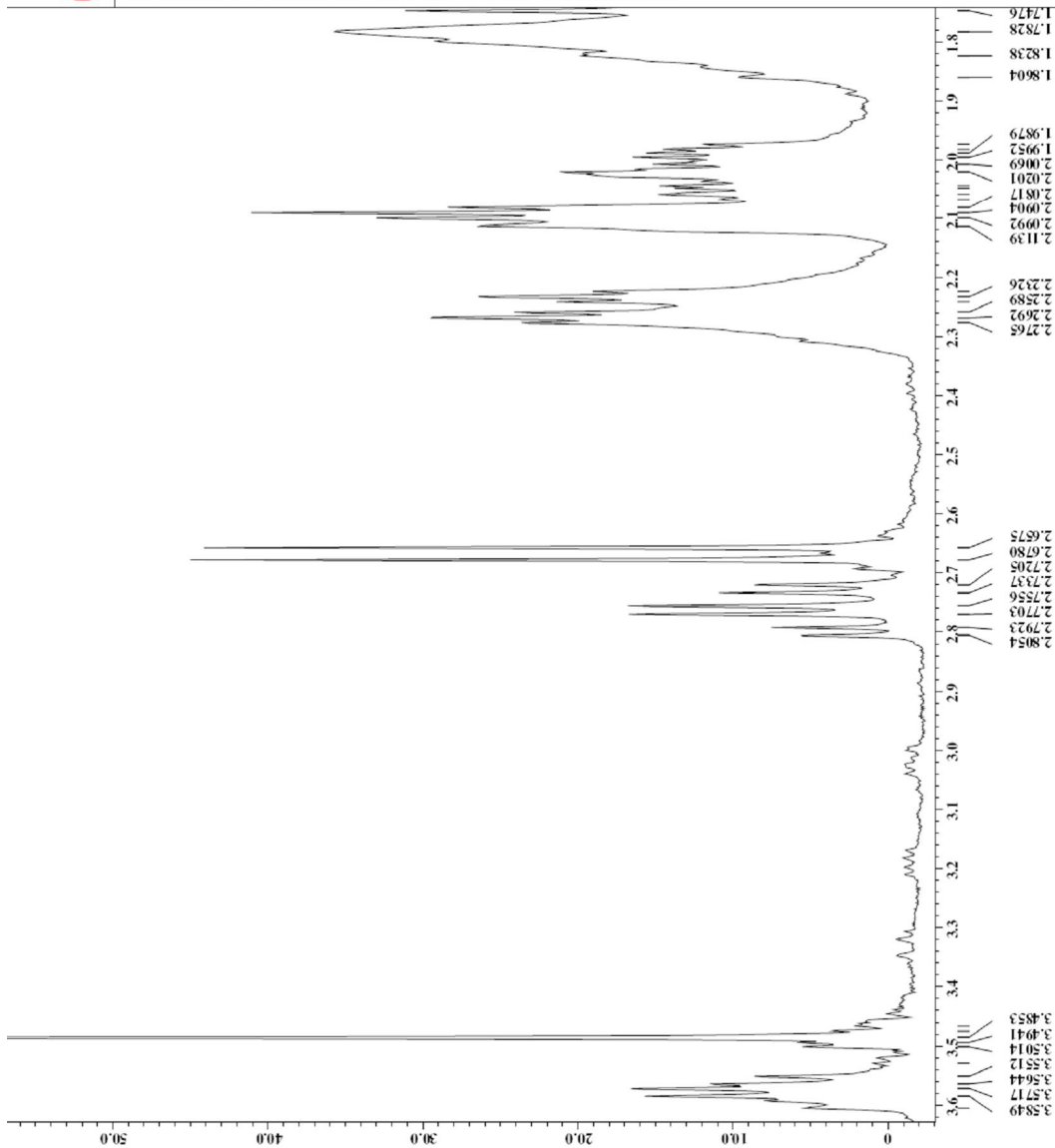


Espectro 15: Ampliação da região δ_H 1,25 – 2,27 do espectro de RMN¹H (400 MHz) em CDCl₃ da substância F-4.



```

Filename = F7632-1H-8-.jdf
Author = ROBERTO COUFO
Experiment = single_pulse.exp
Sample_id = C1260608M-D
Date_1 = 13-NOV-2007 15:13:41
Date_2 = 7-MAY-2008 15:35:31
Revision_time = 7-MAY-2008 15:41:26
Current_time =
Comment = Single Pulse Experiment
Data_format = 1D COMPLEX
Dim_1 = 6584
Dim_2 = 1
Dim_units = [ppm]
Dimensions = X
Site = ECLIPSE+ 400
Spectrometer = DELTA_NMR
Field_strength = 9.369766[T] (400 [MHz])
X_acq_duration = 1.7072128[s]
X_freq = 399.78219838 [MHz]
X_offset = 8 [ppm]
X_points = 16384
X_prescans = 0
X_resolution = 0.58575006 [Hz]
X_sweep = 9.5962898 [kHz]
X_return = 1
Scans = 2
X_90_width = 12.5 [us]
X_acq_time = 1.7072128 [s]
X_angle = 45 [deg]
X_pulse = 6.25 [us]
Initial_wait = 1 [s]
Pulse_program = zgpg30
Relaxation_delay = 1 [s]
Temp_get = 25 [dC]
Unblank_time = 2 [us]
    
```

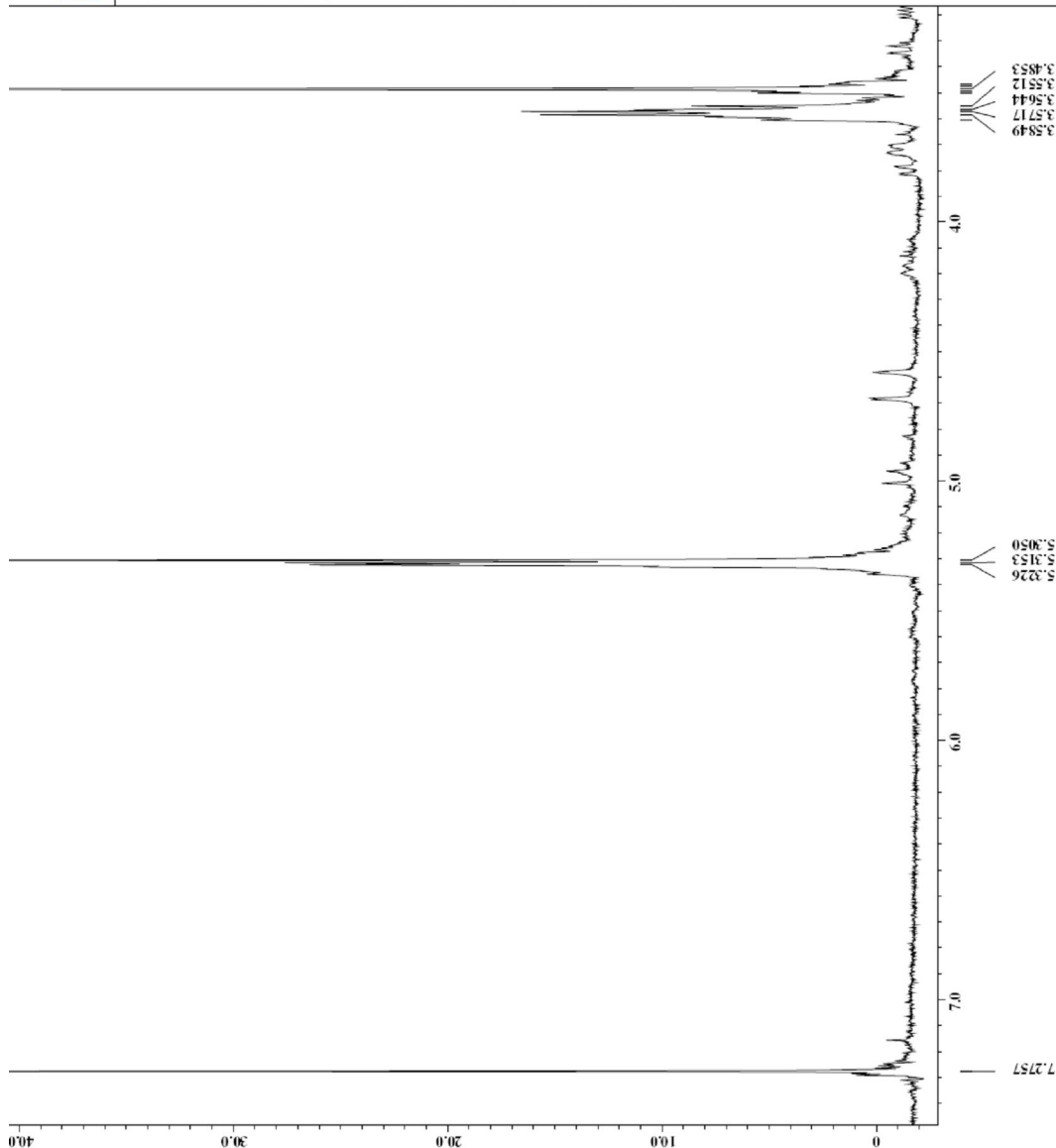


Espectro 16: Ampliação da região δ_H 1,74 – 3,58 do espectro de RMN¹H (400 MHz) em CDCl₃ da substância F-4.



```

Filename = F7632-1H-9.jdf
Author = ROBERTO COFFO
Experiment = single_pulse.exp
SampleId = F7632-1H-9
PulseProgram = zgpg30
Date_Exp = 13-NOV-2007 15:13:41
Creation_time = 7-MAY-2008 15:42:19
Revision_time = 7-MAY-2008 15:42:54
Current_time =
Comment = Single Pulse Experiment
Data_format = ID COMPLEX
Dim_size = 16384
Dim_units = [ppm]
Dimensions = X
Site = Eclipse+ 400
Spectrometer = DELTA_NMR
Field_strength = 9.389766[T] (400[MHz])
X_acq_duration = 1.7072128[s]
X_domain = 80
X_freq = 399.78219838[MHz]
X_offset = 81ppm
X_points = 16384
X_prescans = 0
X_resolution = 0.58575006[Hz]
X_sweep = 9.5962898[KHz]
Mod_return = 1
Scans = 2
X_90_width = 12.5[us]
X_acq_time = 1.7072128[s]
X_angle = 45[deg]
X_pulse = 6.25[us]
Initial_wait = 1[s]
Phase_Preset = 3[us]
Recvr_gain = 12
Integration_delay = 2[s]
Temp_set = 25[degC]
Unblank_time = 2[us]
    
```



Espectro 17: Ampliação da região δ_H 3,48 – 7,27 do espectro de RMN¹H (400 MHz) em CDCl₃ da substância F-4.



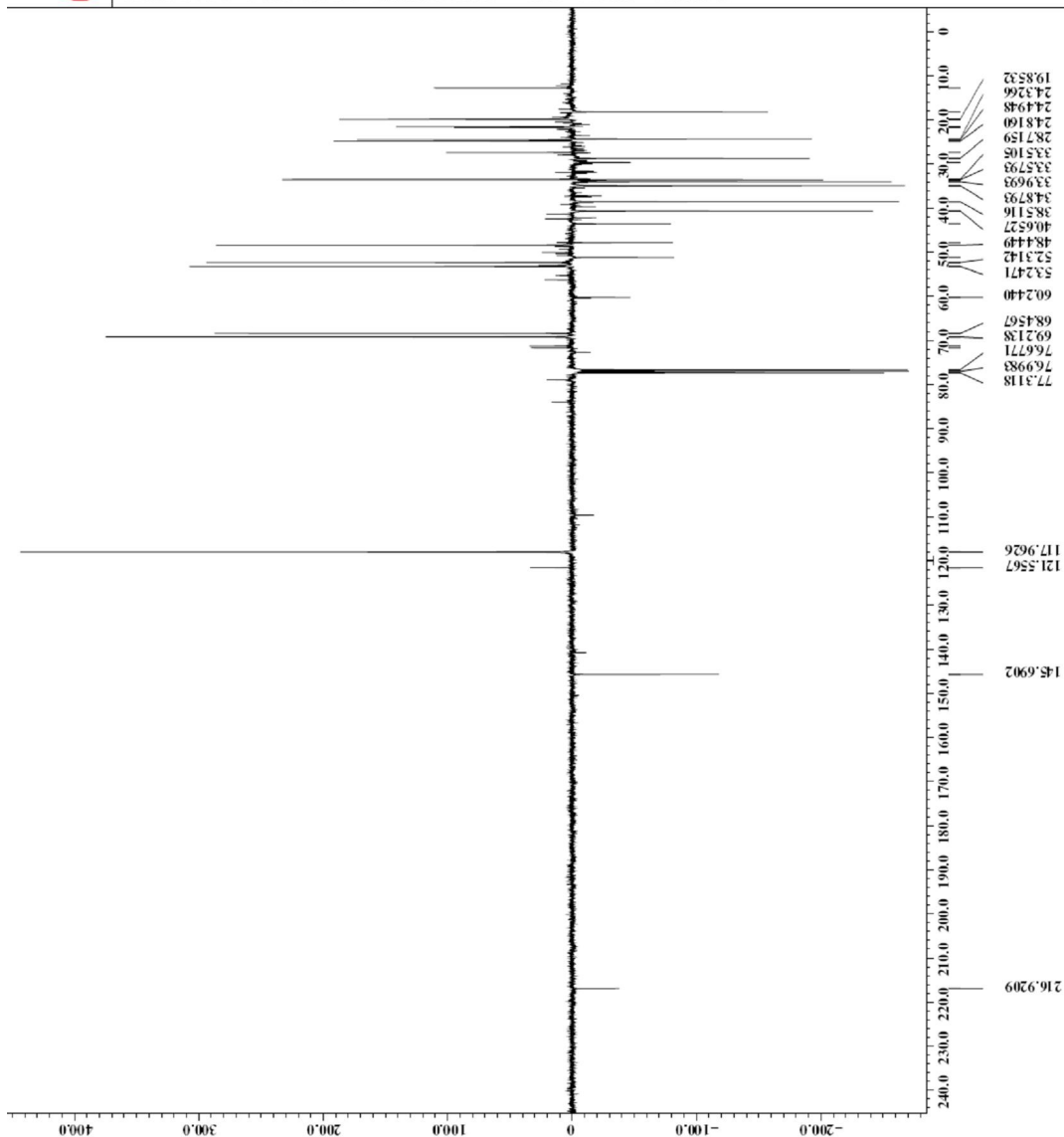
```

Filename = F762-13C_APT-5_jdr
Author = ROBERTO COITO
Experiment = F762
Pulseprog = zgpg30
Solvent = CHLOROFORM-D
Creation_time = 14-NOV-2007 05:50:40
Revision_time = 7-MAY-2008 15:45:03
Current_time = 7-MAY-2008 15:45:21

Comment = APT Experiment
          COMPLEX
Dim_xmat = 32768
Dim_size = 13C
Dim_title = [ppm]
Dim_units = X
Dimensions = X
Site = Eclipse+ 400
Spectrometer = DELTA_NMR

Field_strength = 9.369766[T] (400[MHz])
X_acq_duration = 1.3008896[s]
X_domain = 13C
X_freq = 100.52530333[MHz]
X_offset = 120[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 0
X_resolution = 7687074[Hz]
X_sfs = 2
X_wdwd = 18.1891696[MHz]
Irr_domain = 13C
Irr_freq = 399.78219838[MHz]
Irr_offset = 4[ppm]
Mod_return = 1
Scans = 20547

X_90_width = 13.72[us]
X_acq_time = 1.3008896[s]
X_angle = 90[deg]
X_pulse = 13.72[us]
Initial_wait = 1[s]
J_constant = 145[Hz]
Phase_preset = 3[us]
Recvr_gain = 29
Relaxation_delay = 2[s]
Repeat_time = 2[s]
Unblank_time = 2[us]
    
```



Espectro 18: Espectro de RMN¹³C (100 MHz) em CDCl₃ da substância F-4.



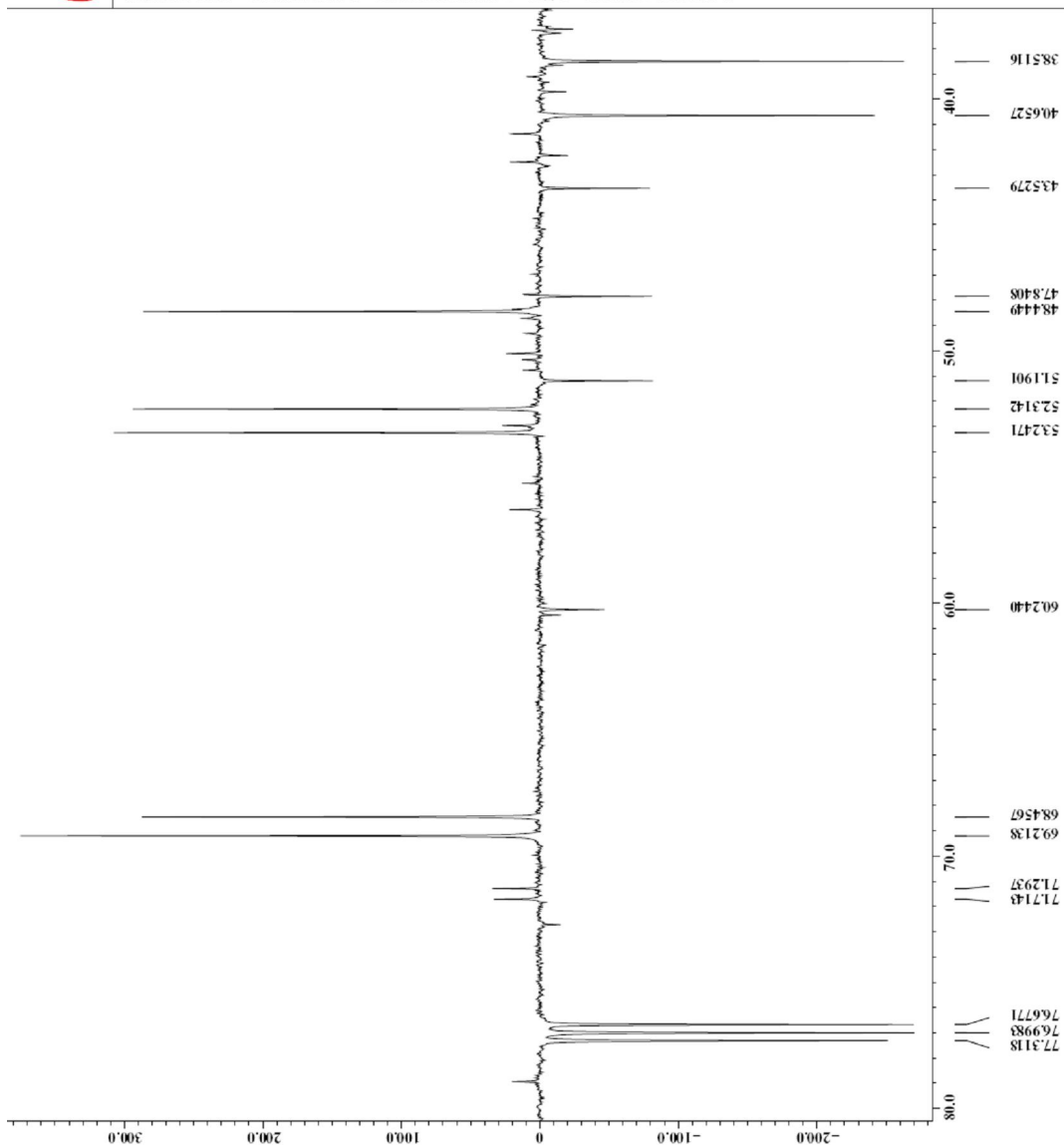
```

Filename = F762-13C_APT-5_1.jdr
Experiment = ROBERTO COATO
Proc_sop = Fc_sop
Solvent = CHLOROFORM-D
Creation_time = 14-NOV-2007 05:50:40
Revision_time = 7-MAY-2008 15:45:03
Current_time = 7-MAY-2008 15:48:28

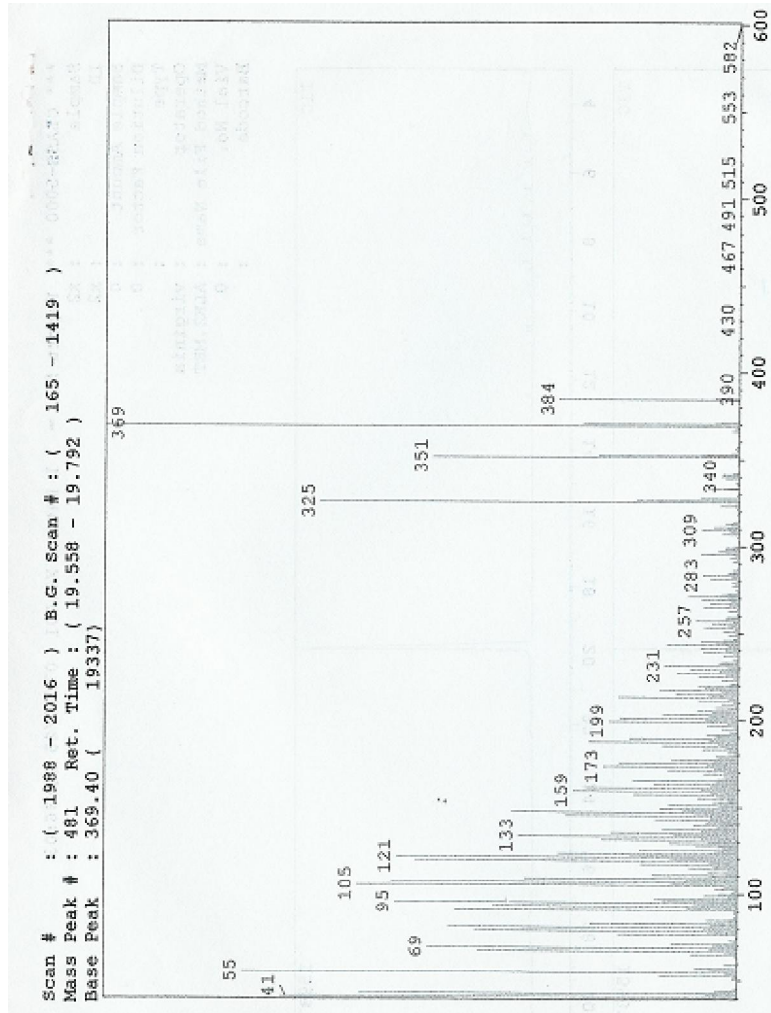
Comment = APT Experiment
Data_format = DD_COMPLEX
Date_acq = 13768
Dim_title = 13C
Dim_units = [ppm]
Dimensions = X
Site = Eclipse+ 400
Spectrometer = DELTA_NMR

Field_strength = 9.389766[T] (400[MHz])
X_duration = 13.008996[s]
X_domain = 13C
X_freq = 100.52530333[MHz]
X_offset = 120[ppm]
X_points = 32768
X_prescans = 0
X_resolution = 0.76870474[Hz]
X_sweep = 25.18891688[KHz]
X_gain = 399.78219838[MHz]
Irr_freq = 41[ppm]
Mod_return = 1
Scans = 20547

X_90_width = 13.72[us]
X_acq_time = 13.008996[s]
X_couple = 0[ppm]
X_pulse = 9[us]
Initial_wait = 11[s]
J_constant = 145[Hz]
Phase_preset = 3[us]
Recvr_gain = 29
Relaxation_delay = 1[s]
Temp_guc = 25[degC]
Unblank_time = 2[us]
    
```



Espectro 19: Ampliação da região δ_C 38 – 77 do espectro de RMN¹³C (100 MHz) em CDCl₃ da substância **F-4**.



Espectro 20: Espectro de massas da substância F-4.

6 CONCLUSÃO

Através da utilização das técnicas cromatográficas e espectroscópicas foi possível determinar e identificar quatro substâncias presentes nas folhas do extrato hexânico de *Trichilia quadrijuga*: um sesquiterpeno, Espatuleno (F-1); a mistura de dois esteróides, β -sitosterol (F-2) e Estigmasterol (F-3) e um triterpeno, Nilocitina (F-4).

O estudo dos componentes químicos de *T. quadrijuga* contribuiu para o conhecimento do perfil fitoquímico da espécie e confirmou a ocorrência de metabólitos oriundos da rota dos terpenos no gênero, sendo assim, relevante para a química de produtos naturais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBROZIN, A.R.P. **Estudo fitoquímico de plantas das famílias Rutaceae e Meliaceae visando o isolamento de substâncias protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos Antichagásicos e Antileishmanioses.** 2004. 261f. Dissertação (Doutorado em Química) - Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, SP.

BOLZAN, A.A. **Constituintes de *Senecio platensis* Arech. Isolamento, elucidação estrutural e avaliação da atividade antibacteriana.** 2007. 164f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS.

CORDEIRO, C.H.G.; CHUNG, M. C. e SACRAMENTO, L. V. S. **Interações medicamentosas de fitoterápicos e fármacos: *Hypericum perforatum* e *Piper methysticum*.** Revista Brasileira de Farmacognosia. 2005. v. 15, n. 03, p. 272-278.

CUNHA, U.S., VENDRAMIM, J.D., ROCHA, W.C., VIEIRA, P.C. **Bioatividade de moléculas isoladas de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae).** Neotropical Entomology. 2008. 37(6): 709-715

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products. A Biosynthetic Approach.** 3. ed. Chichester: John Wiley & Sons LTD, 2009. 546p.

FIGUEIREDO, E.R. **Estudo fitoquímico e avaliação biológica dos extratos de *Trichilia casarettii* e *Trichilia silvatica* (Meliaceae).** 2010. Dissertação (Doutorado em Química) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, R.J.

FILHO, V.C. e YUNES, R.A. **Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais.** Conceitos sobre

modificação estrutural para otimização da atividade. 1998. Química Nova. v. 21, n. 01, p. 99-105.

GARCIA, E.S. **Biodiversidade, Biotecnologia e Saúde**. 1995. Cadernos de Saúde Pública. Rio de Janeiro, v.11, n. 03, p.495-500.

GONÇALVES, M.S. **Atividade ovinicida e ninficida de diferentes extratos de Meliáceas sobre a mosca-negra-dos-citros, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Aleyrodidae) em condições de laboratório**. 2010. 34f. Monografia – Universidade Federal do Amazonas. Manaus, AM.

GUALBERTO, J.R. **Constituintes químicos isolados de *Ravenia infelix* (Rutaceae)**. 2009. 64f. Monografia – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, RJ.

JUNIOR, C.V. **Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos**. 2003. Química Nova. v. 26, n. 3, p. 390-400.

JUNIOR, C.C. e MING, L.C. **Geographical distribution and associated environments characterization of Catuba (*Trichilia catigua* A. Juss. – Meliaceae) in Paraná State –Brazil**. 2002. Acta Hort. 576. p.25-28.

JUNIOR, O.T. **Uso de extratos vegetais no controle de larvas de insetos aquáticos (insecta: odonata) predadores de alevinos em viveiros de piscicultura**. 2009. 77f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Comunitária da região de Chapecó. Chapecó, SC.

MATOS, A.P. **Busca de compostos inseticidas: Estudo de espécies do gênero *Trichilia* (Meliaceae)**. 2006. 194f. Tese de doutorado –Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, SP.

PINTO, A.C.; SILVA, D.H.S; BOLZANI, V.S.; LOPES, N.P; EPIFANIO, R.A. **Produtos Naturais: Atualidade, desafios e perspectivas**. 2002. Química Nova. v. 25, n. 01, p. 45-61.

PITTA, R.M. **Bioatividade de extratos orgânicos de meliáceas e óleos essenciais de piperáceas sobre *Rhopalosiphum maidis* (Hemiptera: Aphididae)**. 2010. 101f. Dissertação (Doutorado em Ciências) –Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP.

PUPO, M.T. **Constituintes químicos de *Trichilia claussenii* (MELIACEAE)**. 1997. Tese de doutorado –Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, SP.

RODRIGUES, V.F. **Constituintes químicos de *Trichilia quadrijuga* (MELIACEAE)**. 2009. 338f. Dissertação (Mestrado em Ciências Naturais) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, RJ.

RODRIGUES, V.F., CARMO, H.M., FILHO, R. BRAZ, MATHIAS, L. e VIEIRA, I.J.C. **New sesquiterpene from *Trichilia quadrijuga* (Meliaceae)**. 2009. Natural Product Communications. v. 70, n. 7/8, p. 1191-1195.

TERRA, W.S. **Constituintes químicos do gênero *Trichilia* (MELIACEAE)**. 2009. Monografia –Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, RJ.

WATERMAN, P. G., GRUNDON, M. F. **Chemistry and chemical taxonomy of the Rutales**. 1983. 1. ed. London. Academic Press Inc. Ltd, 464p.

<http://www.kew.org/>. Acessado em 12 de janeiro de 2012.