

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**BUSCA DE COMPOSTOS INSETICIDAS: ESTUDO DE
ESPÉCIES DO GÊNERO *Trichilia* (MELIACEAE)**

ANDRÉIA PEREIRA MATOS *

Tese apresentada como parte dos
requisitos para a obtenção do título
de DOUTOR EM CIÊNCIAS (área
QUÍMICA ORGÂNICA).

Orientador: Dr. Paulo Cezar Vieira

* Bolsista CNPq

SÃO CARLOS – SP
2006

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária/UFSCar**

M433bc

Matos, Andréia Pereira.

Busca de compostos inseticidas: estudo de espécies do gênero *Trichilia* (Meliaceae) / Andréia Pereira Matos. -- São Carlos : UFSCar, 2006.

170 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2006.

1. Produtos naturais. 2. *Trichilia*. 3. Inseticidas vegetais. 4. Spodoptera frugiperda. 5. Meliaceae. I. Título.

CDD: 574.3 (20^a)

Dedico este trabalho,

Aos meus filhos Isadora e César, por serem tudo que eu mais amo, por terem me mostrado o que é o verdadeiro amor, o amor de mãe.

Dedico a vocês, meus bebês, esta tese, a minha vida, os meus sonhos, toda a minha alegria em estar sempre com vocês, tudo o que já passamos e tudo que ainda passaremos.

Ao meu marido André, pelo amor, cuidado, dedicação e por estar sempre comigo, sempre.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Paulo Cezar Vieira, pelo apoio, confiança, amizade, compreensão, por tudo.

Ao Prof. Dr. João Batista Fernandes, pelo apoio e disponibilidade em ajudar nestes últimos meses.

Aos professores, Dra. Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva, Dr. Edson Rodrigues Filho e Dra. Arlene Gonçalves Côrrea, pelos ensinamentos e colaboração.

À Dra. Luciane Gomes Batista-Pereira, pelos ensinamentos, paciência, disponibilidade, confiança.

À Dra. Ana Cristina Leite, por acreditar no meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Ricardo Ribeiro Rodrigues, por estar sempre disposto em me ajudar na coleta e classificação das espécies de *Trichilia*.

À Prof. Dra Teresa Cristina, do Departamento de Estatística da UFSCar, pela disponibilidade em me ajudar com os tratamentos estatísticos.

Aos técnicos Doraf, Waldir, Paulo, Luciana pelo apoio durante todo este trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Produtos Naturais da UFSCar, pela convivência, troca de experiências e amizade.

Às alunas de iniciação científica, Marina, Daniela, Alini e Liliane, pela oportunidade de estar com vocês, ensinando e aprendendo.

A todos funcionários e professoras da Unidade de Atendimento a Criança da UFSCar por cuidarem dos meus filhos com carinho, amor, paciência e dedicação.

Aos meus sogros Antônio Carlos e Giselda e aos meus pais Marta e Vicente, pela concretização de um sonho.

A toda minha família, irmãs, cunhadas, cunhados, sobrinhos, pelo prazer de tê-los sempre comigo.

Ao meu marido André e aos meus filhos Isadora e César, pelo amor, carinho, compreensão, paciência.

À CNPQ, pela bolsa concedida.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AcO	Acetato
AcOEt	Acetato de etila
APCI	Atmosphere pressure chemical ionization
<i>ax</i>	Axial
CCDA	Cromatografia camada delgada analítica
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CD ₃ OD	Metanol deuterado
CG/EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CH ₂ Cl ₂	Diclorometano
COSY	Correlated spectroscopy
CLV	Cromatografia líquida sob vácuo
CL ₅₀	Concentração letal para 50 %
<i>d</i>	Dubleto
DI ₅₀	Índice de deterrência de 50 % de
<i>dd</i>	Duplo-dubleto
<i>ddd</i>	Duplo-duplo-dubleto
<i>dt</i>	Duplo-triplete
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
EC ₅₀	Concentração para 50 % de inibição de crescimento
ED ₅₀	Dose efetiva para 50 % de inibição de crescimento
<i>eq</i>	Equatorial
ESI	Electrospray ionization
eV	Elétron volt
Exp.	Dados experimentais
h	Comprimento da coluna ou horas
Hex	Hexano
HMBC	Heteronuclear Multiple Quantum Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
Hz	Hertz
IE	Impacto eletrônico

IV	Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento (em Hertz)
Lit.	Dados da literatura
<i>m</i>	Multiplete
Me	Metila
MeOH	Metanol
MHz	Mega hertz
MS	Mass Spectrometry
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
<i>n</i> -BuOH	<i>n</i> -butanol
nm	nanômetro
OMe	Metoxila
p.	Página
PENDANT	Polarization Enhancement Nurtured During Attached Nucleus Testing
PF	Ponto de fusão
Piridina- <i>d</i> ₅	Piridina deuterada
RMN ¹ H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³ C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
<i>s</i>	Singleto
<i>s/</i>	Singleto largo
<i>t</i>	Triplete
TMS	Tetrametil-silano
UR	Umidade relativa
UV	Ultra violeta
[α] _D	Rotação óptica específica
δ	Deslocamento químico por partes por milhão
ϕ	Diâmetro
λ	Comprimento de onda

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1 – Extratos brutos das folhas e ramos de <i>T. catigua</i> , <i>T. clausenii</i> e <i>T. elegans</i>	26
TABELA 3.2 – Extratos brutos dos frutos de <i>T. clausenii</i> e <i>T. elegans</i>	27
TABELA 3.3 – Extratos brutos das sementes, arilo e exocarpo de <i>T. clausenii</i> e <i>T. catigua</i>	28
TABELA 4.1 - Dados de RMN ¹ H (δ , ppm) da escaporona isolada (I) e comparação com a literatura.....	57
TABELA 4.2 - Dados de RMN ¹ H (δ , ppm) da escopoletina isolada (II) e comparação com a literatura.....	60
TABELA 4.3 - Dados de RMN ¹ H (δ , ppm) da umbeliferona isolada (III) e comparação com a literatura.....	62
TABELA 4.4 – Dados de RMN ¹ H (δ , ppm) do criptomeridiol isolado (VI) e comparação com a literatura (VI - EVANS et al., 1982; VIa - SHUN-HUA et al., 1993).....	65
TABELA 4.5 – Dados de RMN ¹³ C do criptomeridiol (VI) em comparação com a literatura (VI - NANAYAKKARA et al., 1986; VIa - SHUN-HUA et al., 1993).	66
TABELA 4.6 - Dados de RMN ¹³ C (δ , ppm) (100 MHz, CDCl ₃) da α -amirina (V) e β -amirina (VI) isoladas e da literatura.....	70
TABELA 4.7 – Dados de RMN ¹³ C (δ , ppm) para a substância (VII) (CDCl ₃ , 200 MHz) comparados com literatura (REYNOLDS et al.; 1986) (CDCl ₃ , 400 MHz).....	75
TABELA 4.8 – Dados de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do triterpeno (IX) em comparação com a literatura (PUPO et al., 1996).....	83
TABELA 4.9 – Dados de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) do triterpeno (IX) em comparação com a literatura (PUPO et al., 1996).....	84
TABELA 4.10 - Dados de RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) do esteróide (X) em comparação com a literatura (ROCHA 2005).....	94
TABELA 4.11 – Dados de RMN ¹³ C (CDCl ₃ , 100 MHz) do esteróide (X) em comparação com a literatura (ROCHA 2005).....	95

TABELA 4.12 - Dados de RMN ¹³ C da aglicona sitosterol (XV) em comparação com a literatura (SAKAKIBARA et al., 1983).....	100
TABELA 4.13 - Dados de RMN ¹³ C do grupo glicosil (XV) em comparação com a literatura (SAKAKIBARA et al., 1983).....	101
TABELA 4.14 – Dados de RMN ¹ H (δ) da substância XVI em comparação com a literatura (KADOTA et al., 1990).....	104
TABELA 4.15 – Dados de RMN ¹³ C (δ) da substância XVI em comparação com a literatura (KADOTA et al., 1990).....	105
TABELA 4.16 – Dados de RMN ¹ H da substância XVII em comparação com a literatura (CÉSPEDES et al., 1998).....	113
TABELA 4.17 – Dados de RMN ¹³ C dos limonóides XVII e XVIII em comparação com a literatura (CÉSPEDES et al., 1998).....	114
TABELA 4.18 – Dados de RMN ¹ H da substância XIX em comparação com a literatura (LUO et al., 2000).....	118
TABELA 4.19 – Dados de RMN ¹³ C da substância XIX em comparação com a literatura (LUO et al., 2000).....	119
TABELA 4.20 - Médias da duração das fases larval e pupal, peso pupal de <i>S. frugiperda</i> alimentada com dieta artificial tratada com extratos orgânicos, a 1000 mg kg ⁻¹ , de ramos e folhas de <i>Trichilia</i> spp. Temp.: 25 ± 1 ⁰ C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.....	130
TABELA 4.21 - Mortalidade das fases larval e pupal de <i>S. frugiperda</i> alimentada com dieta artificial tratada com extratos orgânicos, a 1000 mg kg ⁻¹ , de ramos e folhas de <i>Trichilia</i> spp. Temp.: 25 ± 1 ⁰ C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.....	131
TABELA 4.22 - Médias da duração da fase larval e peso pupal de <i>S. frugiperda</i> alimentada com dieta artificial tratada com extratos orgânicos, a 1000 mg kg ⁻¹ , de frutos e sementes de <i>Trichilia</i> spp. Temp.:25 ± 1 ⁰ C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.....	136
TABELA 4.23 - Mortalidade da fase larval de <i>S. frugiperda</i> alimentada com dieta artificial tratada com extratos orgânicos, a 1000 mg kg ⁻¹ , de sementes e frutos de <i>Trichilia</i> spp. Temp.:25 ± 1 ⁰ C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.....	137

TABELA 4.24 - Médias da duração da fase larval e peso pupal de <i>S. frugiperda</i> alimentada com dieta artificial tratada com extratos orgânicos, a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg ⁻¹ , de frutos <i>T. elegans</i> . Temp.:25 ± 1 ⁰ C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.....	140
Tabela 4.25 - Médias da mortalidade do ciclo total de <i>S. frugiperda</i> alimentada com dieta artificial tratada com extratos orgânicos, a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg ⁻¹ , dos frutos de <i>T. elegans</i> . Temp.:25 ± 1 ⁰ C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.....	141
TABELA 4.26 - Médias da duração da fase larval e peso pupal de <i>S. frugiperda</i> alimentada com dieta artificial tratada com triterpenóides (XXVIII , XXIX , XXXI e XXXII) a 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg ⁻¹ e (XXX e XXXIII) a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg ⁻¹ . Temp.:25 ± 1 ⁰ C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.....	146
TABELA 4.27 - Médias da mortalidade larval <i>S. frugiperda</i> alimentada com dieta artificial tratada com triterpenóides (XXVIII , XXIX , XXXI e XXXII) a 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg ⁻¹ e (XXX e XXXIII) a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg ⁻¹ . Temp.:25 ± 1 ⁰ C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.....	148
TABELA 4.28 - Médias das mortalidades larval, pupal e ciclo total de <i>S. frugiperda</i> alimentada com dieta artificial tratada com limonóides (XXXIV , XXXVI , XXXVII e XXXIII) a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg ⁻¹ e (XXXV , XXXVIII e XXXIX) a 1,0; 10,0; 50,0 mg kg ⁻¹ . Temp.:25 ± 1 ⁰ C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.....	154
TABELA 4.29 - Médias da duração das fases larval, pupal e peso pupal de <i>S. frugiperda</i> alimentada com dieta artificial tratada com limonóides (XXXIV , XXXVI , XXXVII e XXXIII) a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg ⁻¹ e (XXXV , XXXVIII e XXXIX) a 1,0; 10,0; 50,0 mg kg ⁻¹ . Temp.: 25 ± 1 ⁰ C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.....	156

LISTA DE FLUXOGRAMAS

FLUXOGRAMA 3.1 – Esquema de fracionamento para extratos metanólicos.....	29
FLUXOGRAMA 3.2 – Fracionamento da fração Trem.....	30
FLUXOGRAMA 3.3 – Fracionamento da fração Trem1.....	31
FLUXOGRAMA 3.4 – Fracionamento das frações Trem2 e Trem2c.....	32
FLUXOGRAMA 3.5 – Fracionamento de Tflh.....	33
FLUXOGRAMA 3.6 – Fracionamento da fração Tflh2.....	33
FLUXOGRAMA 3.7 – Fracionamento da fração Tflh2a.....	34
FLUXOGRAMA 3.8 – Fracionamento da fração Tflh2c.....	34
FLUXOGRAMA 3.9 – Fracionamento da fração Tflh2d.....	35
FLUXOGRAMA 3.10 – Fracionamento da fração Tflh2e.....	35
FLUXOGRAMA 3.11 – Fracionamento da fração Tflh4.....	36
FLUXOGRAMA 3.12 – Fracionamento das frações Tflh4c e Tflh4c5.....	37
FLUXOGRAMA 3.13 – Fracionamento da fração Tflm.....	38
FLUXOGRAMA 3.14 – Fracionamento da fração Tflm1.....	38
FLUXOGRAMA 3.15 – Fracionamento das frações Tflm1d e Tflm1d2.....	39
FLUXOGRAMA 3.16 – Fracionamento de Treh.....	40
FLUXOGRAMA 3.17 – Fracionamento das frações Treh3 e Treh3c.....	41
FLUXOGRAMA 3.18 – Fracionamento da fração Treh3f.....	42
FLUXOGRAMA 3.19 – Fracionamento de Tcsch.....	42
FLUXOGRAMA 3.20 – Fracionamento de Tcscm.....	43
FLUXOGRAMA 3.21 – Fracionamento das frações Tcscm1 e Tcscm1da.....	44
FLUXOGRAMA 3.22 – Fracionamento da fração Tcscm2.....	45
FLUXOGRAMA 3.23 – Fracionamento das frações Tcscm2d + 2e + 2f; Tcscm2d8 e Tcscm2d8b.....	46
FLUXOGRAMA 3.24 – Fracionamento da fração Tcscm2g.....	47

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.1 – Triterpenos precursores dos limonóides.....	1
FIGURA 1.2 – Substâncias que representam os principais tipos de esqueletos dos limonóides de Meliaceae (TAYLOR, 1984).....	2
FIGURA 1.3 – Estrutura do limonóide azadiractina.....	3
FIGURA 1.4 – Folhas e flores de <i>Trichilia elegans</i> ssp. <i>elegans</i>	5
FIGURA 1.5 – Seco-A-protolimonóides isolados de <i>Trichilia elegans</i>	6
FIGURA 1.6 – Limonóides isolados de <i>Trichilia elegans</i>	6
FIGURA 1.7 – Limonóides isolados de <i>Trichilia elegans</i>	7
FIGURA 1.8 – Limonóides isolados de <i>Trichilia elegans</i>	7
FIGURA 1.9 – Árvore adulta de <i>Trichilia clausenii</i> . Em destaque folhas com flores, frutos maduros, sementes, casca e madeira.....	8
FIGURA 1.10 – Cicloartanos isolados de <i>Trichilia clausenii</i>	9
FIGURA 1.11 – Ácidos ω -fenil alcanóicos e alcenóicos isolados de <i>Trichilia clausenii</i>	9
FIGURA 1.12 – Aminoácidos isolados de <i>Trichilia clausenii</i>	9
FIGURA 1.13 – Esteróides pregnanos isolados de <i>Trichilia clausenii</i>	10
FIGURA 1.14 – Sesquiterpenos isolados de <i>Trichilia clausenii</i>	11
FIGURA 1.15 - γ -lactonas isoladas de <i>Trichilia clausenii</i>	11
FIGURA 1.16 – Árvore adulta, flores e folhas de <i>Trichilia catigua</i>	12
FIGURA 1.17 – Sesquiterpenos isolados de <i>Trichilia catigua</i>	13
FIGURA 1.18 – Cumarina escopoletina 39 e sesquiterpeno espatulenol 40 isolados de <i>Trichilia catigua</i>	13
FIGURA 1.19 – Flavalignanas isoladas de <i>Trichilia catigua</i>	13
FIGURA 1.20 - γ -lactonas isoladas de <i>Trichilia catigua</i>	14
FIGURA 1.21 – ω -fenil alcanos e ácidos ω -fenil alcanóicos isolados de <i>Trichilia catigua</i>	14
FIGURA 1.22 – Ciclo biológico de <i>Spodoptera frugiperda</i>	16
FIGURA 1.23 – Trichilinas isoladas de <i>Trichilia roka</i>	17
FIGURA 1.24 – Limonóide sendanina isolado de <i>Trichilia roka</i>	18

FIGURA 1.25 – Limonóides isolados de <i>Trichilia pallida</i>	20
FIGURA 4.1 – Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) da cumarina I	58
FIGURA 4.2 – Espectro de massas da cumarina I (IE – 70 eV).....	58
FIGURA 4.3 – Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) da cumarina II	60
FIGURA 4.4 – Espectro de massas da cumarina II	61
FIGURA 4.5 – Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) da cumarina III	63
FIGURA 4.6 – Espectro de massas da cumarina III	63
FIGURA 4.7 – Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do sesquiterpeno VI ...	67
FIGURA 4.8 – Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do sesquiterpeno VI ..	67
FIGURA 4.9 – Espectro de RMN ¹³ C (DEPT) (100 MHz, CDCl ₃) do sesquiterpeno VI	68
FIGURA 4.10 - Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) dos triterpenos V e VI	71
FIGURA 4.11 - Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) dos triterpenos V e VI	71
FIGURA 4.12 – Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) do triterpeno VII	73
FIGURA 4.13 – Espectro de RMN ¹³ C (DEPT) (50 MHz, CDCl ₃) do triterpeno VII	73
FIGURA 4.14 – Espectro de massas do triterpeno VII (IE-70 éV).....	74
FIGURA 4.15 – Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do triterpeno VII	77
FIGURA 4.16 – Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do triterpeno VIII	77
FIGURA 4.17 - Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do triterpeno IX	80
FIGURA 4.18 – Ampliação do espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do triterpeno IX	80
FIGURA 4.19 – Ampliação do espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do triterpeno IX	81
FIGURA 4.20 – Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do triterpeno IX	81
FIGURA 4.21 – Mapa de correlações HSQC (400 MHz, CDCl ₃) do triterpeno IX	82
FIGURA 4.22 - Espectro de COSY ¹ H- ¹ H 45° (400 MHz, CDCl ₃) do triterpeno IX	82

FIGURA 4.23 - Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do esteróide X	86
FIGURA 4.24 – Ampliação do espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do esteróide X	86
FIGURA 4.25 - Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do esteróide X	87
FIGURA 4.26 – Ampliação do espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do esteróide X	87
FIGURA 4.27 – Mapa de contorno de HSQC (400 MHz, CDCl ₃) do esteróide X	89
FIGURA 4.28 – Estrutura do esteróide X e correlações observadas no HSQC.....	89
FIGURA 4.29 – Ampliação do mapa de contorno de HSQC (400 MHz, CDCl ₃) do esteróide X	90
FIGURA 4.30 – Ampliação do mapa de contorno de HMBC (400 MHz, CDCl ₃) do esteróide X	91
FIGURA 4.31 – Mapa de contorno de HMBC (400 MHz, CDCl ₃) do esteróide X	91
FIGURA 4.32 – Estrutura do esteróide X e correlações observadas no HMBC.....	92
FIGURA 4.33 - Espectro de COSY ¹ H- ¹ H 45° (400 MHz, CDCl ₃) do esteróide X	93
FIGURA 4.34 - Espectro de <i>g</i> -NOE (1d) (400 MHz, CDCl ₃) do esteróide X	93
FIGURA 4.35 - Espectro de RMN ¹ H da substância XV (400 MHz, Piridina-d ₅).....	98
FIGURA 4.36 – Ampliação do espectro de RMN ¹ H da substância XV (400 MHz, Piridina-d ₅).....	98
FIGURA 4.37 - Espectro de RMN ¹³ C substância XV (100 MHz, Piridina-d ₅)...	99
FIGURA 4.38 - Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) do limonóide XVI	106
FIGURA 4.39 - Ampliação do espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) do limonóide XVI	106
FIGURA 4.40 - Espectro de RMN ¹³ C (50 MHz, CDCl ₃) do limonóide XVI	107
FIGURA 4.41 - Espectro de RMN ¹³ C-PENDANT (50 MHz, CDCl ₃) do	

limonóide VI	107
FIGURA 4.42 - Ampliação do espectro de RMN ¹³ C-PENDANT (50 MHz, CDCl ₃) do limonóide XVI	108
FIGURA 4.43 – Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) do limonóide XVII	111
FIGURA 4.44 – Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃ + 1 gota de MeOD) dos limonóides XVII e XVIII	111
FIGURA 4.45 – Ampliação do espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃ + 1 gota de MeOD) dos limonóides XVII e XVIII	112
FIGURA 4.46 – Espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do limonóide XIX	116
FIGURA 4.47 – Ampliação do espectro de RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) do limonóide XIX	116
FIGURA 4.48 - Espectro de RMN ¹³ C (100 MHz, CDCl ₃) do limonóide XIX	117
FIGURA 4.49 – Mapa de correlações HSQC (400 MHz, CDCl ₃) do limonóide XIX	121
FIGURA 4.50 – Ampliação do mapa de correlações HSQC (400 MHz, CDCl ₃) do limonóide XIX	121
FIGURA 4.51 – Ampliação do mapa de correlações HSQC (400 MHz, CDCl ₃) do limonóide XIX	122
FIGURA 4.52 – Mapa de correlações HMBC (400 MHz, CDCl ₃) do limonóide XIX	122
FIGURA 4.53 – Ampliação do mapa de correlações HMBC (400 MHz, CDCl ₃) do limonóide XIX	123
FIGURA 4.54 – Espectro de COSY ¹ H- ¹ H 45° (400 MHz, CDCl ₃) do limonóide XIX	123
FIGURA 4.55 – Espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) do limonóide XX	125
FIGURA 4.56 – Ampliação do espectro de RMN ¹ H (200 MHz, CDCl ₃) do limonóide XX	125
FIGURA 4.57 – Cumarinas testadas frente à <i>S. litura</i>	135
FIGURA 4.58 - Estruturas dos limonóides sandoricina (XXVI) e 6-hidroxisandoricina (XXVII).....	138
FIGURA 4.59 - Médias da mortalidade do ciclo total de <i>S. frugiperda</i>	

alimentada com dieta artificial tratada com extratos orgânicos, a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg ⁻¹ , dos frutos de <i>T. elegans</i>	142
FIGURA 4.60 - Triterpenóides (XXVIII - XXXII) isolados de <i>Cedrela fissilis</i> e toosendanina (XXXIII).....	149
FIGURA 4.61 - Médias da duração da fase larval de <i>S. frugiperda</i> alimentada com dieta artificial tratada com triterpenóides (XXVIII, XXIX e XXXII) a 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg ⁻¹ e (XXXI) a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg ⁻¹ ..	150
FIGURA 4.62 - Médias do peso pupal de <i>S. frugiperda</i> alimentada com dieta artificial tratada com triterpenóides (XXVIII, XXIX, XXXI e XXXII) a 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg ⁻¹ e (XXXIII) a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg ⁻¹	150
FIGURA 4.63 - Limonóides (XXXIV - XXXIX) isolados de <i>Cipadessa fruticosa</i>	158
FIGURA 4.64 - Médias das mortalidades larval, pupal e ciclo total de <i>S. frugiperda</i> alimentadas com dieta artificial tratada com febrifugina (XXXVII) e febrifugina A (XXXVIII).....	159

RESUMO

BUSCA DE COMPOSTOS INSETICIDAS – ESTUDO DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Trichilia* (MELIACEAE) – Este trabalho apresenta os resultados obtidos dos ensaios biológicos dos extratos hexânico, metanólico e hidrometanólico de ramos, folhas, sementes, arilo e exocarpo de *T. catigua*; ramos, folhas, frutos, sementes, arilo e exocarpo de *T. clausenii* e ramos, folhas e sementes de *T. elegans* sobre a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda*. Os extratos hexânico e metanólico de folhas, hexânico de ramos e metanólico de frutos de *T. clausenii* apresentaram alta atividade inseticida frente a *S. frugiperda*. No entanto, os extratos hexânico e metanólico de frutos de *T. elegans* causaram a mais alta taxa de mortalidade larval (100 %), já o extrato hidrometanólico apresentou atividade inseticida moderada e mostrou-se inibidor de crescimento e da alimentação. Os extratos ativos foram fracionados e o estudo químico levou ao isolamento de 20 metabólitos, incluindo limonóides, triterpenos, cumarinas, esteróides e um sesquiterpeno. Do extrato hexânico de folhas de *T. clausenii* foram isolados os esteróides β -sitosterol, estigmasterol, campesterol, sitostenona e os triterpenóides α -amirina, β -amirina, lupeol, lupenona, além do triterpeno do tipo cicloartano 24-metileno-26-hidroxícicloartano-3-ona e do sesquiterpeno criptomeridiol. Do extrato metanólico de folhas de *T. clausenii* foram isolados somente os esteróides 24-metileno-3 β ,4 β ,22 α -triidroxi-colesterol e - β -O- β -D-glucopiranosil sitosterol. Ao se fracionar o extrato metanólico de frutos de *T. elegans* foram isoladas as cumarinas 6,7-dimetoxicumarina, 6-metoxi-7-hidroxícumarina e 7-hidroxícumarina. As mesmas cumarinas e os esteróides foram novamente isolados do extrato hexânico de frutos de *T. elegans*. Os limonóides cedrelona e 11 β -metoxicedrelona foram isolados do extrato hexânico do arilo de *T. catigua*. Além destes limonóides, o angolensato de metila e a mistura epimérica de fotogedunina foram isolados do extrato metanólico do arilo de *T. catigua*. Este é o primeiro relato do isolamento de limonóides de *T. catigua*. Triterpenóides isolados de *Cedrela fissilis* e limonóides isolados de *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) foram ensaiados frente a *S. frugiperda*. Dentre os triterpenóides testados, o odoratol

apresentou os melhores resultados (atividade inseticida, inibidor de crescimento e inibidor de alimentação). A febrifugina A causou a mais alta taxa de mortalidade do ciclo total (a 50 mg kg^{-1}) de 73,3%.

ABSTRACT

SEARCH OF INSECTICIDAL COMPOUNDS – STUDY OF SPECIES FROM THE GENUS *Trichilia* (MELIACEAE) – This work describes the results of the search for insecticidal compounds from the Meliaceae family. The samples assayed against fall armyworm *Spodoptera frugiperda* were the hexane, methanol and hydromethanol extracts of twigs, leaves, seeds, aril and exocarp of *T. catigua*; twigs, leaves, fruits, seeds, aril and exocarp of *T. clausenii* and twigs, leaves and fruits of *T. elegans*. The hexane and methanol extracts of leaves, hexane of twigs and methanol of fruits from *T. clausenii* showed to possess the higher insecticidal activity against *S. frugiperda*. Nevertheless, the hexane and methanol extracts of fruits from *T. elegans* showed the highest rate of larval mortality (100 %). The hydromethanol extract of *T. elegans* showed moderate insecticidal activity and also showed growth inhibition and antifeedant activities. The active extracts were fractionated and the chemical study led to isolation of 20 compounds, including limonoids, triterpenes, coumarins, steroids and one sesquiterpene. From the hexane extract of leaves from *T. clausenii* were isolated the steroids β -sitosterol, stigmasterol, campesterol and sitostenone; the triterpenoids α -amyrin, β -amyrin, lupeol, lupenone, in addition to the cycloartane triterpene 24-methylen-26-hydroxycycloartan-3-one and sesquiterpene criptomeridiol. From the methanol extract of leaves of *T. clausenii* were isolated the steroids 24-methylen-3 β ,4 β ,22 α -trihydroxy-cholesterol and 3- β -O- β -D-glucopyranosylsitosterol. From the methanol extract of fruits from *T. elegans* were isolated the coumarins 6,7-dimethoxycoumarin, 6-methoxy-7-hydroxycoumarin and 7-hydroxycoumarin. The same coumarins and the steroids were also isolated from the hexane extract of fruits from *T. elegans*. The limonoids cedrelone and 11 β -methoxycedrelone were isolated from the hexane extract of aril from *T. catigua*. Limonoids methylangolensate together with the photogedunin epimeric mixture were isolated from the methanol extract of aril from *T. catigua*. This is first report of the isolation of limonoids from *T. catigua*. Triterpens isolated from *Cedrela fissilis* and limonoids isolated from *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) were tested against *S. frugiperda*.

Among them odoratol showed the best results (insecticidal activity, growth inhibition and antifeedant). Febrifugin A showed the highest rate of mortality of total cycle (at 50 mg kg⁻¹) of 73.3%.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 – Família Meliaceae.....	1
1.1 – Perfil Químico do Gênero <i>Trichilia</i>	4
1.1.1 – <i>Trichilia elegans</i> ssp. <i>elegans</i> A. Juss. (POTT et al., 1994).....	5
1.1.1.1 – Constituintes químicos anteriormente isolados de <i>Trichilia elegans</i> A. Juss.....	5
1.1.2 – <i>Trichilia claussenii</i> C. DC. (LORENZI, 1994).....	8
1.1.2.1 - Constituintes químicos anteriormente isolados de <i>Trichilia claussenii</i> C. DC.....	9
1.1.3 – <i>Trichilia catigua</i> A. Juss. ¹	12
1.1.3.1 - Constituintes químicos anteriormente isolados de <i>Trichilia catigua</i> A. Juss.....	12
1.2 – A busca de compostos inseticidas.....	15
1.2.1 – Considerações sobre <i>Spodoptera frugiperda</i> (J. E. Smith, 1797) (Lepidóptera: Noctuidae).....	15
1.2.2 – Atividades de espécies de <i>Trichilia</i> sobre <i>Spodoptera</i>	17
2 – OBJETIVOS.....	22
3 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	23
3.1 – Materiais e métodos.....	23
3.2 – Equipamentos.....	23
3.3 – Material botânico.....	25
3.4 – Obtenção dos extratos brutos de <i>Trichilia catigua</i> , <i>Trichilia elegans</i> e <i>Trichilia claussenii</i>	25
3.4.1 – Obtenção dos extratos brutos de folhas e ramos de <i>Trichilia catigua</i> , <i>Trichilia elegans</i> e <i>Trichilia claussenii</i>	25
3.4.2 – Obtenção dos extratos brutos dos frutos de <i>Trichilia catigua</i> , <i>Trichilia</i> <i>elegans</i> e <i>Trichilia claussenii</i>	27
3.5 – Fracionamento dos Extratos Brutos Ativos contra <i>Spodoptera</i> <i>frugiperda</i>	29
3.5.1 – Fracionamento de Trem.....	29

3.5.1.1 – Fracionamento da Fração Trem1.....	31
3.5.1.2 – Fracionamento das Frações Trem2 e Trem2c.....	32
3.5.2 – Fracionamento de Tflh.....	33
3.5.2.1 – Fracionamento da Fração Tflh2.....	33
3.5.2.1.1 – Fracionamento da fração Tflh2a.....	34
3.5.2.1.2 – Fracionamento da fração Tflh2c.....	34
3.5.2.1.3 – Fracionamento da fração Tflh2d.....	35
3.5.2.1.4 – Fracionamento da fração Tflh2e.....	35
3.5.2.1.5 – Fracionamento da fração Tflh4.....	36
3.5.2.1.5.1 – Fracionamento das frações Tflh4c e Tflh4c5.....	37
3.5.3 – Fracionamento de Tflm.....	38
3.5.3.1 – Fracionamento da Fração Tflm1.....	38
3.5.3.1.1 – Fracionamento das frações Tflm1d e Tflm1d2.....	39
3.5.4 – Fracionamento de Treh.....	40
3.5.4.1 – Fracionamento das Frações Treh3 e Treh3c.....	41
3.5.4.2 – Fracionamento da Fração Treh3f.....	42
3.5.5 – Fracionamento de Tcsch.....	42
3.5.6 – Fracionamento de Tcscm.....	43
3.5.6.1 – Fracionamento das Frações Tcscm1 e Tcscm1d.....	44
3.5.6.2 – Fracionamento da Fração Tcscm2.....	45
3.5.6.2.1 – Fracionamento das Frações Tcscm2d + 2e +2f, Tcscm2d8 e Tcscm2d8b.....	46
3.5.6.2.2 – Fracionamento da fração Tcscm2g.....	47
3.6 – ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	48
3.6.1 – Ensaio biológico com extratos de ramos, folhas, frutos e sementes de <i>Trichilia</i> spp. no desenvolvimento de <i>Spodoptera frugiperda</i>	48
3.6.2 – Ensaio biológico com triterpenóides isolados de <i>Cedrela fissilis</i> (Meliaceae) no desenvolvimento de <i>Spodoptera frugiperda</i>	49
3.6.3 – Ensaio biológico com limonóides isolados de <i>Cipadessa fruticosa</i> (Meliaceae) no desenvolvimento de <i>Spodoptera frugiperda</i>	49
4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	50

4.1 – Substâncias isoladas.....	50
4.2 – Identificação das Cumarinas.....	56
4.2.1 – Identificação da substância I	56
4.2.2 – Identificação da substância II	59
4.2.3 – Identificação da substância III	62
4.3 – Identificação do Sesquiterpeno.....	64
4.3.1 – Identificação da substância VI	64
4.4 – Identificação dos Triterpenos.....	69
4.4.1 – Identificação das substâncias V e VI	69
4.4.2 - Identificação da substância VII	72
4.4.3 - Identificação da substância VIII	76
4.4.4 – Identificação da substância IX	78
4.5 – Identificação dos Esteróides.....	85
4.5.1 – Identificação da substância X	85
4.5.2 – Identificação das substâncias XI , XII , XIII e XIV	96
4.5.3 - Identificação da substância XV	97
4.6 – Identificação dos Limonóides.....	102
4.6.1 – Identificação da substância XVI	102
4.6.2 – Identificação da mistura epimérica de fotogedunina (Substâncias XVII e XVIII).....	109
4.6.3 – Identificação da substância XIX	115
4.6.4 – Identificação da substância XX	124
4.7 – RESULTADOS DOS ENSAIOS BIOLÓGICOS.....	126
4.7.1 – Efeito dos extratos de ramos e folhas no desenvolvimento de <i>Spodoptera frugiperda</i>	126
4.7.2 – Efeito dos extratos de frutos e sementes no desenvolvimento de <i>Spodoptera frugiperda</i>	132
4.7.2.1 – Efeito dos extratos de frutos de <i>T. elegans</i> no desenvolvimento de <i>Spodoptera frugiperda</i>	139
4.7.3 – Atividade de triterpenóides isolados de <i>Cedrela fissilis</i> (Meliaceae) no desenvolvimento de <i>Spodoptera frugiperda</i>	143

4.7.4 – Atividade de limonóides isolados de <i>Cipadessa fruticosa</i> (Meliaceae) no desenvolvimento de <i>Spodoptera frugiperda</i>	151
5 – CONCLUSÕES.....	160
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	161

1 - INTRODUÇÃO

1.1 – Família Meliaceae

A família Meliaceae pertence à ordem Rutales e é composta por 51 gêneros de plantas lenhosas distribuídas pelos trópicos e subtropicais de ambos os hemisférios terrestres. Os gêneros nativos do Brasil são *Cedrela*, *Cabralea*, *Swietenia*, *Carapa*, *Guarea* e *Trichilia*, sendo os três primeiros exclusivamente americanos (PENNINGTON e STYLES, 1975).

As meliáceas são caracterizadas quimicamente pela presença de tetranortriterpenóides, conhecidos como limonóides ou meliacinas. Além da família Meliaceae, somente outras duas famílias (Rutaceae e Cneoraceae) do reino vegetal possuem esses compostos (DA SILVA et al., 1984).

Os limonóides são derivados de triterpenos tetracíclicos do eufol ou tirucalol (FIGURA 1.1), onde ocorrem várias oxidações e rearranjos, levando à formação de diferentes estruturas (CONNOLLY, 1983). Os limonóides isolados de Meliaceae, segundo TAYLOR (1984), podem ser divididos em onze grupos principais, de acordo com o padrão de esqueleto carbônico apresentado (Figura 1.2).

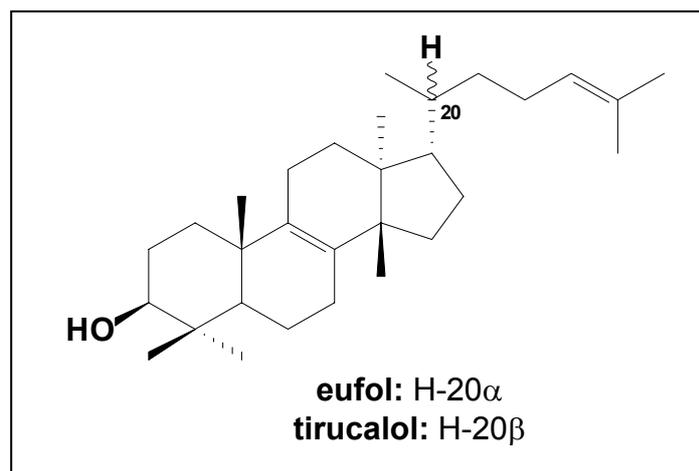


FIGURA 1.1 – Triterpenos precursores dos limonóides

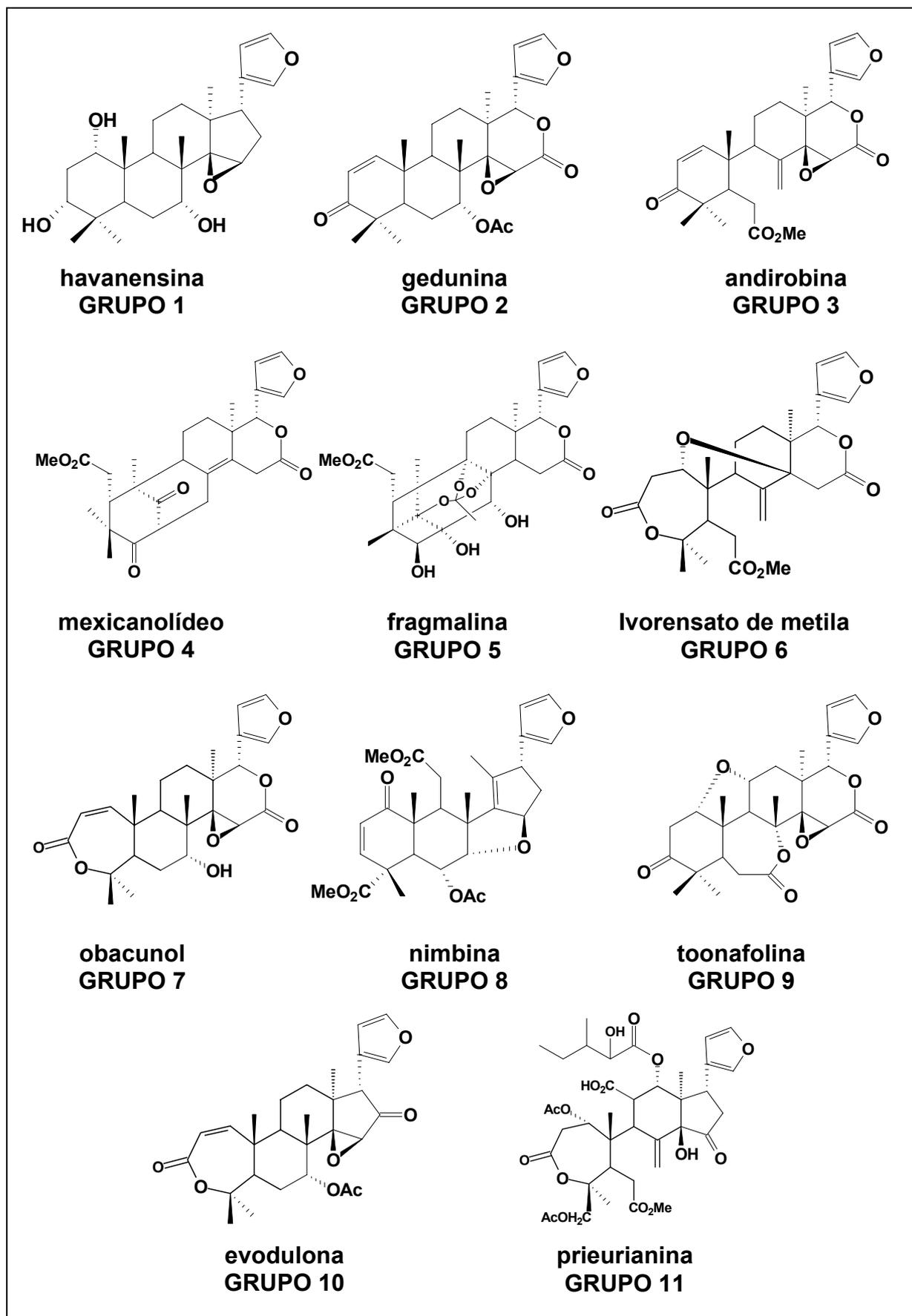


FIGURA 1.2 – Substâncias que representam os principais tipos de esqueletos dos limonóides de Meliaceae (TAYLOR, 1984).

As plantas da família Meliaceae são reconhecidas por fornecerem madeira de grande valor comercial (BANERJI E NIGAN, 1984). Além disto, elas se destacam pela bioatividade de vários de seus metabólitos secundários, principalmente os limonóides. Essa classe de compostos tem apresentado diversos tipos de atividades biológicas, tais como: antiparasitária, citotóxica, antifúngica, antibacteriana, antiviral e principalmente inseticida (BRAY et al., 1990; CHAMPAGNE et al., 1992).

O estudo da atividade inseticida dos limonóides intensificou-se com o isolamento do limonóide azadiractina (Figura 1.3) de *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) (BUTTERWORTH e MORGAN, 1968).

A azadiractina possui um grande potencial inseticida, apresentando atividade frente a várias espécies de insetos. Esta substância interfere no funcionamento das glândulas endócrinas que controlam a metamorfose em insetos, impedindo a ocorrência da ecdise (REMBOLD, 1989). A azadiractina apresenta atividade fago inibidora, que constitui uma das atividades mais relevantes relatadas para as plantas da família Meliaceae (LEE et al., 1991), e seu efeito foi comprovado sobre aproximadamente 300 espécies de insetos (MARTINEZ, 2002). Há alguns inseticidas atualmente disponíveis no mercado que contêm azadiractina como componente principal (VIEGAS JR., 2003).

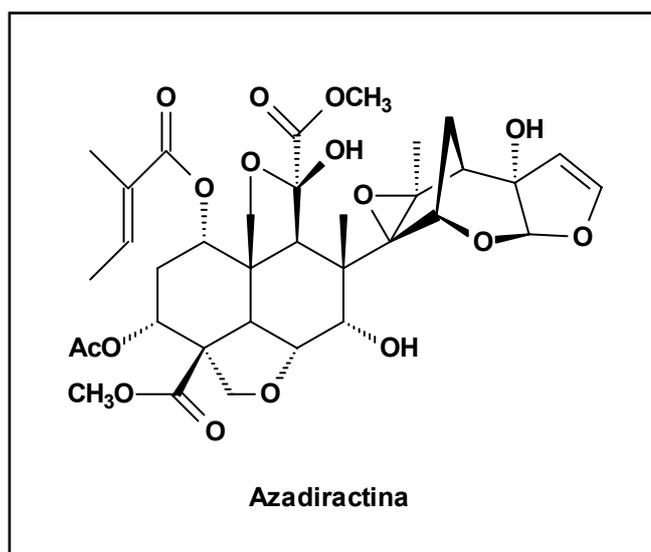


FIGURA 1.3 – Estrutura do limonóide azadiractina

1.1 – Perfil Químico do Gênero *Trichilia*

O gênero *Trichilia* pertence à família Meliaceae e à subfamília Melioideae (PENNINGTON e STYLES, 1975), mesma subfamília onde estão posicionados os gêneros *Melia* e *Azadirachta*. Portanto, existe a possibilidade de se isolar substâncias semelhantes às isoladas de *Melia* e *Azadirachta*.

O gênero *Trichilia* possui aproximadamente 70 espécies distribuídas pela América tropical, África e região Indo-Malaia. É um dos gêneros que possui o maior número de espécies na família e dentro da subfamília Melioideae, é o gênero que apresenta maior número e tipo de limonóides (PENNINGTON, 1981).

Programas de “screening” da família Meliaceae têm identificado o gênero *Trichilia* como fonte para desenvolvimento de inseticidas (MIKOLAJCZAK e REED, 1987; 1989; RODRÍGUEZ e VENDRAMIM, 1996; 1997; BOGORNÍ & VENDRAMIM, 2003; 2005; WHEELER et al., 2001a). Muitos pesquisadores têm isolado limonóides de diversas espécies de *Trichilia* (ADESIDA e OKORIE, 1973; CHAN et al., 1973; CONNOLLY et al., 1979; MULHOLAND e TAYLOR, 1980; JOLAD et al., 1980; 1981a; ARENAS e RODRÍGUEZ-HAHN, 1990; OLUGBADE, 1991; TINTO et al., 1991; CORTEZ et al., 1992; 1998; 2000; INADA et al., 1994; MUSZA et al., 1995; GARCEZ et al. 1997a; 2000; RODRÍGUEZ-HAHN et al., 1996; RODRÍGUEZ et al., 2003; ZHANG et al., 2003;). A atividade biológica sobre insetos de alguns destes limonóides tem sido investigada, e resultados promissores foram encontrados (NAKATANI et al., 1981, 1985; KUBO & KLOCKE, 1982; SIMMONDS et al., 2001; RODRÍGUEZ, 2003).

Além dos limonóides, outras classes de substâncias têm sido isoladas do gênero *Trichilia*: esteróides de *T. hirta* (CHAURET et al., 1996), esteróides e cumarinas de *T. stipulata* (CORTEZ et al., 1998), sesquiterpenos (GARCEZ et al., 1997b), lignanas e γ -lactonas (PIZZOLATTI et al., 2002; 2004) de *T. catigua*, triterpenos do tipo tirucalano de *T. hispida* (JOLAD et al., 1980; 1981b) e de *T. connaroides* (INADA et al., 1994), esteróides pregnanos de *T. schomburgkii* (TINTO et al., 1991; KETWARU et al., 1993) e de *T. connaroides* (ZHANG et al., 2003), protolimonóides de *T. elegans* (GRACEZ et al., 1996); protolimonóide glicosilado de *T. prieuriana* (OLUGBADE & ADESANYA, 2000), triterpenos do tipo cicloartano, ácidos ω -fenil alcanóicos e alcenóicos, γ -lactonas, esteróides androstanos e pregnanos e sesquiterpenos de *T. clausenii* (PUPO et al., 1996; 1997; 1998; 2002),

sesquiterpenos, triterpenos e esteróides de *T. lepidota* (PUPO et al., 2002). Tal como os limonóides, dolabelanos isolados de *T. trifolia* tiveram suas atividades antialimentar testadas sobre *Sitophilus oyizae* (RAMÍREZ et al., 2000).

1.1.1 – *Trichilia elegans* ssp. *elegans* A. Juss. (POTT et al., 1994)

Trichilia elegans ssp. *elegans* A. Juss. (FIGURA 1.4), conhecida popularmente como cachuá, produz madeira resistente e durável, sendo a casca empregada em curtumes. Possui ampla dispersão no país, sendo encontrada desde Goiás até Santa Catarina em matas semidecíduas, apresentando-se como uma arvoreta de três a seis metros de altura. É uma planta apícola, cuja floração é observada de outubro a dezembro e com frutos encontráveis no período de janeiro a março. Estes se apresentam como cápsulas trivalvares ovaladas e pubescentes, medindo cerca de 6 mm de comprimento, enquanto as sementes, pretas, são parcialmente envoltas por um arilo de coloração alaranjada.



FIGURA 1.4 – Folhas e flores de *Trichilia elegans* ssp. *elegans*.

1.1.1.1 – Constituintes químicos anteriormente isolados de *Trichilia elegans* A. Juss.

O estudo químico das sementes de *T. elegans* ssp. *elegans*, resultou no isolamento de três seco-A-protolimonóides (**1**, **2** e **3**) (FIGURA 1.5) (GARCEZ et al., 1996), oito limonóides (**4** - **11**) (FIGURA 1.6 e 1.7) (GARCEZ et al., 1997), além

dos limonóides 7-desoxo-7 β -acetokihadaninas A e B (**12** e **13**), 7-desoxo-7 β -hidroxikihadaninas A e B (**14** e **15**) e 7-desoxo-7 α -hidroxikihadanina (**16**) (FIGURA 1.8) (GARCEZ et al., 2000).

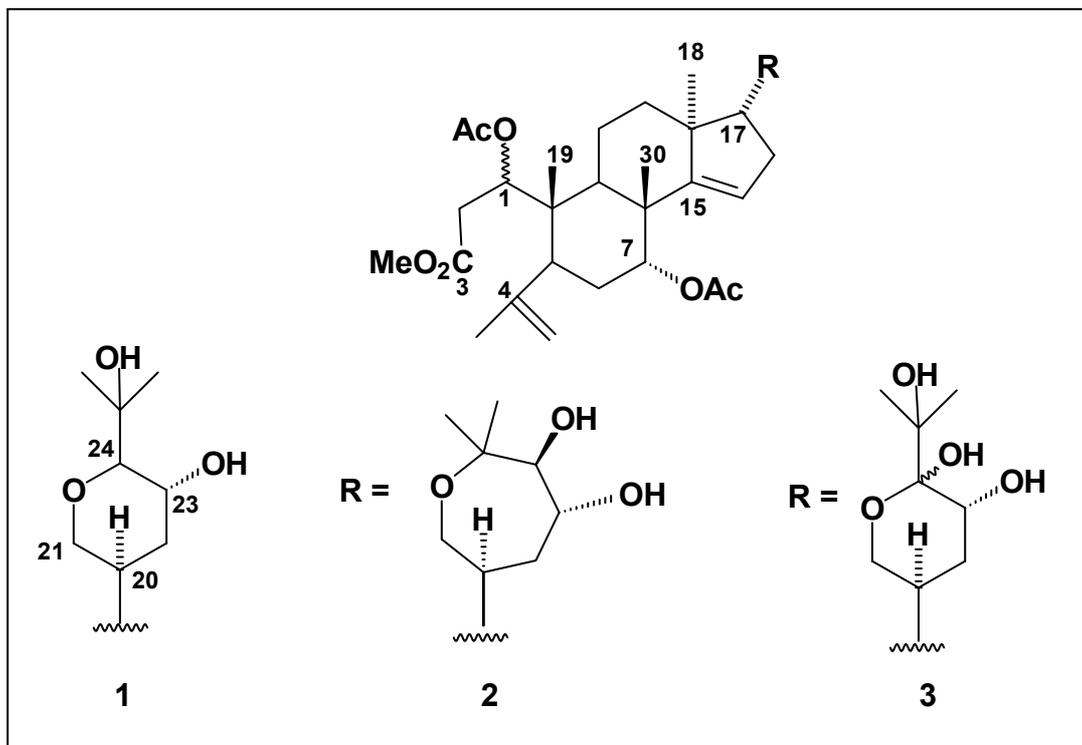


FIGURA 1.5 – Seco-A-protolimonóides isolados de *Trichilia elegans*.

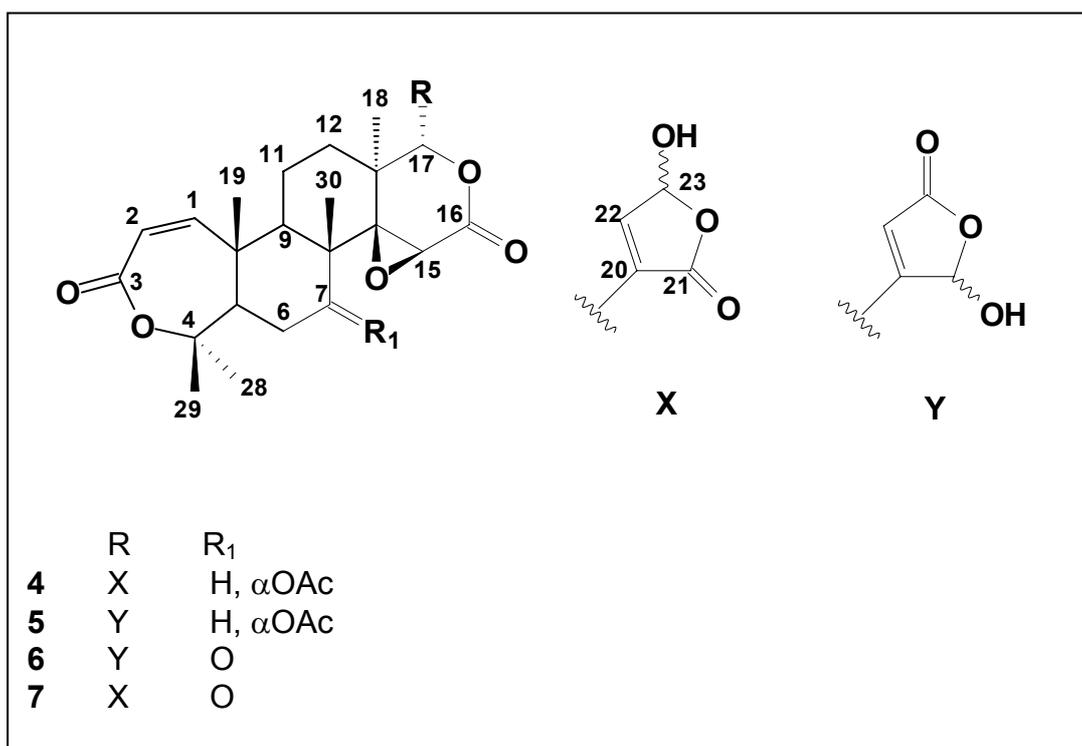


FIGURA 1.6 – Limonóides isolados de *Trichilia elegans*.

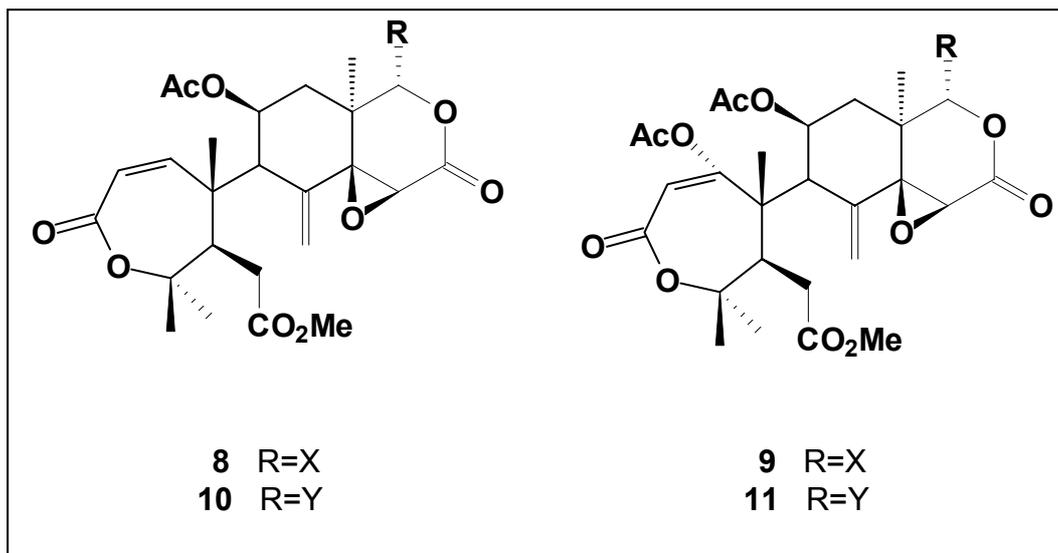


FIGURA 1.7 - Limonóides isolados de *Trichilia elegans*.

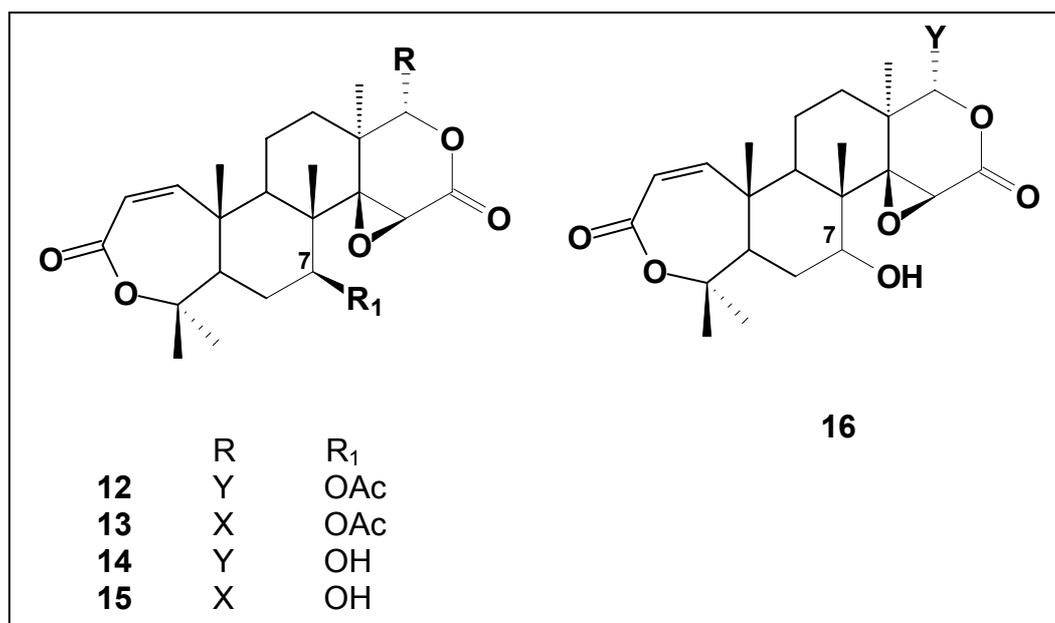


FIGURA 1.8 - Limonóides isolados de *Trichilia elegans*.

1.1.2 – *Trichilia clausenii* C. DC. (LORENZI, 1994)

Sinonímias botânicas: *Trichilia clausenii* C. DC. var. *microcarpa* C. DC., *Trichilia triphyllaria* C. DC., *Trichilia lagoensis* C. DC., *Trichilia lagoensis* C. DC. var. *pubescens* C. DC., *Trichilia velutina* C. DC., *Trichilia hieronymi* Griseb., *Trichilia tartagaiensis* C. DC., *Trichilia bradei* Harms.

Trichilia clausenii é popularmente conhecida como catiguá-vermelho, catiguá, quebra-machado. É uma espécie nativa do Brasil e ocorre desde Minas Gerais e Mato Grosso do Sul até o Rio Grande do Sul, na floresta latifoliada semidecídua (tipo de floresta onde as árvores perdem de forma parcial ou total suas folhas durante a época mais seca e mais fria do ano).

A árvore atinge altura entre 6 e 12 m (FIGURA 1.9), sua madeira é leve, compacta, medianamente resistente e moderadamente durável, sendo apropriada para marcenaria leve, forros, lambris e acabamentos internos em construção civil.

Florescem durante os meses de agosto-outubro e os frutos amadurecem em janeiro-março. Seus frutos (FIGURA 1.9) são avidamente consumidos por várias espécies de pássaros, que ingerem o arilo vermelho que envolve as sementes.

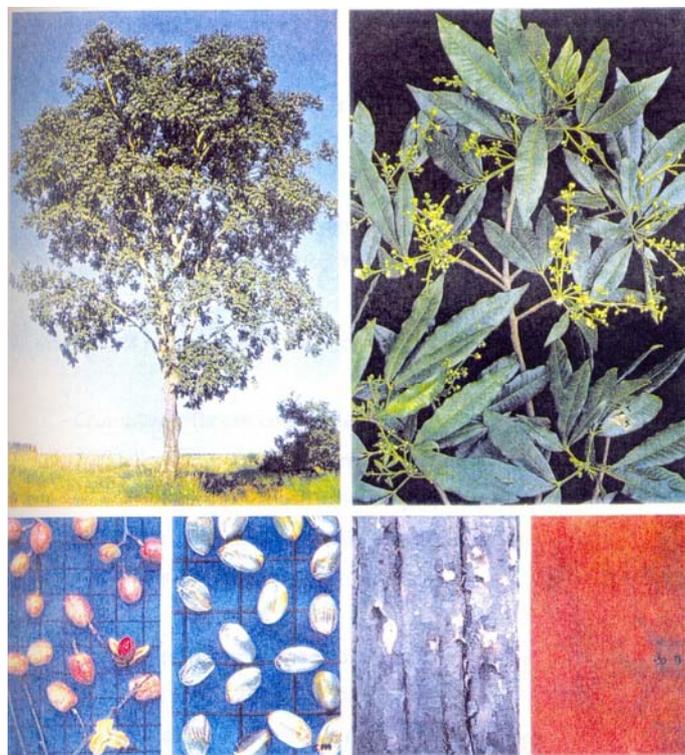


FIGURA 1.9 – Árvore adulta de *Trichilia clausenii*. Em destaque folhas com flores, frutos maduros, sementes, casca e madeira (LORENZI, 1994).

1.1.2.1 – Constituintes químicos anteriormente isolados de *Trichilia clausenii* C. DC.

O estudo químico das folhas de *T. clausenii* resultou no isolamento de 24-metileno-26-hidroxicicloartan-3-ona (**17**) (FIGURA 1.10) e uma mistura de ácidos ω -fenil alcanóicos e alcenóicos (**18**) (FIGURA 1.11), além dos aminoácidos *N*-metilprolina (**19**), 4-hidroxi-*N*-metilprolina (**20**) (FIGURA 1.12) e do sesquiterpeno epóxido de cariofileno (**21**) (FIGURA 1.14) (PUPO et al., 1996).

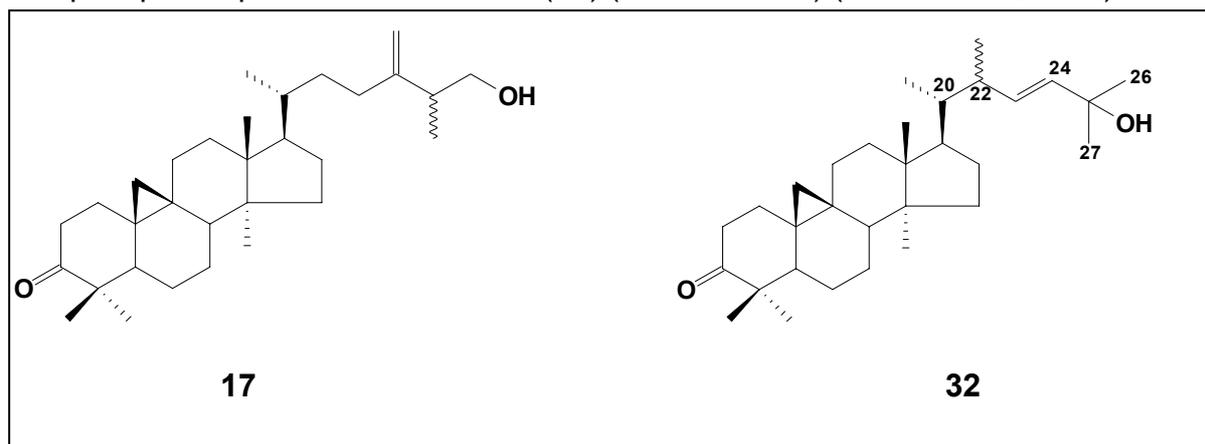


FIGURA 1.10 – Cicloartanos isolados de *Trichilia clausenii*.

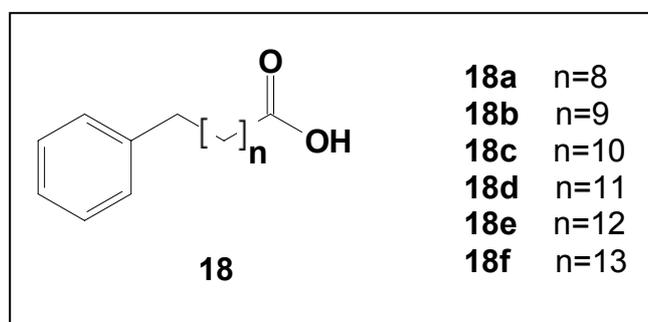


FIGURA 1.11 – Ácidos ω -fenil alcanóicos e alcenóicos isolados de *Trichilia clausenii*.

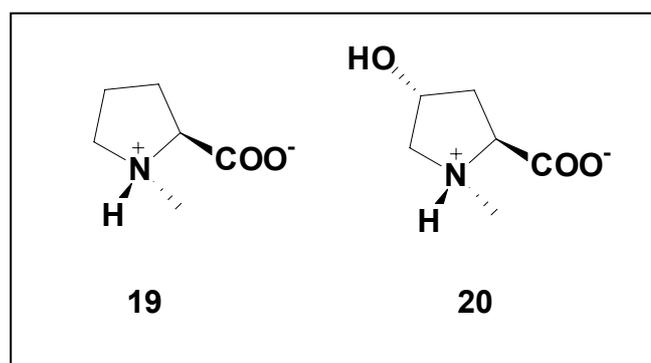


FIGURA 1.12 – Aminoácidos isolados de *Trichilia clausenii*.

Dos galhos foram isolados esteróides pregnanos (**22** e **23**) (FIGURA 1.12), (**24** – **26**) (FIGURA 1.13) (PUPO et al., 1997) e três novos sesquiterpenos 14-hidroxiemol (**27**), germacra-10(14)-em-9,11,15-triol (**28**) e germacra-3,10(14)-dien-9,11-diol-4-carbaldeído (**29**) (FIGURA 1.14). Também foram isolados os sesquiterpenos β -eudesmol (**30**), criptomeridiol (**31**) (FIGURA 1.14) e o triterpeno 22,25-diidroxi-9 β ,19-ciclolanost-23-en-3-ona (**32**) (FIGURA 1.10) (PUPO et al., 2002).

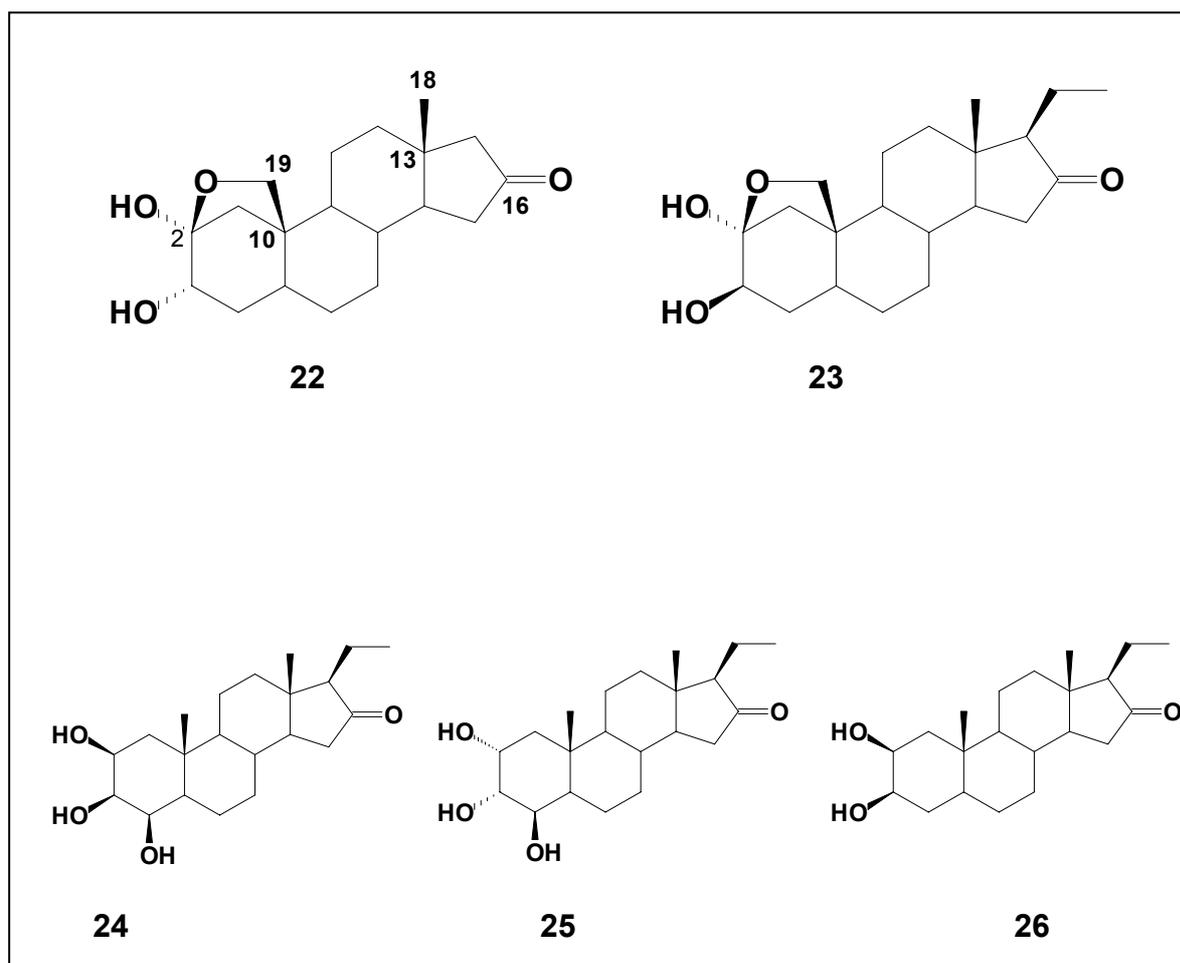


FIGURA 1.13 - Esteróides pregnanos isolados de *Trichilia clausenii*.

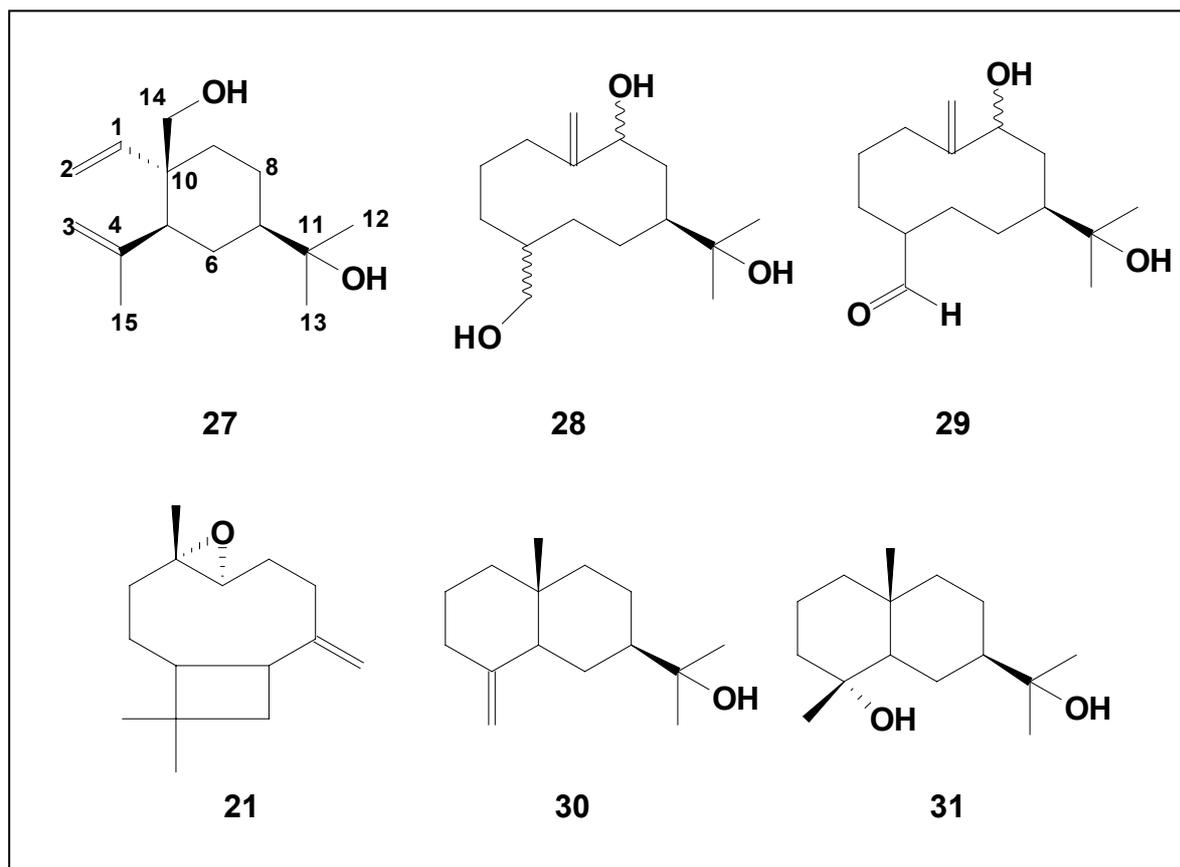


FIGURA 1.14 – Sesquiterpenos isolados de *Trichilia clausenii*.

O estudo químico dos frutos levou ao isolamento de novas γ -lactonas (**33 – 36**) (FIGURA 1.15) (PUPO et al., 1998).

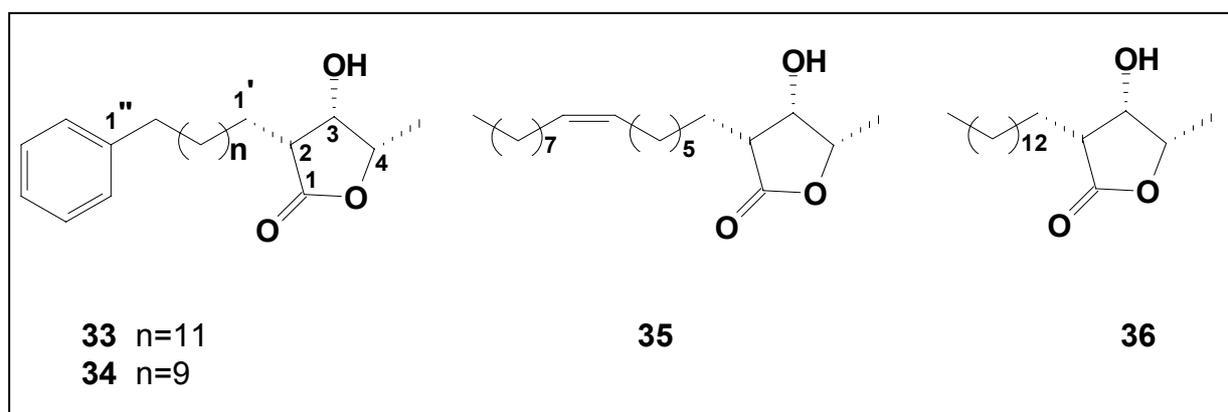


FIGURA 1.15 - γ -lactonas isoladas de *Trichilia clausenii*.

1.1.3 – *Trichilia catigua* A. Juss.¹

Sinonímias Botânicas: *Moschoxylum catigua* A. Juss., *Trichilia affinis* A. Juss., *Trichilia flaviflora* C. DC.

Trichilia catigua é popularmente conhecida como catiguá, caatiguá, cedrinho, mangalô-catigá e angelim-rosa. São árvores com cerca de 10 m de altura e flores de coloração branco-amareladas, frutos cápsulas, avermelhados com apenas uma semente (FIGURA 1.16). Suas flores são encontradas no período de setembro a outubro e os frutos de dezembro a janeiro. Ocorrem de São Paulo até o Rio Grande do Sul.

Da casca produz-se uma tintura amarelada que é popularmente usada externamente contra reumatismo, hidropcia e, ainda é inseticida, purgativa e, em doses moderadas é tônica. O óleo da casca é empregado, com muito bom resultado, no tratamento de eczemas rebeldes, da psoríase e herpes.



FIGURA 1.16 – Árvore adulta, flores e folhas de *Trichilia catigua*

1.1.3.1 – Constituintes químicos anteriormente isolados de *Trichilia catigua* A. Juss.

O estudo químico dos galhos de *T. catigua*, resultou no isolamento de dois sesquiterpenos 7-hidroxi-1-oxo-norcalameneno (**37**) e 7,14-diidrohidroxicalameneno (**38**), além do sitosterol- β -glucopiranosídeo (GARCEZ et al., 1997b) (FIGURA 1.17). Das folhas e galhos de *T. catigua*, também foram isolados a cumarina escopoletina (**39**), o sesquiterpeno espatulenol (**40**) (FIGURA 1.18), uma mistura de esteróides (β -sitosterol, estigmasterol, campesterol e sitostenona) e o 3- β -O- β -D-glucopiranosil sitosterol, o qual teve sua atividade biológica testada frente às lagartas recém-eclodidas de *S. frugiperda* (PEREIRA, 2001). Da casca do tronco foram isoladas duas flavalignananas epiméricas (**41** e **42**) (FIGURA 1.19) (PIZZOLATTI et al., 2002), oito γ -lactonas (**43** – **50**) (FIGURA 1.20), ω -fenil alcanos (**51** – **53**) e três

ácidos ω -fenil alcanóicos (**54** – **56**) (FIGURA 1.21) e fitoesteróides (PIZZOLATTI et al., 2004).

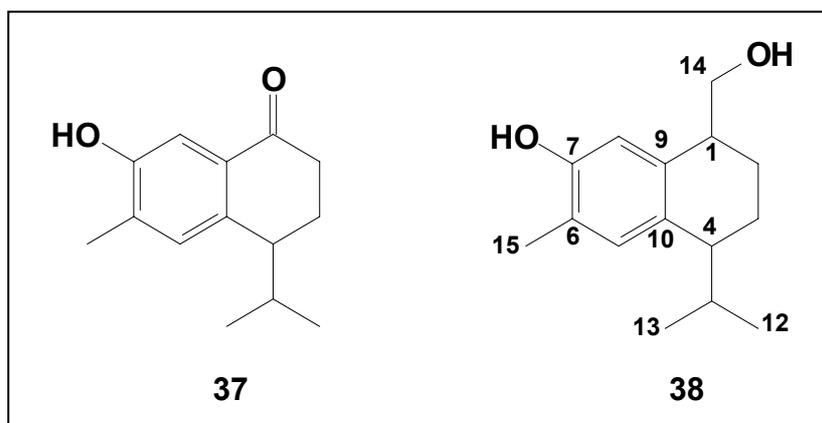


FIGURA 1.17 - Sesquiterpenos isolados de *Trichilia catigua*.

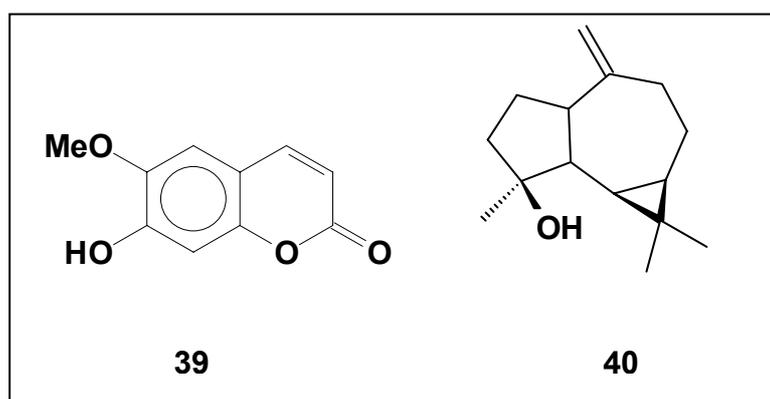


FIGURA 1.18 – Cumarina escopoletina **39** e sesquiterpeno spatulenol **40** isolados de *Trichilia catigua*.

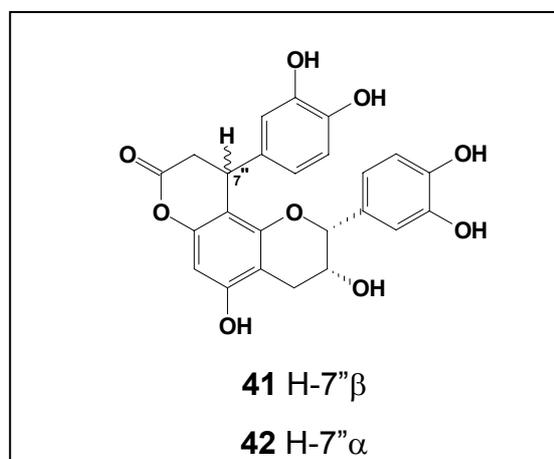


FIGURA 1.19 - Flavalignanas isolados de *Trichilia catigua*.

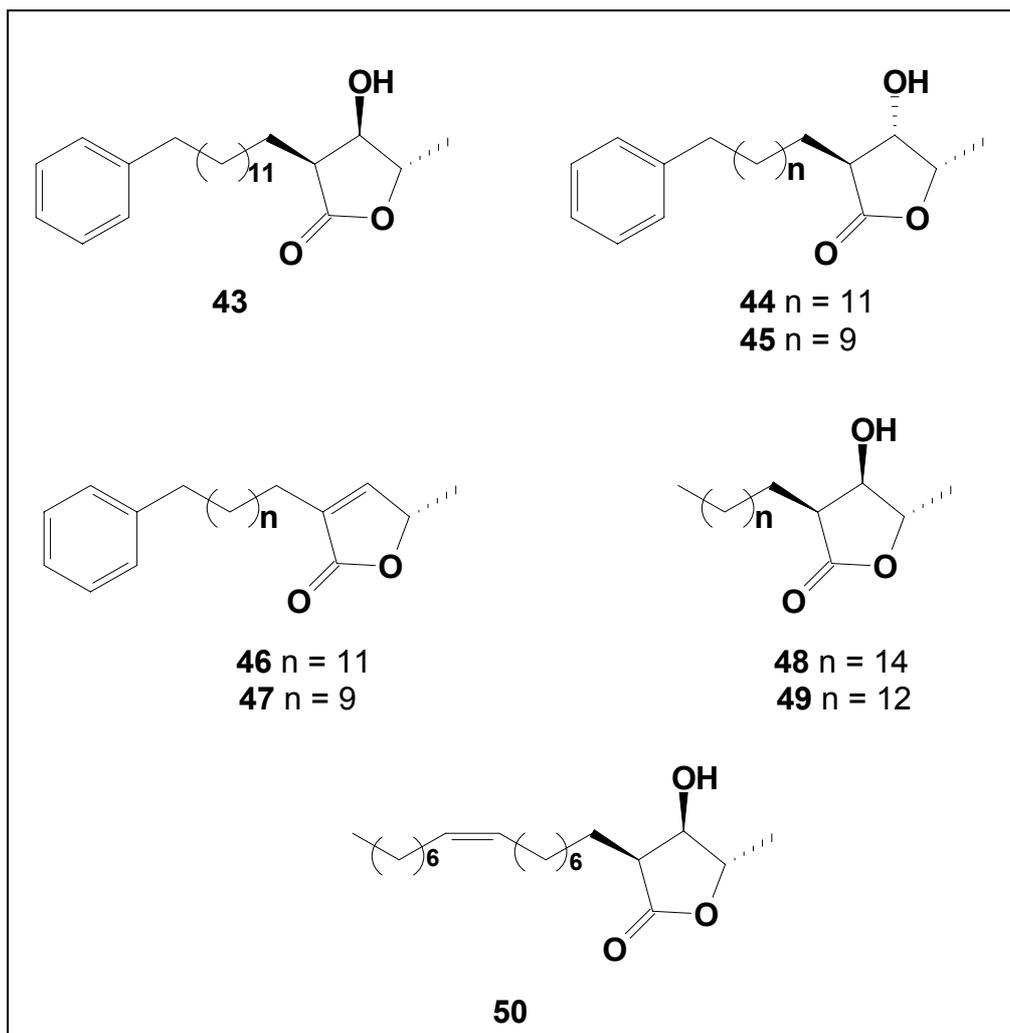


FIGURA 1.20 - γ -lactonas isolados de *Trichilia catigua*.

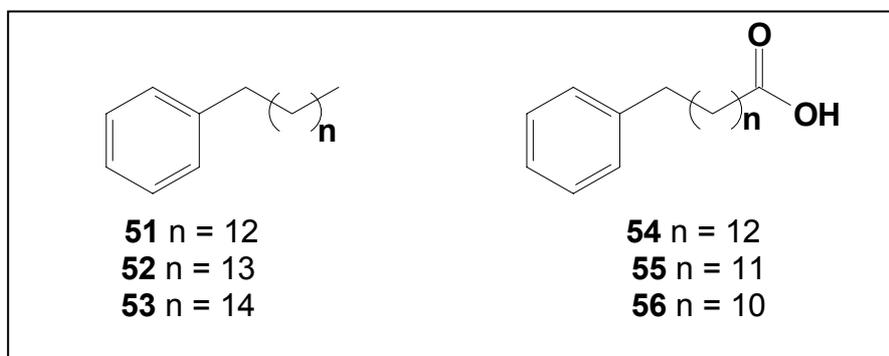


FIGURA 1.21 – ω -fenil alcanos e ácidos ω -fenil alcanóicos isolados de *Trichilia catigua*.

1.2 - A busca de compostos inseticidas

A lagarta-do-cartucho do milho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) é uma das principais pragas da cultura do milho, podendo seu dano levar à redução de até 34% no rendimento de grãos, dependendo principalmente, do estágio de cultura em que ocorre o ataque (VALICENTE & CRUZ 1991). No milho, a lagarta é usualmente controlada usando agrotóxicos, empregados quando a desfolhação é notada nas plantações. No entanto, problemas associados com o uso de pesticidas, especialmente a possibilidade de resistência e redução de predadores e insetos parasitóides, comprometem o controle natural (CRUZ, 1995). Desta forma, a busca de novos inseticidas de origem vegetal tem sido intensificada já que de uma forma geral, os inseticidas naturais não são persistentes, ou seja, degradam-se com maior velocidade que os sintéticos; não deixando resíduos no alimento ou no meio-ambiente.

Visando à busca de inseticidas naturais com menor impacto ambiental, o grupo de Produtos Naturais da UFSCar tem realizado ensaios com várias plantas pertencentes à ordem Rutales frente a *S. frugiperda*. Deste modo, BATISTA-PEREIRA (2002) avaliou a atividade do flavonóide astilbina, isolado de *Dimorphandra mollis* (Fabaceae). ROCHA (2004) realizou o estudo fitoquímico de *Adiscanthus fusciflorus* (Rutaceae), *T. pallida* e *T. rubra* (Meliaceae) visando à busca de compostos que alterem a biologia do inseto. Trabalhos semelhantes foram realizados com *Trichilia catigua* (PEREIRA, 2001), *Siphoneugena densiflora* (Mirtaceae) e *Vitex polygama* (Verbenaceae) (GALO, 2004).

1.2.1 – Considerações sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)

No início do ataque, as lagartas raspam as folhas, deixando áreas transparentes. Com o seu desenvolvimento, a lagarta migra para o cartucho da planta, destruindo-o (FIGURA 1.22). O estágio da planta de milho mais sensível ao ataque é o de 8-10 folhas. A época ideal de realizar medidas para o controle é quando 17 % das folhas estiverem com o sintoma de folhas raspadas (CRUZ et al., 2002).

O período larval varia de 12 a 30 dias (COSTA et al., 1984; VALICENTE & CRUZ, 1991), dependendo das condições climáticas (principalmente temperatura), fonte de alimentação, etc. Nos últimos ínstaes, as lagartas medem aproximadamente 5 cm e apresentam coloração que varia do marrom, verde até quase preta (FIGURA 1.22). Com o fim do período larval, as lagartas penetram no solo, onde se transformam em pupas de coloração avermelhada medindo cerca de 10 mm de comprimento. A duração do período pupal varia de 7 a 27 dias (VALICENTE & CRUZ, 1991), em decorrência, principalmente das condições climáticas.

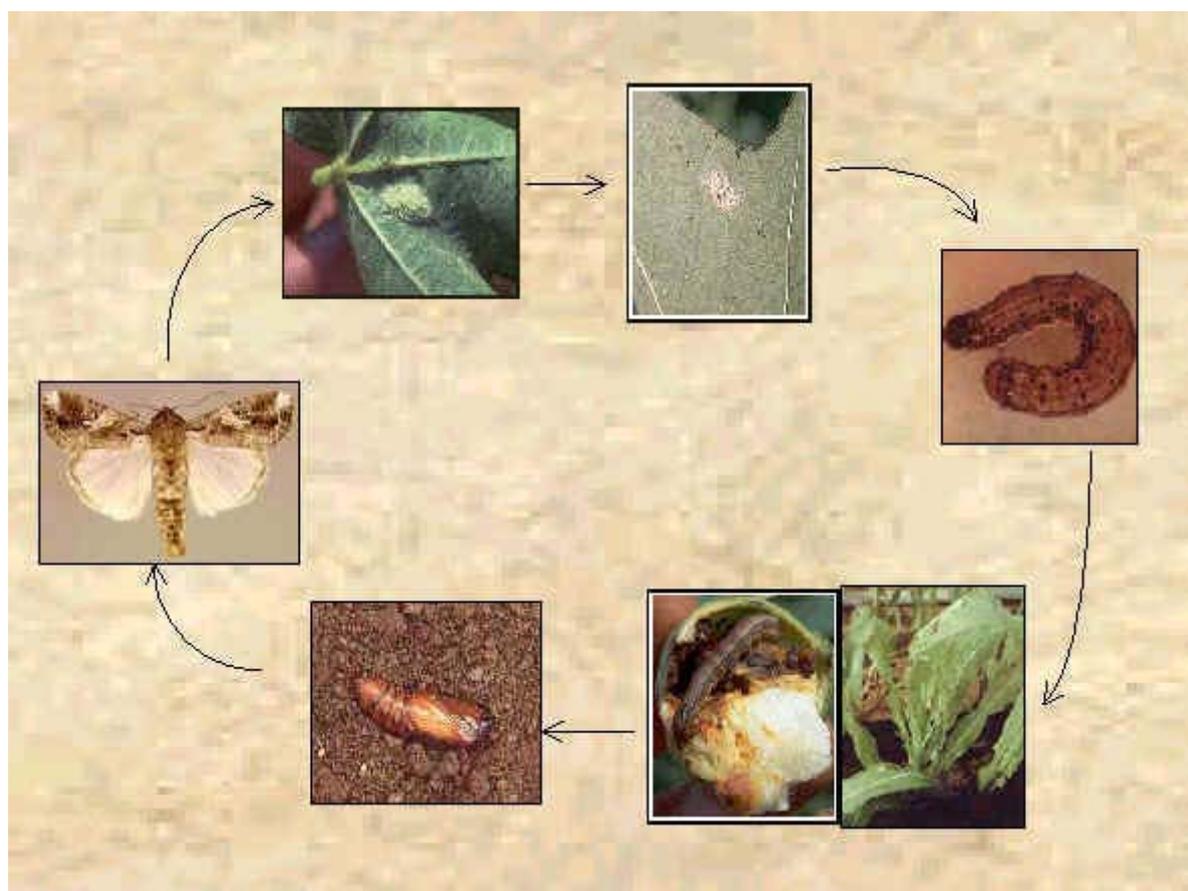
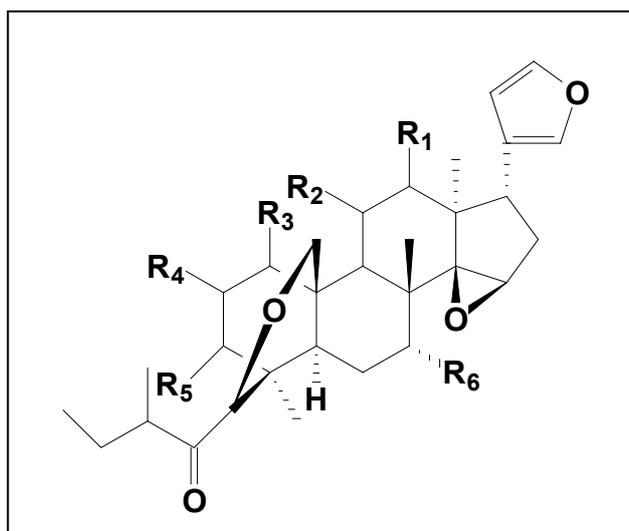


FIGURA 1.22 – Ciclo biológico de *Spodoptera frugiperda* .

Os adultos de *S. frugiperda* apresentam longevidade de aproximadamente 10 dias à temperatura de 25⁰C, umidade relativa de 60 % e fotofase de 14 horas. A ovoposição é realizada no período noturno. Os ovos são colocados em massas com cerca de 150 unidades (FIGURA 1.22), podendo uma fêmea colocar até 1000 ovos. O período de incubação é de aproximadamente 3 dias a temperaturas entre 25 e 29⁰C, umidade relativa de 70 % e fotofase de 12 horas (PATEL, 1981).

1.2.2 – Atividades de espécies de *Trichilia* sobre *Spodoptera* spp.

Um dos primeiros relatos da atividade de *Trichilia* sobre espécies de *Spodoptera* foi feito por NAKATANI et al. (1981; 1985), em que uma nova série de limonóides isolados de *T. roka*, denominados trichilinas A-G (57 – 63) (FIGURA 1.23) tiveram suas atividades testadas sobre *Spodoptera eridania* e *Epilachna varivestis*. As estruturas químicas das trichilinas são complexas, o que dificultaria a síntese em larga escala, mas estas apresentam atividade antialimentar comparável à azadiractina. O limonóide sendanina (64) (FIGURA 1.24) isolado do extrato hidrometanólico das sementes de *T. roka* apresentou ED₅₀ (doses efetivas para 50 % de inibição de crescimento) de 11 ppm sobre a *S. frugiperda* (KUBO & KLOCKE, 1982).



	Trichilinas	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
57	A	β-OH	=O	α-OH	α-OAc	α-OAc	OH
58	B	α-OH	=O	α-OH	α-OAc	α-OAc	OH
59	C	=O	β-OH	α-OH	α-OAc	α-OAc	OH
60	D	H	=O	α-OH	α-OAc	α-OAc	OH
61	E	β-OH	=O	α-OAc	α-OH	α-OAc	OH
62	F	β-OH	=O	α-OAc	α-OAc	α-OH	OH
63	G	β-OH	=O	α-OH	α-OH	α-OAc	OH

FIGURA 1.23 – Trichilinas isoladas de *Trichilia roka*.

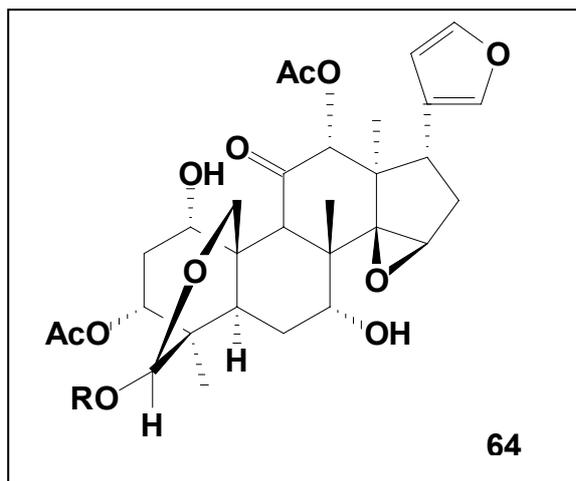


FIGURA 1.24 – Limonóide sendanina isolado de *Trichilia roka*.

MIKOLAJCZAK & REED (1987) testaram os efeitos de extratos hexânicos e etanólicos de sementes de 22 meliáceas (*T. connaroides*, *T. prieureana*, *T. roka* e *T. triphyllaria*), incorporados à dieta artificial, na sobrevivência e inibição alimentar. Os autores constataram que *T. connaroides*, *T. prieuriana* e *T. roka* apresentaram mortalidade larval de 80, 100 e 100 %, respectivamente, para os extratos etanólicos (a 1% massa/volume), enquanto os extratos hexânicos à essa mesma concentração não provocaram nenhum efeito, com exceção da *T. prieuriana* (40 % de mortalidade larval) . Para os experimentos de inibição alimentar (em teste de dupla escolha), à concentração de 5%, novamente os resultados obtidos para os extratos etanólicos foram melhores do que os dos extratos hexânicos, com exceção de *T. prieuriana* que apresentou boa atividade deterrente para ambos os extratos. Em relação a *T. triphyllaria*, não foi constatada atividade biológica em nenhum dos experimentos.

MIKOLAJCZAK et al. (1989), avaliando a toxicidade das sementes de dez espécies pertencentes à família Meliaceae sobre *S. frugiperda*, constataram que os extratos etanólicos e hexânicos de *T. roka* incorporados à dieta artificial, apresentaram 100 % de mortalidade larval a 400, e 10.000 ppm, respectivamente. O extrato etanólico a 80 ppm afetou a fase larval, o extrato causou uma redução no peso da lagarta (25 %) e alongamento da fase larval (4,6 dias), em relação ao controle.

XIE et al. (1994) testaram os extratos metanólicos de nove espécies de *Trichilia* (oito originárias da Costa Rica e uma da Índia) de diversas estruturas vegetais sobre *S. litura* F. O extrato etanólico da casca do tronco de *T. connaroides*

mostrou-se o mais ativo quando comparado com tronco, sementes, exocarpo e folha, apresentando um EC_{50} (doses efetivas para 50 % de inibição de crescimento) de 185,1 ppm.

RODRÍGUEZ & VENDRAMIM (1996, 1997) testaram extratos aquosos a 5% de diversas estruturas vegetais de espécies de meliáceas (*T. pallida*, *T. catigua*, *T. elegans*, *T. casaretti* e *T. claussenii*) em relação a *S. frugiperda*, através da incorporação em dieta artificial. Considerando somente o gênero *Trichilia*, a maior eficiência foi obtida com os extratos de folhas e caules (ramos) de *T. pallida*, que apresentou 100 % de mortalidade larval. Essa mortalidade ocorreu já nos dois primeiros ínstares, resultando em atividade inseticida similar à registrada para o extrato das sementes de *A. indica* (incluída como padrão de atividade inseticida). Menor atividade foi encontrada com as demais espécies de *Trichilia*, observando-se inibição de alimentação (resultando em menor peso pupal) para os extratos de caules (ramos) de *T. catigua* e folhas de *T. casaretti* e inibição do crescimento (caracterizado pelo alongamento da fase larval) nos tratamentos com caules (ramos) de *T. claussenii*. As folhas de *T. catigua*, *T. claussenii*, *T. elegans* e os caules (ramos) de *T. elegans* e *T. casaretti* não apresentaram efeito apreciável sobre a biologia do inseto.

ROEL et al. (2000) analisaram o efeito de diferentes concentrações do extrato acetato de etila de folhas e ramos de *T. pallida*, em relação a *S. frugiperda*, em condições de laboratório. A concentração letal 50 (CL_{50}) estimada para lagartas de sete dias de idade foi de 0,048 % (massa/volume). Verificou-se que o extrato causou mortalidade larval de 100 % (em concentração igual ou superior a 0,05 %) e afetou a sobrevivência e o desenvolvimento do inseto (a concentração de 0,006 %).

TORRECILLAS & VENDRAMIM (2001) testaram o efeito de diferentes concentrações do extrato aquoso de ramos e folhas de *T. pallida* na sobrevivência e desenvolvimento de *S. frugiperda* criada em folhas de milho. Verificou-se que o extrato de ramos a 5% provocou 100 % de mortalidade larval até o 7^o dia após o início do experimento, com atividade inseticida similar à do extrato de sementes de *A. indica* (utilizado como padrão).

WHEELER et al. (2001) testaram o efeito dos extratos metanólicos de diferentes estruturas vegetais de seis espécies de *Trichilia* coletadas na Costa Rica, incorporadas à dieta artificial para *S. litura*. Todas as seis espécies testadas reduziram significativamente o crescimento larval após 7 e 10 dias do início do

experimento. O extrato metanólico de ramos de *T. americana* apresentou um EC_{50} de 17,2 ppm. Quando o extrato metanólico de troncos foi incorporado à dieta artificial a concentrações de 10, 25, 50 e 75 ppm houve um alongamento da fase larval e diminuição do peso das pupas e dos adultos. A altas concentrações (50 e 75 ppm), as lagartas apresentaram um ou dois ínstaes a mais em relação ao controle.

A atividade biológica do extrato metanólico de tronco de *T. americana* sobre *S. litura* foi realizada por WEELER & ISMAN (2001). O extrato apresentou forte atividade antialimentar em teste de escolha com DI_{50} (índice de deterrência de 50 %) de $0,18 \mu\text{g cm}^{-2}$. Em ensaios nutricionais, o extrato reduziu o crescimento, consumo e utilização de alimento digerido e ingerido, sugerindo atividades tóxica e antialimentar.

SIMMONDS et al. (2001) testaram a atividade antialimentar da hirtina (**65**), desacetilhirtina (**66**) e outros três novos limonóides (**67** – **69**) (FIGURA 1.25) isolados de *T. pallida* sobre *S. littoralis* e *S. exigua*, por meio de um teste de dupla escolha. O extrato acetônico de *T. pallida* apresentou a maior atividade antialimentar a 100 ppm sobre *S. littoralis*. A resposta antialimentar para cada um dos cinco tetranortriterpenóides testados foi menor que o extrato bruto.

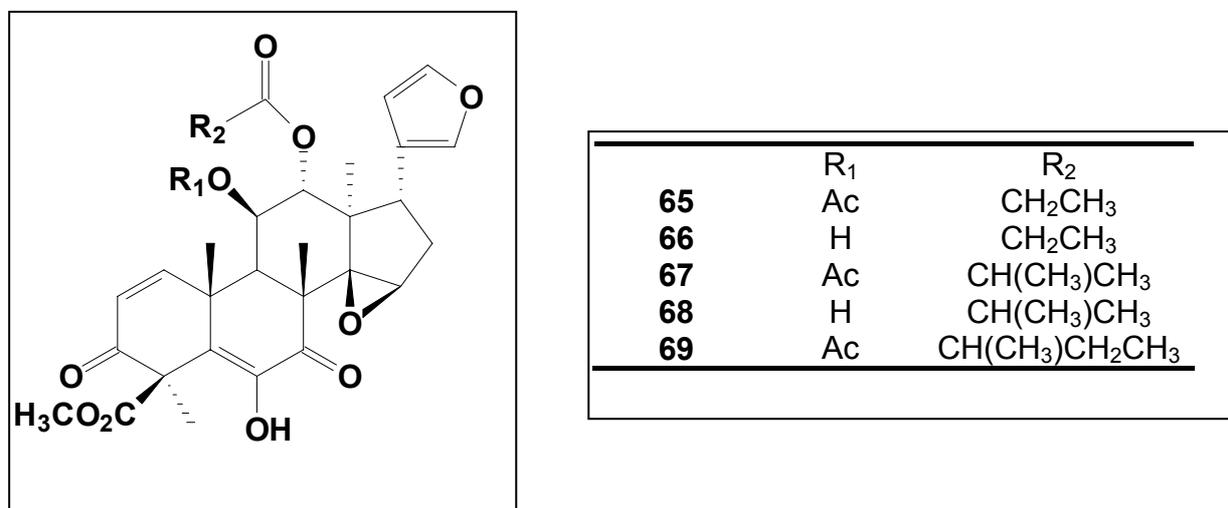


FIGURA 1.25 – Limonóides isolados de *Trichilia pallida*.

BOGORNI & VENDRAMIM (2003) avaliaram a eficiência de extratos aquosos de ramos e folhas de seis espécies de *Trichilias* (*T. casaretti*, *T. catigua*, *T.*

clausenii, *T. elegans*, *T. pallens* e *T. pallida*) incorporados às folhas de milho em comparação com a do extrato aquoso de sementes de *A. indica* (nim) sobre *S. frugiperda* em condições de laboratório. Para as seis espécies testadas, pelo menos uma das estruturas (ramos ou folhas) afetou o desenvolvimento do inseto. O extrato de folhas de *T. pallens* causou mortalidade larval semelhante à causada pelo extrato de nim; os extratos de ramos de *T. pallens*, e de ramos e de folhas de *T. pallida*, embora menos eficientes, também reduziram a sobrevivência e o peso de *S. frugiperda*. Em BOGORNÍ & VENDRAMIM (2005), avaliou-se o efeito na sobrevivência, duração e peso de lagartas e pupas. Os extratos de ramos de *T. pallida* e folhas de *T. pallens* foram os mais eficientes.

2 - OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram:

♠ O estudo fitoquímico de extratos ativos de *Trichilia catigua*, *Trichilia clausenii* e *Trichilia elegans* (Meliaceae) sobre a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda*.

♠ Ensaiar substâncias isoladas de outras espécies de plantas da família Meliaceae sobre *S. frugiperda*, com o intuito de compreender como estas substâncias agem sobre a lagarta.

3 – PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.1 – Materiais e métodos

♣ Solventes utilizados em cromatografia:

Solventes comerciais destilados no DQ/UFSCar

Solventes P.A. da Vetec e Synth

♣ Solventes utilizados em RMN:

Deuterados da Merck, Isotec Inc. Matheson e Aldrich (TMS 0,03 %)

♣ Fases estacionárias para cromatografia:

- Cromatografia em coluna de vidro:

Sílica gel 60 (70 - 230 mesh e 230 – 400 mesh) da Merck

Florisil da Merck

Sephadex LH-20 da Amersham Pharmacia Biotech AB

- Cromatografia líquida sob vácuo (CLV):

Sílica gel 60 (70 - 230 mesh) da Merck

- Cromatografia em camada delgada analítica (CCDA):

Cromatofolhas – Sílica gel F₂₅₄ Al TLC 20 × 20 cm da Merck

Reveladores: radiação UV (254 e 360 nm) e vanilina em ácido sulfúrico

3.2 – Equipamentos

♣ Espectrômetros de Ressonância Magnética Nuclear

Brüker DRX 400 MHz

Brüker ARX 200 MHz

♣ **Cromatografia circular (Chromatotron®)**

Modelo: 8924; Bomba: Lab Pump Jr., Modelo RHSY, Fluid, Matering INC.

Placa de sílica gel 60, PF 254 da Merck (1 mm).

♣ **CG/EM**

GC – 17A Shimadzu, GCMS – QP 5000 Shimadzu.

Coluna DB-5 (30 m × 0,25 mm).

Ionização por impacto eletrônico.

Condições utilizadas para a análise da mistura dos esteróides:

- programação de temperatura: 150 °C (1 min); 6 °C/min até 280 °C; 280 °C (15 min).

- temperatura do injetor: 250 °C.

- temperatura do detector: 280 °C.

- modo: split.

- volume de injeção: 1µl

♣ **Espectrômetro de Massas**

MICROMASS QUATTRO LC

As análises foram realizadas no Laboratório de Espectrometria de Massas (LEM) – DQ/UFSCar.

Modo de ionização:

Substâncias **I** e **VII**: IE (70 eV)

Substâncias **II**: ESI (modo negativo)

Substâncias **III**: APCI (modo negativo)

♣ **Evaporadores**

Büchi – modelo rotavapor R – 114 – DQ/UFSCar

Büchi – modelo EL – 131 – DQ/UFSCar

3.3 – Material botânico

As folhas e ramos de *Trichilia catigua* A. Juss., *Trichilia clausenii* C. DC. e *Trichilia elegans* A. Juss. e os frutos de *T. elegans* foram coletados em Piracicaba/SP (maio de 2002) na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ) e identificadas pelo Prof. Dr. Ricardo Ribeiro Rodriguez.

Frutos de *T. catigua* e *T. clausenii* A. Juss. foram coletados em Piracicaba/SP (dezembro de 2004) na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ) e novamente a identificação foi realizada pelo Prof. Dr. Ricardo Ribeiro Rodriguez.

3.4 – Obtenção dos extratos brutos de *Trichilia catigua*, *Trichilia elegans* e *Trichilia clausenii*

3.4.1 – Obtenção dos extratos brutos de folhas e ramos de *Trichilia catigua*, *Trichilia elegans* e *Trichilia clausenii*

As folhas e ramos de *T. catigua*, *T. clausenii* e *T. elegans* foram secos em estufa de circulação de ar a 40 °C, por aproximadamente 48 horas e pulverizados em moinho Willey. As folhas e ramos moídos foram extraídos à temperatura ambiente e em repouso, com solventes em ordem crescente de polaridade (Hexano, MeOH e MeOH/H₂O 1:1) durante 7 dias. Após a evaporação dos solventes foram obtidos os extratos brutos descritos na TABELA 3.1.

TABELA 3.1 – Extratos brutos das folhas e ramos de *T. catigua*, *T. clausenii* e *T. elegans*.

Planta	Parte vegetal / massa (g)	Código do Extrato ^a	Massa do extrato (g)
<i>T. catigua</i>	Folhas/266,2	Tfch	1,2543
		Tfcm	11,3211
		Tfca	31,2434
	Ramos/235,5	Tgch	2,1345
		Tgcm	13,1222
		Tgca	
<i>T. clausenii</i>	Folhas/197,7	Tflh	6,0070
		Tflm	26,4350
		Tfla	19,2451
	Ramos/266,6	Tglh	4,2116
		Tglm	7,2910
		Tgla	
<i>T. elegans</i>	Folhas/167,1	Tfeh	6,2345
		Tfem	19,2123
		Tfea	17,0765
	Ramos/147,0	Tgeh	1,1232
		Tgem	6,3098
		Tgea	

^a h: hexano; m: MeOH e a: MeOH/H₂O 1:1.

3.4.2 – Obtenção dos extratos brutos dos frutos de *Trichilia catigua*, *Trichilia elegans* e *Trichilia clausenii*

Os frutos de *T. clausenii* e *T. elegans* foram secos em estufa de circulação de ar a 40 °C, por aproximadamente 7 dias e moídos em liquidificador. Os frutos moídos foram extraídos à temperatura ambiente e em repouso, com solventes em ordem crescente de polaridade (Hexano, MeOH e MeOH/H₂O 1:1) durante 7 dias. Após a evaporação dos solventes foram extraídos os extratos brutos descritos na TABELA 3.2.

TABELA 3.2 – Extratos brutos dos frutos de *T. clausenii* e *T. elegans*.

Planta	Massa (g)	Código do extrato ^a	Massa do extrato (g)
<i>T. clausenii</i>	52,2	Trlh	8,8120
		Trlm	12,8129
		Trla	30,2256
<i>T. elegans</i>	84,0	Treh	6,2459
		Trem	7,1249
		Trea	8,2509

^a h: hexano; m: MeOH e a: MeOH/H₂O 1:1.

Uma parte dos frutos de *T. clausenii* e os frutos de *T. catigua* foram secos em estufa de circulação de ar a 40 °C, por aproximadamente 7 dias e então foram separados em arilo, sementes e exocarpo e moídos em liquidificador. Após a moagem, foi feita a extração conforme descrito anteriormente. A TABELA 3.3 traz os dados da planta, parte do fruto e massa dos extratos dos frutos.

TABELA 3.3 – Extratos brutos das sementes, arilo e exocarpo de *T. clausenii* e *T. catigua*.

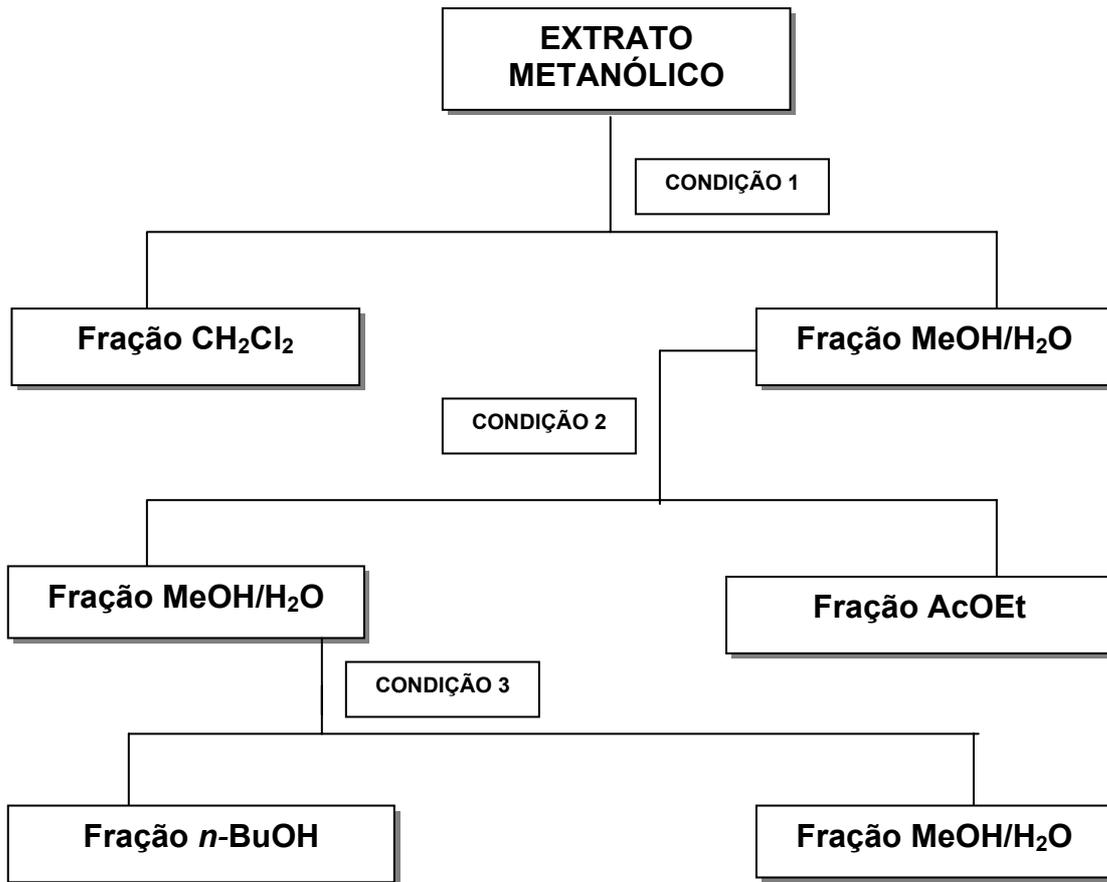
Planta	Parte do fruto/massa (g)	Código do extrato ^a	Massa do extrato (g)
<i>T. catigua</i>	Sementes/8,0	Tsch	2,9272
		Tscm	2,5374
		Tsca	0,8611
	Arilo/3,5	Tcsch	0,2306
		Tcscm	1,6329
		Tcsca	2,3869
	Exocarpo/3,0	Tcfch	0,1287
		Tcfc m	2,3324
		Tcfca	0,5527
<i>T. clausenii</i>	Sementes/50,7	Tslh	10,6939
		Tslm	4,1234
		Tsla	2,7094
	Arilo/10,3	Tcslh	6,2749
		Tcslm	1,3322
		Tcsla	0,5938
	Exocarpo/63,5	Tcflh	12,9863
		Tcflm	6,7934
		Tcfla	5,0702

^a h: hexano; m: MeOH e a: MeOH/H₂O 1:1.

3.5 – Fracionamento dos Extratos Brutos Ativos contra *Spodoptera frugiperda*

3.5.1 – Fracionamento de Trem

De acordo com os resultados dos ensaios sobre *S. frugiperda* (Item 4.7.2), o extrato Trem foi fracionado através de extração líquido-líquido, de acordo com o procedimento descrito no FLUXOGRAMA 3.1.



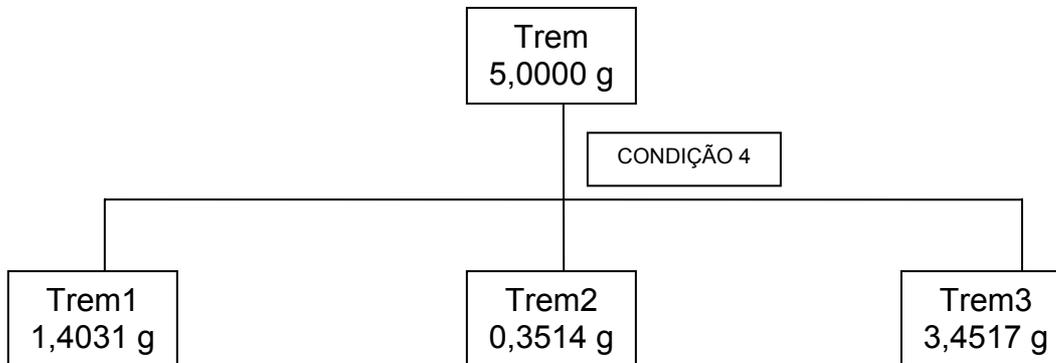
FLUXOGRAMA 3.1 – Esquema de fracionamento para extratos metanólicos.

CONDIÇÃO 1. Suspensão H₂O/MeOH (3:1). Extração com CH₂Cl₂. Filtração e concentração do solvente.

CONDIÇÃO 2. Suspensão H₂O/MeOH (3:1). Extração com AcOEt. Filtração e concentração do solvente.

CONDIÇÃO 3. Suspensão H₂O/MeOH (3:1). Extração com *n*-butanol. Filtração e concentração do solvente.

Foram obtidas três frações após evaporação dos solventes: CH_2Cl_2 , AcOEt e *n*-BuOH, conforme apresentado no FLUXOGRAMA 3.2. As massas obtidas de cada fração também estão descritas no FLUXOGRAMA 3.2.



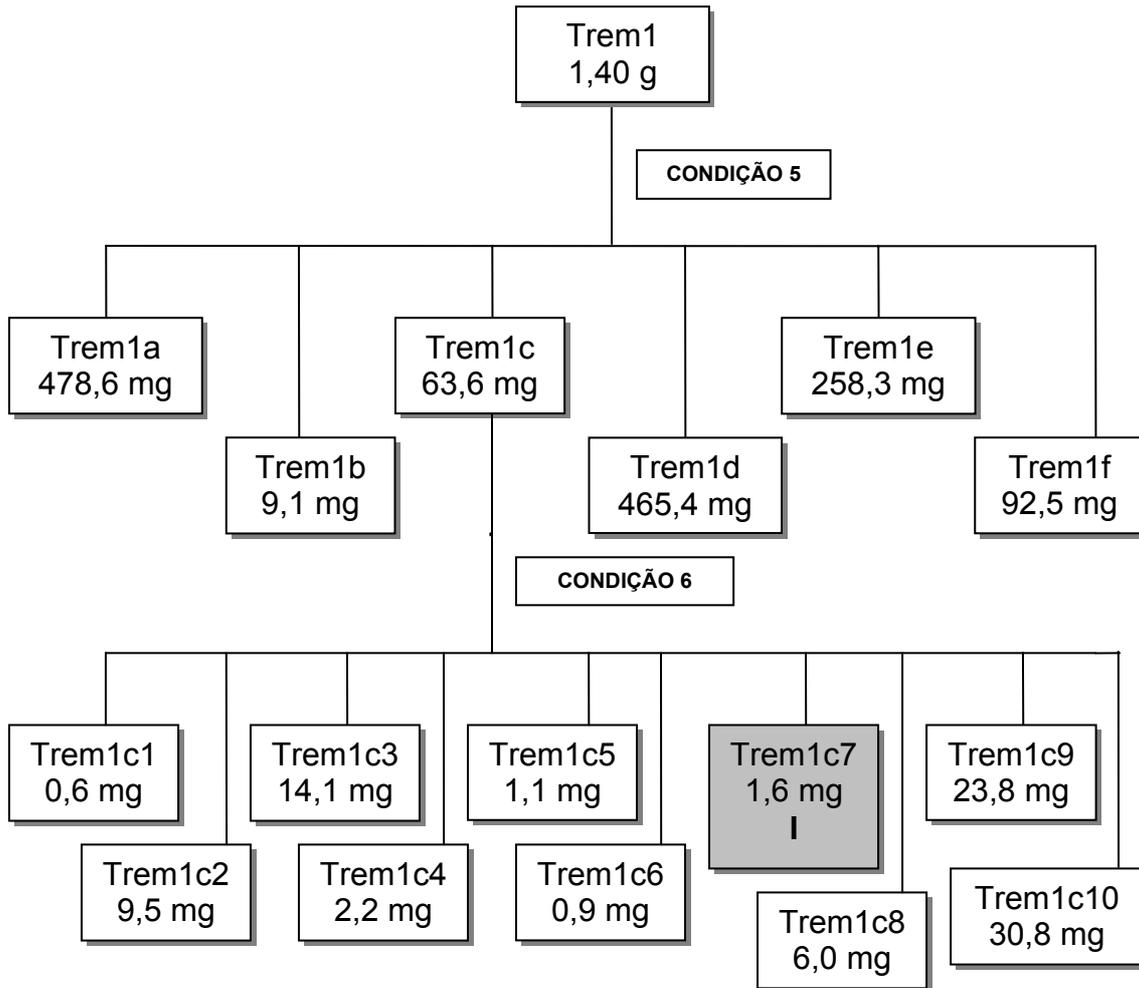
FLUXOGRAMA 3.2 – Fracionamento da fração Trem.

CONDIÇÃO 4 – Cromatografia líquido-líquido, utilizando solventes em ordem crescente de polaridade (CH_2Cl_2 , AcOEt e *n*-BuOH), respectivamente.

As frações obtidas do extrato Trem foram coletadas em frascos de 10 mL e reunidas conforme similaridade (CCDA) frente aos reveladores (vanilina ácida, UV 254 e 365 nm).

3.5.1.1 – Fracionamento da Fração Trem1.

A fração Trem1 foi fracionada conforme descrito no FLUXOGRAMA 3.3, levando ao isolamento da cumarina I.



FLUXOGRAMA 3.3 – Fracionamento da fração Trem1.

CONDIÇÃO 5 – Coluna em sílica gel (70 – 230 mesh) desativada com MeOH, $\phi = 17,0$ cm e $h = 19,0$ cm.

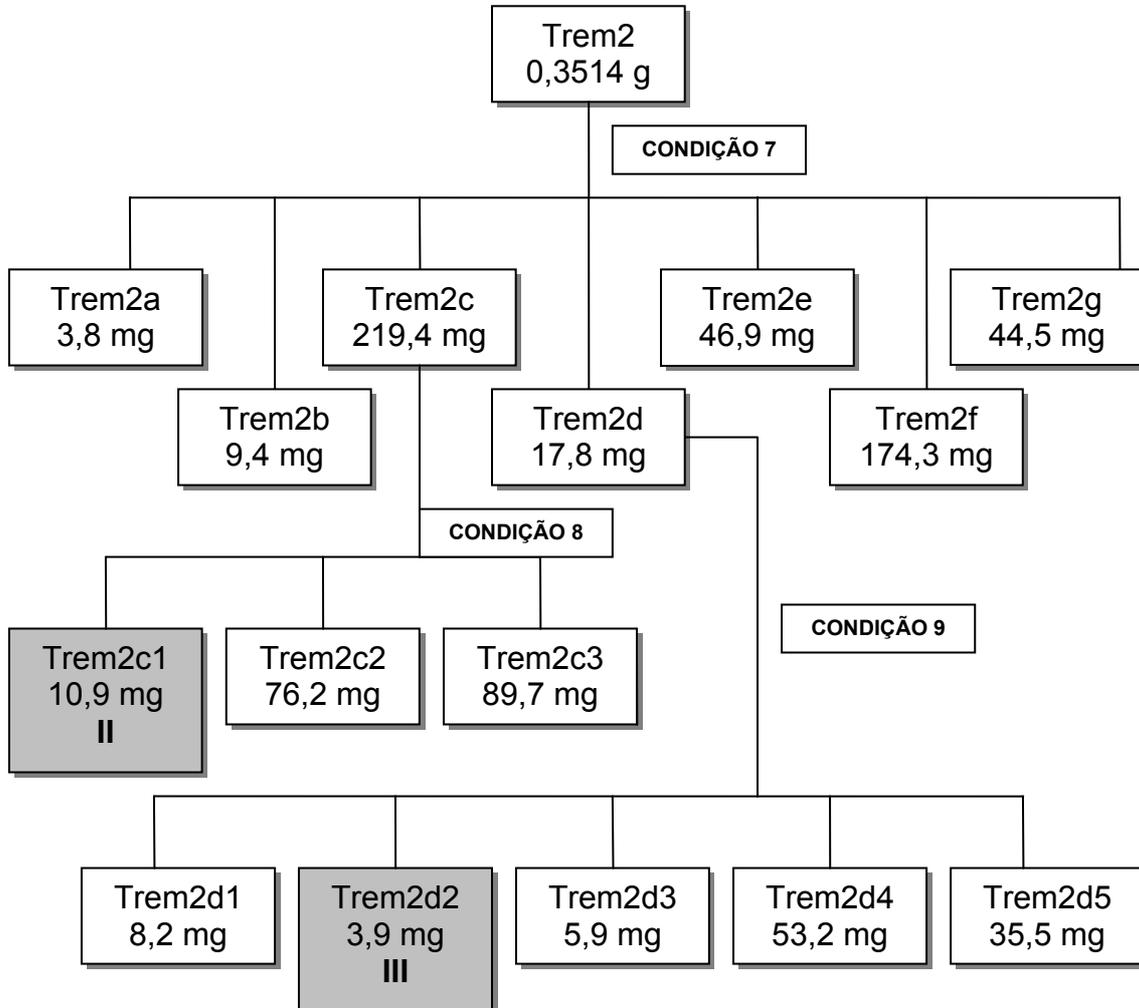
Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (aumento gradativo de polaridade).

CONDIÇÃO 6 – Coluna em sílica gel (70 – 230 mesh) desativada com MeOH, $\phi = 10,0$ cm e $h = 23,0$ cm.

Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (aumento gradativo de polaridade).

3.5.1.2 – Fracionamento das Frações Trem2 e Trem2c.

As frações Trem2 e Trem2c foram fracionadas conforme descrito no FLUXOGRAMA 3.4, levando ao isolamento das cumarinas II e III.



FLUXOGRAMA 3.4 – Fracionamento da frações Trem2 e Trem2c.

CONDIÇÃO 7 – Coluna em sílica gel (70 – 230 mesh) desativada com MeOH, $\phi = 10,0$ cm e $h = 18,0$ cm.

Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (aumento gradativo de polaridade).

CONDIÇÃO 8 – Coluna em sílica gel (70 – 230 mesh) desativada com MeOH, $\phi = 9,0$ cm e $h = 19,0$ cm.

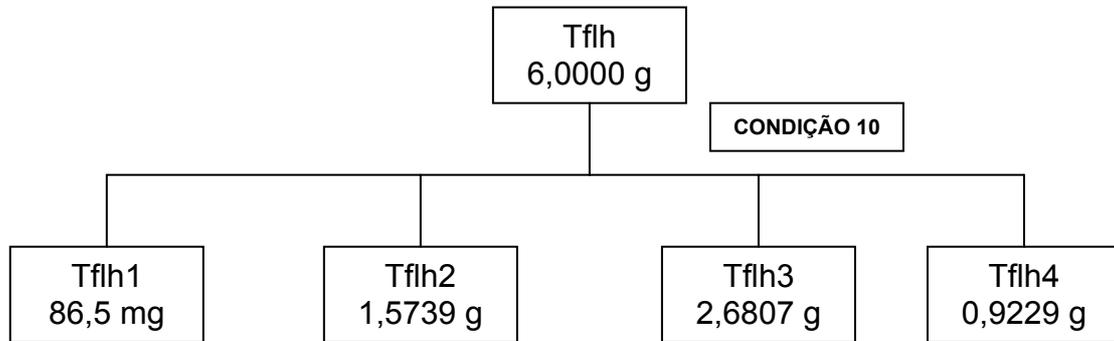
Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (aumento gradativo de polaridade).

CONDIÇÃO 9 – Coluna em sílica gel (70 – 230 mesh) desativada com MeOH, $\phi = 10,0$ cm e $h = 15,0$ cm.

Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (aumento gradativo de polaridade).

3.5.2 – Fracionamento de Tflh.

De acordo com os resultados dos ensaios sobre *S. frugiperda* (Item 4.7.1), o extrato Tflh foi fracionado através de cromatografia líquida sob vácuo resultando em quatro frações conforme apresentado no FLUXOGRAMA 3.5.



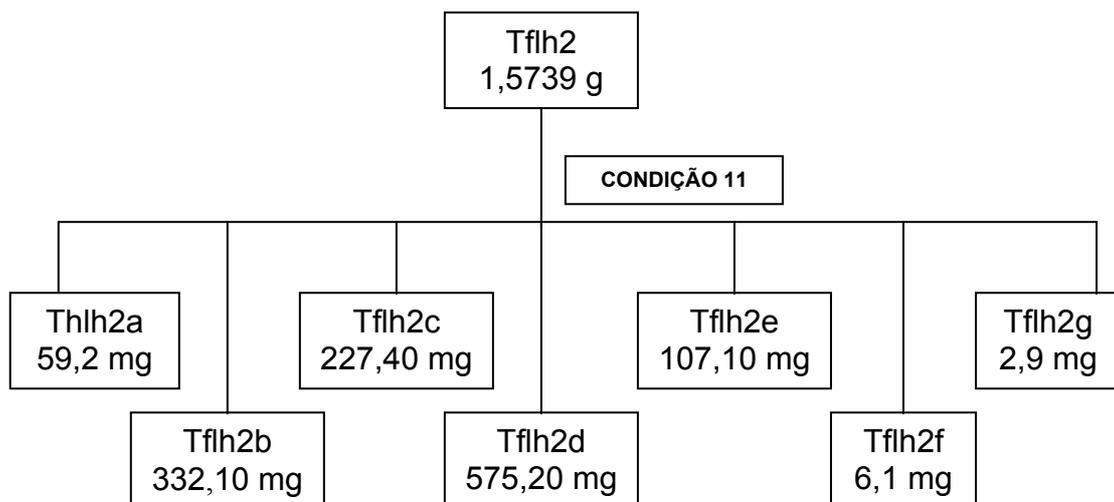
FLUXOGRAMA 3.5 – Fracionamento de Tflh.

CONDIÇÃO 10 – CLV em funil de placa sinterizada ($\phi = 25,0$ cm e $h = 14,0$ cm) em sílica gel 60 (70-230 mesh), utilizando solventes de ordem crescente de polaridade (Hexano, CH_2Cl_2 , AcOET, MeOH).

As frações obtidas do extrato Tflh foram coletadas em frascos de 10 mL e reunidas conforme similaridade (CCDA) frente aos reveladores (vanilina ácida, UV 254 e 365 nm).

3.5.2.1 – Fracionamento da Fração Tflh2.

A fração Tflh2 foi fracionada de acordo com o FLUXOGRAMA 3.6.

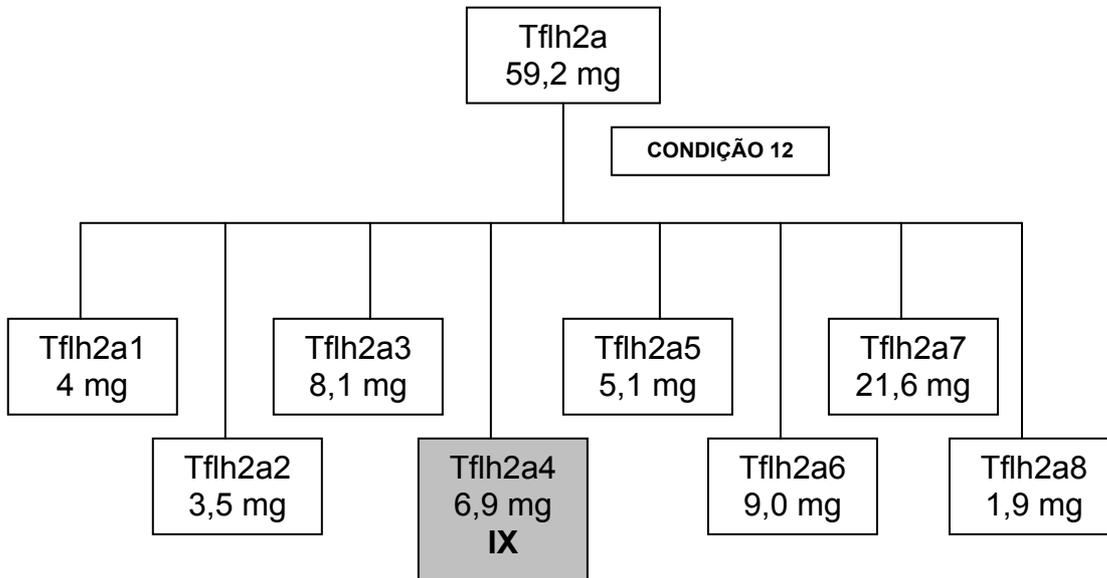


FLUXOGRAMA 3.6 – Fracionamento da fração Tflh2.

CONDIÇÃO 11 – Coluna em sílica gel (70-230 mesh), $\phi = 14,0$ cm e $h = 119,0$ cm. Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$. (isocrático).

3.5.2.1.1 – Fracionamento da fração Tflh2a.

O fracionamento da fração Tflh2a foi realizado conforme apresentado no FLUXOGRAMA 3.7 e levou ao isolamento do triterpeno cicloartano **IX**.

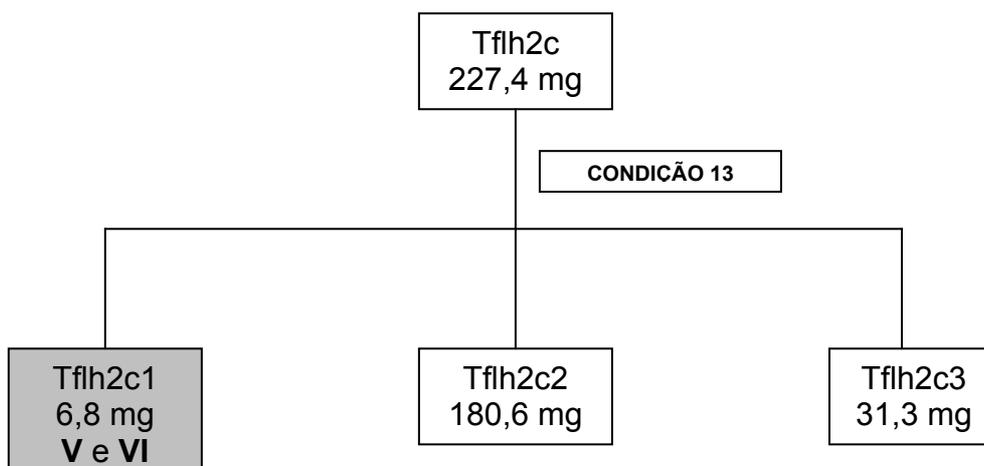


FLUXOGRAMA 3.7 – Fracionamento da fração Tflh2a.

CONDIÇÃO 12 – Cromatografia circular (Chromatotron®). Eluente: Hexano/AcOET (aumento gradativo de polaridade).

3.5.2.1.2 – Fracionamento da fração Tflh2c.

A fração Tflh2c foi fracionada conforme apresentado no FLUXOGRAMA 3.8 e levou ao isolamento dos triterpenos **V** e **VI**.

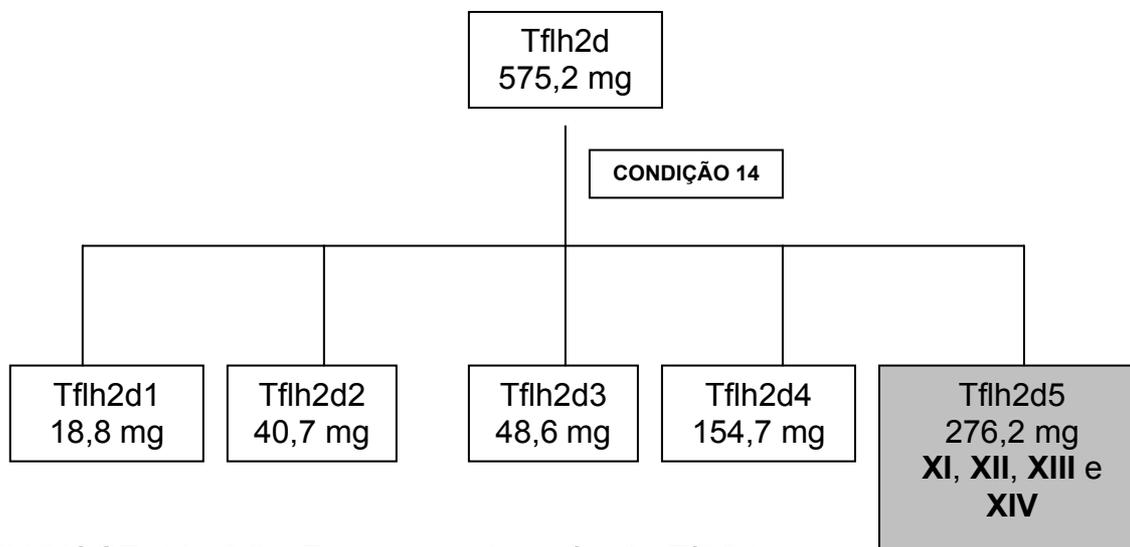


FLUXOGRAMA 3.8 – Fracionamento da fração Tflh2c.

CONDIÇÃO 13 - Coluna em sephadex LH-20, $\phi = 10,0$ cm e $h = 59,0$ cm. Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$.

3.5.2.1.3 – Fracionamento da fração Tflh2d.

O isolamento dos esteróides **XI**, **XII**, **XIII** e **XIV** foi realizado conforme descrito no FLUXOGRAMA 3.9.

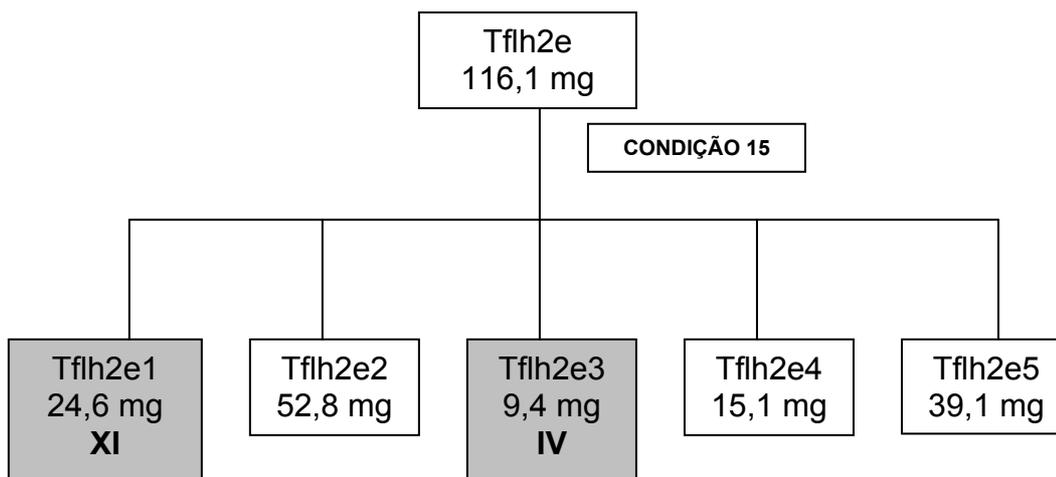


FLUXOGRAMA 3.9 – Fracionamento da fração Tflh2d.

CONDIÇÃO 14 - Coluna em sílica gel (70-230 mesh), ϕ = 12,0 cm e h = 26,0 cm. Eluente: Hexano/MeOH (aumento gradativo de polaridade).

3.5.2.1.4 – Fracionamento da fração Tflh2e.

O fracionamento de Tflh2e levou ao isolamento do esteróide **XI** e do sesquiterpeno **IV** (FLUXOGRAMA 3.10).

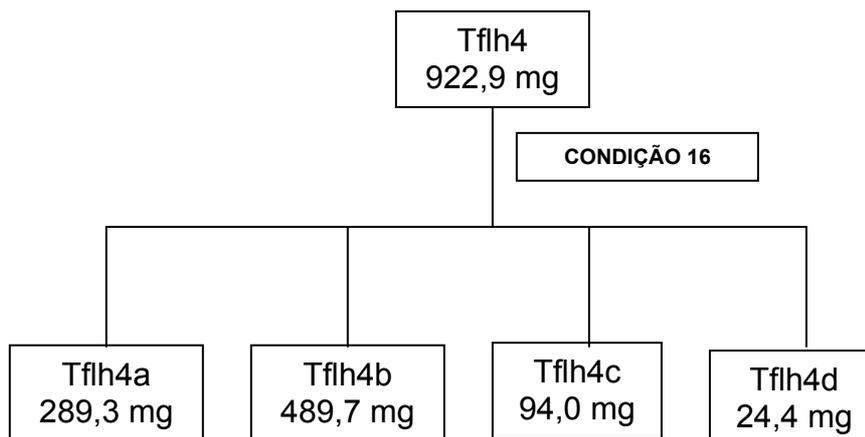


FLUXOGRAMA 3.10 – Fracionamento da fração Tflh2e.

CONDIÇÃO 15 - Coluna em sílica gel (70-230 mesh), ϕ = 10,0 cm e h = 24,0 cm. Eluente: Hexano/MeOH (aumento gradativo de polaridade).

3.5.2.1.5 – Fracionamento da fração Tflh4.

A fração Tflh4 foi fracionada (FLUXOGRAMA 3.11) levando a obtenção de 4 frações.

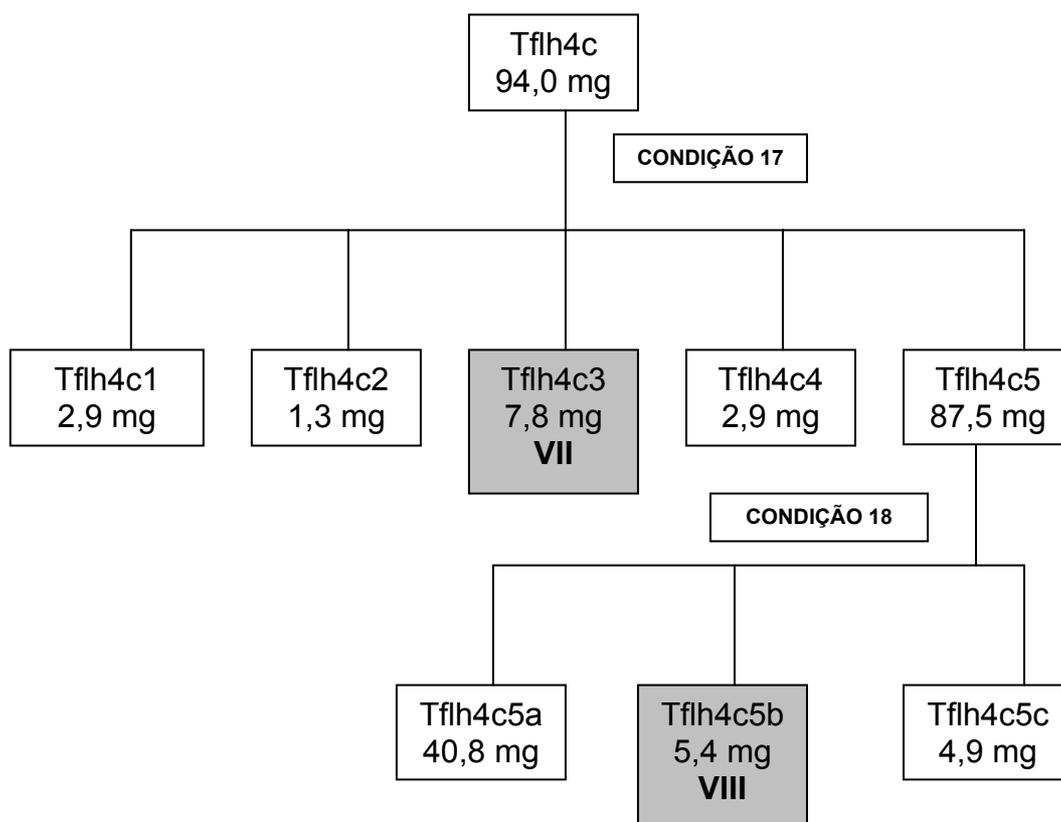


FLUXOGRAMA 3.11 – Fracionamento da fração Tflh4.

CONDIÇÃO 16 - Coluna em sephadex LH-20, ϕ = 14,0 cm e h = 119,0 cm. Eluente: CH₂Cl₂/MeOH.

3.5.2.1.5.1 – Fracionamento das frações Tflh4c e Tflh4c5.

O fracionamento da fração Tflh4c levou ao isolamento do triterpeno **VII** (FLUXOGRAMA 3.18), enquanto que o triterpeno **VIII** foi obtido através do fracionamento da fração Tflh4c5 (FLUXOGRAMA 3.18).



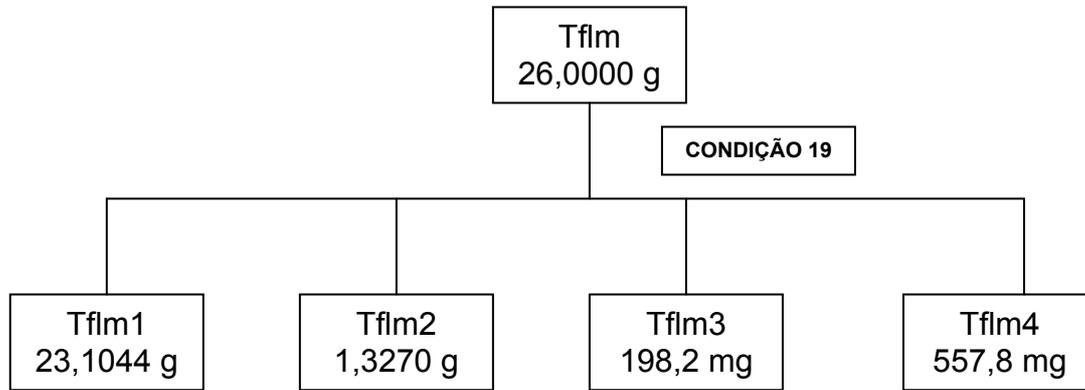
FLUXOGRAMA 3.12 – Fracionamento das frações Tflh4c e Tflh4c5.

CONDIÇÃO 17 - Coluna em sílica gel (70-230 mesh), ϕ = 10,5 cm e h = 30,0 cm. Eluente: CH₂Cl₂/MeOH (aumento gradativo de polaridade).

CONDIÇÃO 18 - Coluna em sephadex LH-20, ϕ = 10,0 cm e h = 76,0 cm. Eluente: CH₂Cl₂/MeOH.

3.5.3 – Fracionamento de Tflm.

De acordo com os resultados apresentados no item 4.7.1 (p. 129), o extrato Tflm foi fracionado através de cromatografia líquido-líquido conforme descrito no item 3.5.1 (FLUXOGRAMA 3.1). No entanto, foram obtidas quatro frações conforme apresentado no FLUXOGRAMA 3.13.



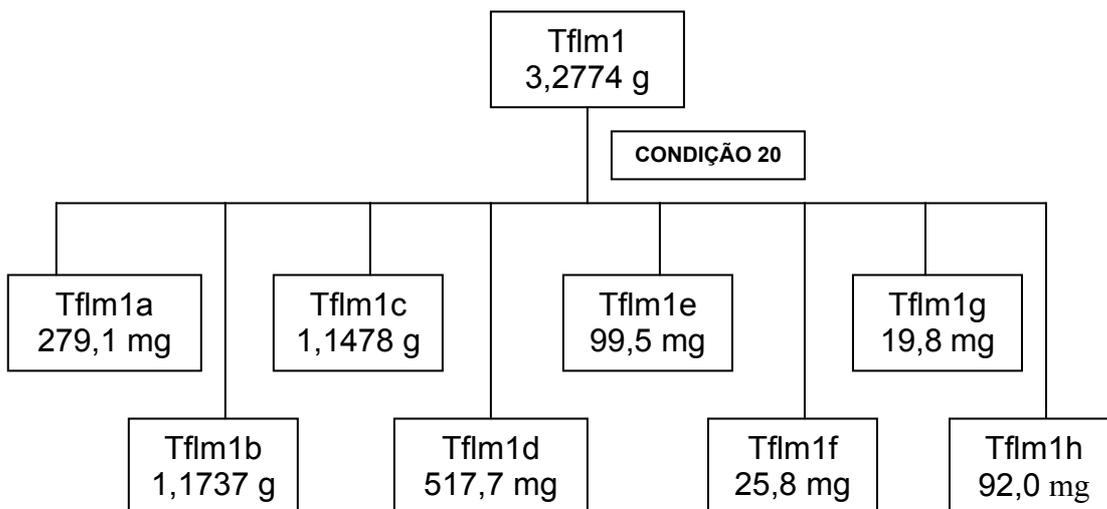
FLUXOGRAMA 3.13 – Fracionamento da fração Tflm.

CONDIÇÃO 19 – Cromatografia líquido-líquido, utilizando solventes de ordem crescente de polaridade (hexano, CH₂Cl₂, AcOET, *n*-BuOH).

As frações obtidas do extrato Tflm foram coletadas e reunidas conforme descrito no item 3.5.1.

3.5.3.1 – Fracionamento da Fração Tflm1.

A fração Tflm1 foi fracionada de acordo com o FLUXOGRAMA 3.14 resultando em oito frações.

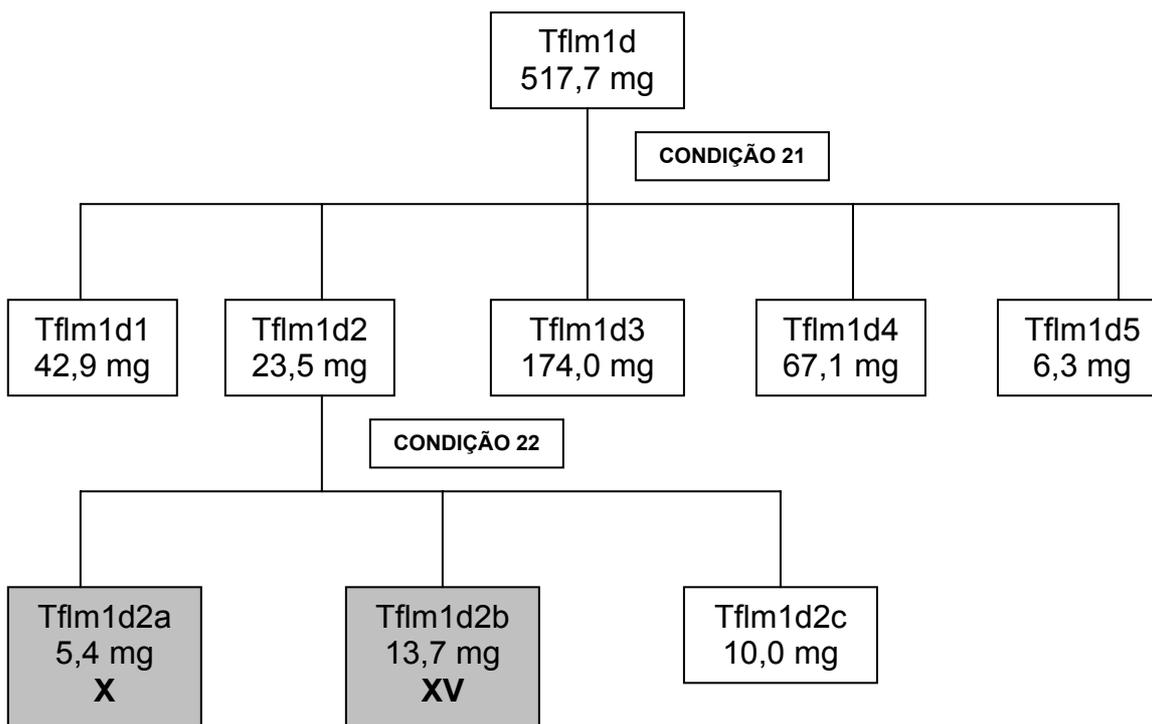


FLUXOGRAMA 3.14 – Fracionamento da fração Tflm1.

CONDIÇÃO 20 - Coluna em sephadex LH-20, ϕ = 14,0 cm e h = 119,0 cm. Eluente: CH₂Cl₂/MeOH.

3.5.3.1.1 – Fracionamento das frações Tflm1d e Tflm1d2.

As frações Tflm1d e Tflm1d2 foram fracionadas de acordo com o FLUXOGRAMA 3.15 e este fracionamento levou ao isolamento do triterpeno **X** e do esteróide glicosilado **XV**.



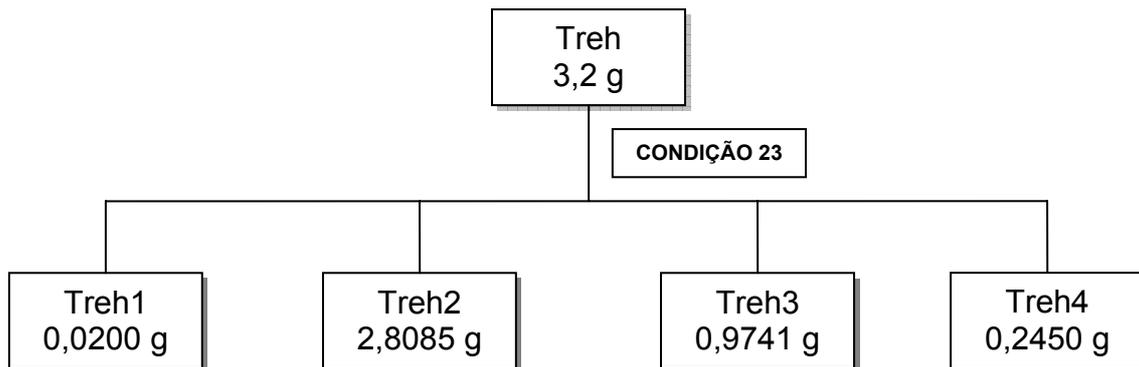
FLUXOGRAMA 3.15 – Fracionamento das frações Tflm1d e Tflm1d2.

CONDIÇÃO 21 - Coluna em sephadex LH-20, ϕ = 10,0 cm e h = 45,0 cm. Eluente: MeOH.

CONDIÇÃO 22 - Coluna em sephadex LH-20, ϕ = 8,0 cm e h = 56,0 cm. Eluente: CH₂Cl₂/MeOH.

3.5.4 – Fracionamento de Treh.

O extrato Treh foi fracionado já que apresentou atividade frente a *S. frugiperda* (item 4.7.1) conforme apresentado no FLUXOGRAMA 3.16, resultando em quatro frações.



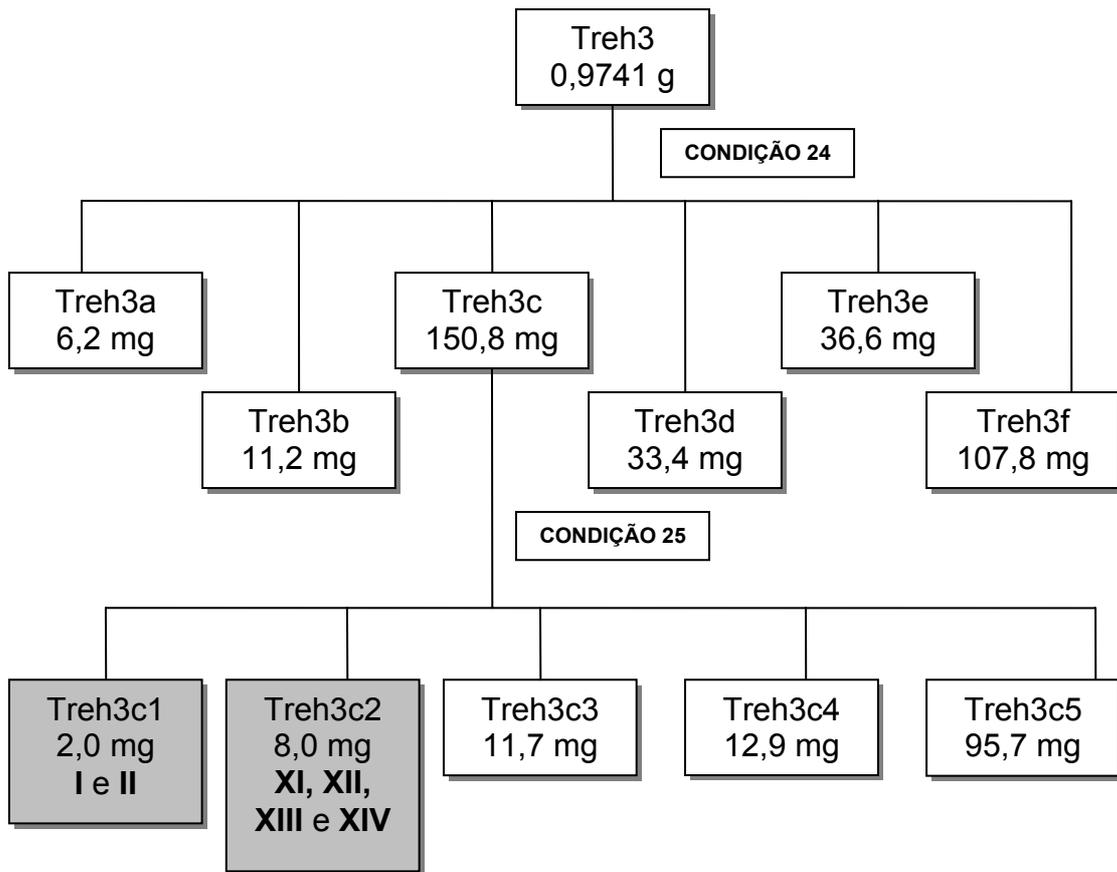
FLUXOGRAMA 3.16 – Fracionamento de Treh.

CONDIÇÃO 23 – Coluna em sílica gel 60 (230 – 400 mesh) sob vácuo, usando solventes em ordem crescente de polaridade (Hex, Hex/AcOEt 9:1, AcOEt, MeOH).

Novamente, as frações obtidas do extrato Treh foram coletadas e reunidas conforme descrito no item 3.5.1.

3.5.4.1 – Fracionamento das Frações Treh3 e Treh3c.

Os esteróides (**XI**, **XII**, **XIII** e **XIV**) e as cumarinas (**I** e **II**) foram novamente isolados após o fracionamento das frações Treh3 e Treh3c (FLUXOGRAMA 3.17).



FLUXOGRAMA 3.17 – Fracionamento das frações Treh3 e Treh3c.

CONDIÇÃO 24 – Coluna em sílica gel (70 – 230 mesh), ϕ = 15,0 cm e h = 18,5 cm.

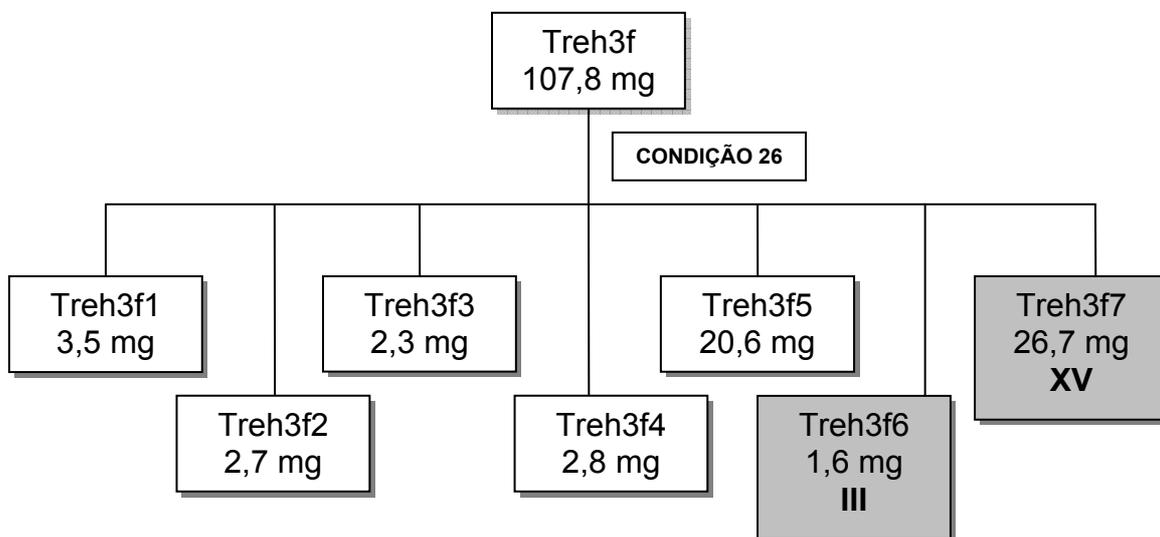
Eluente: CH₂Cl₂/MeOH (aumento gradativo de polaridade).

CONDIÇÃO 25 – Coluna em sílica gel (70 – 230 mesh), ϕ = 9,0 cm e h = 30,5 cm.

Eluente: CH₂Cl₂/MeOH (aumento gradativo de polaridade).

3.5.4.2 – Fracionamento da Fração Treh3f.

O fracionamento de Treh3f levou ao isolamento da cumarina **III** e do esteróide glicosilado **XV** (FLUXOGRAMA 3.18).

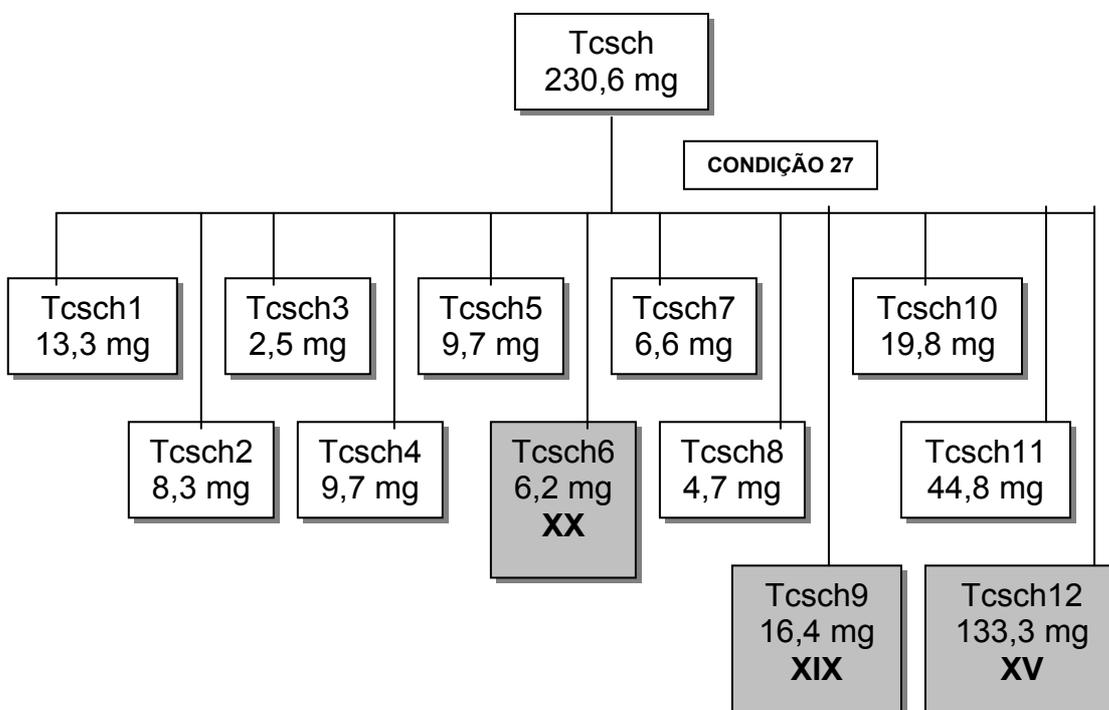


FLUXOGRAMA 3.18 – Fracionamento da fração Treh3f.

CONDIÇÃO 26 – Coluna em sílica gel (70 – 230 mesh), ϕ = 11,0 cm e h = 16,5 cm.

Eluente: CH₂Cl₂/MeOH (aumento gradativo de polaridade).

3.5.5 – Fracionamento de Tcsch.



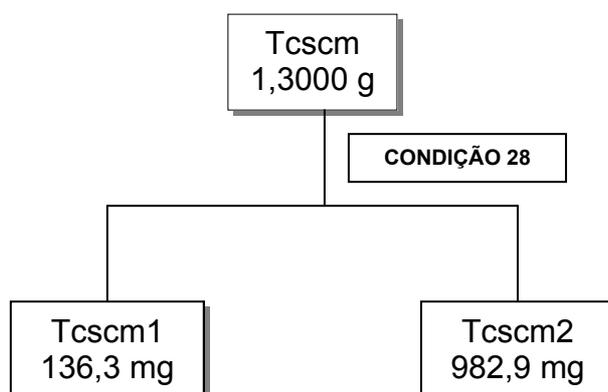
FLUXOGRAMA 3.19 – Fracionamento de Tcsch.

CONDIÇÃO 27 - Coluna em sílica gel (70-230 mesh), ϕ = 15,0 cm e h = 23,0 cm. Eluente: Hexano/H₂O (aumento gradativo de polaridade).

O fracionamento do extrato Tcsch (FLUXOGRAMA 3.19) levou ao isolamento do limonóide **XIX** e do esteróide glicosilado **XV**, já anteriormente isolado do extrato Tflm. As frações obtidas do extrato Tcsch foram coletadas em frascos de aproximadamente 10 mL e reunidas conforme similaridade em CCDA, utilizando vanilina ácida e Ultra-violeta (254 e 365 nm) como reveladores.

3.5.6 – Fracionamento de Tcscm.

O extrato Tcscm foi fracionado através de cromatografia líquido-líquido conforme descrito no item 3.5.1 (FLUXOGRAMA 3.1). No entanto, foram obtidas apenas duas frações conforme apresentado no FLUXOGRAMA 3.20.



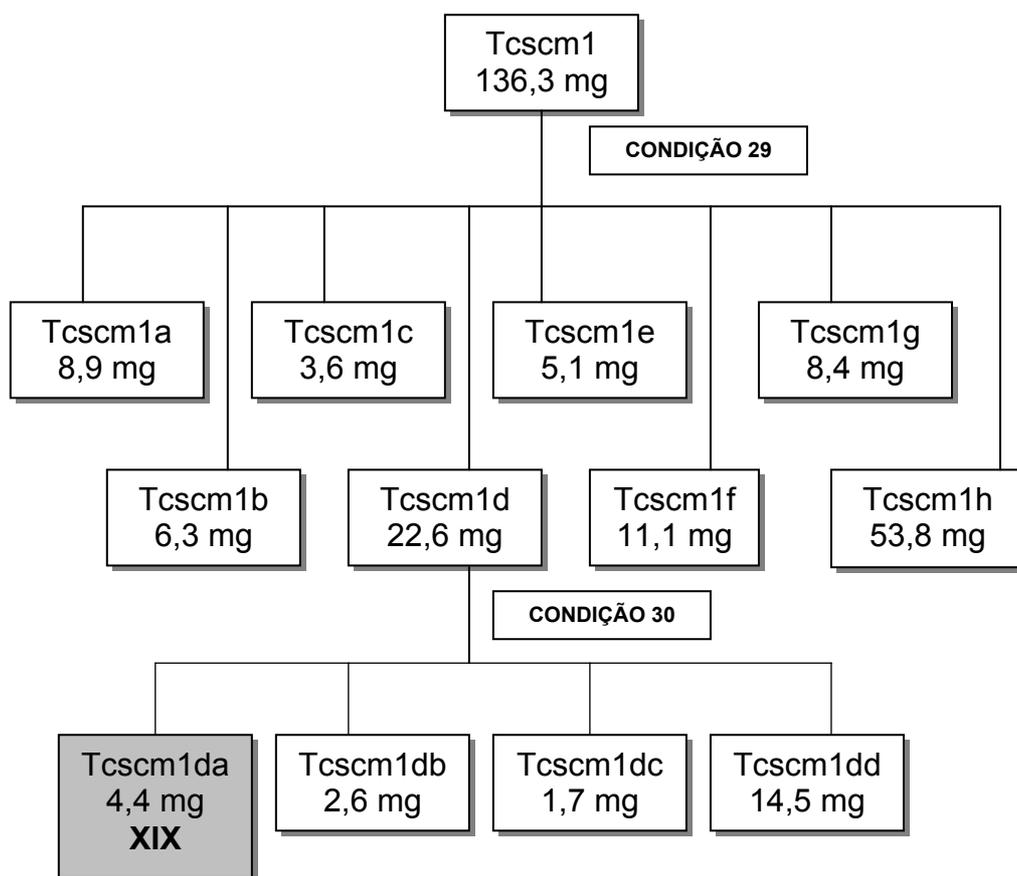
FLUXOGRAMA 3.20 – Fracionamento de Tcscm.

CONDIÇÃO 28 – Cromatografia líquido-líquido em ordem crescente de polaridade (CH₂Cl₂, MeOH).

As frações obtidas do extrato Tcscm foram coletadas e reunidas conforme descrito no item 3.5.1.

3.5.6.1 – Fracionamento das Frações Tcscm1 e Tcscm1d.

As frações Tcscm1 e Tcscm1d foram fracionadas de acordo com o FLUXOGRAMA 3.21 e levou ao isolamento do limonóide **XIX**.



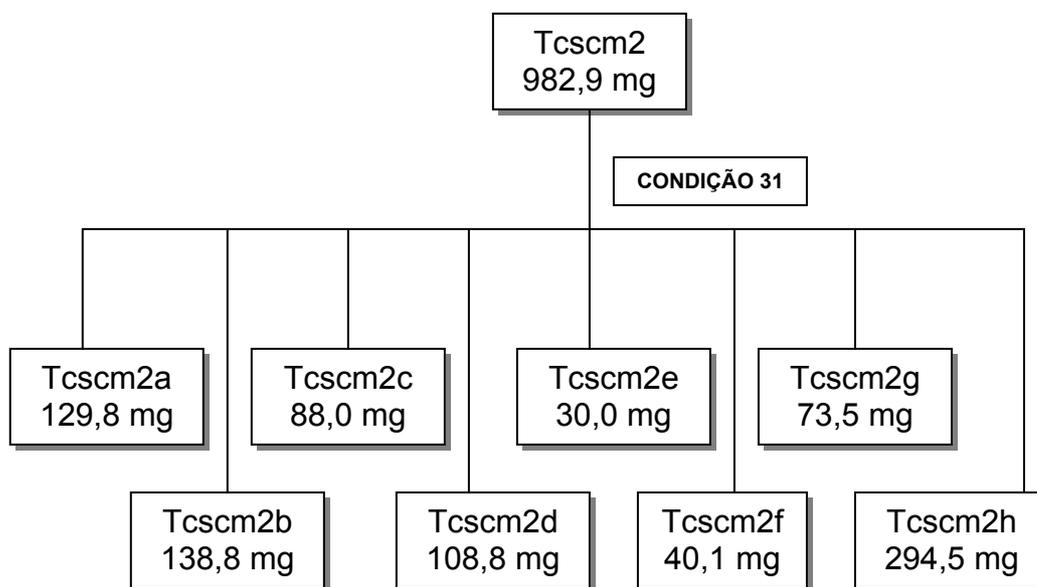
FLUXOGRAMA 3.21 – Fracionamento das frações Tcscm1 e Tcscm1da.

CONDIÇÃO 29 - Coluna em sílica gel (70-230 mesh), $\phi = 10,0$ cm e $h = 30,0$ cm. Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (aumento gradativo de polaridade).

CONDIÇÃO 30 - Coluna em sílica para placa preparativa 60-H, $\phi = 10,0$ cm e $h = 3,0$ cm. Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (aumento gradativo de polaridade).

3.5.6.2 – Fracionamento da Fração Tcscm2.

A fração Tcscm2 foi fracionada conforme descrito no FLUXOGRAMA 3.22.

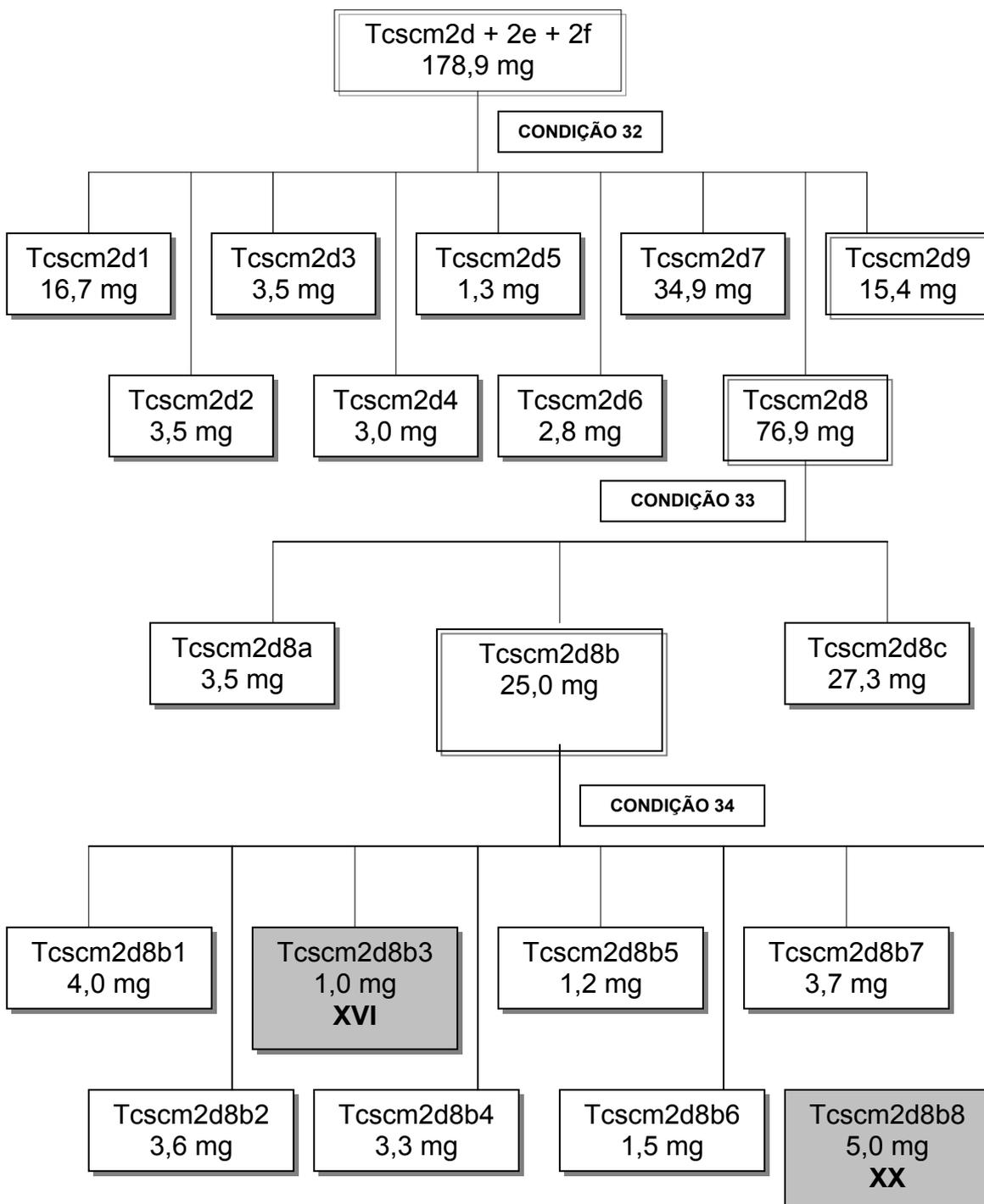


FLUXOGRAMA 3.22 – Fracionamento da fração Tcscm2.

CONDIÇÃO 31 – Coluna em sephadex LH-20, $\phi = 13,0$ cm e $h = 100,0$ cm. Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$.

As frações Tcscm2d, Tcscm2e e Tcscm2f apresentaram espectros de RMN¹H iguais, portanto estas frações foram reunidas para que pudessem ser novamente fracionadas.

3.5.6.2.1 – Fracionamento das frações Tcscm2d + 2e + 2f, Tcscm2d8 e Tcscm2d8b.



FLUXOGRAMA 3.23 – Fracionamento das frações Tcscm2d + 2e + 2f; Tcscm2d8 e Tcscm2d8b.

CONDIÇÃO 32 – Coluna em sílica gel (70-230 mesh), ϕ = 15,0 cm e h = 22,0 cm. Eluente: Hexano/MeOH (aumento gradativo de polaridade).

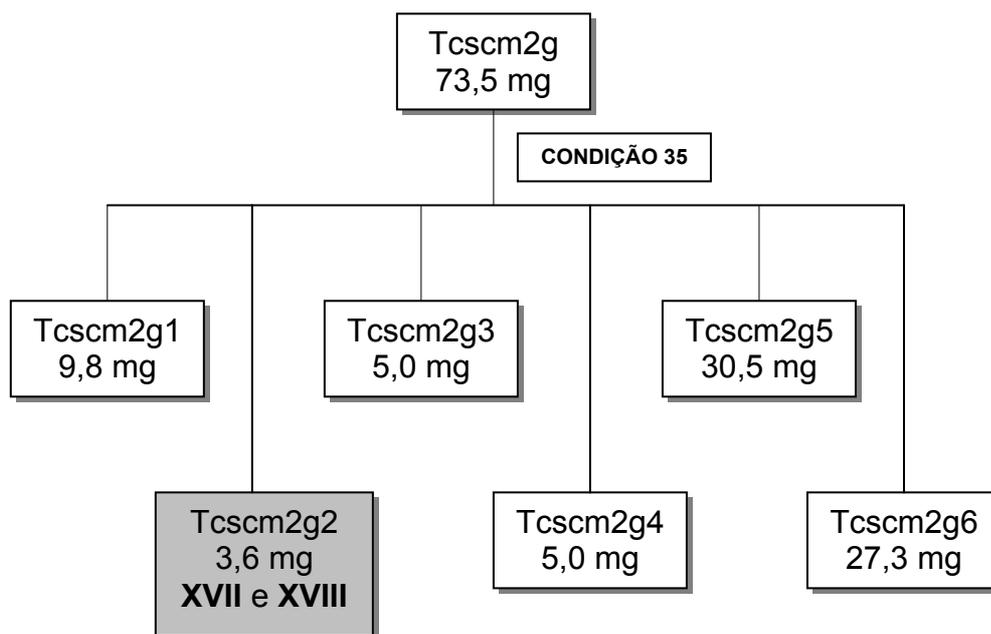
CONDIÇÃO 33 – Coluna em sílica gel (70-230 mesh), $\phi = 10,0$ cm e $h = 26,0$ cm. Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (aumento gradativo de polaridade).

CONDIÇÃO 34 – Cromatografia em placa preparativa, sílica 60-H. Eluente: $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 97,5:2,5. Revelador: UV 254 nm.

Os limonóides **XVI**, **XIX** e **XX** foram obtidos conforme apresentado no FLUXOGRAMA 3.23.

3.5.6.2.2 – Fracionamento da fração Tcscm2g.

A fração Tcscm2g foi fracionada (FLUXOGRAMA 3.24) e levou ao isolamento dos limonóides **XVII** e **XVIII**.



FLUXOGRAMA 3.24 – Fracionamento da fração Tcscm2g.

CONDIÇÃO 35 - Coluna em sílica gel (70-230 mesh), $\phi = 10,5$ cm e $h = 27,0$ cm. Eluente: Hexano/MeOH (aumento gradativo de polaridade).

3.6 – ENSAIOS BIOLÓGICOS

3.6.1 – Ensaios biológicos com extratos de ramos, folhas, frutos e sementes de *Trichilia* spp. no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*

Ensaios biológicos com os extratos de *T. clausenii* C. DC., *T. catigua* A. Juss e *T. elegans* A. Juss foram realizados no Laboratório de Bioensaios do Departamento de Química da UFSCar, a $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, UR de $70 \pm 5\%$ e fotofase de 12 h. Para realização dos testes, a criação de *S. frugiperda* (J. E. Smith) foi mantida em laboratório sendo as lagartas alimentadas com dieta artificial (KASTEN et al., 1978; PARRA, 1986) e os adultos com solução de mel a 10%.

Para a realização dos bioensaios, cada extrato foi incorporado à dieta artificial para *S. frugiperda* (KASTEN et al., 1978) na proporção de 100 mg de extrato para 100 g de dieta (1000 mg Kg^{-1}), com o cuidado de adicioná-lo ao final, quando a dieta estava a temperatura de 50°C . Além das dietas correspondentes a cada tratamento, foi também preparada uma dieta testemunha, sem extrato, utilizando o solvente em que foram solubilizados os extratos. Depois da preparação, as dietas foram vertidas em tubos de vidro ($8,5 \times 2,5 \text{ cm}$), previamente esterilizados, em estufa a 170°C por 1 h e em seguida tampados com algodão hidrófugo. Após a colocação da dieta, os tubos foram mantidos por 24 h em grades de arame para eliminação do excesso de umidade (gotículas de água) de suas paredes. A seguir, foi feita a inoculação das lagartas recém-eclodidas de *S. frugiperda*, utilizando-se uma lagarta por tubo de vidro. As pupas obtidas foram pesadas 1 dia após a pupação, e transferidas para copos plásticos de 50 ml de capacidade, onde permaneceram até a emergência dos adultos.

Os parâmetros avaliados foram duração das fases larval e pupal, peso das pupas e porcentagem de insetos mortos (mortalidade) ao final de cada fase.

3.6.2 – Ensaio biológico com triterpenóides isolados de *Cedrela fissilis* (Meliaceae) no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*

Os triterpenóides (FIGURA 4.60) isolados de *Cedrela fissilis* foram cedidos pela Dra. Ana Cristina Leite para a realização dos ensaios biológicos sobre *S. frugiperda*. O procedimento para a realização dos bioensaios foi o mesmo descrito no item 3.6.1, no entanto para as substâncias puras foram utilizadas as seguintes concentrações 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg Kg⁻¹. Os parâmetros avaliados foram os mesmos descritos no item 3.6.1.

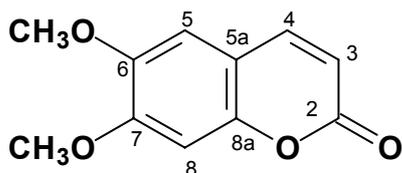
3.6.3 – Ensaio biológico com limonóides isolados de *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*

Os limonóides (FIGURA 4.63) testados foram isolados de *Cipadessa fruticosa* e cedidos pela Dra. Ana Cristina Leite para a realização dos ensaios biológicos sobre *S. frugiperda*. O procedimento utilizado para a realização dos bioensaios foi descrito no item 3.6.1 e as concentrações das substâncias no item 3.6.2. Os parâmetros avaliados foram os mesmos descritos no item 3.6.1.

4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

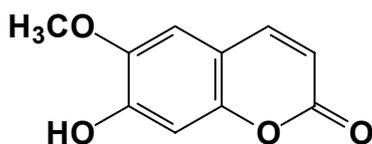
4.1 – Substâncias isoladas

Cumarinas



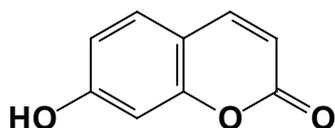
Escoporona (I)

Massa: 1,6 mg
 Procedência: Frutos de *T. elegans*
 Isolamento: p. 31 e 41
 Identificação: p. 56 - 58



Escopoletina (II)

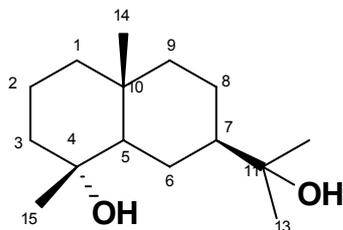
Massa: 10,9 mg
 Procedência: Frutos de *T. elegans*
 Isolamento: p. 32 e 41
 Identificação: p. 59 - 61



Umbeliferona (III)

Massa: 3,9 mg
 Procedência: Frutos de *T. elegans*
 Isolamento: p. 32 e 42
 Identificação: p. 62 - 63
 Atividade biológica: p. 134

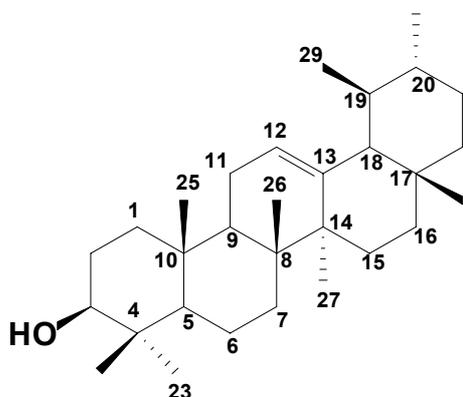
Sesquiterpeno



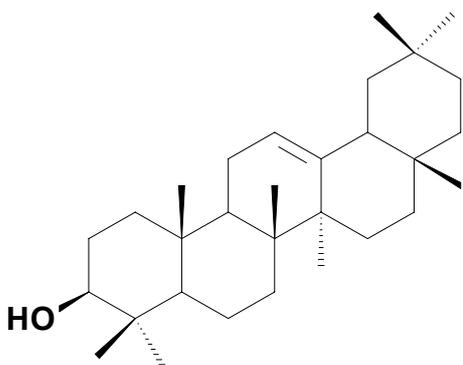
Criptomerediol (IV)

Massa: 9,4 mg
 Procedência: Folhas de *T. clausenii*
 Isolamento: p. 35
 Identificação: p. 64 - 68

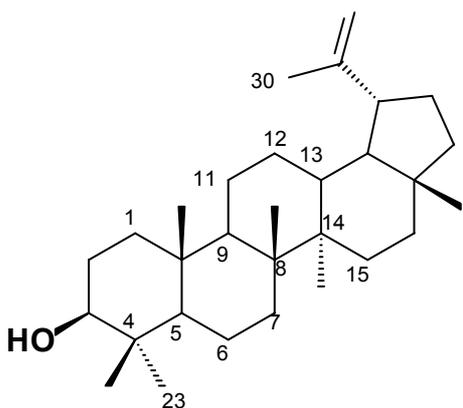
Triterpenos



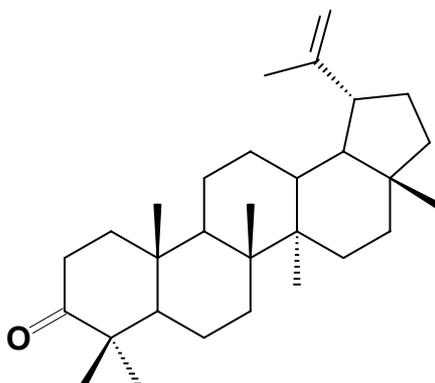
α -amirina (V) (mistura)
 Massa: 6,8 mg
 Procedência: Folhas de *T. clausenii*
 Isolamento: p. 34
 Identificação: p. 69 - 71



β -amirina (VI) (mistura)
 Massa: 6,8 mg
 Procedência: Folhas de *T. clausenii*
 Isolamento: p. 34
 Identificação: p. 69 - 71

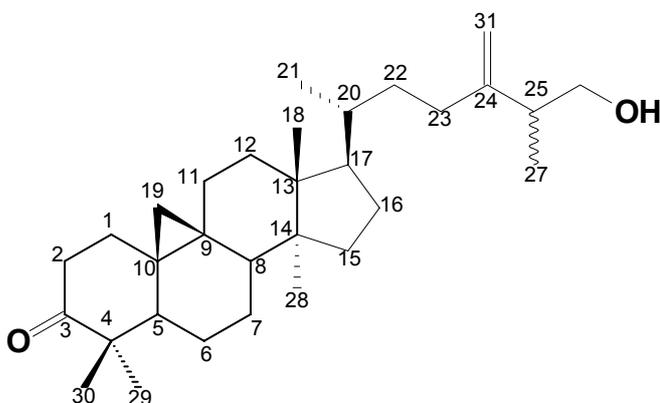


Lupeol (VII)
 Massa: 7,8 mg
 Procedência: Folhas de *T. clausenii*
 Isolamento: p. 37
 Identificação: p. 72 - 75



Lupenona (VIII)

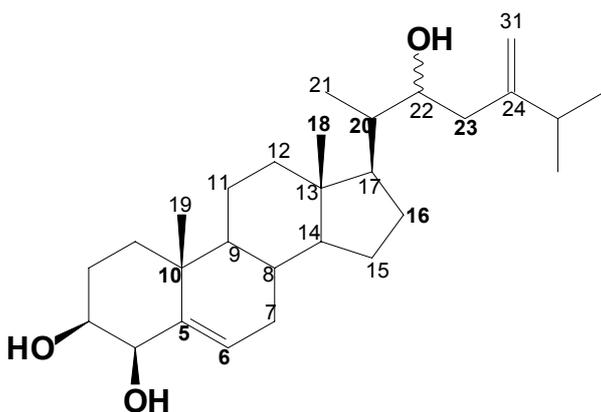
Massa: 5,4 mg
 Procedência: Folhas de *T. clausenii*
 Isolamento: p. 37
 Identificação: p. 76 - 77



24-metileno-26-hidroxicicloartan-3-ona (IX)

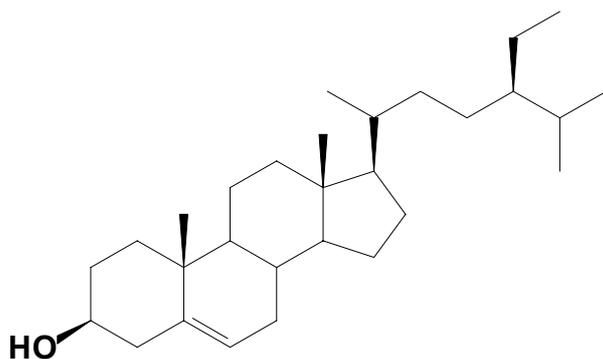
Massa: 6,4 mg
 Procedência: Folhas de *T. clausenii*
 Isolamento: p. 34
 Identificação: p. 78 - 84

Esteróides



24-metileno-3 β ,4 β ,22 α -triidroxi-colesterol (X)

Massa: 5,4 mg
 Procedência: Folhas de *T. clausenii*
 Isolamento: p. 39
 Identificação: p. 85 - 95



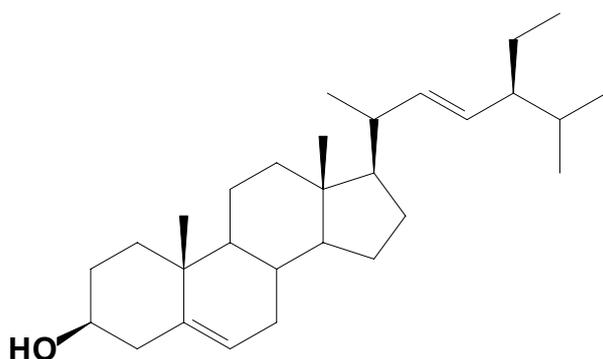
β -sitosterol (XI)

Massa: 24,6 mg

Procedência: Folhas de *T. clausenii* e Frutos de *T. elegans*

Isolamento: p. 35 e 41

Identificação: p. 96



Stigmasterol (XII)

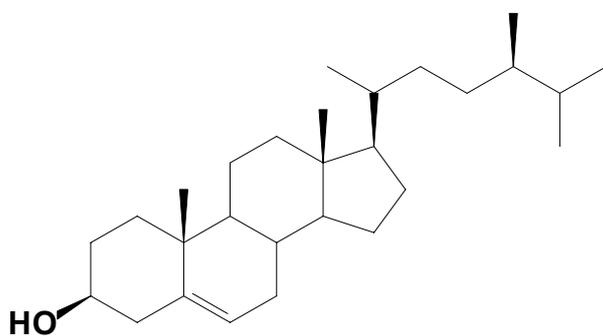
(mistura)

Massa: 276,2 mg

Procedência: Folhas de *T. clausenii* e Frutos de *T. elegans*

Isolamento: p. 35 e 41

Identificação: p. 96



Campesterol (XIII)

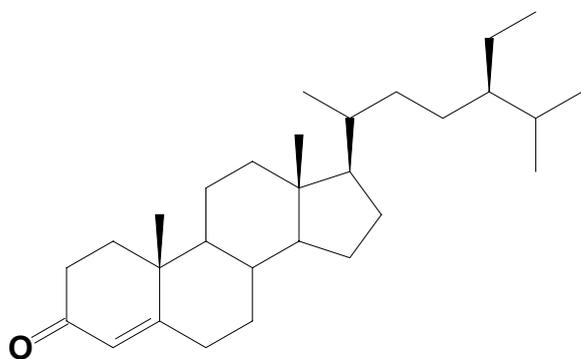
(mistura)

Massa: 276,2 mg

Procedência: Folhas de *T. clausenii* e Frutos de *T. elegans*

Isolamento: p. 35 e 41

Identificação: p. 96



Sitostenona (XIV)

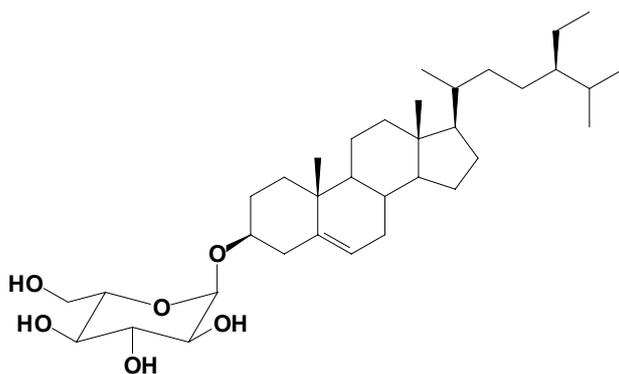
(mistura)

Massa: 276,2 mg

Procedência: Folhas de *T. clausenii* e Frutos de *T. elegans*

Isolamento: p. 35 e 41

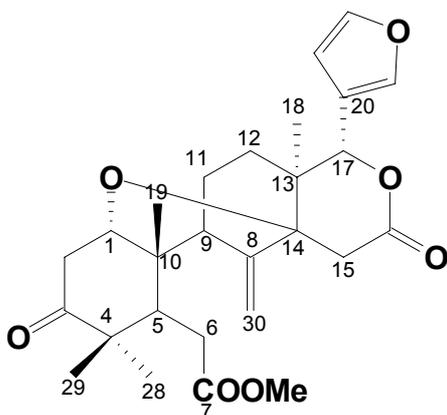
Identificação: p. 96



3-β-O-β-D-glucopiranosil sitosterol (XV)

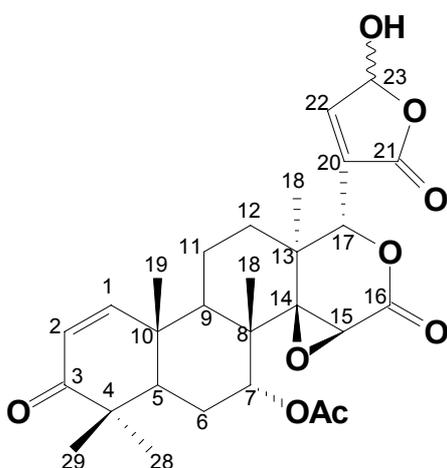
Massa: 173,7 mg
 Procedência: Folhas de *T. clausenii*, frutos de *T. elegans* e arilo de *T. catigua*
 Isolamento: p. 39 e 42
 Identificação: p. 97 - 101

Limonóides



Angolensato de metila (XVI)

Massa: 1,0 mg
 Procedência: Arilo de *T. catigua*
 Isolamento: p. 46
 Identificação: p. 102 – 108
 Atividade biológica: p. 137

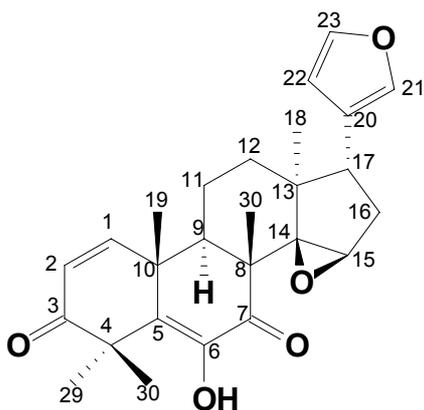


Mistura epimérica de fotogedunina (XVII e XVIII)

Massa: 3,6 mg
 Procedência: Arilo de *T. catigua*
 Isolamento: p. 47
 Identificação: p. 109 – 114
 Atividade biológica: p. 138

H-23 α : XVII

H-23 β : XVIII



Cedrelona (XIX)

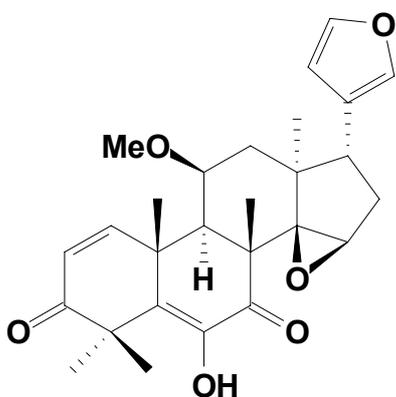
Massa: 20,8 mg

Procedência: Arilo de *T. catigua*

Isolamento: p. 42 e 44

Identificação: p. 115 – 123

Atividade biológica: p. 138



11β-metoxicedrelona (XX)

Massa: 6,2 mg

Procedência: Arilo de *T. catigua*

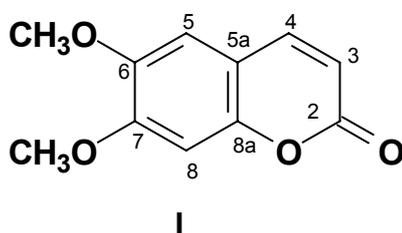
Isolamento: p. 42 e 46

Identificação: p. 124 - 125

4.2 – Identificação das Cumarinas

4.2.1 – Identificação da substância I

A substância I foi analisada por CCDA e apresentou fluorescência sob a luz UV (365 nm). A cumarina 6,7 dimetoxicumarina I ou escaporona teve sua estrutura determinada através de experimento de RMN¹H e CG/EM como também através da comparação com dados da literatura (ADESOGAN, 1973).



Analisando o espectro de RMN¹H de I (FIGURA 4.1), pode-se observar que a estrutura é uma cumarina devido aos sinais característicos referentes aos hidrogênios H-4 e H-3 do anel lactônico em δ 7,63 (1H, *d*, *J* = 9,4 Hz) e δ 6,29 (1H, *d*, *J* = 9,4 Hz), respectivamente. O espectro também mostra sinais de 2 metoxilas em δ 3,95 (3H, *s*) e δ 3,92 (3H, *s*), e sinais de 2 hidrogênios aromáticos em δ 6,86 (1H, *s*) e δ 6,84 (1H, *s*) (TABELA 4.1). As cumarinas sempre apresentam oxidações em C-7 devido a sua origem biossintética, o que nos leva a posicionar uma das metoxilas neste carbono.

A multiplicidade observada para os hidrogênios aromáticos (singletos) exclui a possibilidade de a outra metoxila estar posicionada em C-8, uma vez que desta forma as multiplicidades dos hidrogênios aromáticos seriam dubleto e não singlete. Restaria posicionar a outra metoxila em C-6 ou C-5, porém a posição C-5 também fica logo descartada devido ao valor de deslocamento químico de H-4 (δ 7,63).

Em cumarinas que apresentam substituintes oxigenados na posição C-5, o H-4 é muito desblindado, com seu sinal aparecendo em torno de δ 8,0 devido ao efeito anisotrópico da ligação C-O da posição 5 (NIELSEN,

1970). Além disso, muito provavelmente seria observado um acoplamento com constante pequena (acoplamento *meta*) de H-6 com H-8 e de H-8 com H-6, o que levaria estes sinais a serem dubletos e não singletos.

O espectro de massas da substância **I** (FIGURA 4.2) apresentou o pico do íon molecular m/z 206, sendo compatível com a fórmula molecular $C_{11}H_{10}O_4$.

TABELA 4.1 - Dados de RMN¹H (δ , ppm) da escaporona isolada (**I**) e comparação com a literatura.

H	I (exp.) ^a	I (lit.) ^a
3	6,29 (1H, <i>d</i> , $J=9,4$)	6,25 (1H, <i>d</i> , $J=10,0$)
4	7,63 (1H, <i>d</i> , $J=9,4$)	7,60 (1H, <i>d</i> , $J=10,0$)
5	6,86 (1H, <i>s</i>)	6,90 (1H, <i>s</i>)
8	6,84 (1H, <i>s</i>)	6,80 (1H, <i>s</i>)
6-OMe	3,95 (3H, <i>s</i>)	3,95
7-OMe	3,92 (3H, <i>s</i>)	3,90

^a 200 MHz, CDCl₃.

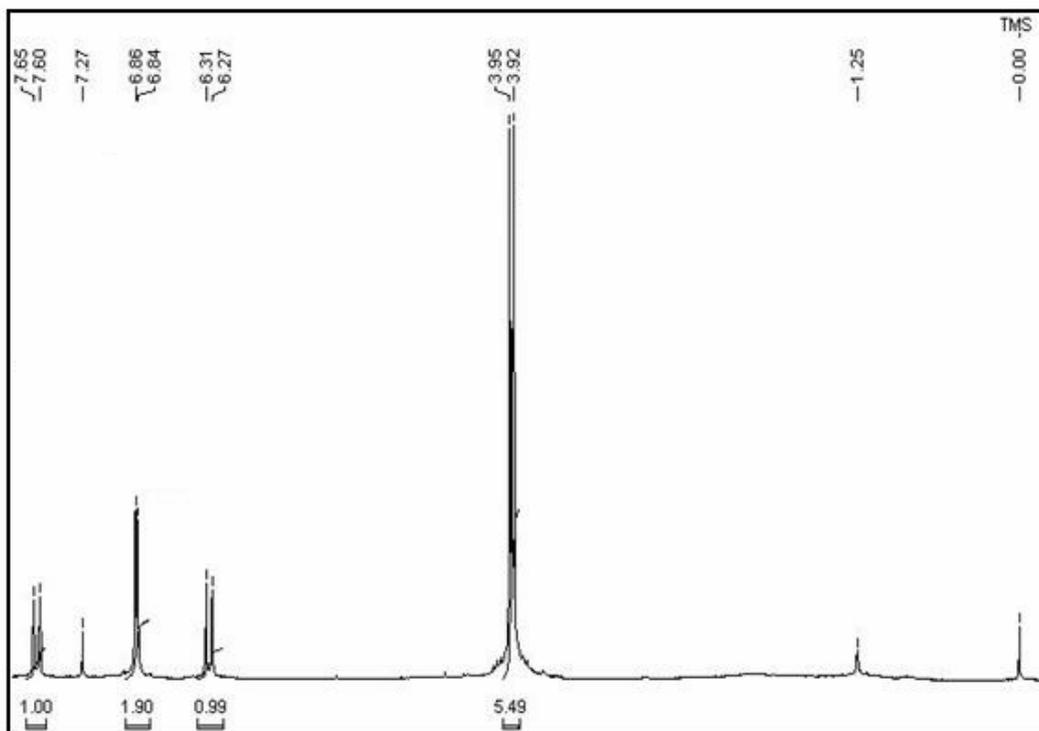


FIGURA 4.1 - Espectro de RMN¹H (200 MHz, CDCl₃) da cumarina I.

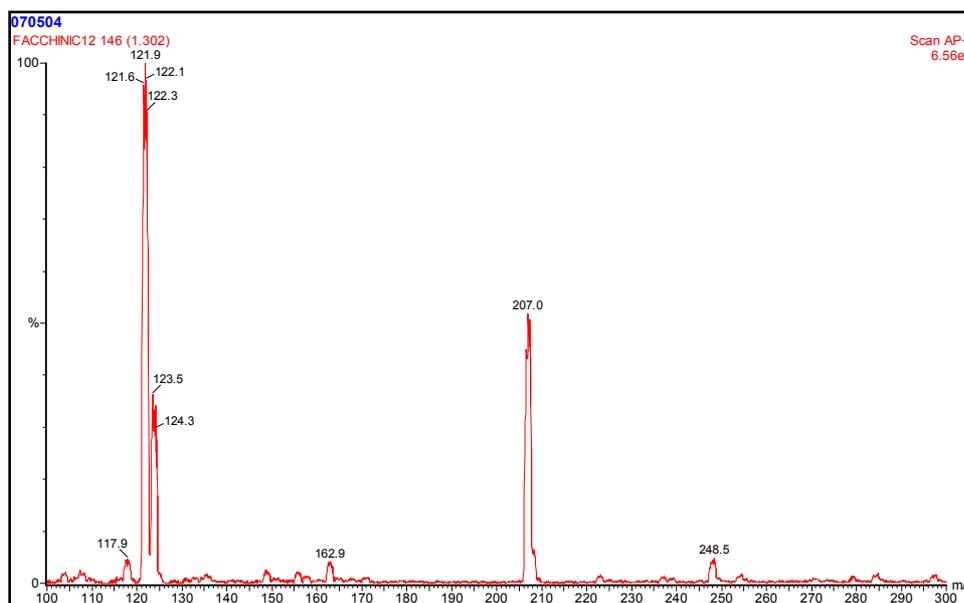


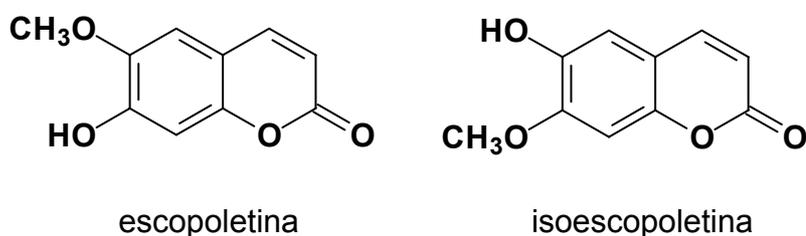
FIGURA 4.2 - Espectro de massas da cumarina I (IE-70 eV).

4.2.2 – Identificação da substância II

Através da análise desta substância por CCDA, foi observada uma mancha de coloração azul sob a luz de UV (365 nm) e nenhuma coloração quando revelada em vanilina.

O espectro de RMN¹H (FIGURA 4.3) da substância II apresentou sinais característicos de esqueleto cumarínico. Os sinais em δ 6,27 (1H, d, $J = 9,5$ Hz) e δ 7,60 (1H, d, $J = 9,5$ Hz) foram atribuídos aos hidrogênios H-3 e H-4 do esqueleto cumarínico, respectivamente. Os sinais em δ 6,92 (1H, s) e δ 6,84 (1H, s) foram associados a hidrogênios aromáticos “*para*” relacionados. Ainda foram observados sinais em δ 6,13 (1H, sl) e um sinal em δ 3,96 (3H, s) referente a hidrogênios de um grupo metoxila que estaria ligada na posição C-6 ou C-7. Dessa forma, o sinal em δ 6,13 (1H, sl) foi atribuído a um hidrogênio de um grupo hidroxila que estaria substituindo o outro carbono (C-6 ou C-7).

Estes dados possibilitam duas propostas estruturais: a escopoletina e seu isômero isoescopoletina.



Os dados de RMN¹H e ¹³C não permitem diferenciá-las. Para isto foi necessário fazer uma análise através de espectrometria de massas. A escopoletina apresenta o pico de m/z 177 com intensidade de aproximadamente 70 % que é maior do que o da isoescopoletina devido à estabilização adicional deste fragmento (JANUÁRIO, 1995). Através do espectro de massas (FIGURA 4.4) em ESP no modo negativo, foi possível identificar a substância II como sendo a escopoletina, já que a intensidade do pico m/z 176 daltons (M-1) foi maior que 70%.

Os dados de RMN¹H da substância **II** foram atribuídos comparando-os com dados da literatura (MAFEZOLI, 2001) como mostra a TABELA 4.2.

TABELA 4.2 - Dados de RMN¹H (δ , ppm) da escopoletina isolada (**II**) e comparação com a literatura.

H	II (exp.) ^a	II (lit.) ^b
3	6,27 (1H, d, $J = 9,5$ Hz)	6,28 (1H, d, $J = 9,5$ Hz)
4	7,60 (1H, d, $J = 9,5$ Hz)	7,61 (1H, d, $J = 9,5$ Hz)
5	6,84 (1H, s)	6,84 (1H, s)
8	6,92 (1H, s)	6,91 (1H, s)
6-OCH ₃	3,96 (3H, s)	3,95 (3H, s)
7-OH	6,13 (3H, s)	6,22 (3H, s)

^a200 MHz, CDCl₃, ^b400 MHz, CDCl₃

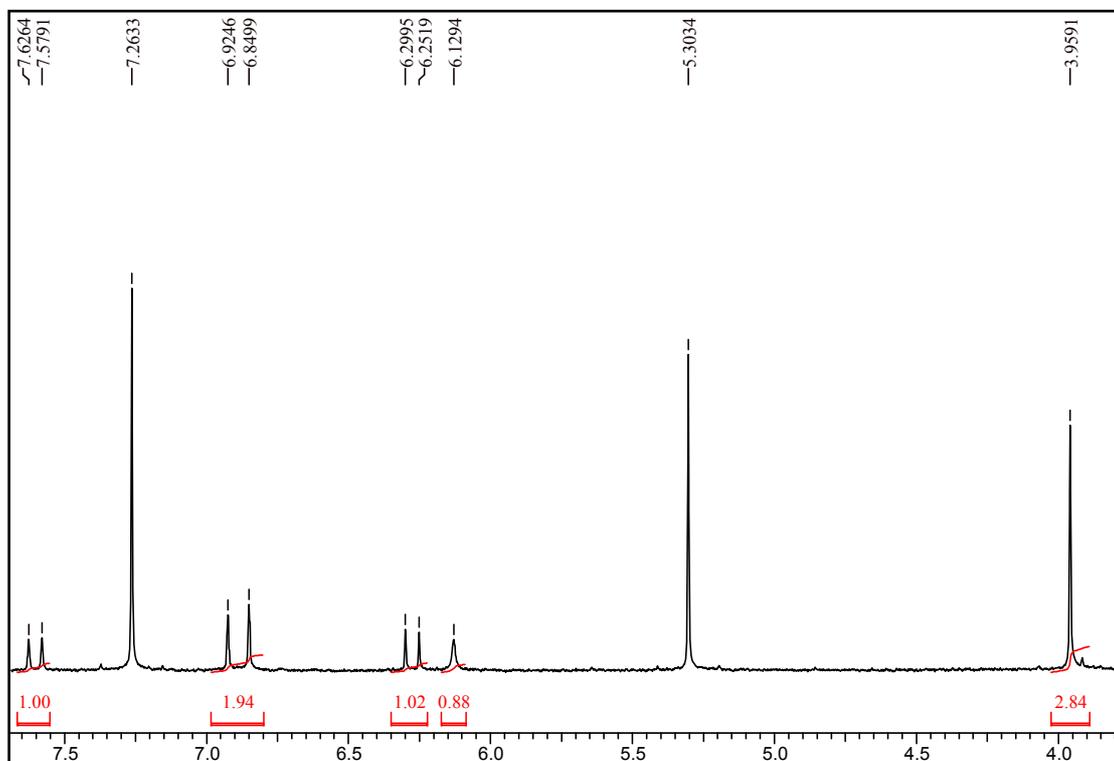


FIGURA 4.3 - Espectro de RMN¹H (200 MHz, CDCl₃) da cumarina **II**.

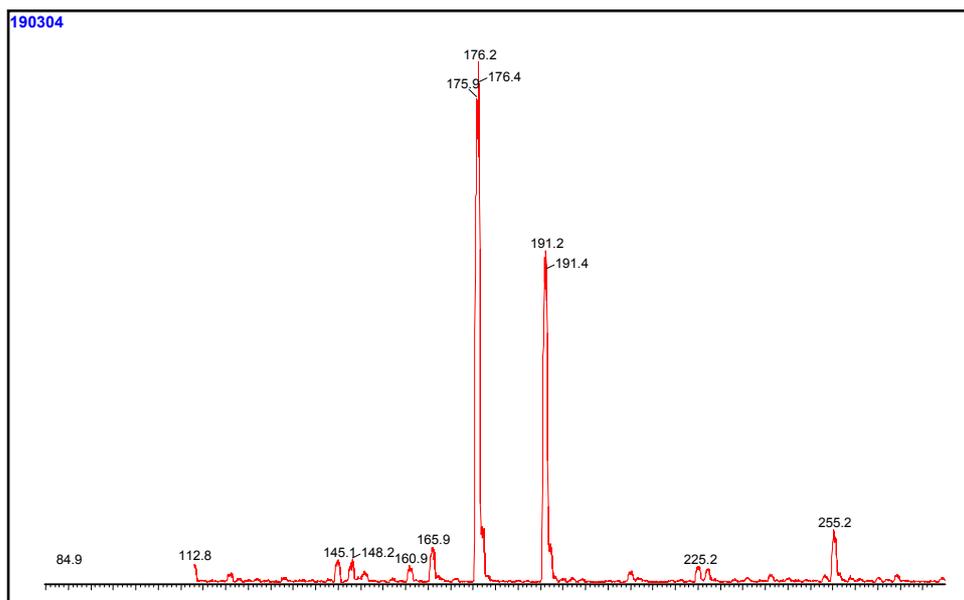


FIGURA 4.4 - Espectro de massas da cumarina II.

4.2.3 – Identificação da substância III.

Esta substância foi analisada por CCDA e apresentou apenas uma mancha azul fluorescente sob a luz de UV (365 nm).

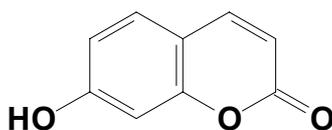
O espectro de RMN¹H (FIGURA 4.5) da substância III apresentou sinais característicos de H-3 e H-4 de esqueleto cumarínico: δ 6,26 (1H, d, J = 9,4 Hz) e δ 7,64 (1H, d, J = 9,4 Hz) respectivamente. Os sinais de hidrogênios aromáticos apareceram em δ 7,38 (1H, d, J = 8,4 Hz), δ 6,79 (1H, dd, J = 8,4 e 2,1 Hz) e em δ 6,83 (1H, d, J = 2,1), típicos de um anel benzênico 1,2,4-substituído. A ausência de sinal característico de metoxila sugeriu um grupo hidroxila como substituinte no anel aromático. A análise dos dados discutidos permitiu propor a estrutura III, que comparada com dados da literatura (MULLER, 1994) permitiu identificar esta substância como sendo a 7-hidroxicumarina (umbeliferona).

O espectro de massas (FIGURA 4.6) obtido por APCI no modo positivo, mostrou o pico ($M + 1$) em m/z 163, confirmando a fórmula molecular da umbeliferona (C₉H₆O₃).

TABELA 4.3 - Dados de RMN¹H (δ , ppm) da umbeliferona isolada (III) e comparação com a literatura.

H	III (exp.) ^a	III (lit.) ^a
3	6,26 δ (1H, d, J = 9,4 Hz)	6,26 δ (1H, d, J = 9,6 Hz)
4	7,64 δ (1H, d, J = 9,4 Hz)	7,64 δ (1H, d, J = 9,6 Hz)
5	7,38 δ (1H, d, J = 8,4 Hz)	7,36 δ (1H, d, J = 8,4 Hz)
6	6,79 δ (1H, dd, J = 8,4 e 2,3 Hz)	6,77 δ (1H, dd, J = 8,4 e 2,0 Hz)
8	6,83 δ (1H, d, J = 2,1 Hz)	6,83 δ (1H, d, J = 2,0 Hz)

^a 400 MHz, CDCl₃



III

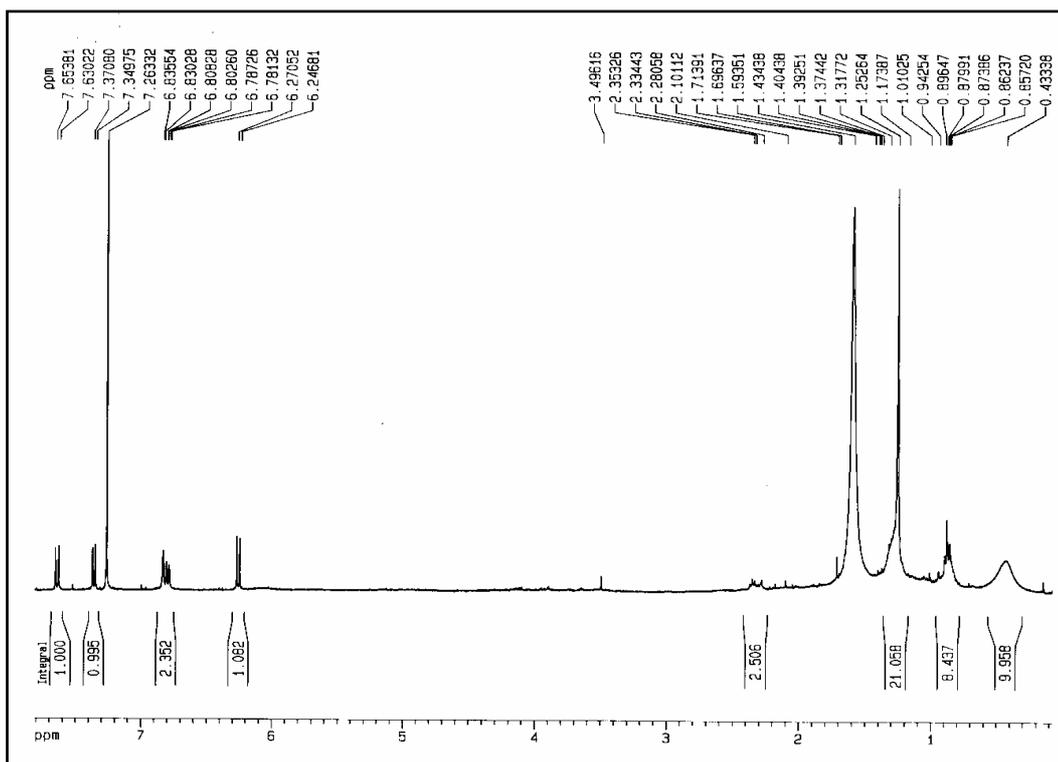


FIGURA 4.5 - Espectro de RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) da cumarina III.

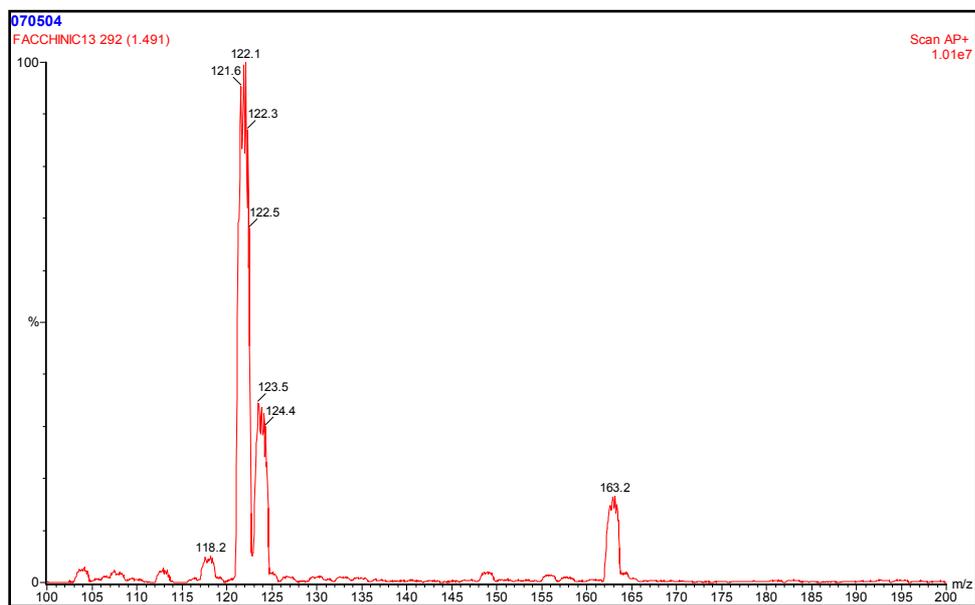
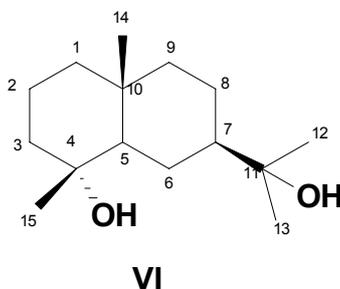


FIGURA 4.6 - Espectro de massas da cumarina III.

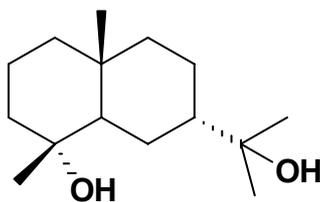
4.3 – Identificação do Sesquiterpeno

4.3.1 – Identificação da substância VI



O sesquiterpeno (**VI**), já foi isolado de *T. clausenii* (PUPO et al., 2002). Este sesquiterpeno do tipo eudesmano é conhecido como criptomeridiol ou proximadiol e já foi isolado de diversas plantas.

O criptomeridiol (**VI**) foi caracterizado através de RMN¹H e ¹³C por comparação com dados da literatura (NANAYAKKARA et al., 1986) e com aqueles descritos para o modelo isodonsesquitina (**Vla**) (SHUN-HUA et al., 1993).



No espectro de RMN¹H (FIGURA 4.7) de **VI** foram observados quatro sinais de metilas como singletos em 0,87 (3H), 1,21 (6H) e 1,12 (3H) δ . No espectro de RMN¹³C (FIGURA 4.8 e 4.9) foram observados 15 sinais de carbono, sendo 4 CH₃, 6 CH₂, 2 CH e 3 quaternários. Entre os carbonos quaternários, 2 apresentam deslocamentos químicos característicos de carbonos carbinólicos (72,4 e 73,0 δ), sugerindo a presença de duas hidroxilas na molécula. A proximidade dos deslocamentos químicos de duas metilas, seus valores e multiplicidades, aliada à presença de sinais de carbonos

carbinólicos quaternários, sugerem a presença de um grupo isopropílico hidroxilado, comum em algumas classes de sesquiterpenos.

As atribuições dos deslocamentos químicos de **VI** foram baseadas em comparação com a literatura, conforme descrito nas TABELAS 4.4 e 4.5.

TABELA 4.4 – Dados de RMN¹H (δ , ppm) do criptomeridiol isolado (**VI**) e comparação com a literatura (**VI** - NANAYAKKARA et al., 1986; **Vla** - SHUN-HUA et al., 1993).

H	VI (exp.) ^a	VI (lit.) ^b	Vla (lit.) ^b
12	1,21 s	1,21 s	1,42 s
13	1,21 s	1,21 s	1,38 s
14	0,87 s	0,86 s	0,92 s
15	1,12 s	1,12 s	1,32 s

^a CDCl₃, 400 MHz.

^b CDCl₃, equipamento não especificado.

TABELA 4.5 – Dados de RMN¹³C do criptomeridiol (**VI**) em comparação com a literatura (**VI** - NANAYAKKARA et al., 1986; **Vla** - SHUN-HUA et al., 1993).

C	VI (exp.) ^a	VI (lit.) ^b	Vla (lit.) ^a
1	40,9	41,0	42,0
2	20,1	20,1	20,9
3	43,4	43,2	44,3
4	72,4	72,2	71,6
5	54,7	54,5	55,4
6	21,4	21,4	22,5
7	49,9	49,9	45,6
8	22,5	22,7	23,3
9	44,5	44,6	51,0
10	34,5	34,4	35,0
11	73,0	72,9	72,0
12	26,8	26,5	28,0
13	27,4	27,5	28,1
14	18,7	18,3	19,3
15	22,6	22,5	23,3

^a CDCl₃, 100 MHz.^b CDCl₃, 90 MHz.

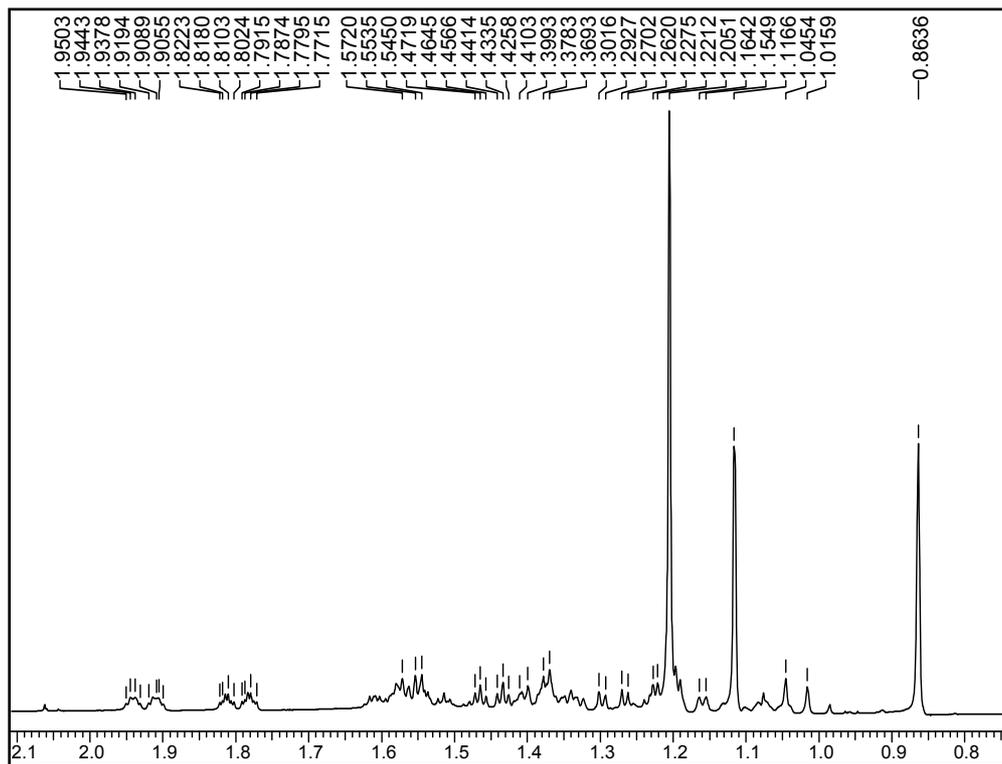


FIGURA 4.7 – Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do sesquiterpene VI.

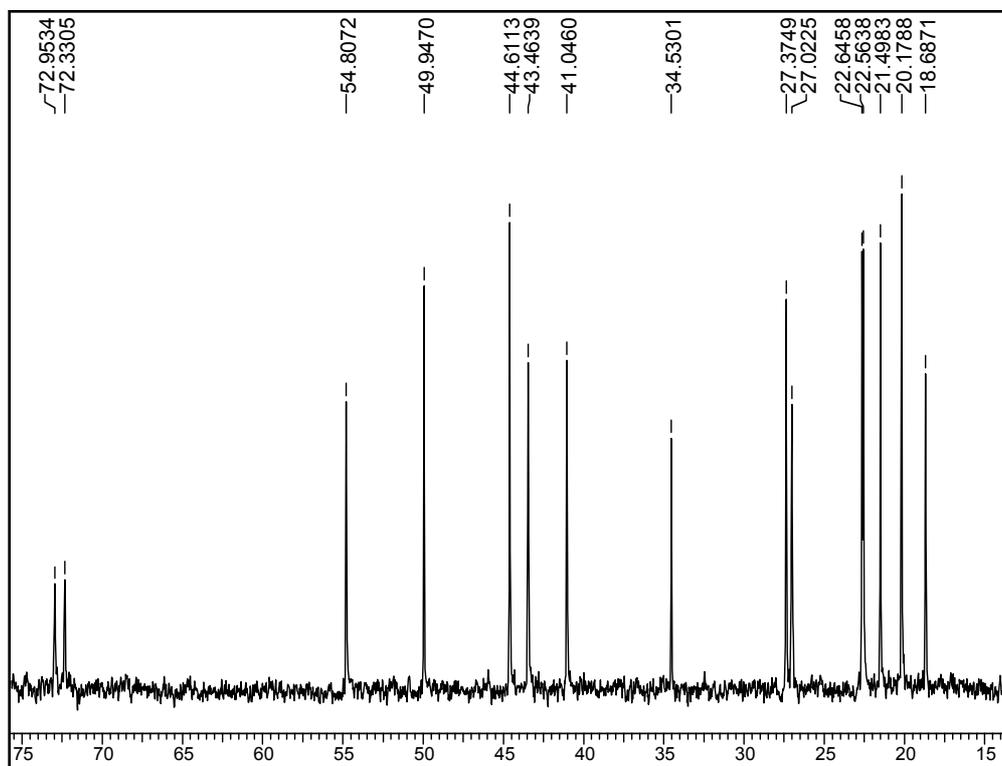


FIGURA 4.8 – Espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) do sesquiterpene VI.

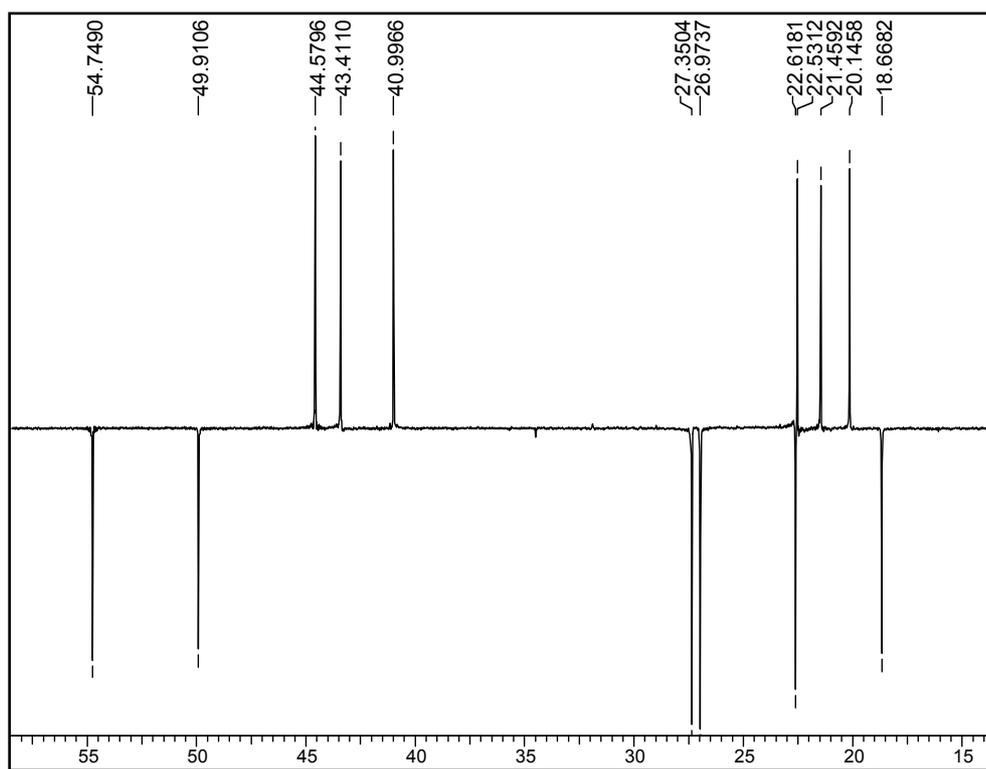


FIGURA 4.9 – Espectro de RMN¹³C (DEPT) (100 MHz, CDCl₃) do sesquiterpeno **VI**.

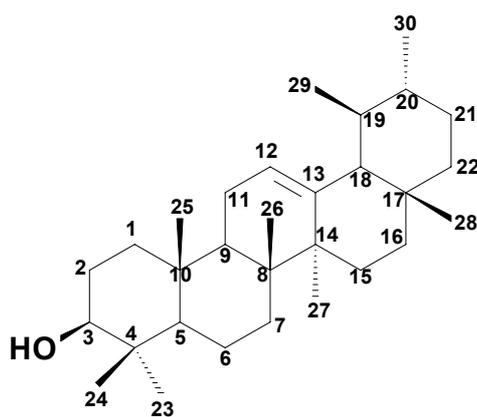
4.4 – Identificação dos Triterpenos

4.4.1 – Identificação das substâncias V e VI

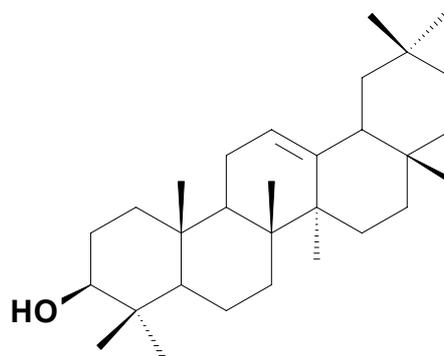
Esta fração foi analisada por CCDA e apresentou uma única mancha de coloração violeta quando revelada em vanilina ácida. Apresentou-se na forma de um sólido branco.

No espectro de RMN¹H (FIGURA 4.10) da mistura (V + VI) foi observado um duplo dubleto em δ 3,22 (2H, dd, J = 10,7 e 4,7 Hz) característico de hidrogênio carbinólico; dois tripletos em δ 5,18 (1H, t, J = 6,9) e δ 5,12 (1H, t, J = 7,2 Hz) característicos de hidrogênios olefínicos. Os sinais entre δ 1,13-0,79 foram associados a grupos metílicos de uma mistura de triterpenos. Dessa forma, estes dados foram comparados com dados da literatura (MAHATO & KUNDU, 1994) e observou-se que os valores de deslocamentos químicos dos hidrogênios olefínicos eram iguais aos da β -amirina e α -amirina. O sinal do hidrogênio em δ 3,22 foi então atribuído aos hidrogênios H-3 dos dois triterpenos. A constante de acoplamento de 10,7 Hz indicou que H-3 está em axial e acopla com H-2 β com J -di axial (REYNOLDS et al., 1986).

O espectro de RMN¹³C (FIGURA 4.11) apresentou sinais dos carbonos sp² característicos dos carbonos C-12 e C-13: δ 124,4 e δ 139,6 da α -amirina e δ 121,7 e δ 145,2 da β -amirina. Os dados de RMN¹³C foram comparados com os da literatura (MAHATO & KUNDU, 1994) e são mostrados na TABELA 4.6.



α -amirina (V)



β -amirina (VI)

TABELA 4.6 - Dados de RMN ^{13}C (δ , ppm) (100 MHz, CDCl_3) da α -amirina (**V**) e β -amirina (**VI**) isoladas e da literatura.

C	V (exp.)	V (lit.)	VI (exp.)	VI (lit.)
1	38,8	38,7	38,6	38,7
2	27,3	27,2	27,2	27,3
3	79,0	78,3	79,0	79,0
4	38,8	38,7	38,8	38,8
5	55,2	55,2	55,2	55,3
6	18,3	18,3	18,4	18,5
7	32,9	32,9	32,7	32,8
8	40,0	40,0	39,6	38,8
9	47,7	47,7	47,6	47,7
10	36,9	36,9	37,0	37,6
11	23,5	23,3	23,7	23,6
12	124,4	124,3	121,7	121,8
13	139,6	139,3	145,2	145,1
14	42,1	42,0	41,7	41,8
15	26,6	26,6	26,1	26,2
16	28,7	28,7	26,9	27,0
17	32,9	33,7	32,5	32,5
18	59,0	58,9	47,2	47,4
19	39,6	39,6	46,8	46,9
20	39,6	39,6	31,1	31,1
21	31,2	31,2	34,7	34,8
22	41,5	41,5	37,1	37,2
23	28,1	28,1	28,1	28,2
24	15,6	15,6	15,5	15,5
25	15,7	15,6	15,6	15,6
26	16,8	16,8	16,8	16,9
27	23,3	23,3	26,0	26,0
28	28,4	28,1	28,4	28,4
29	17,5	17,4	33,3	33,3
30	21,4	21,3	23,4	23,7

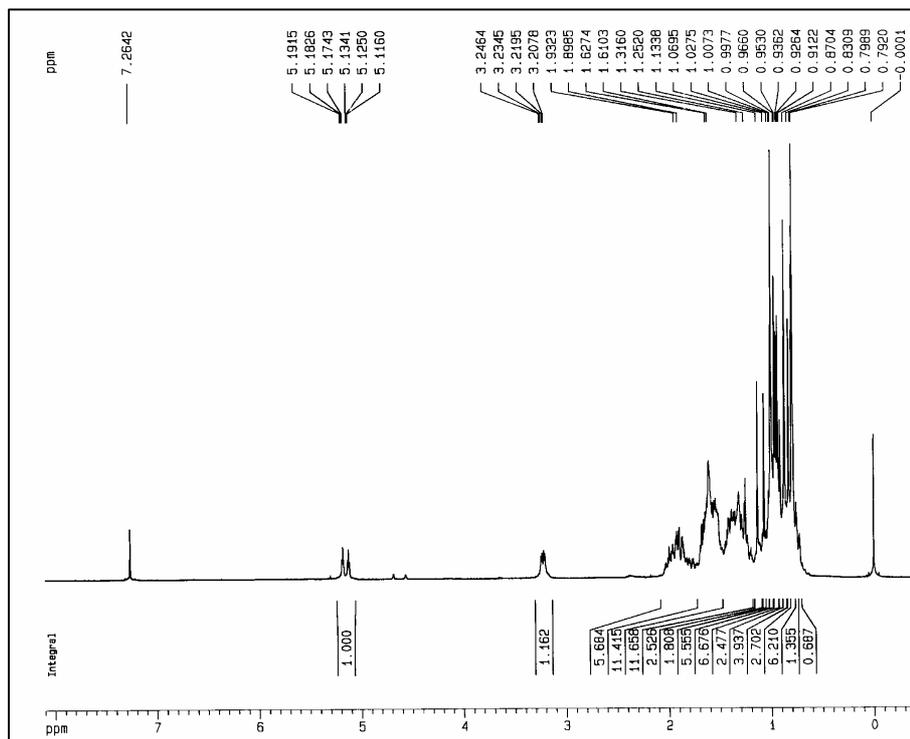


FIGURA 4.10 - Espectro de RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) dos triterpenos **V** e **VI**.

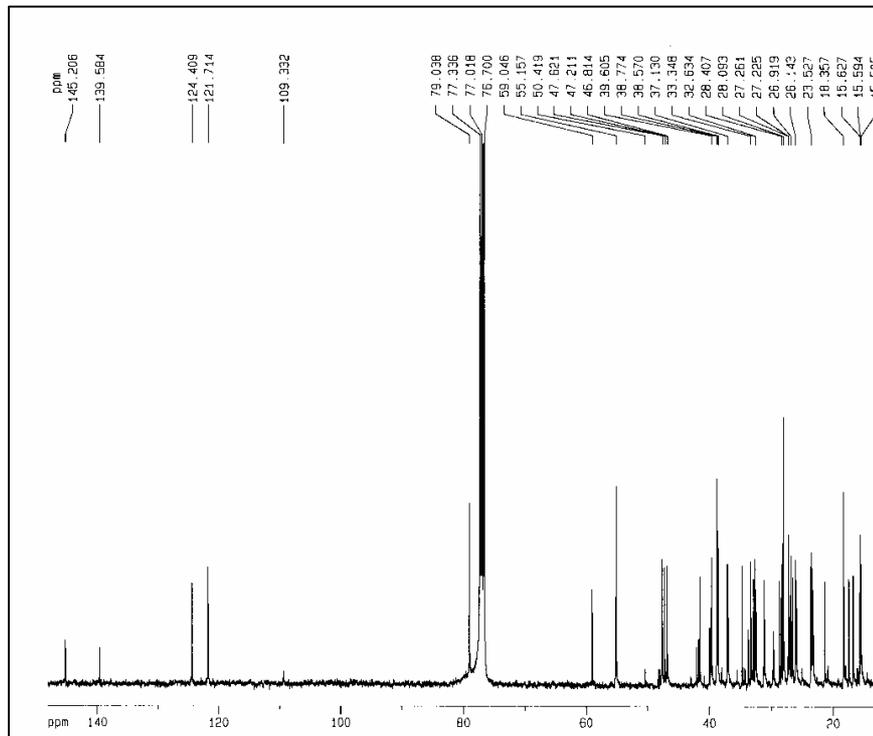
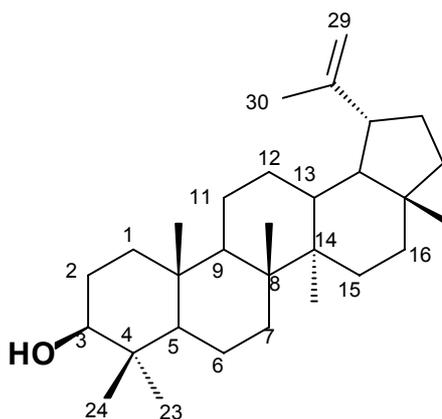


FIGURA 4.11 - Espectro de RMN¹³C (100 MHz, CDCl₃) dos triterpenos **V** e **VI**.

4.4.2 - Identificação da substância VII.

A substância **VII** foi isolada como um sólido branco. A identificação foi realizada através dos experimentos de RMN ^1H , ^{13}C e EM. No espectro de RMN ^1H (FIGURA 4.12), foi observada a presença de seis singletos referentes a hidrogênios metílicos em δ 0,75; δ 0,78; δ 0,82; δ 0,94; δ 0,96 e δ 1,02. Além de um outro singleto em δ 1,67 característico de hidrogênios de metila ligada a um carbono insaturado. Neste espectro foi observado ainda um dubleto em δ 4,69 (*d*, $J = 2,1$ Hz) e um duplo dubleto em δ 4,56 (*dd*, $J = 2,4; 1,3$ Hz). As presenças destes sinais sugeriram que a substância **VII** era de um triterpeno com esqueleto lupânico. A presença de um duplo dubleto em δ 3,20 (*dd*, $J = 10,0; 5,2$ Hz) sugeriu a presença de um grupo hidroxila em C-3. A constante de acoplamento para este sinal sugeriu a configuração β para o grupo hidroxila.



VII

A análise do espectro de RMN ^{13}C (FIGURA 4.13) indicou a presença de 30 átomos de carbonos sendo um sinal referente a um carbono carbinólico em δ 78,9 e dois sinais referentes a carbonos olefínicos em δ 150,9 e δ 109,3. Os valores de RMN ^{13}C são mostrados na TABELA 4.7 (REYNOLDS et al., 1986).

O espectro de massas (FIGURA 4.14) obtido para a substância **VII** apresentou o pico do íon molecular m/z 426 Daltons, estando de acordo com a fórmula molecular $\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$. Após a análise destes dados pode-se determinar a substância **VII** como sendo o triterpeno lupeol. Os dados encontrados na literatura confirmaram a estrutura proposta.

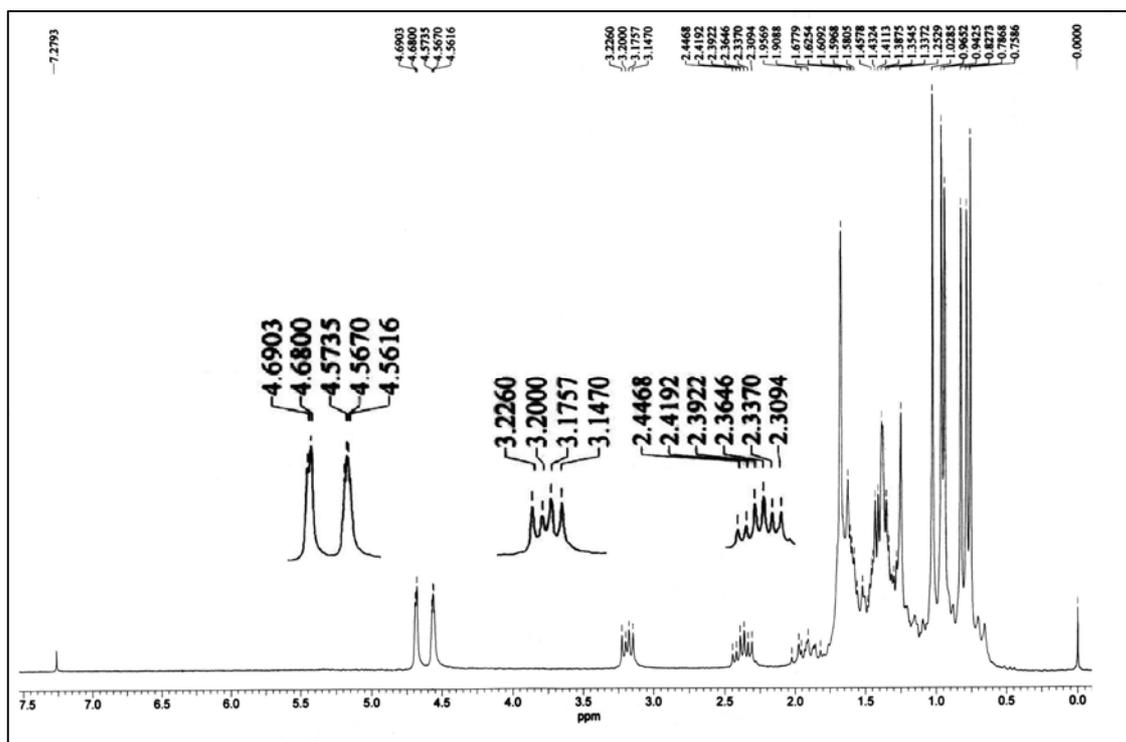


FIGURA 4.12 – Espectro de RMN¹H (200 MHz, CDCl₃) do triterpene **VII**.

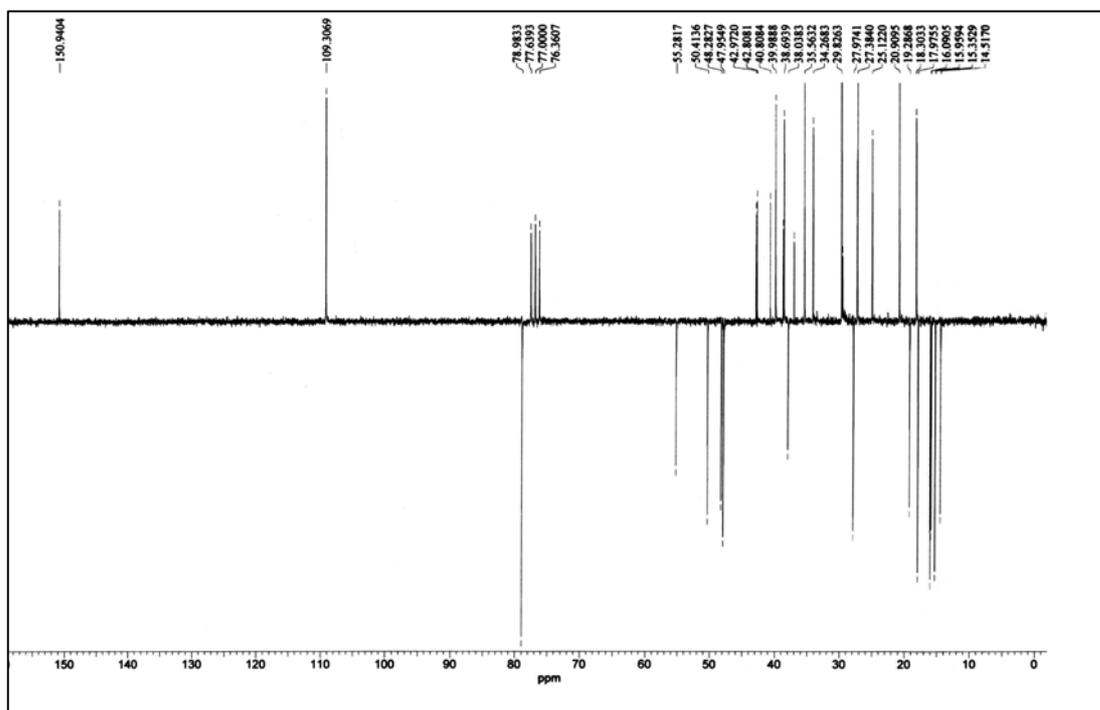


FIGURA 4.13 – Espectro de RMN¹³C (DEPT) (50 MHz, CDCl₃) do triterpene **VII**.

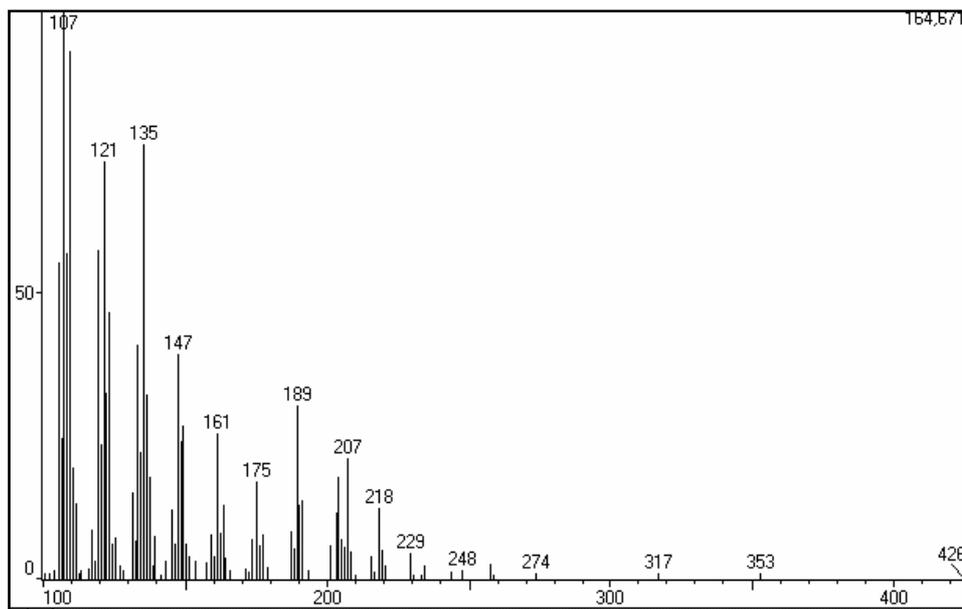


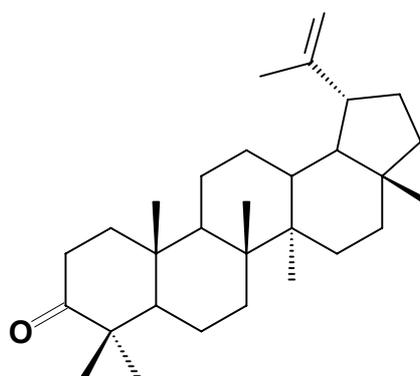
FIGURA 4.14 – Espectro de massas do triterpeno **VII** (IE-70 éV).

TABELA 4.7 – Dados de RMN¹³C (δ , ppm) para a substância (VII) (CDCl₃, 200 MHz) comparados com literatura (REYNOLDS et al.; 1986) (CDCl₃, 400 MHz).

C	VII (exp.)	VII (lit.)
1	38,6	38,7
2	27,3	27,4
3	78,9	78,9
4	38,8	38,8
5	55,2	55,2
6	18,3	18,3
7	34,2	34,2
8	40,8	40,8
9	50,4	50,4
10	37,1	37,1
11	20,1	20,1
12	25,1	25,1
13	38,0	38,0
14	42,8	42,8
15	27,4	27,4
16	35,5	35,5
17	42,9	42,9
18	48,2	48,2
19	47,9	47,9
20	150,9	150,9
21	29,8	29,8
22	39,9	40,0
23	27,9	27,9
24	15,3	15,4
25	16,0	16,1
26	15,9	15,9
27	14,5	14,5
28	17,9	18,0
29	109,3	109,3
30	19,2	19,3

4.4.3 - Identificação da substância VIII

A substância **VIII** foi isolada como um sólido branco e identificada através dos experimentos de RMN¹H e ¹³C. No espectro de RMN¹H (FIGURA 4.15), foram observados seis singletos referente a hidrogênios metílicos em δ 0,79; δ 0,93; δ 0,95; δ 1,03; δ 1,06 e δ 1,07. Também foi observado um singletto em δ 1,68 característico de hidrogênios de metila ligada a um carbono insaturado. Ainda neste espectro foram observados um dubleto em δ 4,69 (*d*, *J* = 2,3 Hz) e um duplo dubleto em δ 4,57 (*dd*, *J* = 2,4, 1,3 Hz). Os dados apresentados sugeriram que a substância **VIII** tratava-se de um triterpeno com esqueleto lupânico, no entanto no espectro de RMN¹H (FIGURA 4.15) não foi observado o sinal relativo a um hidrogênio carbinólico H-3 em δ 3,20, sugerindo que C-3 era um carbono carbonílico e que, portanto, o triterpeno **VIII** era a lupenona. Isto foi confirmado através do espectro de RMN¹³C (FIGURA 4.16), onde a presença de um sinal em δ 218,3 confirma a existência de carbono carbonílico (AMBROZIN, 2004).



VIII

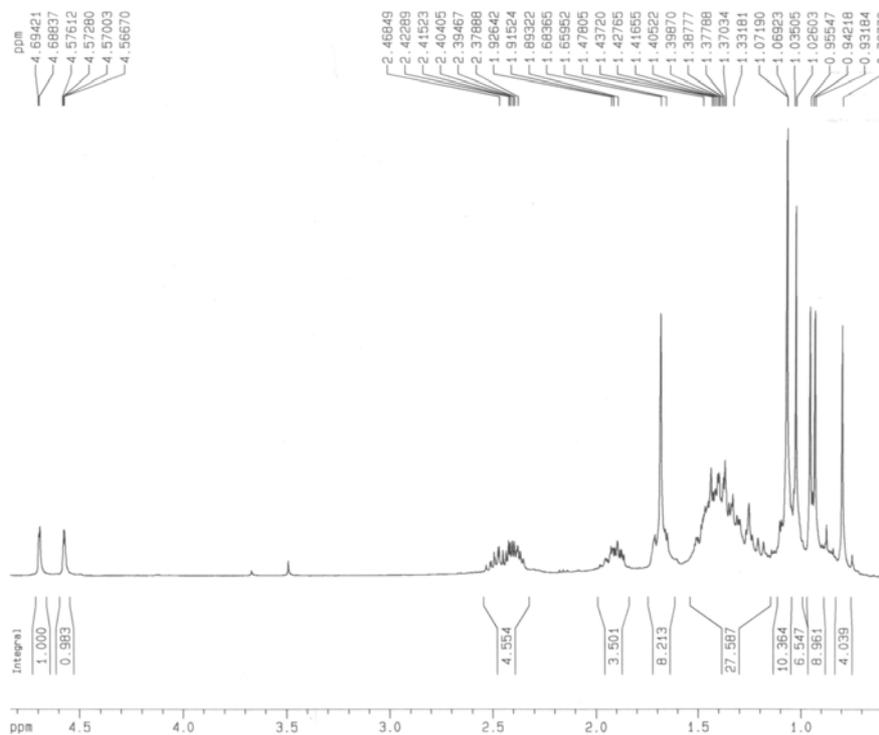


FIGURA 4.15 – Espectro de RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) do triterpene **VII**.

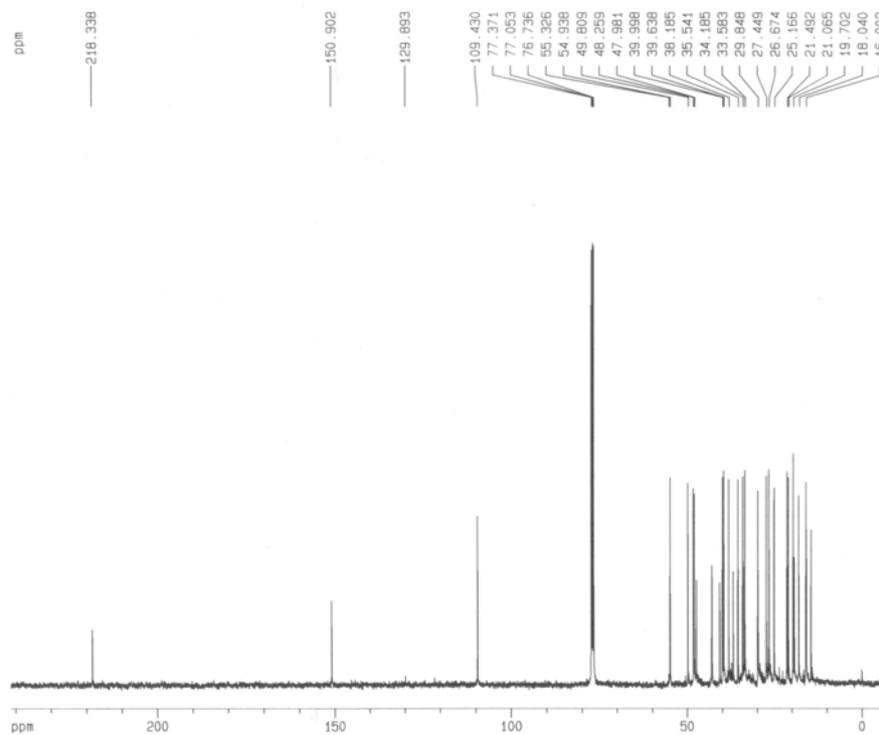
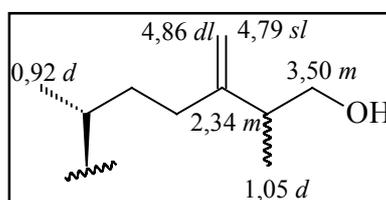


FIGURA 4.16 – Espectro de RMN¹³C (100 MHz, CDCl₃) do triterpene **VIII**.

4.4.4 – Identificação da substância IX

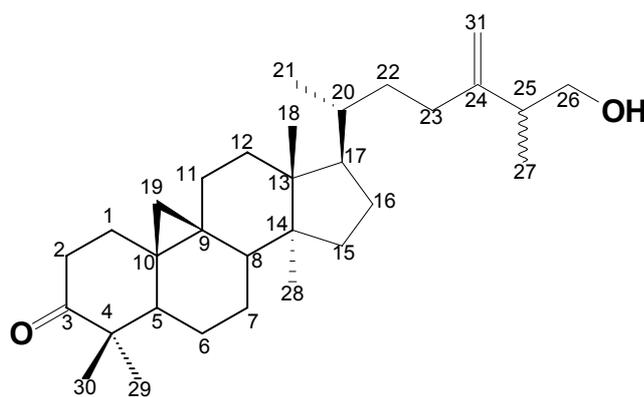
O espectro de RMN¹H de IX (FIGURAS 4.17, 4.18 e 4.19) apresentou um sistema de acoplamento de spins AB (*d*, δ 0,57 e 0,78, $J = 4,2$ Hz) referentes aos hidrogênios H-19 do anel ciclo propano. Estes sinais e a presença do sinal em δ 216,7 no espectro de RMN¹³C (FIGURA 4.20) indicaram a estrutura de um cicloartano com uma carbonila em C-3. Esta proposta foi reforçada pela presença de sinais típicos de hidrogênios α carbonílicos no espectro de RMN¹H: δ 2,30 (*ddd*, $J = 14,0$; 4,2 e 2,6 Hz, H-2 α) e 2,68 (*td*, $J = 13,8$ e 6,4 Hz, H-2 β).

O espectro de RMN¹³C (FIGURA 4.20) apresentou 31 sinais de carbono, indicando a presença de um carbono extra para um esqueleto triterpênico. Neste espectro, foram observados dois sinais típicos de um grupo metilênico terminal em δ 152,0 (C-24) e 109,6 (C-31). A presença deste grupo foi confirmada pelos sinais no espectro de RMN¹H em δ 4,79 (*sl*) e 4,86 (*dl*, $J = 1,3$ Hz), que apresentaram correlação no mapa de correlações HSQC (FIGURA 4.21) com o sinal em δ 109,6. Além disso, no espectro de RMN¹³C (FIGURA 4.20) foi observado um sinal de carbono carbinólico em δ 65,9 (C-26), que mostrou correlação no mapa de correlações HSQC (FIGURA 4.21) com o multipletto em δ 3,50 (H-26, 2H). Estes dados sugerem a presença de uma cadeia lateral com um grupo metilênico terminal e uma hidroxila, conforme descrito a seguir:



A posição do grupo metilênico terminal em C-24/C-31 foi definida através do espectro de COSY ¹H-¹H 45° (FIGURA 4.22), onde foi evidenciado o acoplamento dos hidrogênios carbinólicos (H-26) com o hidrogênio

alílico H-25 (*m*, δ 2,34), que por sua vez acopla com os hidrogênios da Me-27 (*d*, J = 6,9 Hz). A proposta da cadeia lateral e as demais atribuições realizadas para o triterpeno 24-metileno-26-hidroxicicloartan-3-ona **IX** foram confirmadas através da comparação com os dados da literatura (LEITE 2005; PUPO et al., 1996) (TABELAS 4.8 e 4.9).

**IX**

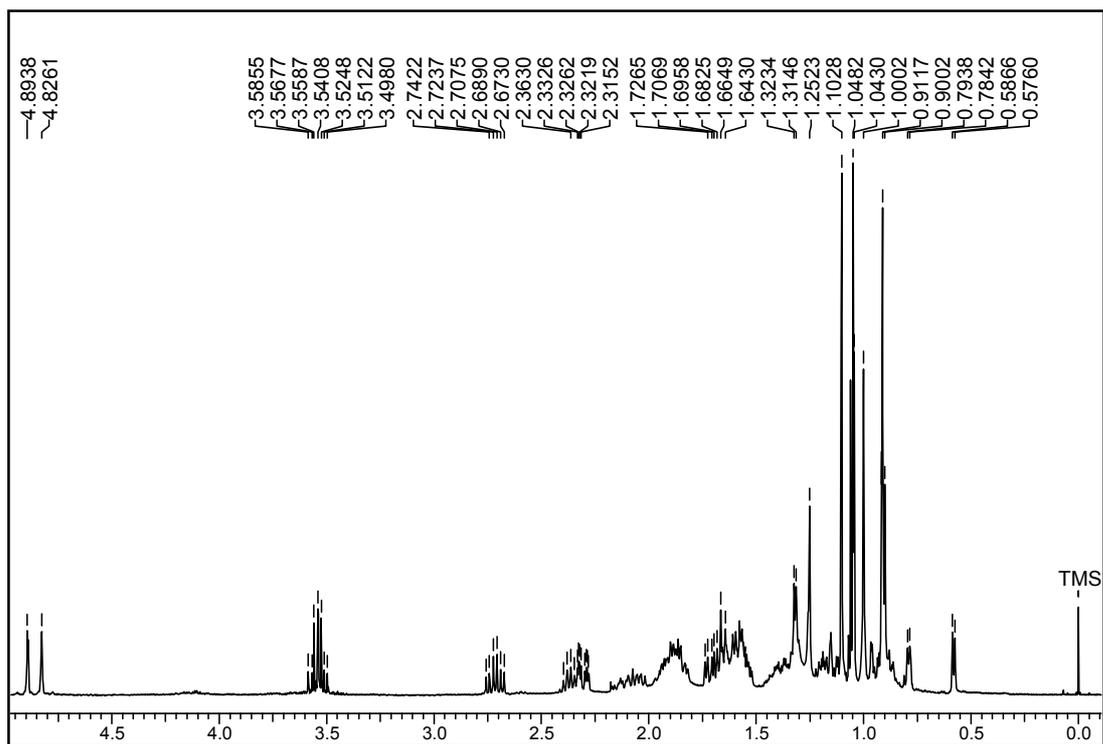


FIGURA 4.17 - Espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) do triterpene IX.

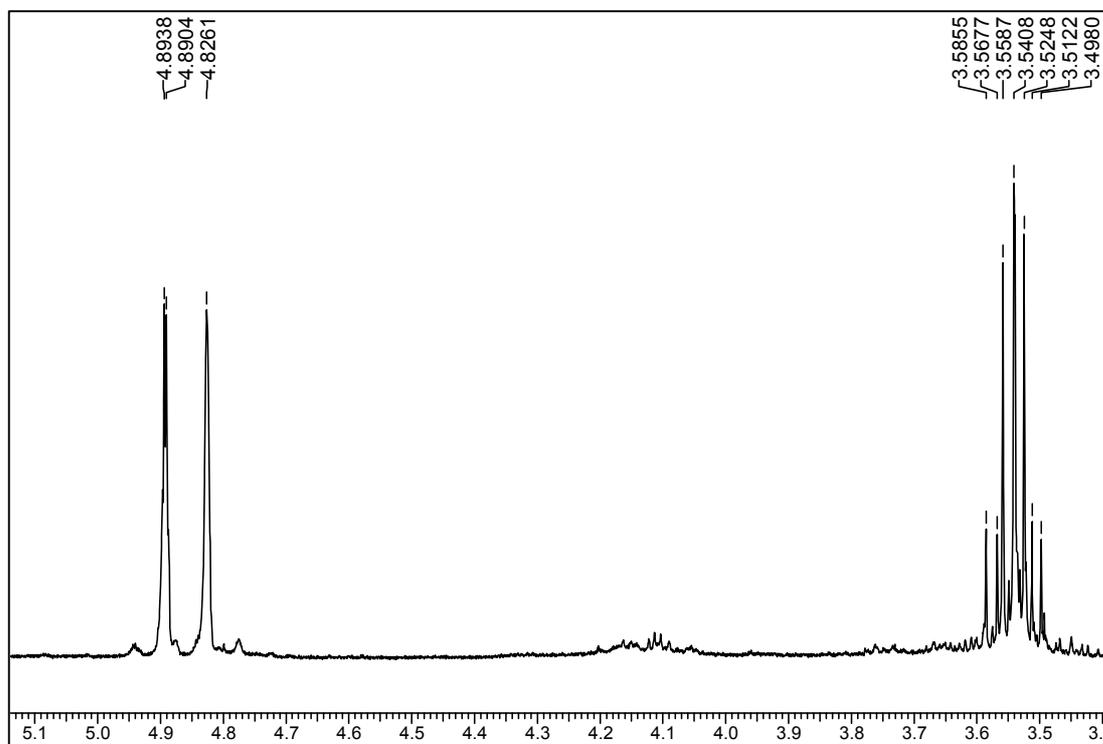


FIGURA 4.18 – Ampliação do espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) do triterpene IX.

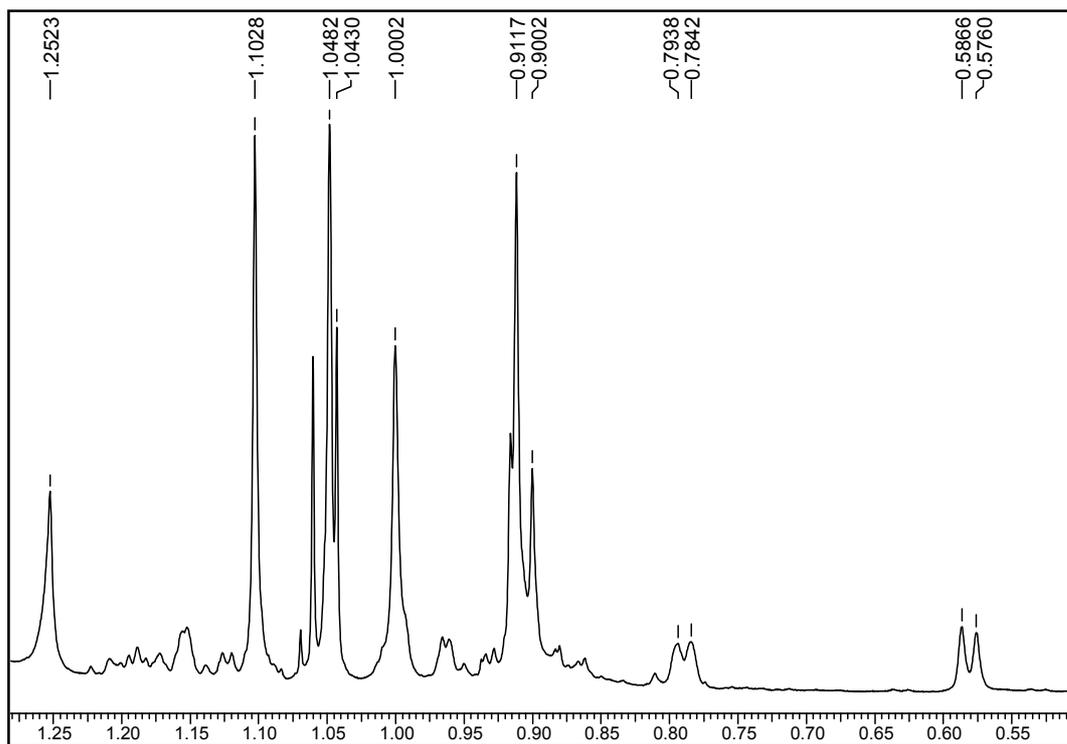


FIGURA 4.19 – Ampliação do espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) do triterpeno IX.

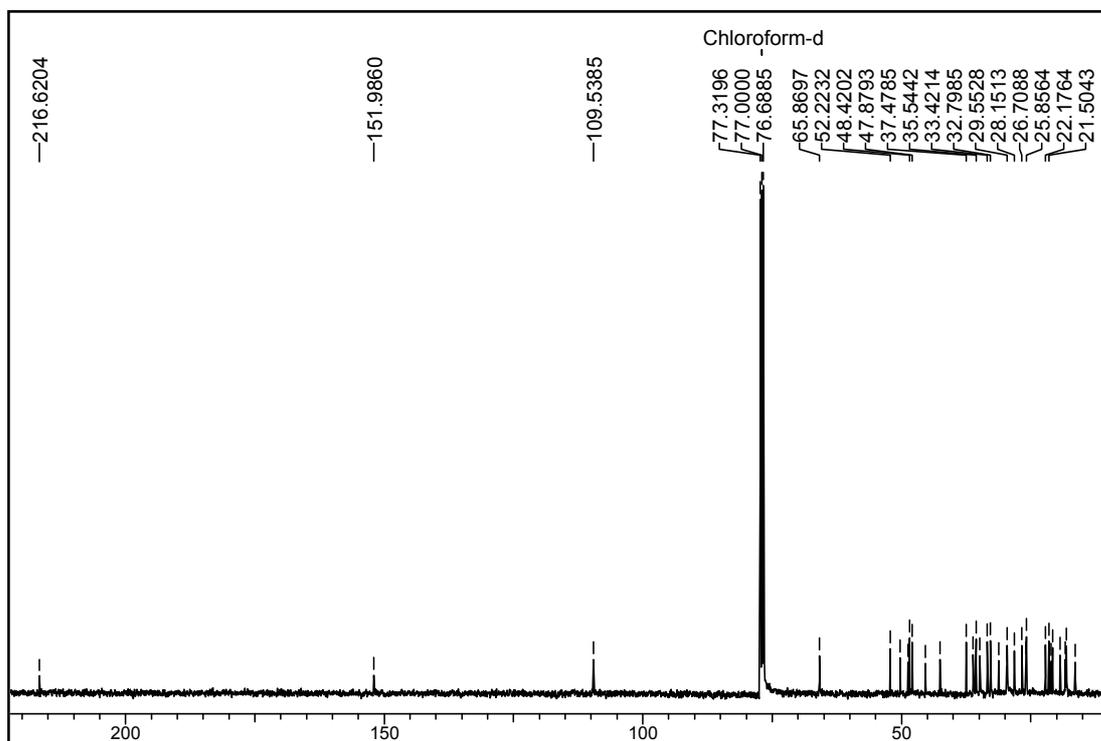


FIGURA 4.20 – Espectro de RMN ^{13}C (100MHz, CDCl_3) do triterpeno IX.

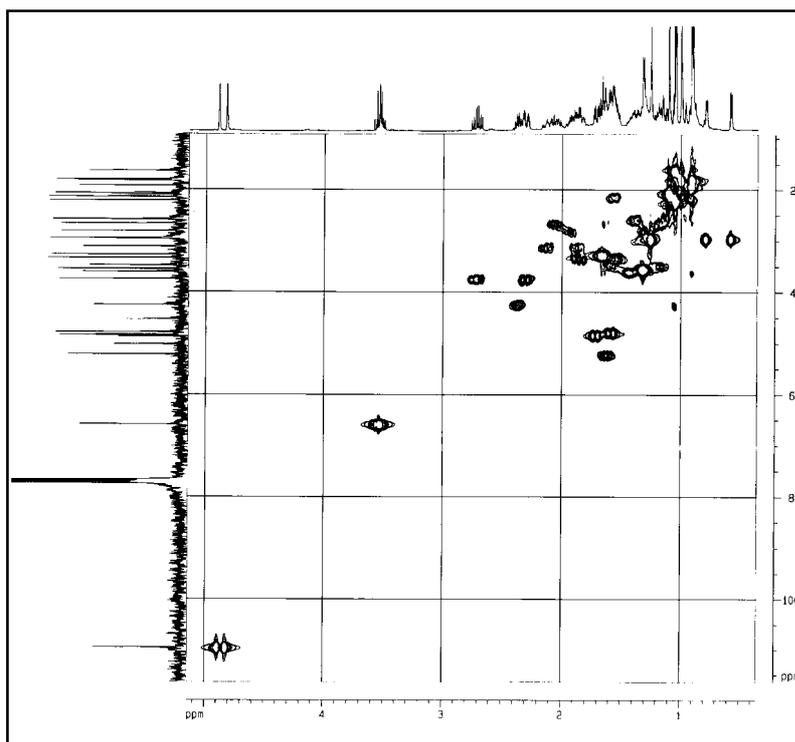


FIGURA 4.21 – Mapa de correlações HSQC (400 MHz, CDCl₃) do triterpeno IX.

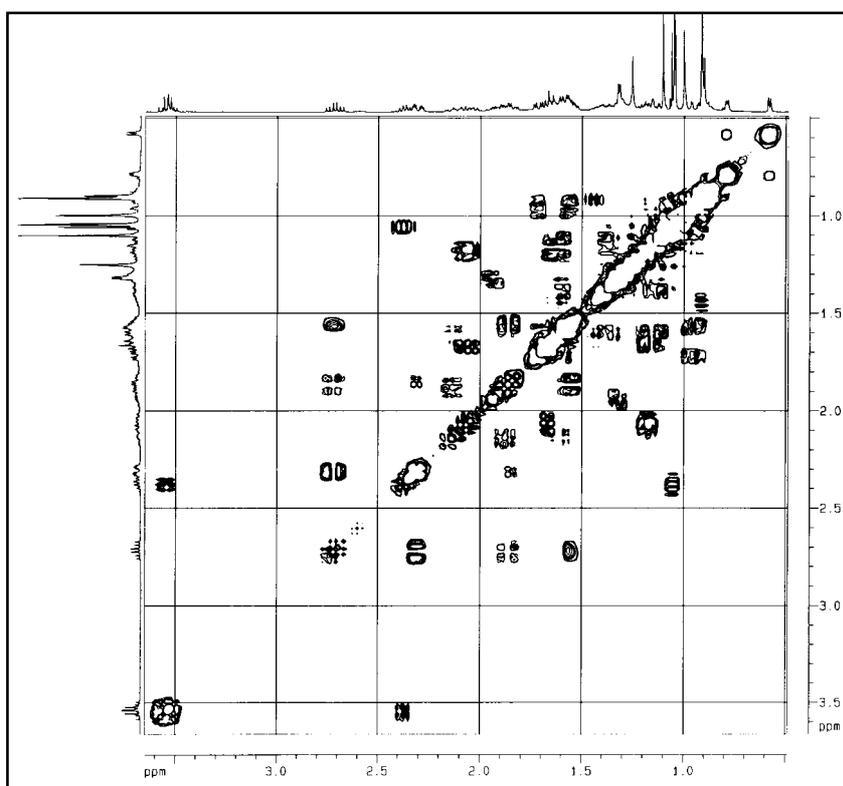


FIGURA 4.22 - Espectro de COSY ¹H-¹H 45° (400 MHz, CDCl₃) do triterpeno IX.

TABELA 4.8 – Dados de RMN¹H (CDCl₃, 400 MHz) do triterpeno (IX) em comparação com a literatura (PUPO et al., 1996).

H	IX (exp.)	IX (lit.)
1	1,55; 1,85 <i>m</i>	1,55; 1,85 <i>m</i>
2 α	2,30 <i>ddd</i> (14,0; 4,2; 2,6)	2,29 <i>ddd</i> (13,6; 4,4; 2,8)
242 β	2,68 <i>td</i> (13,6; 6,4)	2,68 <i>td</i> (13,6; 6,4)
18	1,0 <i>s</i>	0,97 <i>s</i>
19	0,78 <i>d</i> (4,3)	0,76 <i>d</i> (4,4)
19	0,57 <i>d</i> (4,3)	0,55 <i>d</i> (4,4)
20	1,39 <i>m</i>	1,39 <i>m</i>
21	0,92 <i>d</i> (6,5)	0,89 <i>d</i> (6,0)
25	2,34 <i>m</i>	2,34 <i>sext</i> (6,8)
26	3,51 <i>m</i>	3,51 <i>dd</i> (10,8; 6,4)
26	3,49 <i>m</i>	3,49 <i>dd</i> (10,8; 7,2)
27	1,05 <i>d</i> (6,9)	1,02 <i>d</i> (6,8)
28	0,91 <i>s</i>	0,88 <i>s</i>
29	1,04 <i>s</i>	1,02 <i>s</i>
30	1,10 <i>s</i>	1,07 <i>s</i>
31	4,86 <i>dl</i> (1,3)	4,86 <i>dl</i>
31	4,79 <i>sl</i>	4,79 <i>sl</i>

Valores de *J* em Hz, entre parênteses.

TABELA 4.9 – Dados de RMN¹³C (CDCl₃, 100 MHz) do triterpeno (IX) em comparação com a literatura (PUPO et al., 1996).

C	IX (exp.)	IX (lit.)
1	33,4	33,4
2	37,5	37,5
3	216,7	216,8
4	50,2	50,2
5	48,7	48,7
6	21,5	21,5
7	28,2	28,2
8	47,9	47,9
9	21,0	21,0
10	25,9	25,8
11	26,0	25,9
12	35,5	35,5
13	45,3	45,3
14	48,4	48,4
15	32,8	32,8
16	26,7	26,7
17	52,2	52,5
18	18,1	18,1
19	29,6	29,5
20	36,1	36,1
21	18,3	18,3
22	31,2	31,2
23	34,8	34,8
24	152,0	152,0
25	42,5	42,5
26	65,9	65,8
27	16,4	16,4
28	19,3	19,3
29	22,2	22,2
30	20,8	20,8
31	109,6	109,5

4.5 – Identificação dos Esteróides

4.5.1 – Identificação da substância X

O espectro de RMN¹H (FIGURAS 4.23 e 4.24) da substância X apresentou sinais de esteróide do tipo colestano caracterizadas pela presença de cinco metilas na região blindada do espectro, sendo um singleto em δ 0,72 (3H, s), três como dubletos em δ 0,95 (3H, $J = 6,7$ Hz), δ 1,04 (3H, $J = 6,8$ Hz) e δ 1,07 (3H, $J = 6,8$ Hz) e um singleto em δ 1,19 (3H, s). Outros sinais observados foram um duplo tripleto em δ 3,51 (1H, dt , $J = 3,0; 12,0$ Hz), um duplo duplo dubleto em δ 3,72 (1H, ddd , $J = 2,0; 4,0$ e $12,0$ Hz) e um dubleto em δ 4,08 (1H, d , $J = 3,0$ Hz). Outros dois singletos também foram observados, um em δ 4,83 (1H, s) e o outro em δ 4,92 (1H, s) e um dubleto largo em δ 5,66 (1H, dd , $J = 2,0$ e $4,0$ Hz).

No espectro de RMN¹³C (FIGURAS 4.25 e 4.26) da substância X foram observados 28 sinais, sendo um em δ 110,0 referente ao grupo metileno terminal, os sinais em δ 128,9 e 153,9 da dupla endocíclica e um sinal em δ 143,2. A multiplicidade dos carbonos pode ser determinada por DEPT como cinco sinais de carbonos metilênicos, nove metílicos e dez metínicos.

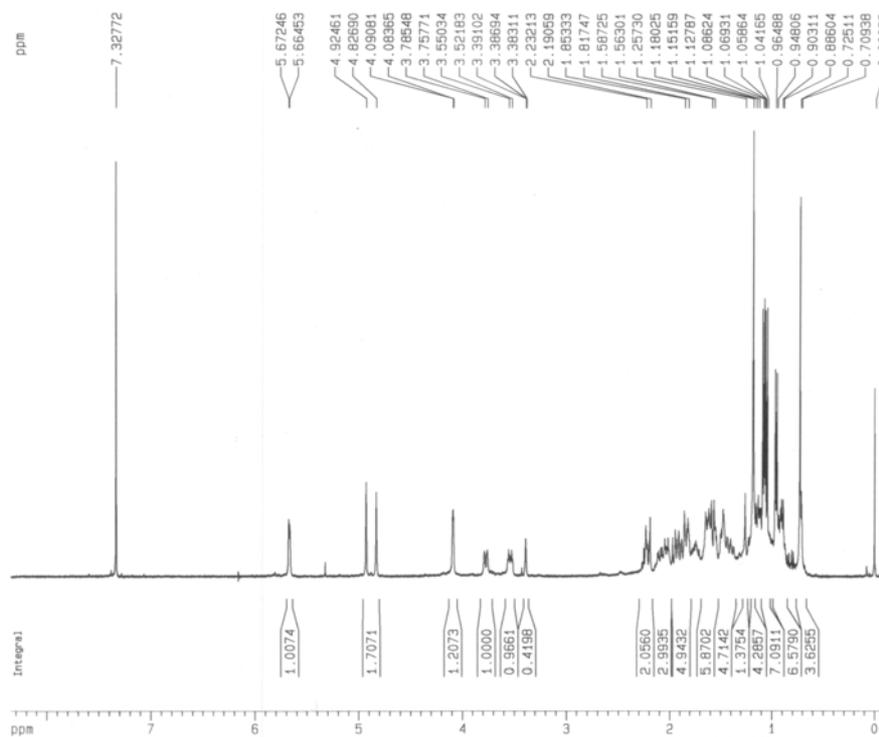


FIGURA 4.23 - Espectro de RMN¹H (400MHz, CDCl₃) do esteróide X.

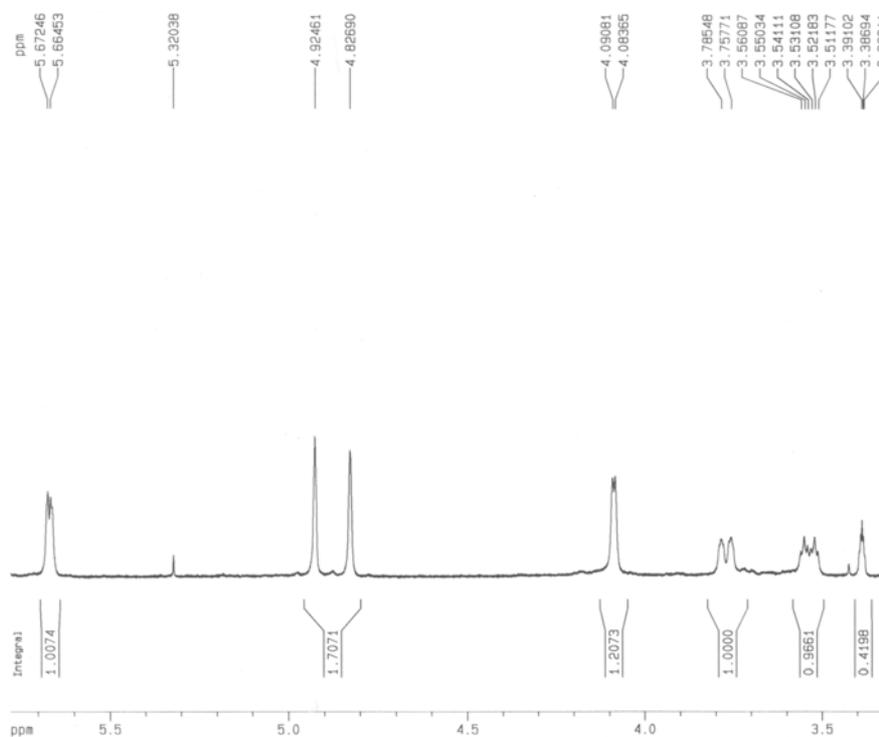


FIGURA 4.24 – Ampliação do espectro de RMN¹H (400MHz, CDCl₃) do esteróide X.

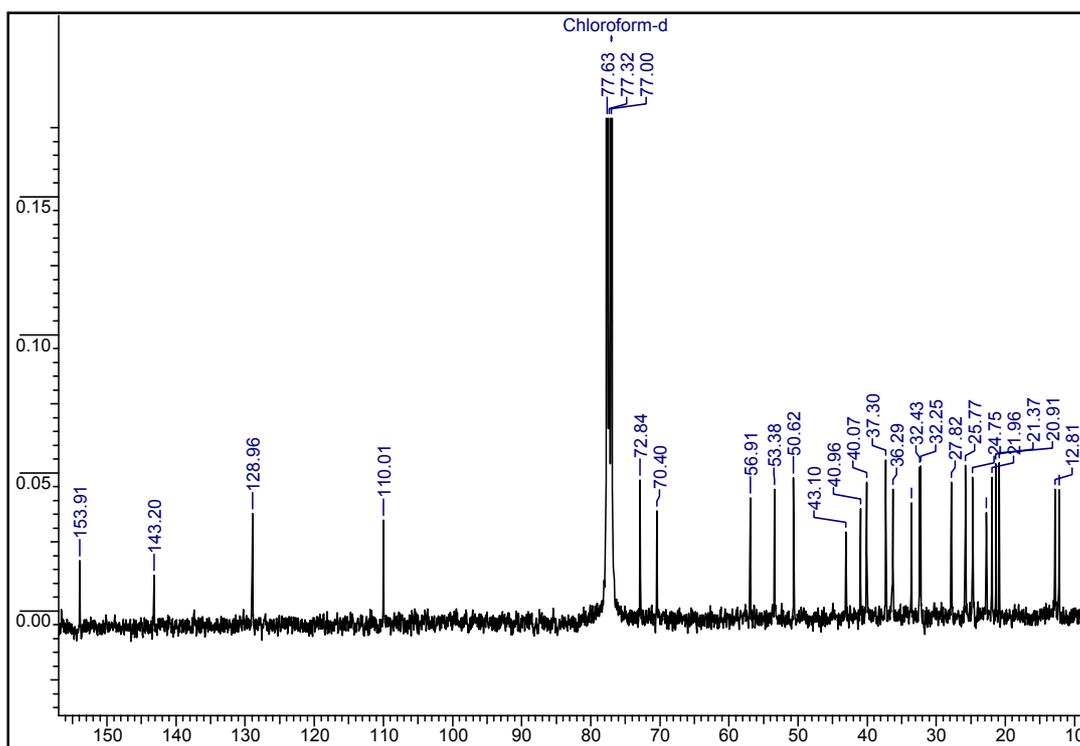


FIGURA 4.25 - Espectro de RMN¹³C (100 MHz, CDCl₃) do esteróide X.

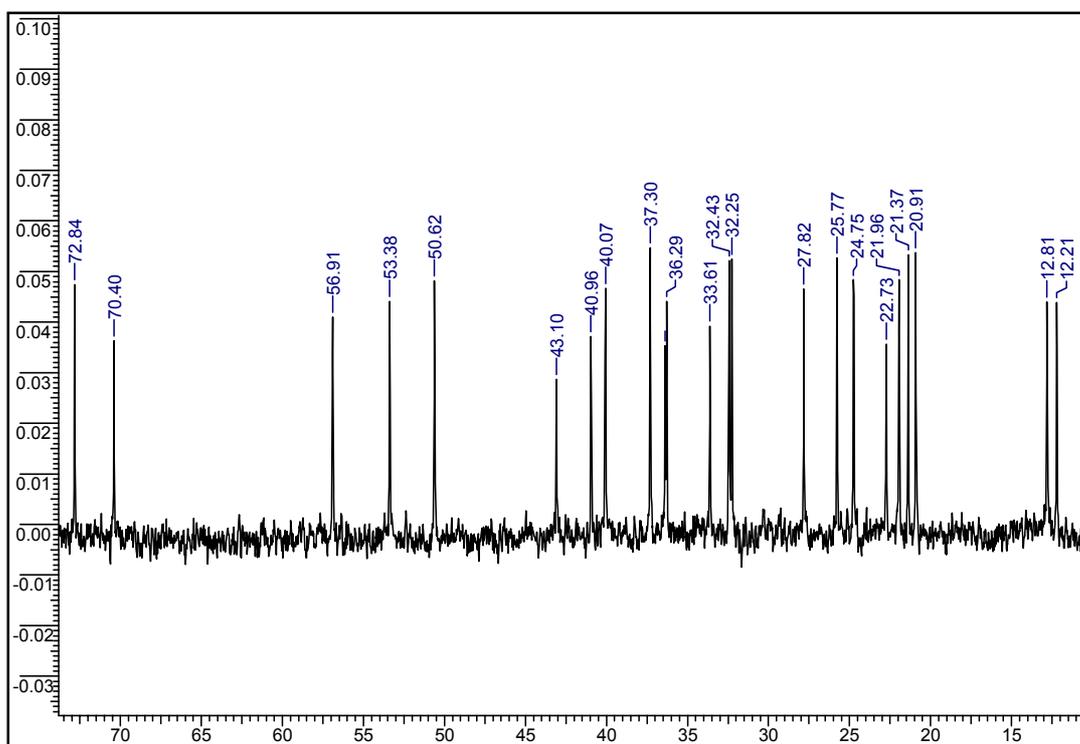


FIGURA 4.26 – Ampliação do espectro de RMN¹³C (100 MHz, CDCl₃) do esteróide X.

Através do espectro de HSQC (FIGURA 4.27) foi possível observar a correlação do sinal em δ 4,08 e o carbono em δ 77,5; o sinal em δ 3,72 correlaciona-se com o sinal do carbono em δ 70,4 e o sinal em δ 3,51 correlaciona-se com o sinal do carbono em δ 72,8 (FIGURA 4.28). Deste modo, foram atribuídos os valores de deslocamentos químicos para os hidrogênios e carbonos carbinólicos.

A atribuição da Me-19 foi possível ao se observar o sinal em δ 1,19 correlacionando com o sinal do carbono em δ 21,02 (FIGURAS 4.28) no espectro de HSQC (FIGURA 4.29). No entanto, somente através do espectro de HSQC (FIGURA 4.29) não é possível distinguir entre as metilas 18 e 21 já que os seus sinais de carbono estão muito próximos e entre as metilas 26 e 27. Através do espectro de HMBC (FIGURA 4.30) foi possível observar que o sinal dos hidrogênios da Me-21 em δ 0,94 correlaciona-se com o sinal do C-22 em δ 70,4 a três ligações. Deste modo, também através do espectro de HMBC (FIGURA 4.30) foi possível atribuir o sinal dos hidrogênios da Me-18 em δ 0,72 já que este sinal se correlaciona com o sinal do C-17 em 53,4 a três ligações.

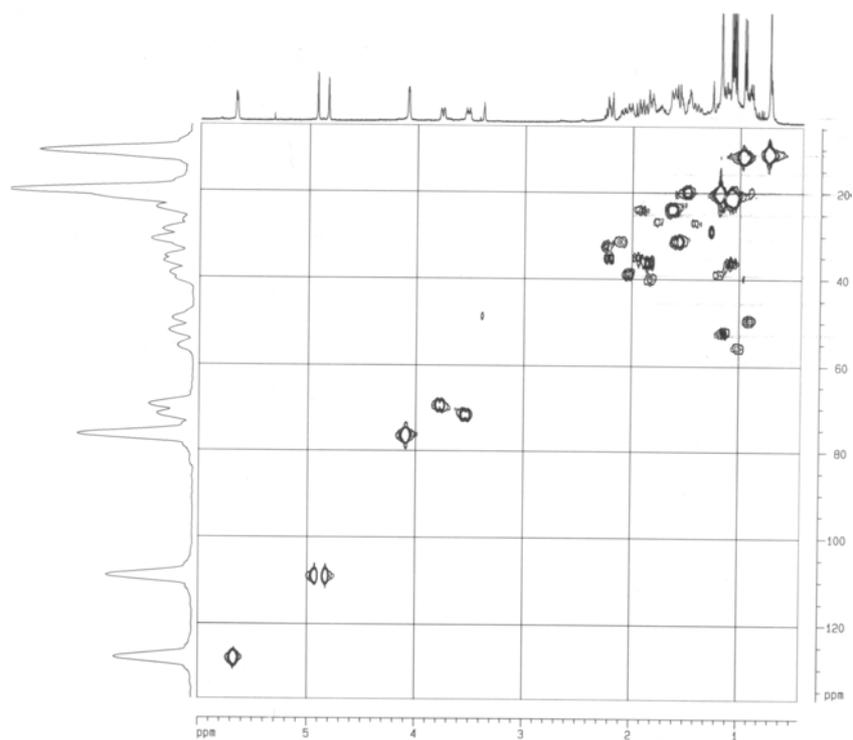


FIGURA 4.27 – Mapa de contorno de HSQC (400 MHz, CDCl_3) do esteróide **X**.

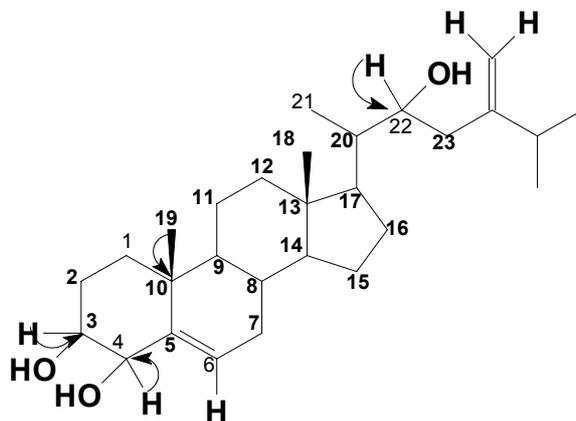


FIGURA 4.28 – Estrutura do esteróide **X** e correlações observadas no HSQC.

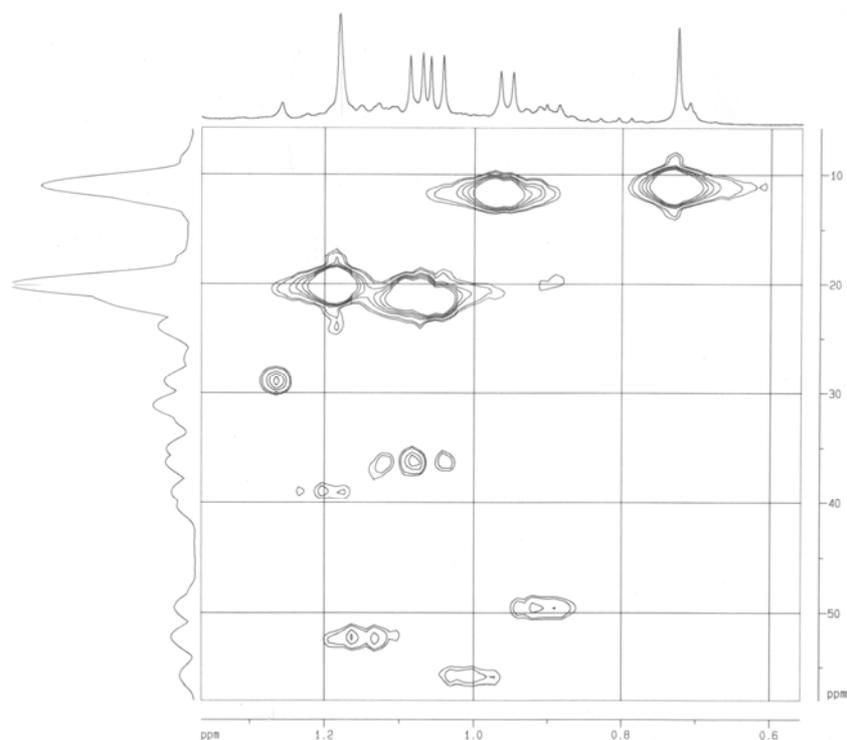


FIGURA 4.29 – Ampliação do mapa de contorno de HSQC (400 MHz, CDCl_3) do esteróide **X**.

Através do experimento de HMBC (FIGURA 4.31) foram observadas as correlações do sinal do hidrogênio carbinólico H-4 (δ 4,01) com os carbonos C-2 (δ 25,8), C-3 (δ 72,8), C-6 (δ 128,9) e C-10 (δ 36,3) e a correlação a três ligações do sinal do hidrogênio olefínico H-6 (δ 5,66) com o sinal do C-4 (δ 77,2).

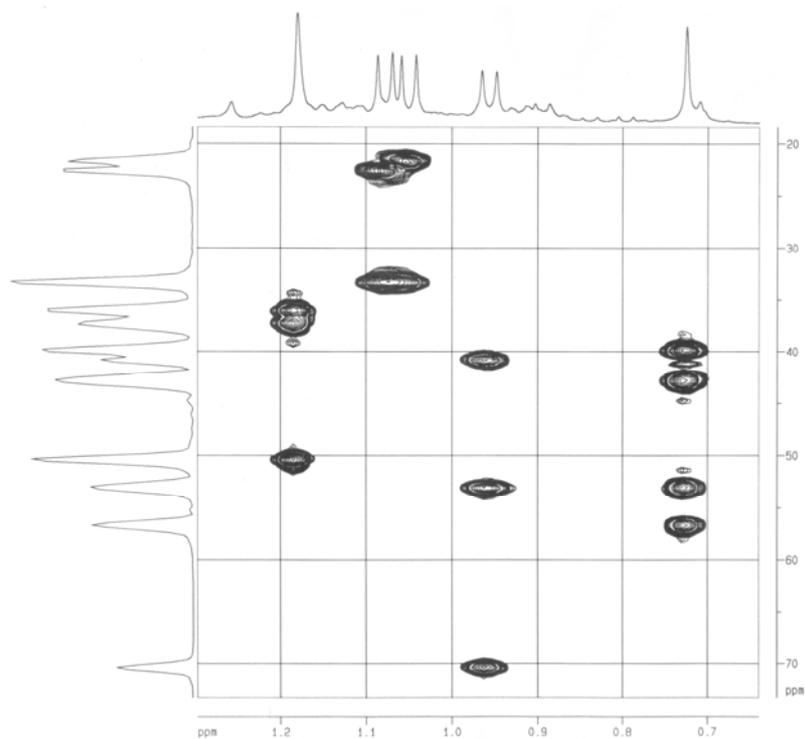


FIGURA 4.30 – Ampliação do mapa de contorno de HMBC (400 MHz, CDCl_3) do esteróide **X**.

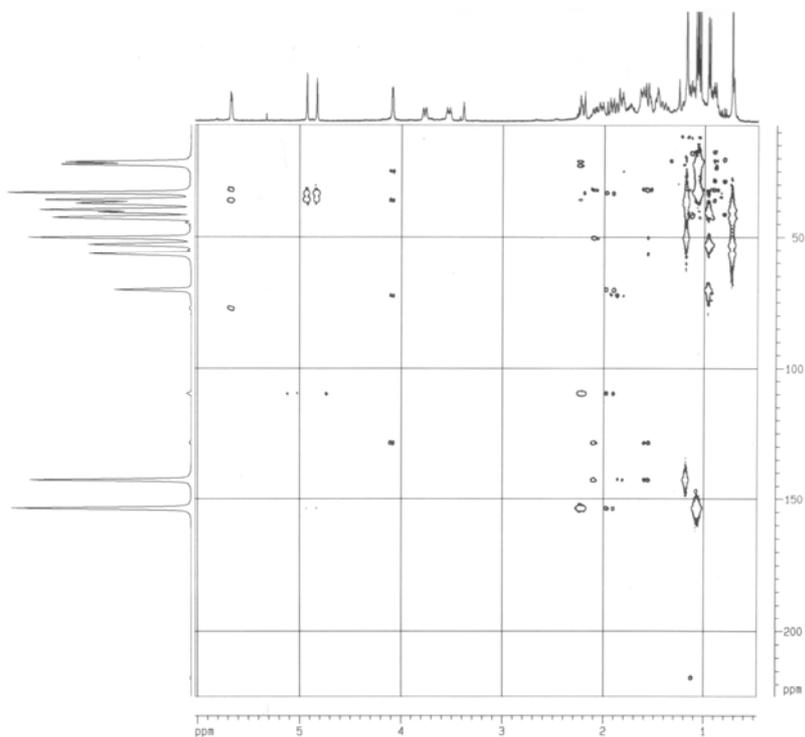


FIGURA 4.31 – Mapa de contorno de HMBC (400 MHz, CDCl_3) do esteróide **X**.

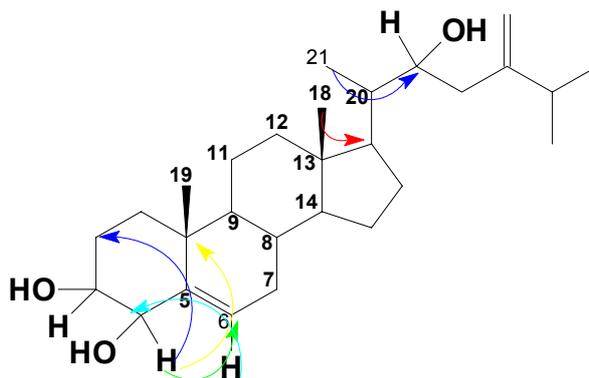


FIGURA 4.32 – Estrutura do esteróide **X** e correlações observadas no HMBC.

Os valores observados normalmente para constantes de acoplamento entre hidrogênios axial-axial em anel de seis membros estão entre 8 e 14 Hz, já para hidrogênios axial-equatorial e equatorial-equatorial são de 2 e 3 Hz (SILVERSTEIN, et al., 1994). Como H-3 está em axial e acopla com H-4 a uma constante de 4,0 Hz (COSY¹H-¹H 45° FIGURA 4.33), podemos atribuir à configuração β para o grupo hidroxila ligado ao carbono 4. Estes dados foram confirmados pelo *g*-NOE (1d) (FIGURA 4.34), ao se irradiar o sinal em δ 3,51 (H-3) foi observado incremento no sinal em δ 4,08 (H-4).

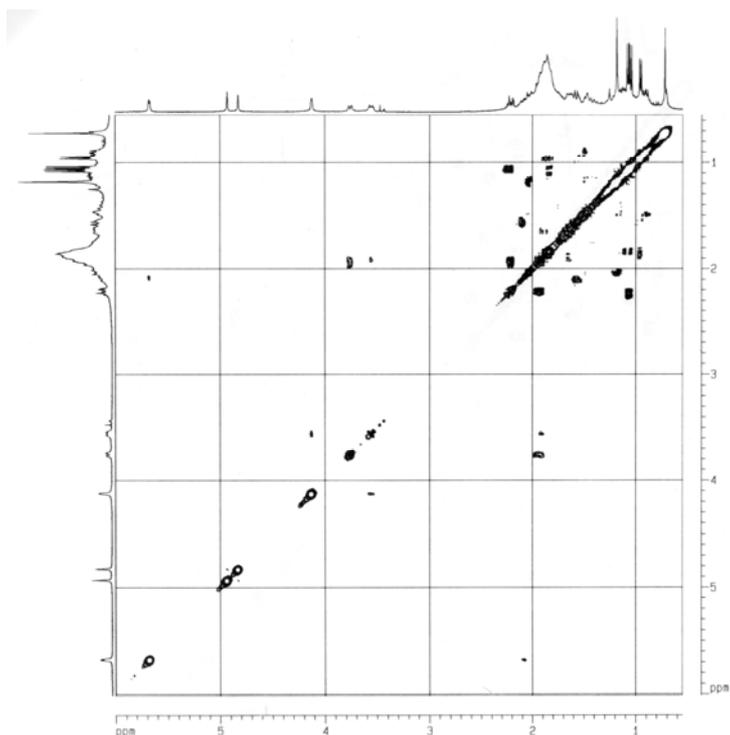


FIGURA 4.33 - Espectro de COSY ^1H - ^1H 45° (400 MHz, CDCl_3) do esteróide **X**.

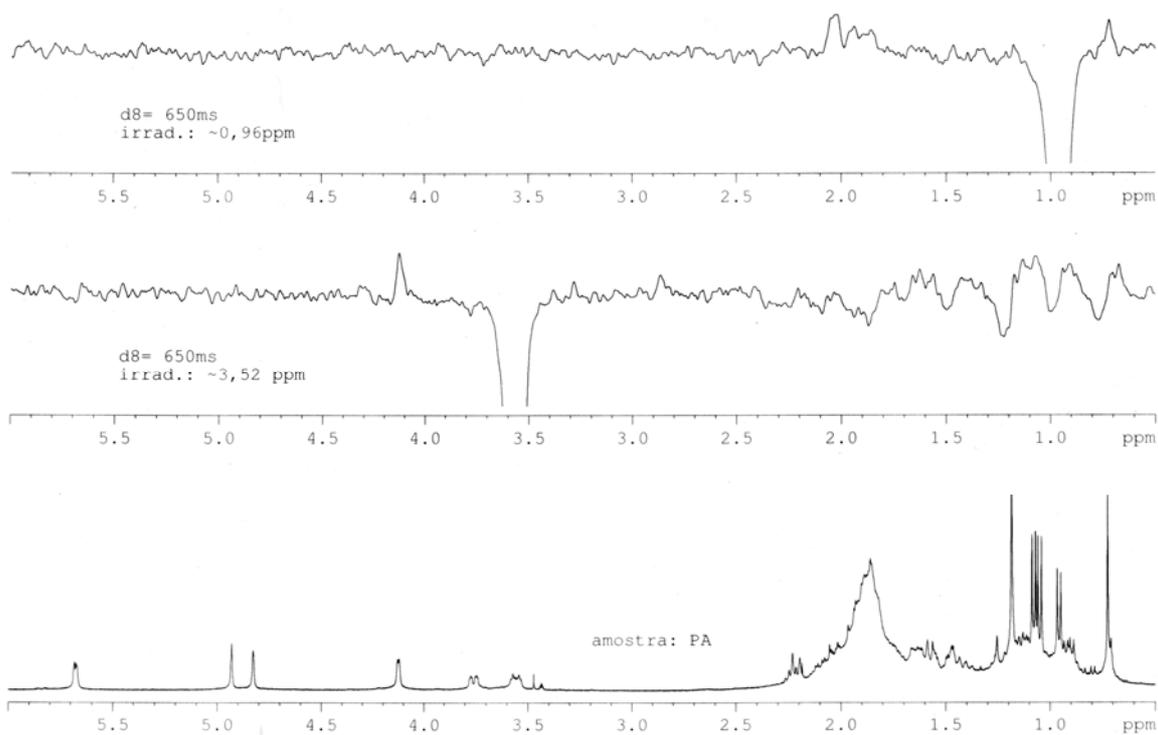


FIGURA 4.34 - Espectro de g-NOE (1d) (400 MHz, CDCl_3) do esteróide **X**.

Estes dados levaram a propor a estrutura para este esteróide como sendo 24-metileno-3 β ,4 β ,22-triidroxi-colesterol (**X**). Os dados de RMN¹H e RMN¹³C estão nas TABELAS 4.10 e 4.11.

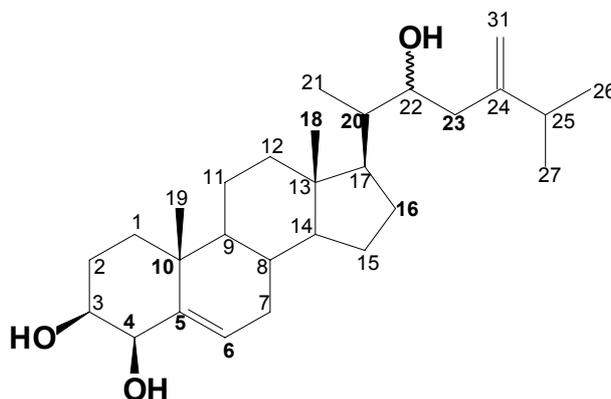
**X**

TABELA 4.10 - Dados de RMN¹H (CDCl₃, 400 MHz) do esteróide (**X**) em comparação com a literatura (ROCHA 2005).

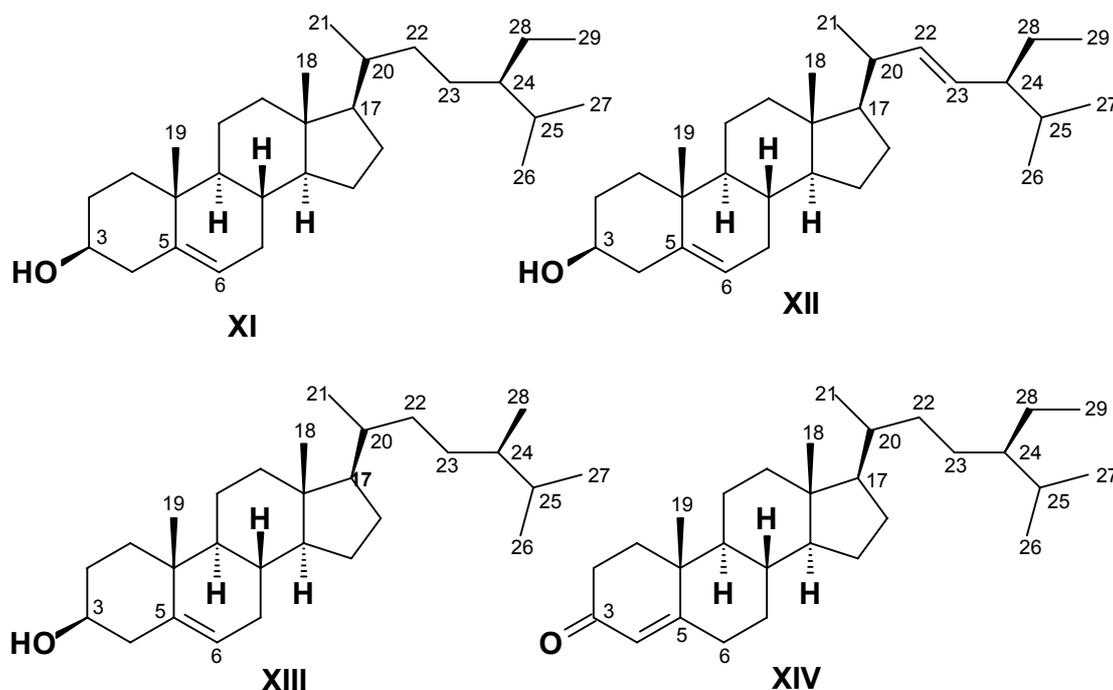
H	X (exp.)	X (lit.)
3	3,51 (1H, <i>dt</i> , <i>J</i> = 3,0; 12,0 Hz)	3,56 (1H, <i>dt</i> , <i>J</i> = 12,0 Hz)
4	4,08 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 3,0 Hz)	4,01 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 4,0 Hz)
6	5,66 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 2,0; 4,0 Hz)	5,68 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 2,0 e 4,0 Hz)
18	0,72 (3H, <i>s</i>)	0,72 (3H, <i>s</i>)
19	1,16 (3H, <i>s</i>)	1,18 (3H, <i>s</i>)
21	0,94 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8 Hz)	0,95 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8 Hz)
22	3,76 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 2,0; 4,0 e 12,0 Hz)	3,76 (1H, <i>ddd</i> , <i>J</i> = 2,0; 4,0 e 12,0 Hz)
26	1,04 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8 Hz)	1,04 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8 Hz)
27	1,07 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8 Hz)	1,08 (3H, <i>d</i> , <i>J</i> = 6,8 Hz)
31a	4,83 (1H, <i>s</i>)	4,82 (1H, <i>s</i>)
31b	4,92 (1H, <i>s</i>)	4,93 (1H, <i>s</i>)

TABELA 4.11 – Dados de RMN¹³C (CDCl₃, 100 MHz) do esteróide (**X**) em comparação com a literatura (ROCHA 2005).

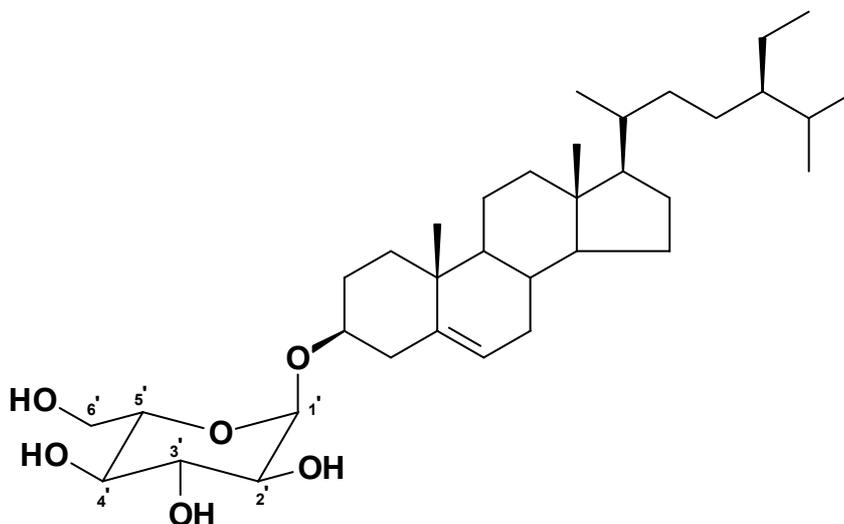
C	X (exp.)	X (lit.)
1	37,30	36,91
2	25,77	25,38
3	72,84	72,97
4	77,54	77,25
5	143,20	142,81
6	128,96	128,63
7	32,43	32,06
8	32,25	31,86
9	50,62	50,21
10	36,38	36,00
11	20,91	20,53
12	36,29	35,91
13	43,10	42,72
14	56,91	56,52
15	24,75	24,39
16	27,82	27,44
17	53,38	52,97
18	12,21	11,86
19	21,37	21,02
20	40,96	40,52
21	12,81	12,46
22	70,40	69,97
23	40,07	39,67
24	153,91	153,35
25	33,61	33,16
26	22,73	22,59
27	21,96	22,40
31	110,01	109,75

4.5.2 – Identificação das substâncias XI, XII, XIII e XIV.

Os fitoesteróides β -sitosterol **XI**, estigmasterol **XII**, campesterol **XIII** e sitostenona **XIV** foram isolados em mistura, sendo **XI** o composto majoritário. Estes fitoesteróides são de ocorrência ampla no reino vegetal. Esta mistura de esteróides foi analisada através de experimentos de RMN¹H, ¹³C e por CG/EM e os dados obtidos foram concordantes com a literatura (WERLI & NISHIDA, 1979; SUGA & KONDO, 1974; SAKAKIBARA et al., 1983).



4.5.3 - Identificação da substância XV



XV

A substância **XV** apresentou-se como um sólido branco, solúvel somente em piridina.

A análise dos espectros de RMN¹H (FIGURAS 4.35 e 4.36) e RMN¹³C (FIGURA 4.37) indicou a presença da substância **XV** 3-β-O-β-D-glucopiranosil sitosterol.

Os sinais nas regiões de δ 0,65 a 2,50 (RMN¹H) e δ 12,0 a 56,8 (RMN¹³C) referentes aos prótons metínicos, metilênicos e metílicos indicam a existência de um esqueleto esteroidal. O duplete centrado em δ 4,61 (*d*, *J* = 10,5 Hz) (RMN¹H) e δ 102,5 (RMN¹³C) correspondente ao hidrogênio do carbono anomérico, indicando assim a presença de um monossacarídeo δ (provavelmente um glicosídeo) (AGRAWAL et al., 1992). Quando associados aos sinais de multipletos nas regiões de δ 4,03 a 5,11 (RMN¹H) e δ 62,8 a 68,5 (RMN¹³C). Estes sinais referem-se aos hidrogênios e carbonos carbinólicos respectivamente.

O espectro de RMN¹³C (FIGURA 4.37) apresenta sinais em δ 122,0 e 140,9 que quando comparados com a literatura, confirmam a aglicona como sendo o sitosterol (SAKAKIBARA et al., 1983), ligado a β-D-glucose.

Os dados de RMN¹³C estão representados nas tabelas 4.12 e 4.13.

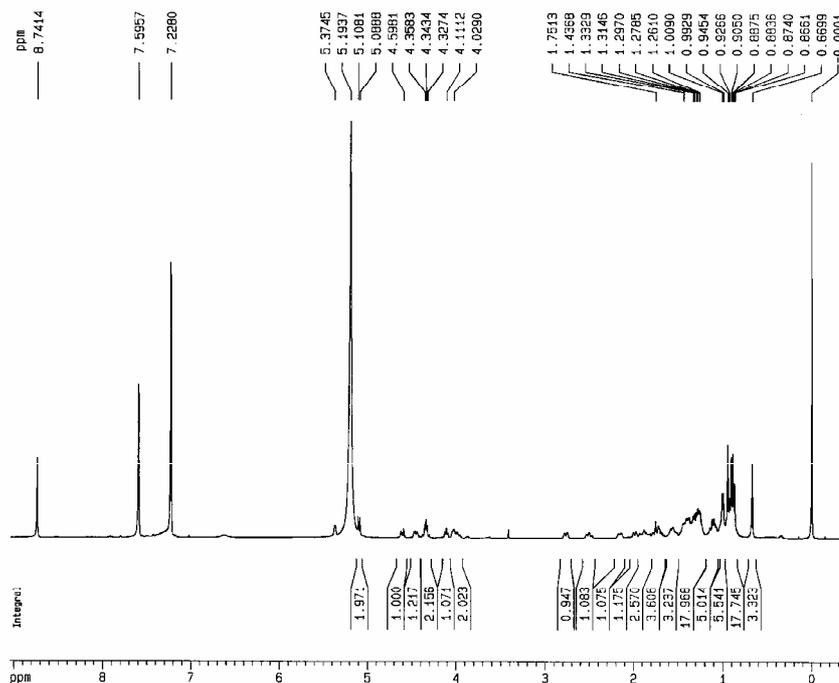


FIGURA 4.35 - Espectro de RMN¹H da substância **XV** (400 MHz, Piridina-d₅).

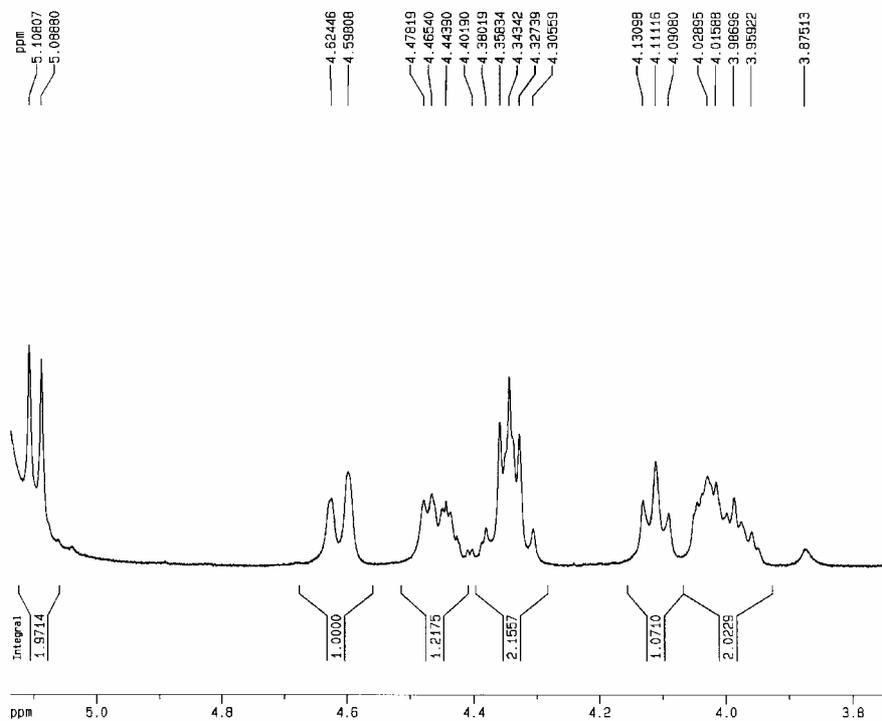


FIGURA 4.36 – Ampliação do espectro de RMN¹H da substância **XV** (400 MHz, Piridina-d₅).

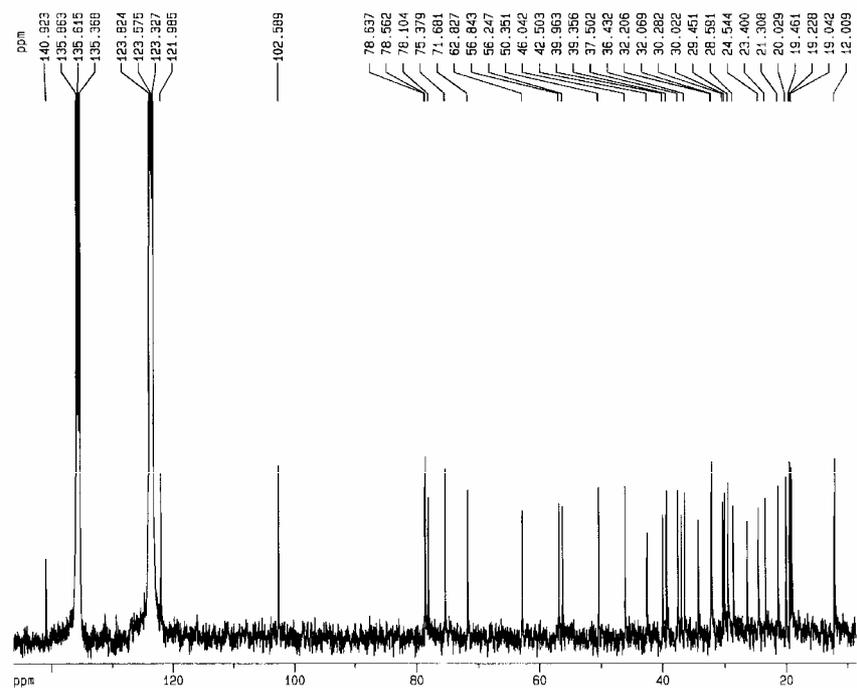


FIGURA 4.37 - Espectro de RMN¹³C substância **XV** (100 MHz, Piridina-d₅).

TABELA 4.12 - Dados de RMN¹³C da aglicona sitosterol (**XV**) em comparação com a literatura (SAKAKIBARA et al., 1983).

Aglicona carbono	XV (exp.) ^a	XV (lit.) ^b
1	37,5	37,5
2	30,3	30,2
3	78,5	78,5
4	40,0	40,0
5	140,9	140,9
6	122,0	121,8
7	32,2	32,1
8	32,1	32,1
9	50,3	50,3
10	37,0	36,9
11	21,3	21,3
12	39,3	39,3
13	42,5	42,5
14	56,8	56,9
15	24,5	24,5
16	28,6	28,6
17	56,2	56,3
18	12,0	12,0
19	19,5	19,4
20	36,4	36,4
21	19,0	19,1
22	34,2	34,3
23	26,3	26,5
24	46,0	46,1
25	29,4	29,5
26	19,2	19,2
27	20,0	20,0
28	23,4	23,4
29	12,2	12,2

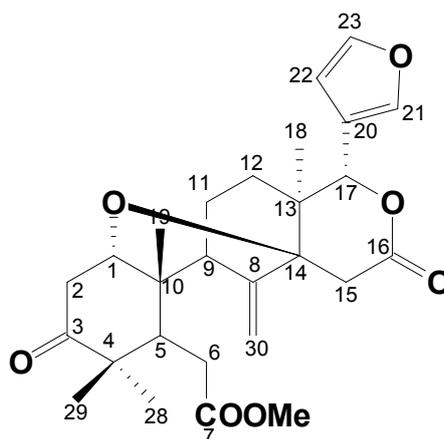
TABELA 4.13 - Dados de RMN¹³C do grupo glicosil (**XV**) em comparação com a literatura (SAKAKIBARA et al., 1983).

Glicona carbono	XV (exp.)	XV (lit.)
1'	102,6	102,5
2'	75,4	75,3
3'	78,6	78,6
4'	71,7	71,7
5'	78,1	78,4
6'	62,8	62,8

4.6 – Identificação dos Limonóides

4.6.1 – Identificação da substância XVI

O angolensato de metila é um limonóide do tipo andirobina, que apresenta o anel B-seco. Este limonóide é bastante comum na família Meliaceae (LEITE, 2005).



XVI

O espectro de RMN¹H (FIGURAS 4.38 e 4.39) do composto **XVI** apresentou sinais característicos de hidrogênios pertencentes ao anel furano em δ 7,44 (*s*), 6,39 (*s*) e 7,38 (*t*), além da presença de quatro sinais característicos de metilas em δ 0,87; 0,95; 1,05; e 1,20.

Ainda se observou a presença de um singlete em δ 3,72 (3H), o qual foi atribuído a metoxila. Os sinais em δ 4,91 (1H) e 5,15 (1H) foram atribuídos aos hidrogênios metilênicos em C-30, que indicaram a presença de um limonóide com o anel B-seco. O singlete em δ 5,67 (1H) foi atribuído ao H-17, pertencente ao anel D-lactônico. A presença do grupo metilênico α -carboxílico foi constatada pelos dois dubletos em δ 2,56 ($J = 18,0$ Hz) e 2,89 ($J = 18,0$ Hz) indicando apenas acoplamento geminal, que foram atribuídos aos hidrogênios H-15.

No espectro de RMN¹³C (FIGURA 4.40), o anel furano foi caracterizado pelos sinais em δ 120,8 (C-20); 140,7 (C-21), 109,9 (C-22). A ligação dupla exocíclica entre C-8 e C-30 foi caracterizada pelos sinais em δ 145,7 (C-8) e 111,5 (C-30). Ainda foi observada a presença de três sinais

característicos de carbonos carbinólicos em δ 79,5; 77,2 e 80,2, os quais foram confirmados através do experimento de ^{13}C -PENDANT (FIGURAS 4.41 e 4.42), e atribuídos respectivamente aos carbonos C-17, C-1 e C-14. O sinal em δ 170,1 foi atribuído á carboxila da lactona no C-16. E finalmente, o sinal em δ 212,8 foi atribuído a carbonila C-3.

Os dados de RMN ^1H e ^{13}C foram concordantes com aqueles descritos por KADOTA et al. (1990), que caracterizam esse limonóide anteriormente isolado de *Swietenia mahagoni*.

As TABELAS 4.14 e 4.15 descrevem os dados de RMN ^1H e ^{13}C para a substância **XVI**.

TABELA 4.14 – Dados de RMN¹H (δ) da substância **XVI** em comparação com a literatura (KADOTA et al., 1990).

H	XVI (exp.) ^a	XVI (lit.) ^b
1	3,52 <i>dd</i> ($J = 6,0 ; 3,2$)	3,52 <i>dd</i> $J = 6,5 ; 4,0$
2	2,52 <i>dd</i> ($J = 16,0; 4,0$)	2,51 <i>dd</i> ($J = 14,5; 4,0$)
2	2,92 <i>dd</i> ($J = 16,0; 4,0$)	2,90 <i>dd</i> ($J = 14,5; 6,0$)
5	2,88 <i>m</i>	2,88 <i>d</i> ($J = 10,5$)
6	2,24 <i>d</i> ($J = 16,3$)	2,25 <i>d</i> ($J = 16,5$)
6	2,61 <i>m</i>	2,61 <i>dd</i> ($J = 15,6; 10,5$)
9	2,18 <i>m</i>	2,17 <i>dd</i> ($J = 5; 1,5$)
11	1,58 <i>m</i>	1,57 <i>tt</i> ($J = 14,5; 5,0$)
11	2,20 <i>m</i>	2,20 <i>m</i>
12	1,90 <i>m</i>	1,90 <i>td</i> ($J = 14,0; 5,0$)
12	1,16 <i>m</i>	1,14 <i>ddd</i> ($J = 14; 6; 1,5$)
15	2,56 <i>d</i> ($J = 18,0$)	2,58 <i>d</i> ($J = 18,0$)
15	2,89 <i>d</i> ($J = 18,0$)	2,91 <i>d</i> ($J = 18,0$)
17	5,67 <i>s</i>	5,67 <i>s</i>
Me-18	0,87 <i>s</i>	0,84 <i>s</i>
Me-19	0,95 <i>s</i>	0,95 <i>s</i>
21	7,44 <i>sl</i>	7,44 <i>dd</i> ($J = 1,5; 0,8$)
22	6,39 <i>sl</i>	6,39 <i>dd</i> ($J = 1,5; 0,8$)
23	7,38 <i>t</i> ($J = 2,0$)	7,38 <i>t</i> ($J = 1,5$)
Me-28	1,05 <i>s</i>	1,05 <i>s</i>
Me-29	1,20 <i>s</i>	1,19 <i>s</i>
30	4,91 <i>s</i>	4,90 <i>s</i>
30	5,15 <i>s</i>	5,15 <i>s</i>
OMe	3,72 <i>s</i>	3,72 <i>s</i>

^a CDCl₃, 200 MHz; valores de J em Hz, entre parênteses.

^b CDCl₃, 400 MHz; valores de J em Hz, entre parênteses.

TABELA 4.15 – Dados de RMN¹³C (δ) da substância **XVI** em comparação com a literatura (KADOTA et al., 1990).

C	XVI (exp.)^a	XVI (lit.)^b
1	77,2	77,2
2	39,4	39,4
3	212,8	212,6
4	48,0	48,0
5	42,9	42,9
6	32,6	32,5
7	173,8	173,8
8	145,7	145,9
9	49,9	50,5
10	44,0	44,1
11	23,7	23,8
12	29,2	29,3
13	41,4	41,5
14	80,2	80,2
15	33,7	33,8
16	170,0	169,9
17	79,5	79,6
18	13,7	13,8
19	21,6	21,7
20	120,8	120,2
21	140,7	141,0
22	109,9	109,8
23	142,7	143,1
28	25,8	26,0
29	21,6	21,5
30	111,5	111,5
OMe	52,0	52,1

^a CDCl₃, 50 MHz.^b CDCl₃, 100 MHz.

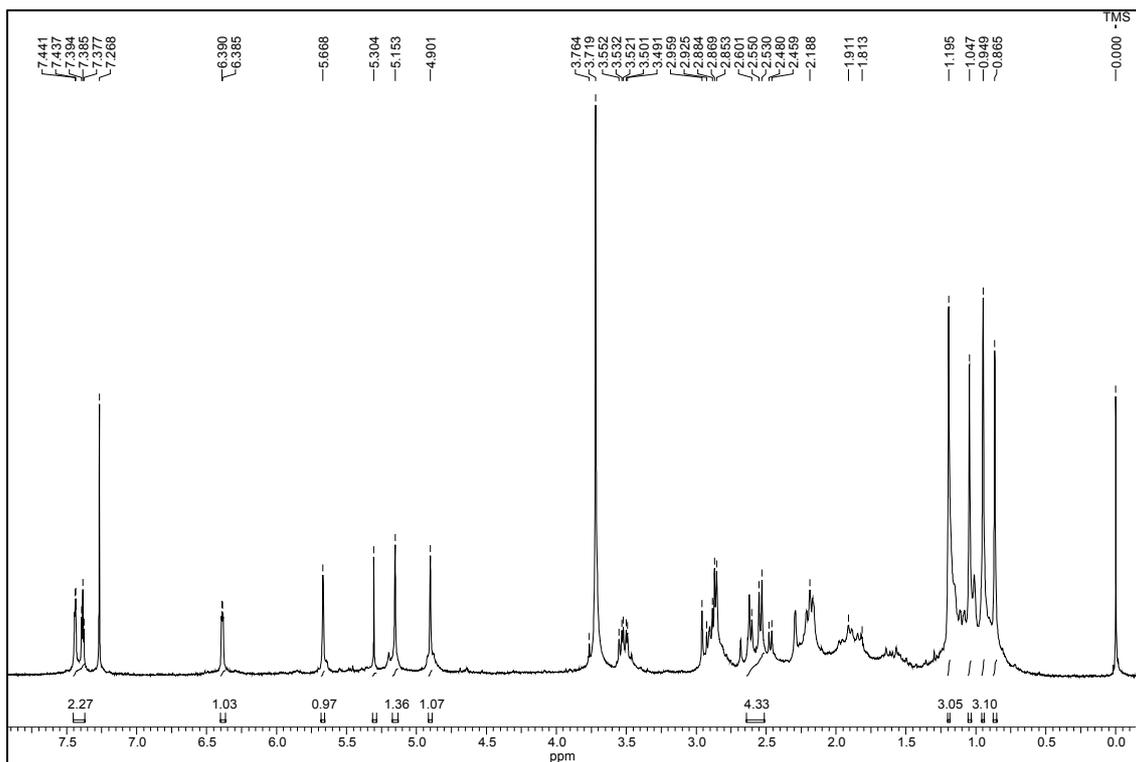


FIGURA 4.38 - Espectro de RMN¹H (200 MHz, CDCl₃) do limonóide **XVI**.

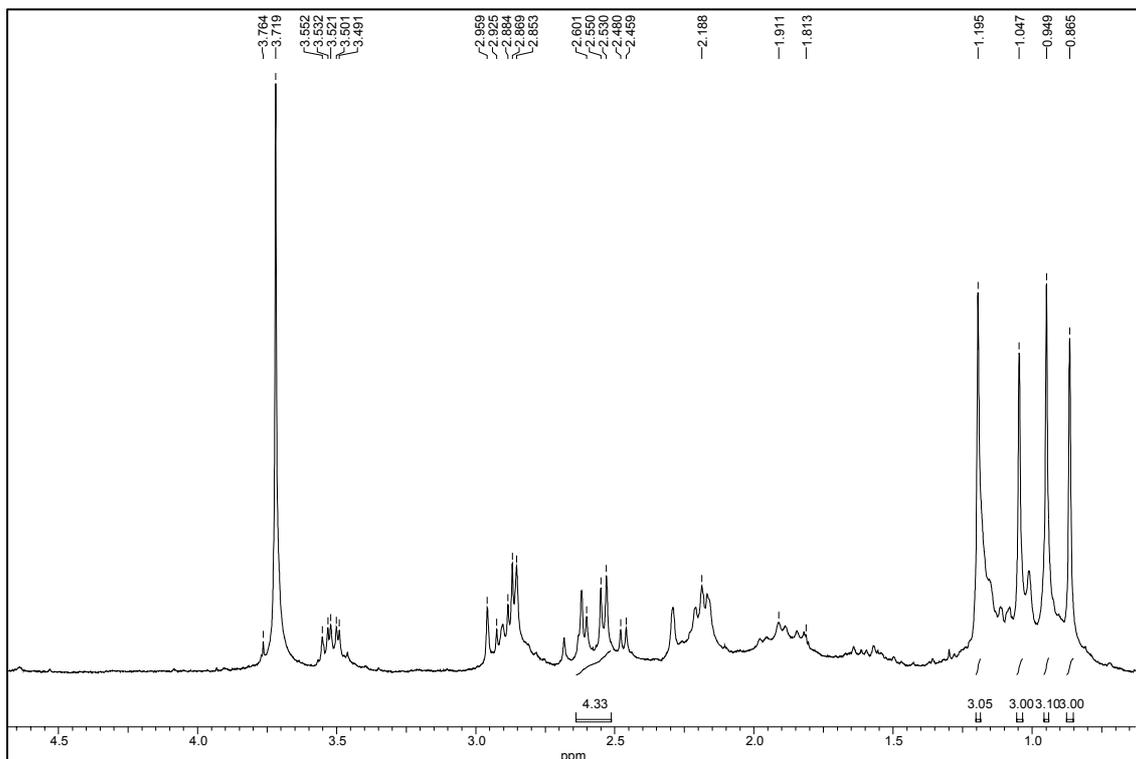


FIGURA 4.39 - Ampliação do espectro de RMN¹H (200 MHz, CDCl₃) do limonóide **XVI**.

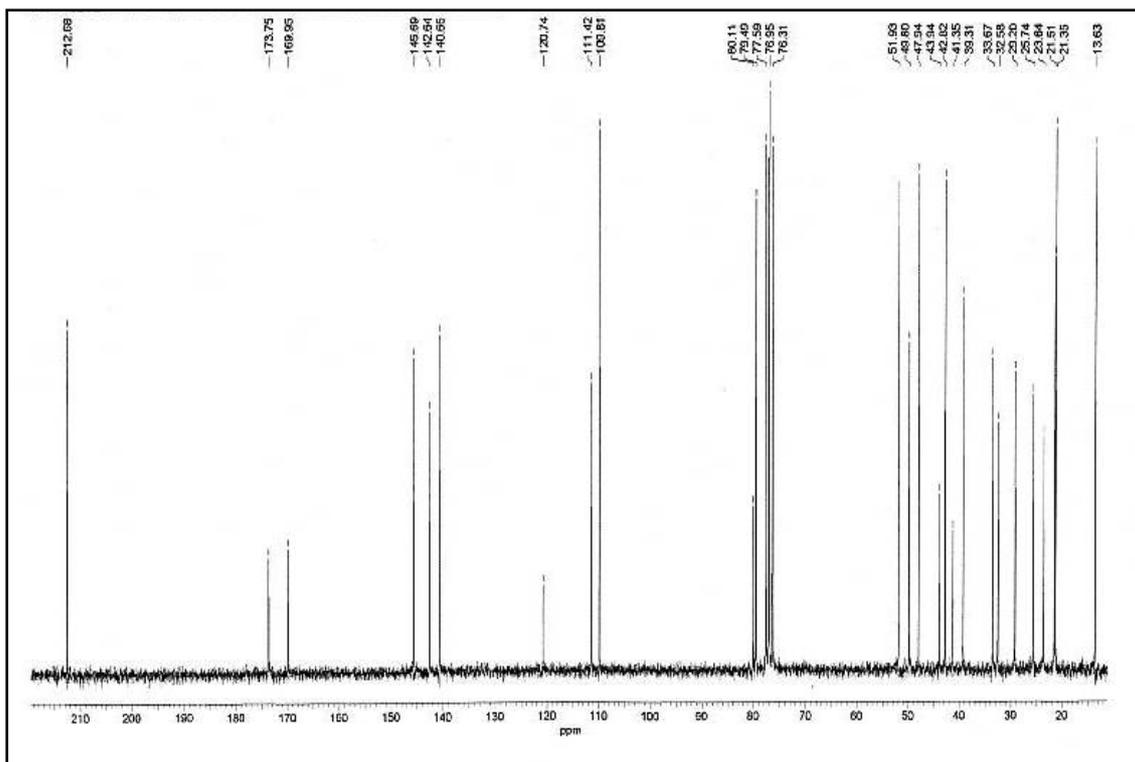


FIGURA 4.40 - Espectro de RMN¹³C (50 MHz, CDCl₃) do limonóide **XVI**.

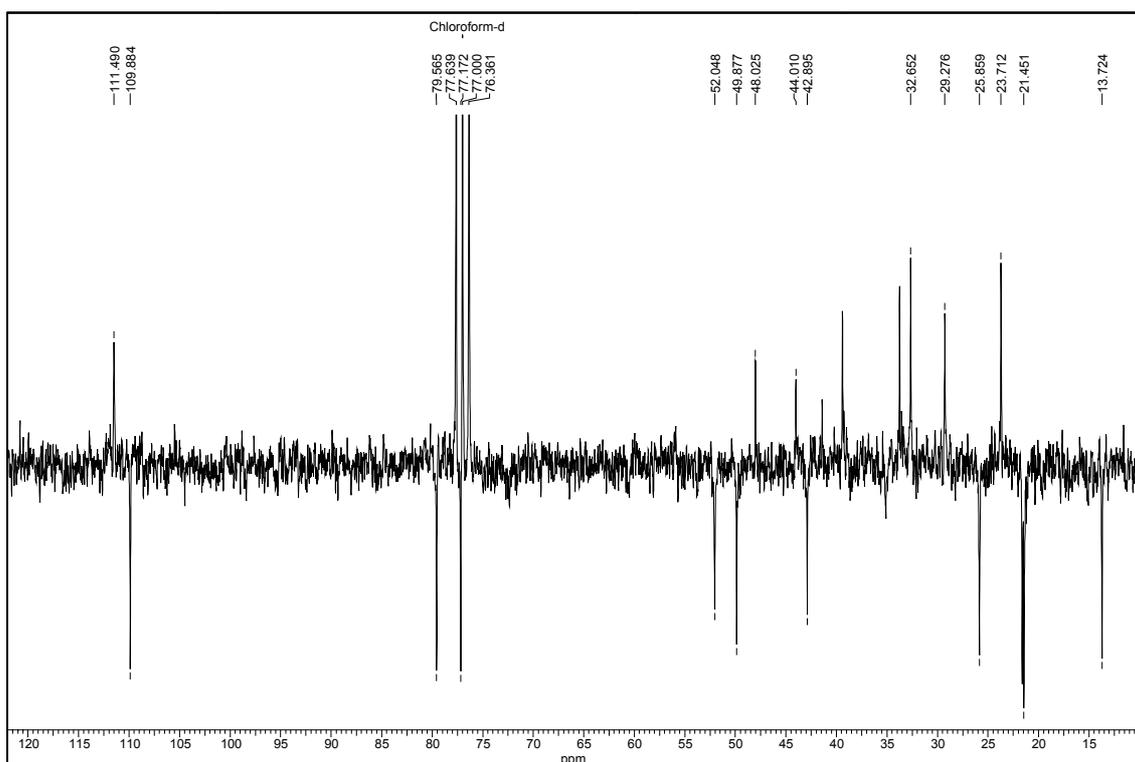


FIGURA 4.41 - Espectro de RMN¹³C-PENDANT (50 MHz, CDCl₃) do limonóide **XVI**.

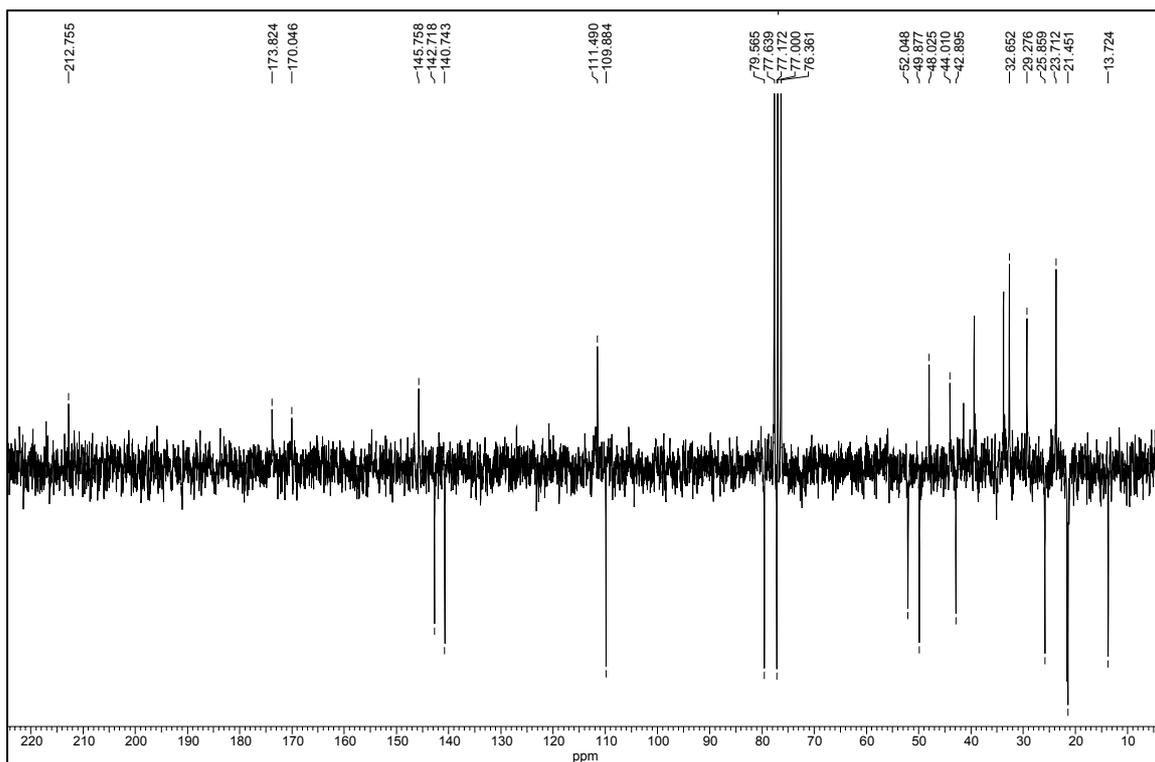
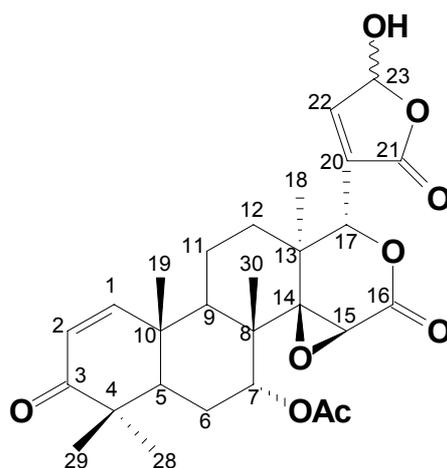


FIGURA 4.42 - Ampliação do espectro de RMN ^{13}C -PENDANT (50 MHz, CDCl_3) do limonóide **XVI**.

4.6.2 – Identificação da mistura epimérica de fotogedunina (Substâncias XVII e XVIII)

O espectro de RMN¹H dos limonóides **XVII** (FIGURA 4.43) apresentou cinco sinais de metilas δ 1,06; 1,07; 1,16; 1,22 e 1,25, um sinal de metila de acetato em δ 2,10; dois dubletos com J de 9,4 Hz em δ 7,15 e 5,90 correspondentes aos H-1 e H-2, respectivamente, no entanto não foram observados os sinais referentes ao anel furano. O espectro apresentou ainda singletos largos em δ 3,52 e 5,55 atribuídos a H-15 e H-17, respectivamente, característicos de limonóides com anel D lactônico e epóxido entre C-14 e C-15; e um singletto largo em δ 4,54 atribuído ao H-7.

O espectro de RMN¹H do limonóides **XVII** (FIGURA 4.44) apresentou ainda dois singletos largos em δ 7,33 e 6,22; atribuídos a H-22 e H-23, respectivamente. Deste modo, o substituinte em C-17 foi caracterizado como sendo o 23-hidroxi-20(22)-en- γ -lactônico, assim o limonóide **XVII** foi caracterizado como fotogedunina (CÉSPEDES et al., 1998). No espectro de RMN¹³C (FIGURA 4.36), a presença do substituinte em C-17 foi definida pelos sinais em δ 133,3 (C-20), 150,5 (C-22) apresentando-se alargados e com baixa intensidade em relação aos demais sinais do espectro.



H-23 α : **XVII**

H-23 β : **XVIII**

Através da análise da ampliação do espectro de RMN¹³C (FIGURA 4.45) do limonóide **XVII** e da comparação com dados da literatura (CÉSPEDES et al., 1998), sugere-se a presença do equilíbrio entre as duas formas epiméricas em C-23 do grupo em C-17, já que o carbono hemiacetálico em δ 97,3 (C-23) e os carbonos olefinicos em 150,5 (C-22) apresentam-se duplicados e com baixa intensidade em relação aos demais sinais do espectro. Deste modo, além do **XVII** temos o **XVIII**.

As TABELAS 4.16 e 4.17 descrevem os dados de RMN¹H e ¹³C para as substâncias **XVII** e **XVIII**.

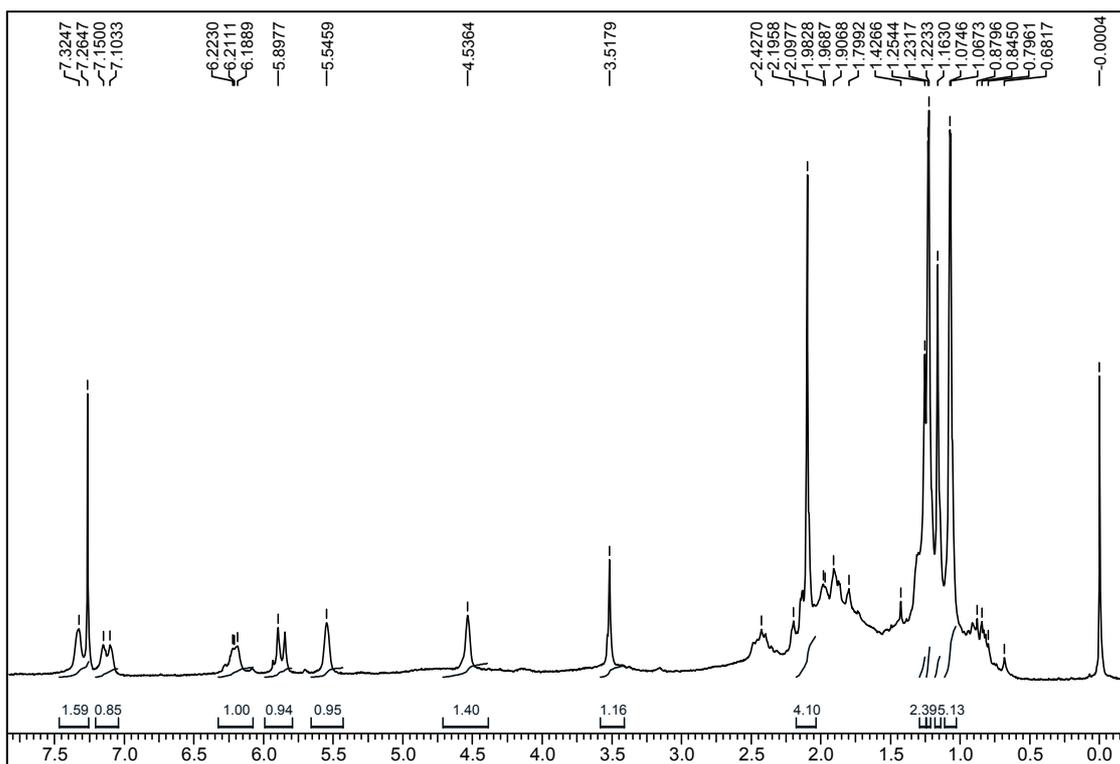


FIGURA 4.43 – Espectro de RMN¹H (200 MHz, CDCl₃) do limonóide **XVII**.

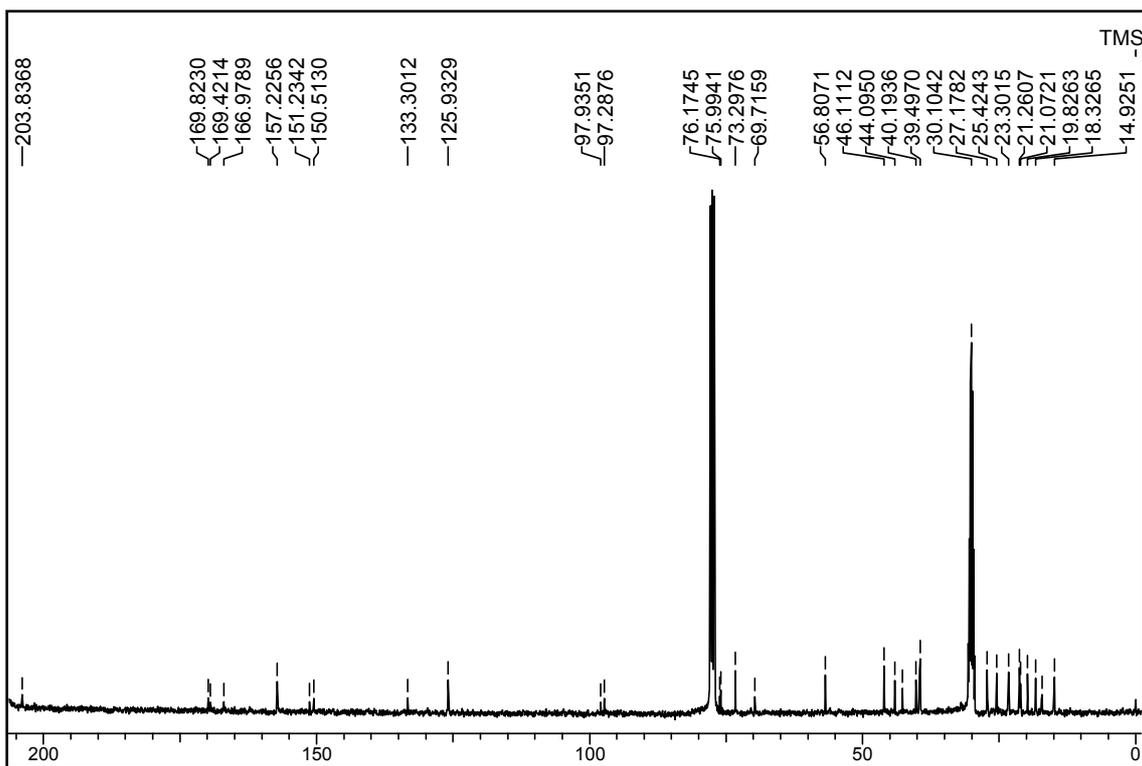


FIGURA 4.44 – Espectro de RMN¹³C (100 MHz, CDCl₃ + 1 gota de MeOD) dos limonóides **XVII** e **XVIII**.

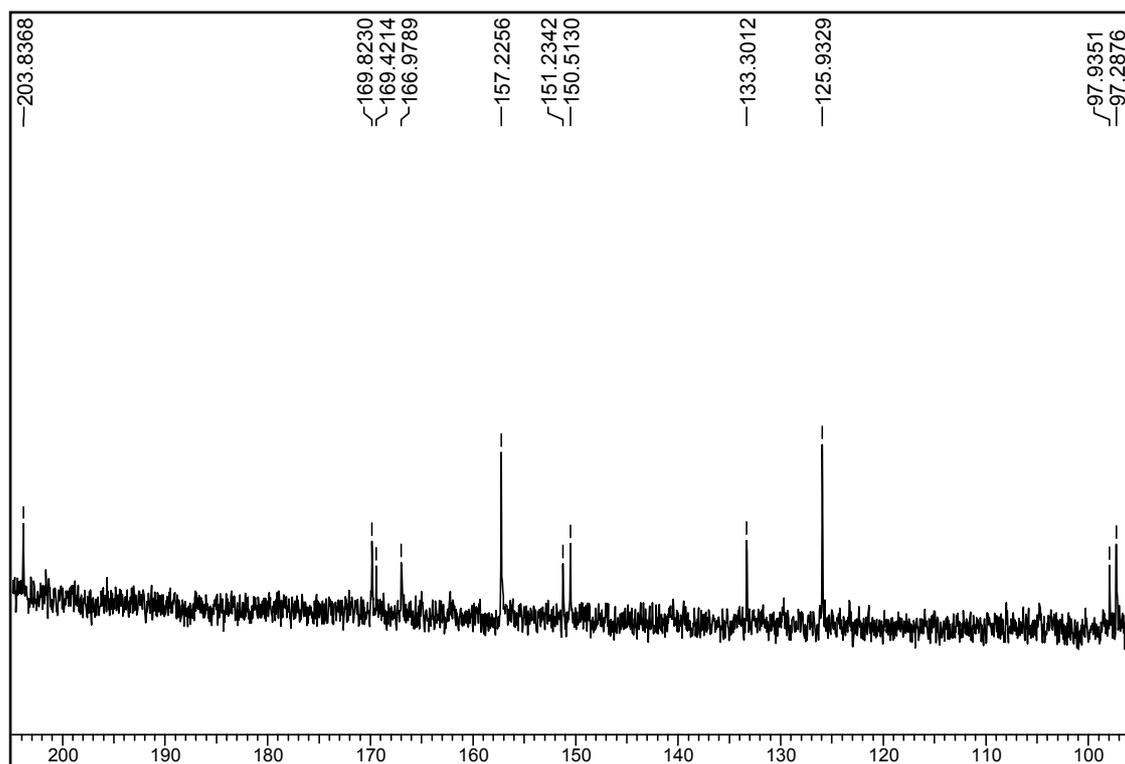


FIGURA 4.45 – Ampliação do espectro de RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3 + 1 gota de MeOD) dos limonóides **XVII** e **XVIII**.

TABELA 4.16 – Dados de RMN¹H da substância **XVII** em comparação com a literatura (CÉSPEDES et al., 1998).

H	XVII (exp.) ^a	XVII (lit.) ^b
1	7,15 <i>d</i> (9,4)	6,99 <i>d</i> (10,2)
2	5,90 <i>d</i> (9,4)	5,74 <i>d</i> (10,2)
5	2,19 <i>m</i>	2,01 <i>dd</i> (12,4; 3,0)
6	1,82 <i>m</i>	1,86 <i>m</i>
7	4,54 <i>sl</i>	4,41 <i>dd</i> (2,5; 2,0)
9	2,42 <i>m</i>	2,45 <i>dd</i> (12,5; 3,0)
11	2,03 <i>m</i>	2,36 <i>m</i>
12	1,52 <i>m</i>	1,55 <i>dd</i> (12,5; 3,0)
15	3,52 <i>s</i>	3,37 <i>s</i>
17	5,55 <i>s</i>	5,42 <i>s</i>
Me-18	1,25 <i>s</i>	1,12 <i>s</i>
Me-19	1,22 <i>s</i>	1,10 <i>s</i>
22	7,35 <i>sl</i>	7,12 <i>s</i>
23	6,22 <i>sl</i>	6,07 <i>s</i>
Me-28	1,06 <i>s</i>	0,93 <i>s</i>
Me-29	1,07 <i>s</i>	0,94 <i>s</i>
Me-30	1,16 <i>s</i>	1,03 <i>s</i>
OMe	2,10 <i>s</i>	1,97 <i>s</i>

^aCDCl₃ (com uma gota de MeOD), 400 MHz; valores de *J* em Hz, entre parênteses;

^bCDCl₃, 200 MHz (mistura epimérica de fotogedunina).

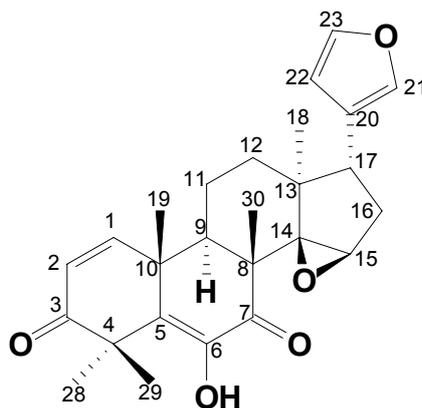
TABELA 4.17 – Dados de RMN¹³C dos limonóides **XVII** e **XVIII** em comparação com a literatura (CÉSPEDES et al., 1998).

C	XVII e XVIII (exp.) ^a	XVII e XVIII (lit.) ^b
1	157,2	156,5
2	125,9	125,2
3	203,8	203,1
4	44,1	43,4
5	46,1	45,4
6	23,3	22,6
7	73,3	72,5
8	42,7	42,0
9	39,4	38,7
10	40,2	39,5
11	14,9	14,2
12	25,4	24,7
13	39,4	38,7
14	69,7	69,0
15	56,8	56,0
16	167,0	166,3
17	76,0 e 76,2	75,3 e 75,6
18	17,1 e 17,2	16,5 e 16,6
19	19,8	19,2
20	133,3	132,1
21	169,8	170,0
22	150,5 e 151,2	151,0 e 150,2
23	97,3 e 97,9	97,5 e 96,9
28	27,2	26,5
29	21,3	20,6
30	18,3	17,7
MeCOO	169,4	169,1
<u>Me</u> COO	21,1	20,5

^aCDCl₃ com uma gota de MeOD; 100 MHz;^bCDCl₃, 50 MHz (mistura epimérica de fotogedunina)

4.6.3 – Identificação da substância XIX

A substância **XIX** foi caracterizada como o limonóide cedrelona através de RMN¹H e ¹³C e comparação com dados da literatura (LUO et al., 2000).



XIX

A análise do espectro de RMN¹H (FIGURA 4.46) indicou a presença de um limonóide. Foram observados cinco singletos a δ 0,75; 1,12; 1,29; 1,50 e 1,58 atribuídos a cinco metilas. Os sinais do anel furano foram atribuídos como δ 7,36 (*t*, $J = 3,7$ Hz) para H-23, δ 7,14 (*dt*, $J = 1,1; 2,5$ Hz) para H-21 e δ 6,18 (*dd*, $J = 0,7; 1,8$ Hz) para H-22 (FIGURA 4.47). Um singlete a δ 3,80 foi atribuído ao H-15 do grupo epóxido C-14/C-15, um singlete a δ 6,46 foi atribuído à hidroxila do grupo diosfenol no C-6 e dois sinais a δ 6,90 (*d*, $J = 9,9$ Hz) e δ 6,10 (*d*, $J = 9,9$ Hz) atribuídos aos H-1 e H-2, respectivamente (FIGURA 4.52) (TABELA 4.18).

Através da análise de RMN¹³C (FIGURA 4.48) observaram-se 26 átomos de carbono. Um carbono carbonílico foi caracterizado pelo sinal em δ 203,7 atribuído ao C-3, um outro carbono carbonílico foi caracterizado pelo sinal em δ 197,9 e atribuído ao C-7 (valor de deslocamento químico característico de grupamento diosfenol). Os sinais em δ 69,9 e 55,1 foram atribuídos aos carbonos do epóxido C-14 e C-15, respectivamente. Os sinais em δ 152,3 e 127,3 foram atribuídos aos carbonos C-1 e C-2, respectivamente (TABELA 4.19).

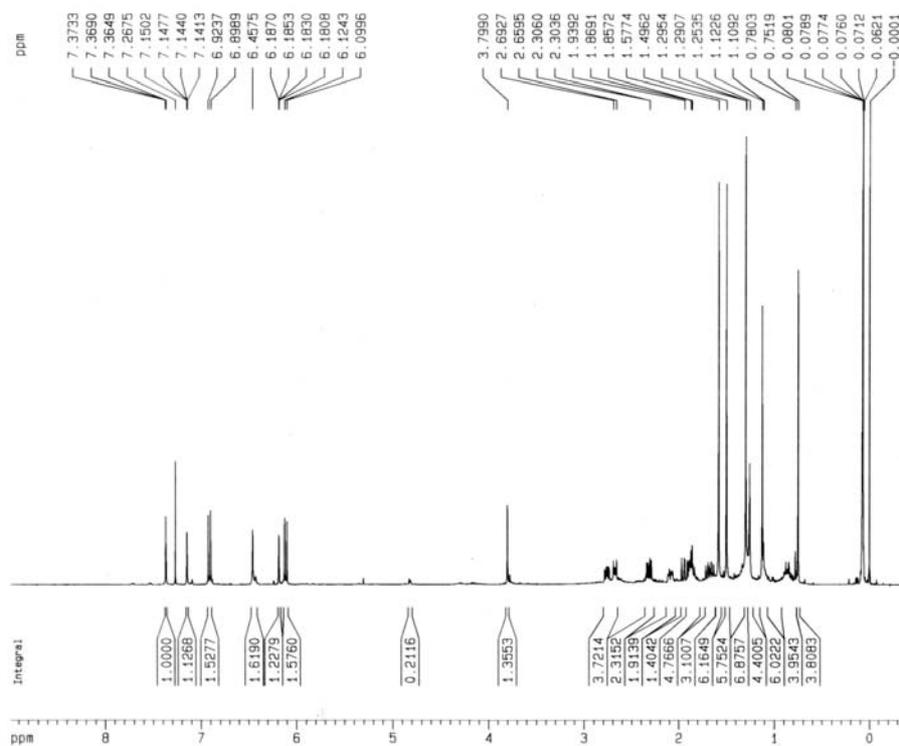


FIGURA 4.46 – Espectro de RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) do limonóide **XIX**.

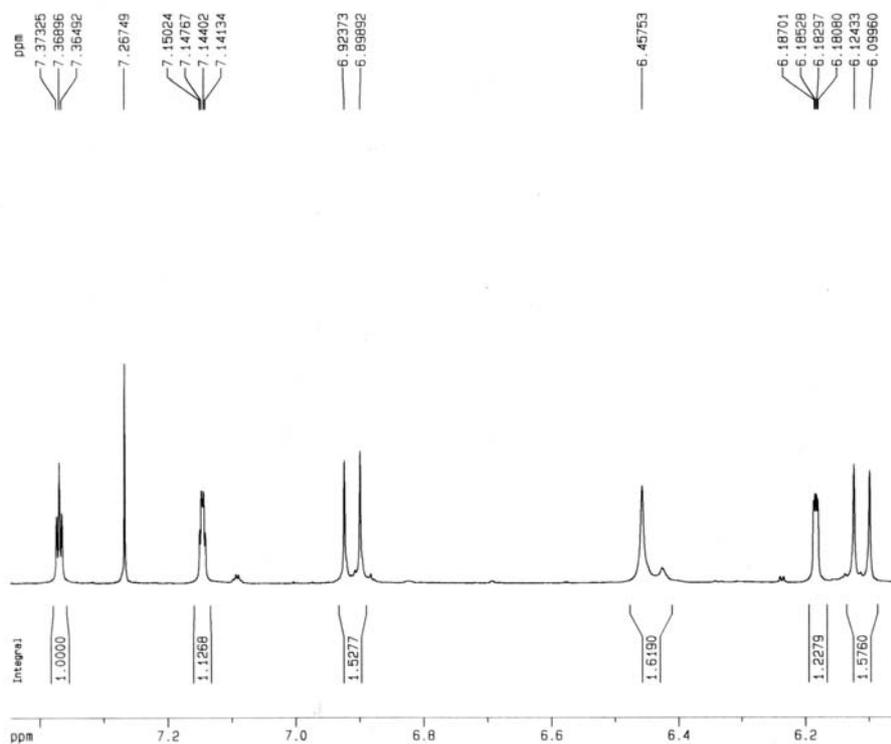


FIGURA 4.47 – Ampliação do espectro de RMN¹H (400 MHz, CDCl₃) do limonóide **XIX**.

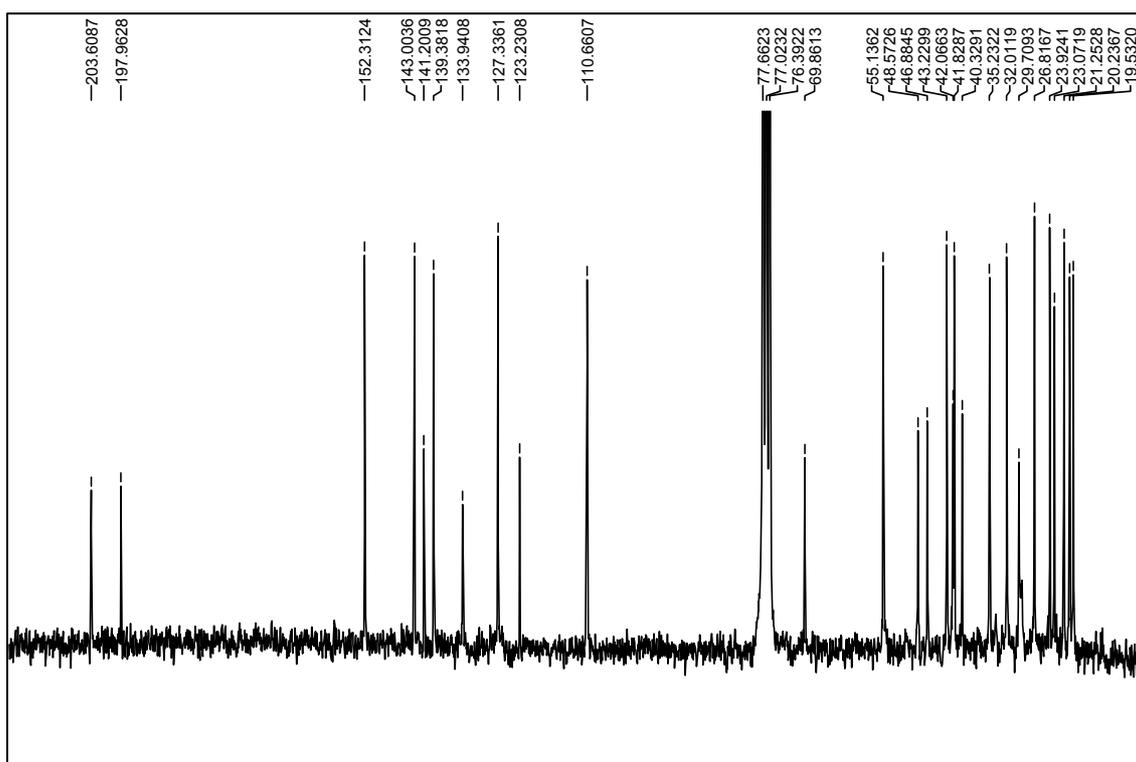


FIGURA 4.48 - Espectro de RMN¹³C (100 MHz, CDCl₃) do limonóide **XIX**.

TABELA 4.18 – Dados de RMN¹H da substância **XIX** em comparação com a literatura (LUO et al., 2000).

H	XIX (exp.) ^a	XIX (lit) ^a
1	6,90 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9,9 Hz)	6,86 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9,8 Hz)
2	6,10 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9,9 Hz)	6,05 (1H, <i>d</i> , <i>J</i> = 9,8 Hz)
9	2,66 (2H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 9,8; 3,8 Hz)	-
11	1,85	-
12	2,06 (<i>m</i>)	-
15	3,80 (1H, <i>s</i>)	3,74 (1H, <i>s</i>)
16 a	1,93 (<i>dd</i>)	-
16 b	2,29 (<i>dddd</i>)	-
17	2,74 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 6,4; 10,5 Hz)	-
18	0,75 (3H, <i>s</i>)	0,69 (3H, <i>s</i>)
19	1,12 (3H, <i>s</i>)	1,06 (3H, <i>s</i>)
21	7,14 (1H, <i>dt</i> , <i>J</i> = 1,1; 2,5 Hz)	7,09 (1H, <i>s</i>)
22	6,18 (1H, <i>dd</i> , <i>J</i> = 0,7; 1,8 Hz)	6,12 (1H, <i>s</i>)
23	7,36(1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 3,7 Hz)	7,31 (1H, <i>t</i> , <i>J</i> = 1,5 Hz)
28	1,43 (3H, <i>s</i>)	1,43 (3H, <i>s</i>)
29	1,51 (3H, <i>s</i>)	1,51 (3H, <i>s</i>)
30	1,22 (3H, <i>s</i>)	1,23 (3H, <i>s</i>)
OH	6,39 (1H, <i>s</i>)	6,46 (1H, <i>s</i>)

^a CDCl₃, 400 MHz.

TABELA 4.19 – Dados de RMN¹³C da substância **XIX** em comparação com a literatura (LUO et al., 2000).

C	XIX (exp.) ^a	XIX (lit) ^a
1	152,3	152,2
2	127,3	127,2
3	203,6	203,3
4	48,6	48,5
5	133,9	133,9
6	141,2	141,2
7	197,9	197,8
8	46,9	46,8
9	43,2	43,2
10	40,3	40,2
11	19,5	19,4
12	35,2	35,1
13	42,0	41,9
14	69,9	69,7
15	55,1	55,0
16	32,0	31,9
17	41,9	41,7
18	23,9	23,8
19	20,2	20,1
20	123,2	123,2
21	139,3	139,3
22	110,7	110,6
23	143,0	142,9
28	26,8	26,7
29	21,2	21,2
30	23,0	22,9

^a CDCl₃, 50 MHz.

Analisando o mapa de correlações HSQC (FIGURA 4.49), foi possível a confirmação de alguns hidrogênios. O sinal em δ 2,66 (*dd*) que foi atribuído ao H-9 correlaciona-se com o sinal em δ 43,2 (C-9); o sinal em δ 2,06 (H-12; *m*) correlaciona-se com o sinal em δ 35,2 (C-12); o sinal em δ 2,29 (H-16; *dddd*) correlaciona-se com o sinal em δ 32,0 (C-16) e o sinal em δ 2,74 (*dd*) (H-17) com o sinal em δ 41,9 (C-17) (FIGURA 4.50).

Através do mapa de correlações HSQC (FIGURA 4.51), foram confirmados os sinais para os hidrogênios H-1 e H-2 já que se observou uma correlação entre o dubleto em δ 6,90 (H-1) e o sinal em δ 152,3 (C-1) e uma correlação entre o dubleto em δ 6,10 (H-2) e o sinal em δ 127,3 (C-2). Além destas correlações, observaram-se uma entre o singleto em δ 7,14 (H-21) com o sinal em δ 139,3 (C-21); entre o duplo dubleto em δ 6,18 (H-22) e o sinal em δ 110,7 (C-22) e finalmente entre o tripleto em δ 7,36 (H-23) e o sinal em δ 143,0 (C-23).

As metilas foram confirmadas através da análise do mapa de correlações HSQC (FIGURA 4.50) já que o sinal em δ 0,75 (H-18) se correlaciona com o sinal em δ 23,9 (Me-18), o sinal em δ 1,12 (H-19) se correlaciona com o sinal em δ 20,2 (Me-19) e o sinal em δ 1,29 (H-30) se correlaciona com o sinal em δ 23,0 (Me-30) (FIGURA 4.51). Os sinais para as metilas 28 e 29 só foram confirmados através da análise do mapa de correlações HMBC (FIGURAS 4.52 e 4.53). Observou-se que o sinal em δ 1,50 (H-28) se correlaciona a três ligações com o sinal em δ 21,2 (Me-29) e o sinal em δ 1,58 (H-29) se correlaciona a três ligações com o sinal em δ 26,8 (Me-28) e ambos se correlacionam com o sinal em δ 48,6 (C-4) a duas ligações (FIGURA 4.54).

Ao analisar o espectro de COSY $^1\text{H}-^1\text{H}$ 45° (FIGURA 4.55) observou-se que o sinal em δ 2,74 que foi atribuído ao H-17 acopla com o sinal em δ 1,93 (H-16a), o qual acopla com o sinal em δ 2,29 (H-16b). Além disso foi possível confirmar o sinal do H-11 (δ 1,85, *m*) que acopla com o sinal em δ 2,63 atribuído ao H-9.

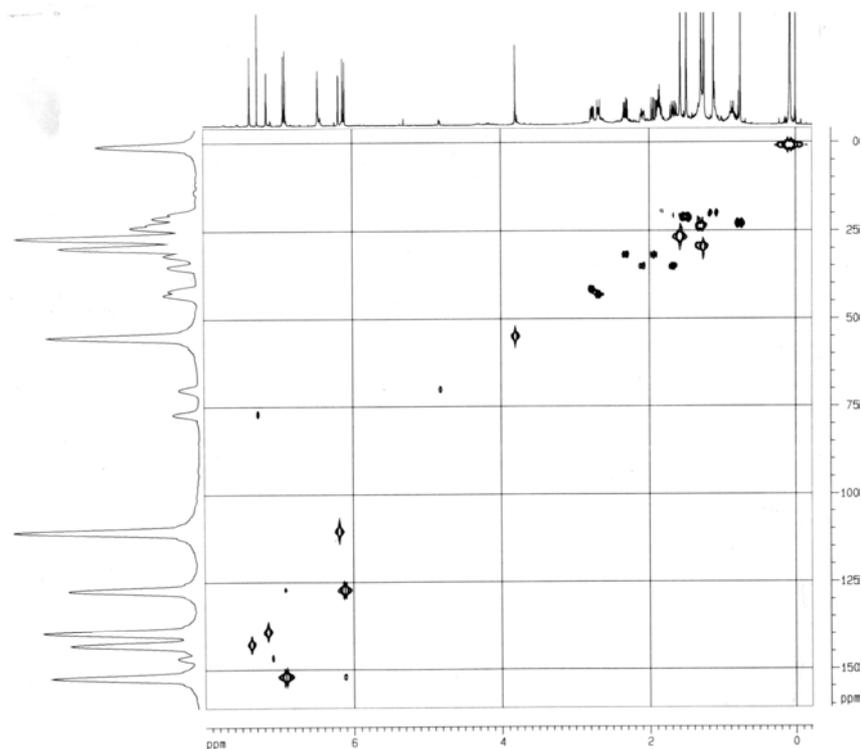


FIGURA 4.49 – Mapa de correlações HSQC (400 MHz, CDCl_3) do limonóide **XIX**.

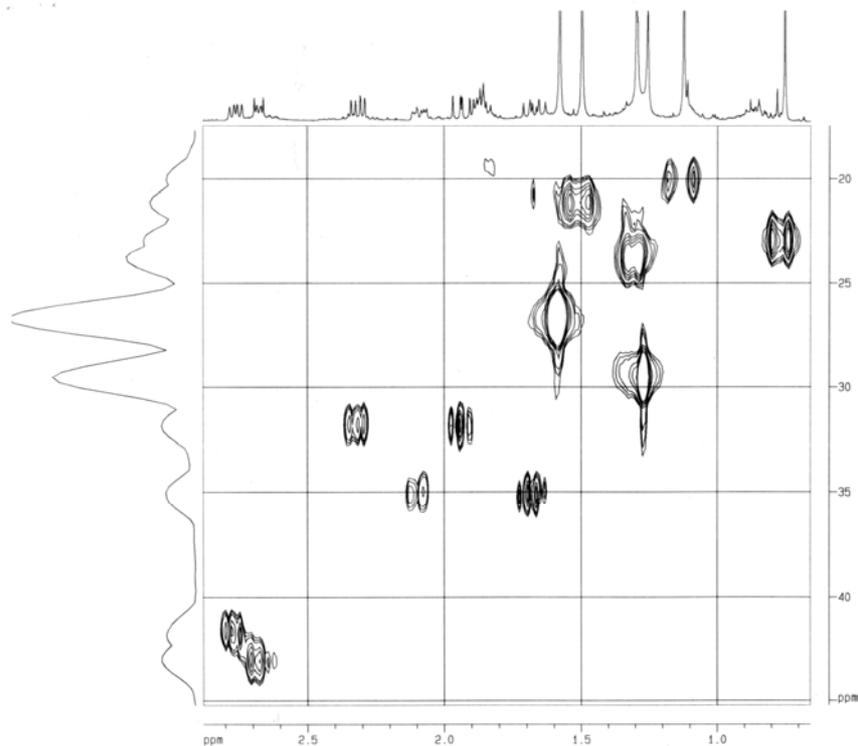


FIGURA 4.50 – Ampliação do mapa de correlações HSQC (400 MHz, CDCl_3) do limonóide **XIX**.

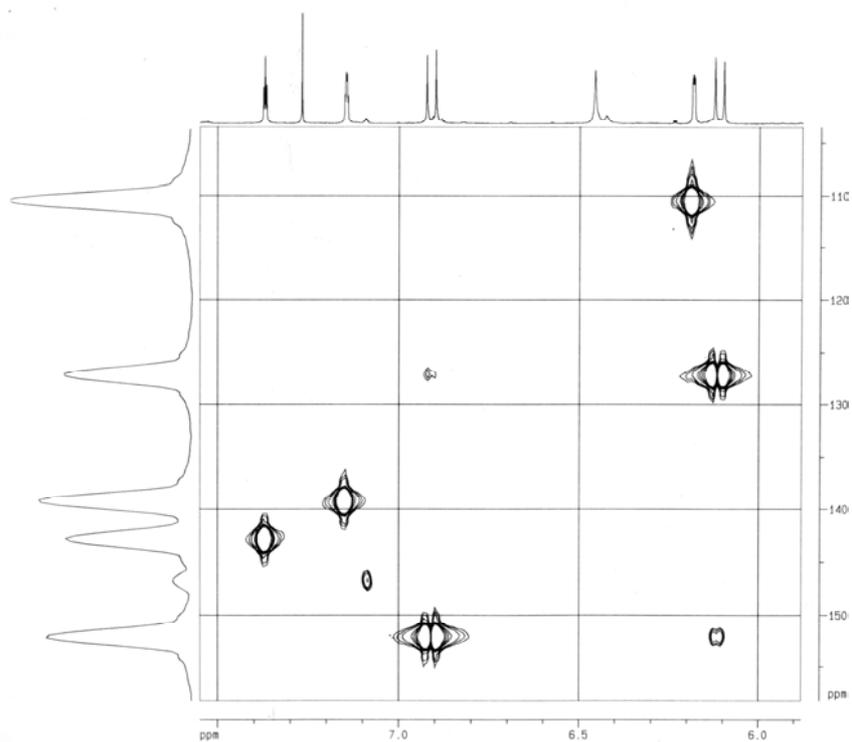


FIGURA 4.51 – Ampliação do mapa de correlações HSQC (400 MHz, CDCl₃) do limonóide **XIX**.

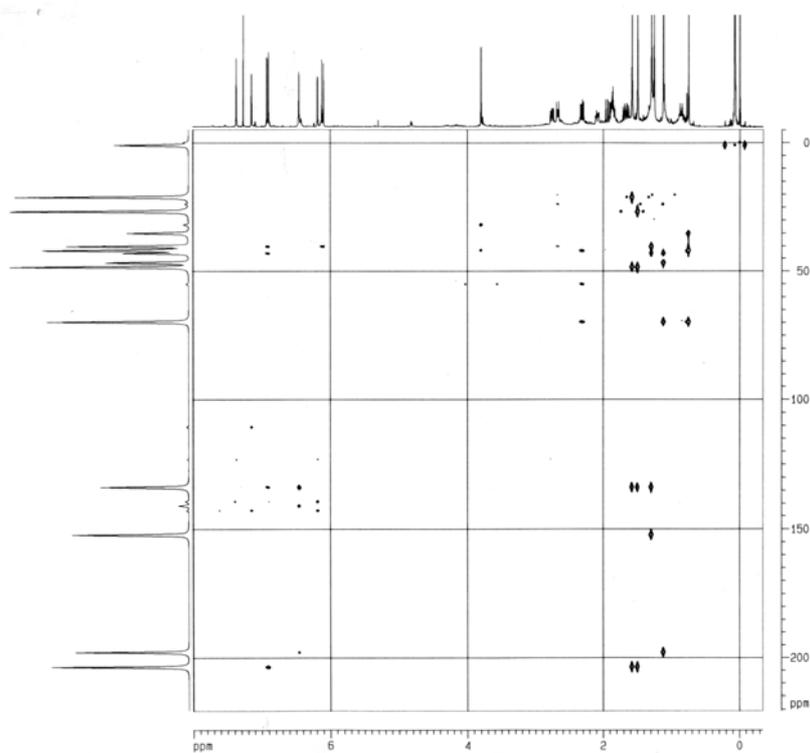


FIGURA 4.52 – Mapa de correlações HMBC (400 MHz, CDCl₃) do limonóide **XIX**.

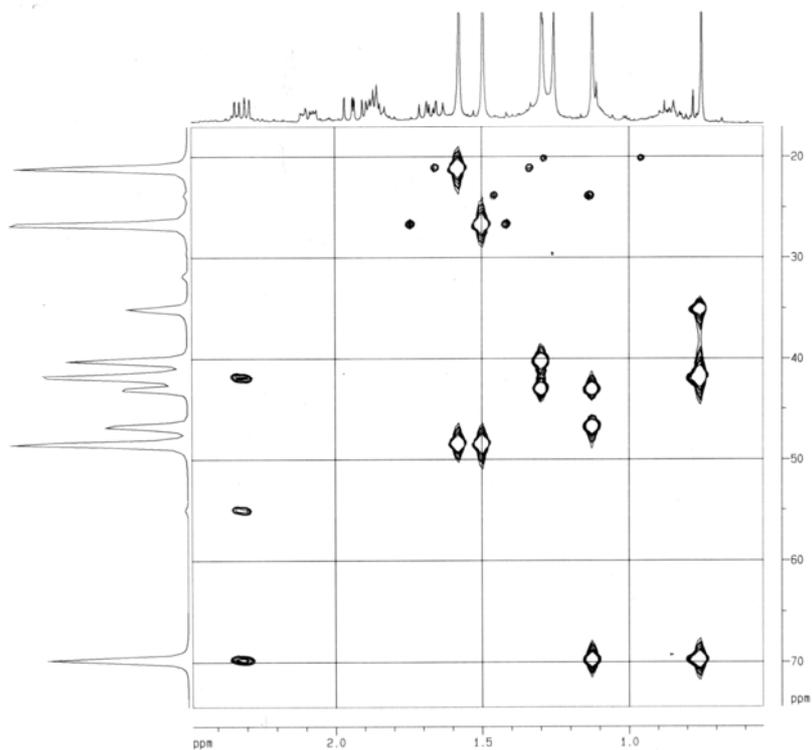


FIGURA 4.53 – Ampliação do mapa de correlações HMBC (400 MHz, CDCl_3) do limonóide **XIX**.

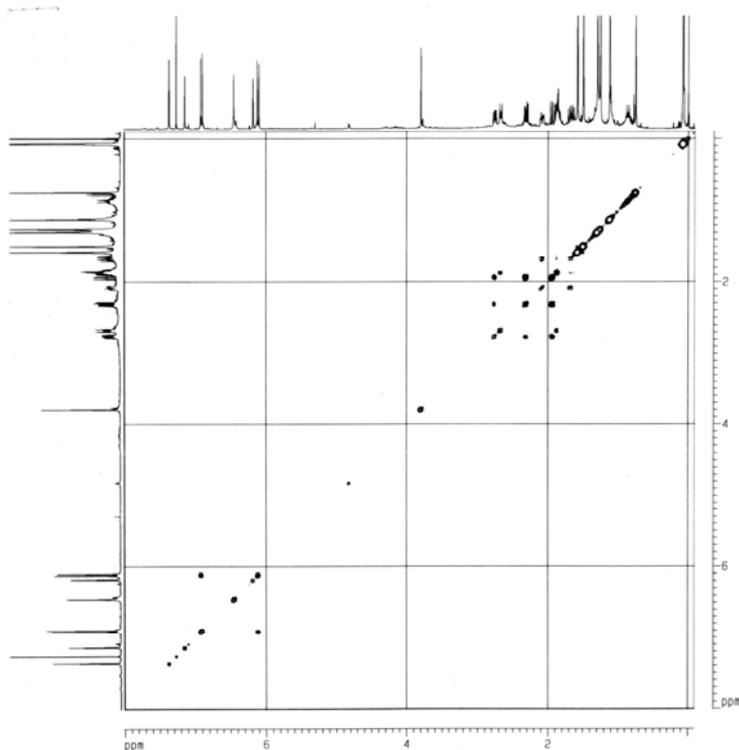
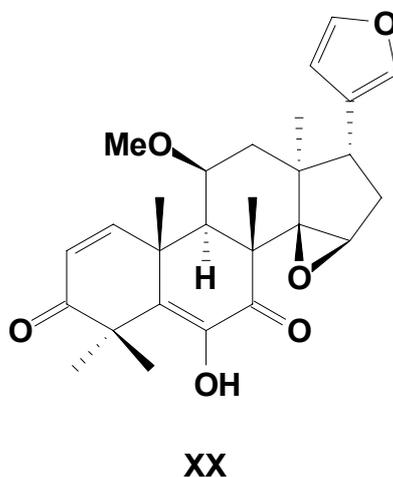


FIGURA 4.54 – Espectro de COSY ^1H - ^1H 45° (400 MHz, CDCl_3) do limonóide **XIX**.

4.6.4 – Identificação da substância XX

A substância **XX** foi caracterizada como o limonóide 11- β -metoxicedrelona através de RMN¹H e comparação com dados da literatura.



A análise do espectro de RMN¹H (FIGURA 4.55) indicou a presença de um limonóide. Foram observados cinco singletos a δ 0,75; 1,12; 1,25; 1,29 e 1,50 atribuídos a cinco metilas. Os sinais do anel furano foram atribuídos como δ 7,36 (*t*, $J = 3,0$ Hz) para H-23, δ 7,15 (*s*) para H-21 e δ 6,18 (*d*) para H-22. Um singleto a δ 3,80 foi atribuído ao H-15 do grupo epóxido C-14/C-15, um singleto a δ 6,45 foi atribuído à hidroxila do grupo diosfenol no C-6 e dois sinais a δ 6,88 (*d*, $J = 10,0$ Hz) e δ 6,08 (*d*, $J = 10,0$ Hz) atribuídos aos H-1 e H-2, respectivamente (FIGURA 4.56). No entanto, foi observado para este limonóide um sinal em δ 3,49 que foi atribuído a uma metoxila no C-11 (FIGURA 4.56).

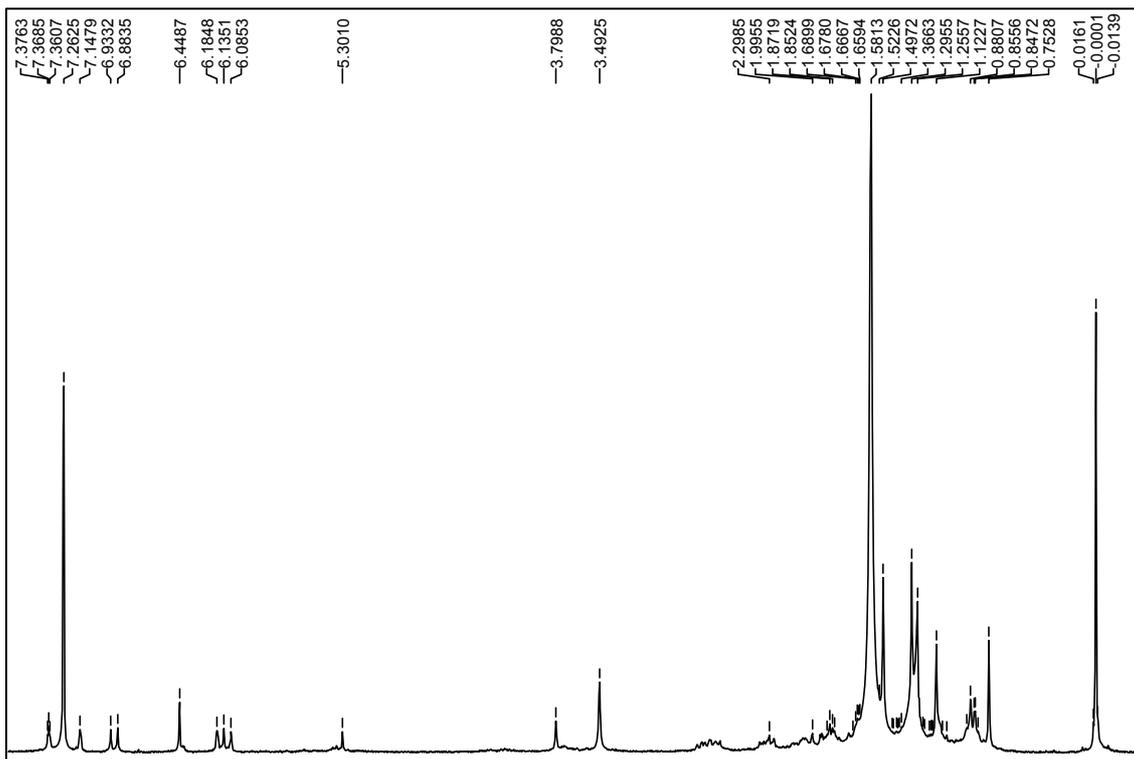


FIGURA 4.55 – Espectro de RMN¹H (200 MHz, CDCl₃) do limonóide **XX**.

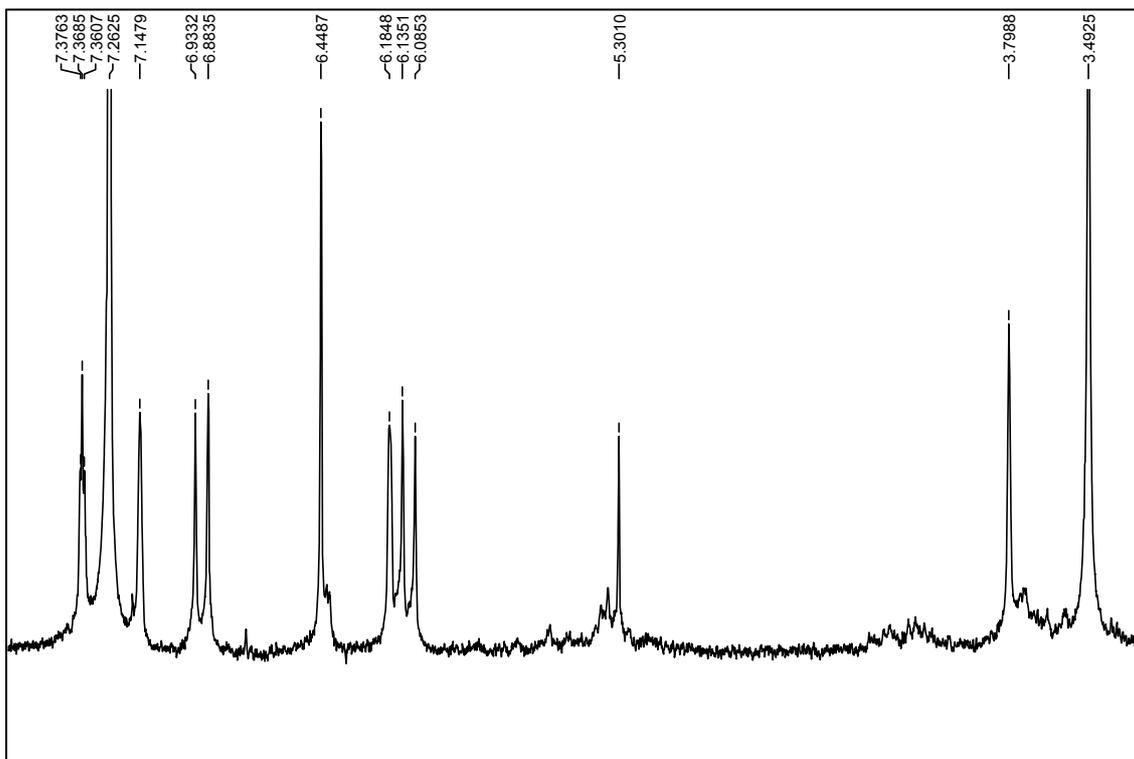


FIGURA 4.56 – Ampliação do espectro de RMN¹H (200 MHz, CDCl₃) do limonóide **XX**.

4.7 – RESULTADOS DOS ENSAIOS BIOLÓGICOS

4.7.1 – Efeito dos extratos de ramos e folhas no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*

Todos os tratamentos causaram alongamento da fase larval em relação ao controle (15,7 dias), com exceção dos extratos hexânicos de folhas e ramos de *T. clausenii* (TABELA 4.20). As lagartas alimentadas com a dieta artificial tratada com o extrato metanólico de ramos de *T. catigua* foram as que apresentaram o alongamento mais significativo da fase larval (6,4 dias) em relação ao controle (15,7 dias) (TABELA 4.20). Os extratos hexânico de folhas de *T. catigua*, metanólico e hidrometanólico de ramos de *T. clausenii*, hexânico de folhas e hidrometanólico de ramos de *T. elegans* apresentaram alongamento da fase larval de 4,0; 2,3; 2,2; 3,3 e 3,2 dias, respectivamente, em relação ao valor constatado no controle (15,7 dias) (TABELA 4.20), portanto, verificou-se inibição do crescimento. O alongamento da fase larval foi verificado para o extrato aquoso do caule de *T. clausenii* (RODRÍGUEZ & VENDRAMIM 1997), o que se assemelha aos resultados obtidos por XIE et al. (1994). BOGORNI & VENDRAMIM (2005) averiguaram que não houve alongamento da fase larval para os extratos aquosos de *T. clausenii*, *T. catigua* e *T. elegans* quando aplicados sobre a folha de milho utilizada como alimento para as larvas.

A maior duração da fase larval em campo deixará o inseto por mais tempo propenso ao ataque de parasitóides, predadores e entomopatógenos, provocando ainda maior competição pelo alimento. Os adultos que emergem desses indivíduos terão assincronia com a população normal e, conseqüentemente, a cópula será dificultada ou quando existir tenderá à consangüinidade pelo acasalamento de indivíduos da mesma geração (RODRÍGUEZ & VENDRAMIM 1996). Também será diminuído o número de gerações do inseto no ciclo agrícola, como foi assinalado por TANZUBIL & McCAFFERY (1990). A inibição do desenvolvimento de *S. frugiperda* devido à utilização do extrato clorofórmico de folhas de *M. azedarach* em dieta artificial mostrou alongamento da fase larval (McMILLIAN et al. 1969). A utilização do extrato hexânico de sementes de *Carapa procera*, também apresentou inibição da alimentação de lagartas, quando os

extratos foram aplicados sobre discos de feijoeiro, em testes de dupla escolha (MIKOLAJCZAK et al. 1988).

A duração de fase pupal variou entre 8,5 e 10,7 dias, sendo que somente o extrato metanólico de ramos de *T. elegans* apresentou período de pupa superior ao controle. Todos os demais extratos testados apresentaram diminuição da fase pupal e o extrato metanólico das folhas de *T. clausenii* apresentou o menor período de pupa de 8,5 dias em relação a 10,5 dias do controle (TABELA 4.20). Estes resultados concordam com os resultados obtidos para os extratos aquosos de *T. clausenii* e *T. catigua* incorporados à dieta artificial obtidos por RODRÍGUEZ & VENDRAMIM (1996, 1997), pois não foi constatado nenhum efeito dos extratos sobre a duração da fase pupal de *S. frugiperda*. BOGORNI & VENDRAMIM (2005) não verificaram nenhum efeito na duração da fase pupal quando extratos destas espécies de *Trichilia* foram aplicadas em folhas de milho.

O maior efeito sobre o peso das pupas foi constatado para o extrato metanólico de folhas de *T. clausenii* (237,0 mg) quando comparado ao controle (283,7 mg). Contudo, estes dados são diferentes dos apresentados por BOGORNI & VENDRAMIM (2005), em que esta espécie não causou nenhum efeito sobre o peso de pupas. RODRÍGUEZ & VENDRAMIM (1997) e BOGORNI & VENDRAMIM (2005) verificaram que os extratos aquosos de folhas, ramos e caules de *T. clausenii* não apresentaram alteração no peso pupal.

Além desse tratamento, os extratos hexânicos de folhas e ramos de *T. elegans* e o extrato metanólico de ramos de *T. catigua* também causaram diminuição do peso pupal (243,1; 239,4 e 247,8 mg, respectivamente) em relação do controle (283,7 mg) (TABELA 4.20). RODRÍGUEZ & VENDRAMIM (1996), verificaram que o extrato aquoso de ramos de *T. catigua* reduziu o peso de pupas. No entanto, BOGORNI & VENDRAMIM (2005) verificaram que os extratos de folhas e ramos desta espécie não alteraram o peso de pupas quando aplicados na folha de milho. A redução do peso pupal apresentada para os extratos hexânicos de folhas e ramos de *T. elegans* está de acordo com os dados apresentados por RODRÍGUEZ & VENDRAMIM (1996), em que o extrato aquoso de folhas reduziu o peso pupal.

A inibição da alimentação provocada por extratos vegetais pode interferir no peso pupal. Se o peso é menor que o do controle, sugere-se que a planta provoca diminuição no consumo e utilização do alimento. Como consequência pupas de menor peso darão origem a adultos pequenos, e possivelmente haverá

problemas na cópula destes indivíduos com indivíduos normais e as fêmeas serão menos fecundas (RODRÍGUEZ & VENDRAMIM 1996).

O alongamento da fase larval e a redução do peso pupal como ocorreram com os extratos metanólico de ramos de *T. catigua*, metanólico e hidrometanólico de ramos de *T. clausenii* e hexânico de folhas de *T. elegans* indicam que, além de inibir o crescimento larval, é possível que também tenha ocorrido inibição na alimentação ou menor eficiência de conversão do alimento ingerido (TANZUBIL & McCAFFERY 1990).

O prolongamento da fase larval devido ao crescimento lento do inseto (inibição do crescimento), sem diminuir o peso de pupa, como ocorreu com o extrato hidrometanólico de ramos de *T. elegans*, possivelmente foi provocado pela ocorrência de doses baixas de substâncias tóxicas, pois segundo TANZUBIL & McCAFFERY (1990), estas doses inibem o crescimento, mas não inibem a alimentação.

Os extratos hexânico e metanólico de folhas e o hexânico de ramos de *T. clausenii* ocasionaram uma alta mortalidade larval de 80,0; 70,0 e 60,0 %, respectivamente (TABELA 4.21). As espécies *T. catigua* e *T. elegans* não provocaram efeito na sobrevivência de lagartas de *S. frugiperda* (TABELA 4.21). A ausência de atividade dos extratos aquosos de folhas e ramos de *T. elegans* sobre a praga já havia sido constatada por RODRÍGUEZ & VENDRAMIM (1996), quando os referidos extratos foram adicionados à dieta artificial e oferecidos às lagartas. Estes dados foram reforçados por BOGORNÍ & VENDRAMIM (2005), em que novamente não se observou nenhum tipo de atividade inseticida dos extratos aquosos de folhas e ramos de *T. elegans* sobre a lagarta do cartucho-do-milho, quando aplicados sobre a folha de milho. No entanto, foram observadas taxas significativas de mortalidade larval para o extrato de ramos de *T. clausenii* e de folhas de *T. catigua* (BOGORNÍ & VENDRAMIM 2005). Os efeitos causados por *T. clausenii* podem estar associados a um ou mais compostos orgânicos já isolados e identificados em caules, folhas e frutos (PUPO, et al., 1996, 1997, 1998 e 2002), contudo, as atividades inseticidas destes compostos ainda não foram avaliadas.

No entanto ao fracionarmos o extrato hexânico de folhas de *T. clausenii*, foram isolados os esteróides (XI, XII, XIII e XIV) e os triterpenóides (V, VI, VII e VIII) bastante comuns na natureza, além do triterpeno do tipo cicloartano (IX) e do sesquiterpeno criptomeridiol (IV) ambos já isolados de *T. clausenii* (PUPO et al.,

1998). Apesar da alta atividade inseticida obtida para este extrato não há na literatura relatos de atividade inseticida para os compostos isolados. Do extrato metanólico de folhas de *T. clausenii* foram isolados somente os esteróides (**X** e **XV**). Desta forma, ou estes esteróides estão relacionados com a atividade deste extrato, ou as substâncias responsáveis por esta atividade ainda não foram isoladas.

Não foram constatados efeitos dos extratos orgânicos de folhas e ramos de *T. catigua*, *T. elegans* e *T. clausenii* sobre a mortalidade pupal (TABELA 4.21).

Com base nos resultados obtidos conclui-se que dentre as três espécies de *Trichilia* testadas, os extratos hexânico e metanólico de folhas e o hexânico de ramos de *T. clausenii* são os mais promissores para uso no controle de *S. frugiperda*. É importante salientar que as substâncias isoladas dos extratos orgânicos (PUPO et al. 1996, 1997, 1998 e 2002) podem ser diferentes das encontradas nos extratos aquosos (RODRÍGUEZ & VENDRAMIM, 1996 e 1997; BOGORNÍ & VENDRAMIM, 2003 e 2005). As altas taxas de mortalidade provocadas por estes extratos devem estar relacionadas às substâncias que ainda não foram avaliadas e que deverão ser alvo de futuros estudos.

TABELA 4.20. Médias da duração das fases larval e pupal, peso pupal de *S. frugiperda* alimentada com dieta artificial tratada com extratos orgânicos, a 1000 mg kg⁻¹, de ramos e folhas de *Trichilia* spp. Temp.: 25 ± 1°C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.

Tratamento	Duração (dias) (± EP)		Peso Pupal (mg) (± EP)		
	Fase Larval	Fase Pupal			
<i>T. catigua</i>	Controle	15,7 ± 1,05	10,5 ± 1,09	283,7 ± 22,32	
	Hexânico	19,7 ± 2,84	10,1 ± 1,03	267,1 ± 36,89	
	Folhas	Metanólico	16,7 ± 1,71	10,3 ± 0,98	267,0 ± 33,03
		Hidrometanólico	18,1 ± 2,00	10,5 ± 1,24	255,9 ± 26,42
		Hexânico	16,8 ± 2,08	10,3 ± 1,27	249,5 ± 31,82
	Ramos	Metanólico	22,1 ± 5,64	9,8 ± 1,90	247,8 ± 44,61
		Hidrometanólico	19,4 ± 3,84	10,4 ± 1,04	252,0 ± 56,46
<i>T. clausenii</i>	Controle	15,7 ± 1,05	10,5 ± 1,09	283,7 ± 22,32	
	Hexânico	15,0 ± 1,00	9,5 ± 0,55	297,5 ± 6,02	
	Folhas	Metanólico	17,7 ± 4,77	8,5 ± 0,55	237,0 ± 26,54
		Hidrometanólico	16,7 ± 2,82	10,2 ± 1,41	267,9 ± 36,71
		Hexânico	14,7 ± 0,87	9,5 ± 0,52	271,0 ± 27,00
	Ramos	Metanólico	18,0 ± 3,18	10,4 ± 1,05	255,7 ± 34,69
		Hidrometanólico	17,9 ± 1,41	9,9 ± 1,02	254,8 ± 29,82
<i>T. elegans</i>	Controle	15,7 ± 1,05	10,5 ± 1,09	283,7 ± 22,32	
	Hexânico	19,0 ± 3,30	10,4 ± 0,89	243,1 ± 28,37	
	Folhas	Metanólico	17,2 ± 1,67	9,9 ± 1,00	252,3 ± 46,54
		Hidrometanólico	17,5 ± 2,44	9,7 ± 1,33	249,1 ± 30,53
		Hexânico	17,7 ± 2,57	10,0 ± 1,56	239,4 ± 49,55
	Ramos	Metanólico	18,1 ± 5,67	10,7 ± 1,28	249,9 ± 32,30
		Hidrometanólico	18,9 ± 5,54	10,4 ± 1,12	255,2 ± 38,78

TABELA 4.21. Mortalidade das fases larval e pupal de *S. frugiperda* alimentada com dieta artificial tratada com extratos orgânicos, a 1000 mg kg⁻¹, de ramos e folhas de *Trichilia* spp. Temp.: 25 ± 1^oC; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.

Tratamento		Mortalidade (%) (± EP)		
		Fase Larval	Fase Pupal	
<i>T. catigua</i>	Controle	6,7 ± 4,22	3,3 ± 3,33	
	Folhas	Hexânico	36,7 ± 8,03	16,7 ± 8,03
		Metanólico	23,3 ± 10,85	10,0 ± 4,47
	Ramos	Hidrometanólico	13,3 ± 4,22	23,3 ± 9,54
		Hexânico	33,3 ± 6,67	23,3 ± 9,54
		Metanólico	20,0 ± 10,33	3,33 ± 3,33
	Hidrometanólico	6,7 ± 4,22	10,0 ± 4,47	
<i>T. clausenii</i>	Controle	6,7 ± 4,22	3,3 ± 3,33	
	Folhas	Hexânico	80,0 ± 6,67	0
		Metanólico	70,0 ± 4,47	10,0 ± 4,47
	Ramos	Hidrometanólico	3,33 ± 3,33	13,3 ± 6,67
		Hexânico	60,0 ± 3,33	0
		Metanólico	16,7 ± 6,14	10,0 ± 4,47
	Hidrometanólico	30,0 ± 4,47	10,0 ± 6,83	
<i>T. elegans</i>	Controle	6,7 ± 4,22	3,3 ± 3,33	
	Folhas	Hexânico	36,7 ± 6,15	10,0 ± 6,83
		Metanólico	36,7 ± 9,54	3,33 ± 3,33
	Ramos	Hidrometanólico	33,3 ± 4,22	3,33 ± 3,33
		Hexânico	10,0 ± 4,47	3,33 ± 3,33
		Metanólico	16,7 ± 6,15	13,3 ± 6,67
	Hidrometanólico	16,7 ± 6,15	6,7 ± 6,67	

4.7.2 – Efeito dos extratos de frutos e sementes no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*

Um prolongamento da fase larval foi observado para insetos tratados com os extratos hexânico, metanólico e hidrometanólico de sementes de *T. catigua* de 7,6; 8,6 e 11,2 dias, respectivamente, quando comparados com o controle (17,6 dias) (TABELA 4.22). Estes mesmos extratos demonstraram uma significativa redução no peso pupal de 85,8; 90,5 e 108,5 mg, respectivamente, em comparação com o controle (283,7 mg) (TABELA 4.22). O extrato hidrometanólico do arilo de *T. catigua* também mostrou prolongamento da fase larval (5,0 dias) seguida de redução no peso pupal (67,7 mg) (TABELA 4.22), comparado com o controle (17,6 dias e 283,7 mg).

Os extratos hidrometanólico de sementes, hexânico de frutos e hexânico do exocarpo de *T. clausenii* quando incorporados à dieta artificial mostraram uma prolongação da fase larval de 3,1; 3,2 e 2,5 dias, respectivamente, comparados com o controle (17,6 dias), seguido por redução no peso pupal de 31,6; 54,2 e 43,4 mg, respectivamente, quando comparados com o controle (283,7 mg) (TABELA 4.22).

Lagartas alimentadas com dieta artificial tratada com extrato hidrometanólico de frutos de *T. elegans* demonstraram prolongamento da fase larval (9,5 dias), seguido por redução do peso pupal (117,0 mg) comparado com o controle (14,5 dias e 274,0 mg, respectivamente) (TABELA 4.22).

A duração da fase pupal variou de 9,7 a 11,2 dias (dados não mostrados). As lagartas alimentadas com dieta artificial tratada com extratos de *T. catigua*, *T. clausenii* e *T. elegans* não mostraram variações significativas quando comparadas com o controle (10,2 dias).

Os extratos hexânico, metanólico e hidrometanólico de sementes de *T. catigua* provocaram mortalidades larvais moderadas ($\cong 50,0\%$) (TABELA 4.23). No entanto, larvas alimentadas com dieta artificial tratada com extrato metanólico dos frutos de *T. clausenii* apresentaram alta mortalidade (90,0 %). A mais alta taxa de mortalidade larval (100,0 %) foi produzida com os extratos hexânico e metanólico de frutos de *T. elegans* (TABELA 4.23). Conseqüentemente, experimentos utilizando os extratos hexânico, metanólico e hidrometanólico de frutos de *T. elegans* foram realizados.

O “screening” inicial dos extratos orgânicos de sementes e frutos das três espécies de *Trichilia* mostrou que todas as espécies possuem alguma bioatividade sobre *S. frugiperda* a 1000 mg kg⁻¹ quando incorporados à dieta artificial. *T. elegans* apresentou a mais alta atividade e *T. catigua* a mais baixa. Para os extratos hexânico e metanólico de frutos de *T. elegans* foi observada incapacidade das larvas para empuparem. A formação de anéis nas lagartas pode estar relacionada com variações hormonais nos insetos afetados. As lagartas não conseguiram fazer a muda. Os mesmos resultados foram obtidos para larvas tratadas com azadiractina, além disso, azadiractina tem se mostrado capaz de interferir com a ecdise (TANZUBIL & McCAFFERY, 1990). Vários limonóides foram isolados dos frutos de *T. elegans* (GARCEZ et al., 1996, 1997, 2000), mas suas atividades ainda não foram determinadas.

O extrato metanólico de frutos de *T. clausenii* apresentou a mais alta atividade inseticida (90,0 % de mortalidade). As larvas alimentadas com dieta artificial tratada com este extrato morreram antes de empuparem ou produziram intermediários lagarta-pupa. As poucas pupas levaram à adultos com as asas curvas, frisadas e, conseqüentemente, incapazes de embarcar em vôos migratórios. Esta mesma atividade foi observada para derivados do nim sobre *S. exempta* Walker (TANZUBIL & McCAFFERY, 1990). Deste modo, o extrato metanólico de frutos de *T. clausenii* apresentou habilidade para interromper o ciclo de vida de *S. frugiperda*. Os efeitos causados pelo extrato metanólico de *T. clausenii* pode estar associado com vários compostos isolados dos frutos (PUPO et al., 1998).

Há dificuldades para compararmos estas atividades com outros extratos e compostos, já que são utilizadas diferentes técnicas de bioensaios e espécies testadas. MIKOLAJCZAK & REED (1987) descreveu a alta atividade inseticida dos extratos etanólicos de *T. connaroides*, *T. prieureana* e *T. roka* em teste de não escolha, a 1 % (p/v) sobre *S. frugiperda*. RODRÍGUEZ & VENDRAMIM (1996, 1997) mostraram que os extratos aquosos de galhos e ramos de *T. pallida* produziram 99 - 100 % de mortalidade em *S. frugiperda*, enquanto galhos de *T. catigua* produziram inibição de alimentação no estágio larval. Folhas de *T. catigua* e *T. clausenii* apresentaram mortalidade próxima a 30 %. Galhos de *T. elegans* e *T. clausenii* não apresentaram atividade tóxica sobre *S. frugiperda* a 5 % (p/v). Entre as seis espécies de *Trichilia* coletadas na Costa Rica, o extrato metanólico dos

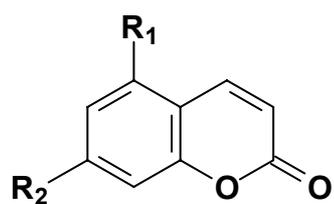
ramos de *T. americana* foi o mais ativo, com um EC₅₀ de 17,2 ppm (WEELER et al., 2001a).

Quando extratos brutos de *T. catigua*, *T. clausenii* e *T. elegans* foram incorporados à dieta artificial para alimentar *S. frugiperda* vários efeitos foram notados. O primeiro efeito foi na duração da fase larval. A TABELA 4.22 mostra que houve uma prolongação da fase larval para larvas tratadas com os extratos hexânico, metanólico e hidrometanólico de sementes e hidrometanólico do exocarpo de *T. catigua*, hidrometanólico de sementes, hexânico de frutos e hexânico do arilo de *T. clausenii* e hidrometanólico de frutos de *T. elegans*. Estes dados sugerem que estes extratos agiram como inibidores de crescimento larval. Os mesmos extratos apresentaram redução no peso pupal, sugerindo atividade antialimentar. No entanto, entre estes extratos o mais ativo foi o extrato hidrometanólico de frutos de *T. elegans*. Como consequência, os insetos tornam-se mais vulneráveis a ação de entomopatógenos, agentes entomofágos e variações ambientais (TANZUBIL & MCCAFFERY, 1990). Adultos emergidos de pupas de baixo peso podem ser mais debilitados e terão menor capacidade de competição para atividades vitais que indivíduos oriundos de pupas maiores (BATISTA-PEREIRA et al., 2002).

Os extratos hexânico e metanólico de frutos de *T. elegans* apresentaram mortalidade similar ao extrato aquoso das sementes de *Azadirachta indica* sobre larvas de *S. exempta* (TANZUBIL & MCCAFFERY, 1990), demonstrando ser um poderoso inseticida.

Ao se fracionar o extrato metanólico de frutos de *T. elegans* foram isoladas somente as cumarinas (I, II e III), do extrato hexânico foram isoladas as mesmas cumarinas (I, II e III) e os esteróides (XI, XII, XIII e XIV). Há na literatura relatos de atividade antialimentar de furanocumarinas sobre *S. exigua* (BERDEGUÉ et al. 1997) e *S. litura* (YAJIMA et al., 1979).

YAJIMA et al. (1979) testaram diversas cumarinas frente *S. litura*, em que lagartas de 3^o ínstar foram utilizadas em teste de escolha para se determinar à atividade antialimentar. Dentre as cumarinas foram testadas 5-metoxi-7-hidroxi-cumarina (XXIII), 5-metoxi-7-acetoxi-cumarina (XXIV), umbeliferona (III) e cumarina (XXV) (FIGURA 4.57). Somente a umbeliferona (III) apresentou resultados interessantes de atividade antialimentar, 45 % e 77 % a uma concentração de 1000 e 100 ppm, respectivamente. No entanto, estes resultados se mostraram pouco atraentes quando comparados com dados apresentados para as furanocumarinas.



	R ₁	R ₂
XXIII	OMe	OH
XXIV	OMe	OAc
III	H	OH
XXV	H	H

FIGURA 4.57 – Cumarinas testadas frente a *S. litura*.

Deste modo, acredita-se que as substâncias responsáveis pela atividade inseticida destes extratos não foram isoladas.

TABELA 4.22 Médias da duração da fase larval e peso pupal de *S. frugiperda* alimentada com dieta artificial tratada com extratos orgânicos, a 1000 mg kg^{-1} , de frutos e sementes de *Trichilia* spp. Temp.: $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$; UR: $70 \pm 5\%$ e fotofase: 12 h.

Tratamento			Duração da fase larval (dias)(\pm EP)	Peso pupal (mg)(\pm EP)	
<i>T. catigua</i>	Sementes	Hexânico	$25,2 \pm 2,65$	$197,9 \pm 37,55$	
		Metanólico	$26,2 \pm 3,27$	$193,2 \pm 36,24$	
		Hidrometanólico	$28,8 \pm 4,49$	$175,2 \pm 46,14$	
	Arilo	Metanólico	$18,6 \pm 1,01$	$265,3 \pm 28,85$	
		Hidrometanólico	$19,1 \pm 1,41$	$272,2 \pm 19,72$	
	Exocarpo	Hexânico	$19,4 \pm 2,08$	$278,5 \pm 33,08$	
		Metanólico	$20,5 \pm 4,78$	$276,2 \pm 44,81$	
		Hidrometanólico	$22,6 \pm 2,79$	$216,0 \pm 41,40$	
		Controle	$17,6 \pm 0,87$	$283,7 \pm 22,32$	
	<i>T. clausenii</i>	Sementes	Hexânico	$20,3 \pm 1,93$	$266,2 \pm 30,50$
Metanólico			$21,8 \pm 2,91$	$254,1 \pm 28,28$	
Hidrometanólico			$20,7 \pm 2,56$	$230,3 \pm 60,95$	
Arilo		Hexânico	$19,0 \pm 1,45$	$267,1 \pm 45,19$	
		Metanólico	$18,6 \pm 1,33$	$266,0 \pm 30,75$	
		Hidrometanólico	$20,0 \pm 2,96$	$275,8 \pm 26,14$	
		Controle	$17,6 \pm 0,87$	$283,7 \pm 22,32$	
Frutos		Hexânico	$20,8 \pm 2,50$	$229,5 \pm 28,46$	
		Hidrometanólico	$20,2 \pm 1,66$	$270,9 \pm 36,84$	
Exocarpo		Hexânico	$20,1 \pm 1,62$	$240,3 \pm 44,32$	
		Metanólico	$20,6 \pm 4,05$	$261,8 \pm 46,78$	
		Hidrometanólico	$19,8 \pm 1,68$	$257,6 \pm 26,36$	
		Controle	$17,6 \pm 0,87$	$283,7 \pm 22,32$	
<i>T. elegans</i>		Frutos	Hidrometanólico	$24,0 \pm 1,10$	$157,0 \pm 36,56$
			Controle	$14,5 \pm 0,89$	$274,0 \pm 18,79$

TABELA 4.23 Mortalidade da fase larval de *S. frugiperda* alimentada com dieta artificial tratada com extratos orgânicos, a 1000 mg kg⁻¹, de sementes e frutos de *Trichilia* spp. Temp.: 25 ± 1°C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.

		Mortalidade da fase larval (%)			
		Controle	Hexânico	Metanólico	Hidrometanólico
<i>T. catigua</i>	Sementes	6,67	56,67	43,33	53,33
	Arilo	6,67	NT	10,00	13,33
	Exocarpo	6,67	13,33	13,33	23,33
<i>T. clausenii</i>	Sementes	6,67	20,00	30,00	13,33
	Arilo	6,67	26,67	30,00	30,00
	Frutos	6,67	40,00	90,00	20,00
	Exocarpo	6,67	33,33	60,00	23,33
<i>T. elegans</i>	Frutos	10,00	100,00	100,00	33,33

NT – Não testada.

Apesar da baixa atividade inseticida do extrato metanólico do arilo de *T. catigua* (10,0 %) este foi fracionado. Ao se fracionar este extrato foram isolados os limonóides angolensato de metila (**XVI**), mistura epimérica de fotogedunina (**XVII** e **XVIII**), cedrelona (**XIX**) e 11 β -metoxicedrelona (**XX**).

O angolensato de metila (**XVI**), isolado da casca de *Khaya senegalensis* mostrou uma atividade antialimentar no método de disco de escolha convencional no terceiro instar larval de *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae) a 500 μ g/ml (ABDELGALEIL e NAKATANI, 2003).

SURESH et al. (2002) examinaram a estrutura versus atividade antialimentar de compostos relacionados a plantas pertencentes à ordem Rutales. Ensaio de dupla escolha contra *Spodoptera litura* L. (Lepidoptera: Noctuidae) foi utilizado, e o limonóide (**XVI**) mostrou um índice alimentar (PFI) de 65,3, valor este próximo da cedrelona (**XIX**) que apresentou o PFI de 51,5.

Dois limonóides, sandoricina (**XXVI**) e 6-hidroxisandoricina (**XXVII**) (FIGURA 4.58), isolados das sementes de *Sandoricum koetjape* Merr. (Meliaceae), que possuem estrutura química similar ao angolensato de metila (**XVI**), mostraram uma significativa atividade antialimentar contra a lagarta-do-cartucho do milho em dieta incorporada a 25 ppm e também uma atividade similar contra *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae) a 200 ppm.

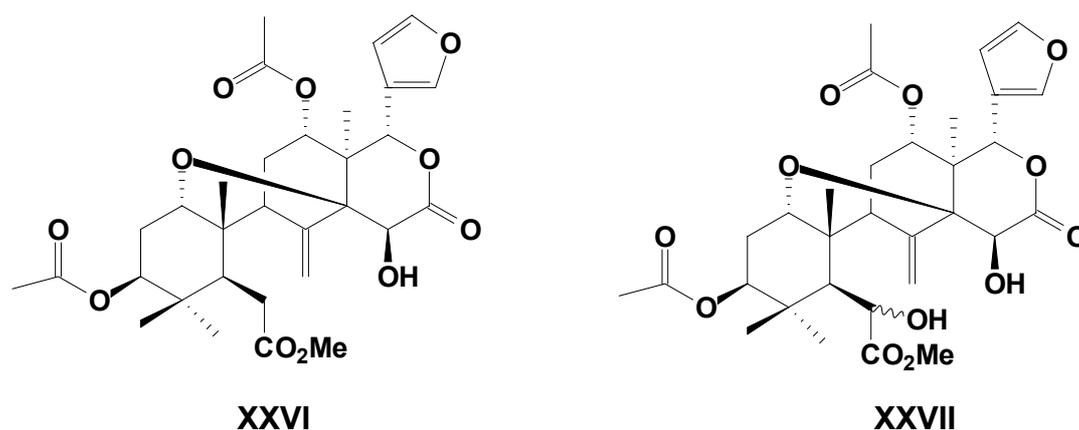


FIGURA 4.58 - Estruturas dos limonóides sandoricina (**XXVI**) e 6-hidroxisandoricina (**XXVII**).

A mistura epimérica de fotogedunina (**XVII** e **XVIII**) causou mortalidade larval de 95,83 % a 25,0 ppm ao serem incorporadas a dieta artificial para *S. frugiperda* (CÉSPEDES et al., 2000).

Vários são os trabalhos descritos na literatura em que se demonstra a atividade inseticida do limonóide cedrelona (**XIX**) (KOUL & ISMAN, 1992; ARNASON et al., 1987) e atividade antialimentar contra diversas espécies de lepidópteros (SURESH et al., 2002).

Cedrelona (**XIX**) apresentou EC_{50} de 53,1 e 14,1 ppm quando incorporada à dieta artificial de *Peridroma saucia* Hübner e *Mamestra configurata* Walker (KOUL & ISMAN, 1992). No entanto, *Pectinophora gossypiella* (EC_{50} = 3 ppm), *S. frugiperda* (EC_{50} = 2 ppm) e *Heliothis zea* (EC_{50} = 8 ppm) são aparentemente mais suscetíveis a cedrelona (**XIX**) (KUBO & KLOCKE, 1986). Cedrelona (**XIX**) apresentou 60 % de mortalidade em *Ostrinia nubilalis* Hübner quando incorporada à dieta artificial (ARNASON et al., 1987).

Todos os limonóides isolados do extrato metanólico do arilo de *T. catigua* apresentam atividade inseticida relevante, no entanto foi observada uma baixa mortalidade larval deste extrato (10 %). Aparentemente esta baixa atividade está relacionada ao fato de se ter somente 19,0 mg de limonóides em 1,3 g de extrato. Por outro lado, do extrato hexânico do arilo de *T. catigua* (massa do extrato 230,6 mg) foram isolados 22,6 mg de limonóides (**XIX** e **XX**). Infelizmente este extrato não pode ser ensaiado devido a sua pouca massa.

4.7.2.1 – Efeito dos extratos de frutos de *T. elegans* no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*

A duração das fases larval e pupal e peso das pupas não apresentaram variações significantes em relação ao controle para larvas alimentadas com dieta artificial tratada com extratos hexânico, metanólico e hidrometanólico de *T. elegans* a diferentes concentrações (1,0 – 100,0 mg kg⁻¹, TABELA 4.24). No entanto, a concentração de 50,0 mg kg⁻¹, os extratos hexânico, metanólico e hidrometanólico levaram a mortalidades moderadas de 43,3; 53,3 e 46,7 % (TABELA 4.25), respectivamente, para o ciclo de vida total (lagarta recém-eclodida até emergência do adulto). Quando a concentração destes extratos foi aumentada para 100,0 mg kg⁻¹, a mortalidade do ciclo total aumentou para 50,0; 56,7 e 50,0 %, respectivamente (TABELA 4.25, FIGURA 4.59).

Os extratos mais ativos de *T. elegans* foram obtidos dos frutos, com atividade inseticida de 43,3; 53,3 e 46,7 % a 50,0 mg kg⁻¹ para hexânico, metanólico e hidrometanólico, respectivamente.

TABELA 4.24. Médias da duração da fase larval e peso pupal de *S. frugiperda* alimentada com dieta artificial tratada com extratos orgânicos, a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg⁻¹, de frutos *T. elegans*. Temp.: 25 ± 1^oC; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.

Concentração (mg kg ⁻¹)	Extrato	Duração (dias) (±EP)		Peso pupal (mg) (±EP)
		Fase larval	Fase pupal	
1,0	Hexânico	19,7 ± 2,61	9,7 ± 1,46	264,9 ± 41,56
	Metanólico	18,6 ± 0,68	9,6 ± 1,75	265,2 ± 21,45
	Hidrometanólico	20,5 ± 2,65	10,1 ± 0,95	261,7 ± 20,25
	Controle	19,7 ± 4,03	9,4 ± 1,03	268,4 ± 27,82
10,0	Hexânico	20,8 ± 4,04	9,8 ± 0,91	260,3 ± 27,14
	Metanólico	19,8 ± 4,27	9,3 ± 1,45	262,4 ± 25,81
	Hidrometanólico	20,9 ± 1,79	10,0 ± 0,97	262,3 ± 30,58
	Controle	19,7 ± 4,03	9,4 ± 1,03	268,4 ± 27,82
50,0	Hexânico	21,0 ± 1,43	10,1 ± 0,64	262,7 ± 21,86
	Metanólico	20,0 ± 3,02	10,0 ± 1,04	251,7 ± 40,73
	Hidrometanólico	21,0 ± 2,77	9,6 ± 0,63	262,2 ± 30,37
	Controle	19,7 ± 4,03	9,4 ± 1,03	268,4 ± 27,82
100,0	Hexânico	22,0 ± 1,75	9,9 ± 1,51	260,9 ± 24,40
	Metanólico	21,5 ± 4,49	9,8 ± 0,83	248,0 ± 24,05
	Hidrometanólico	22,0 ± 3,66	10,0 ± 0,97	262,2 ± 30,96
	Controle	19,7 ± 4,03	9,4 ± 1,03	268,4 ± 27,82

¹ Médias não diferem entre si pelo Teste de Tukey (P ≤ 0,05).

Tabela 4.25. Médias da mortalidade do ciclo total de *S. frugiperda* alimentada com dieta artificial tratada com extratos orgânicos, a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg⁻¹, dos frutos de *T. elegans*. Temp.: 25 ± 1⁰C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.

Concentração (mg kg ⁻¹)	Mortalidade do ciclo total (%)			
	Controle	Hexânico	Metanólico	Hidrometanólico
1,0	6,67	23,33	23,33	23,33
10,0	6,67	26,67	40,00	33,33
50,0	6,67	43,33	53,33	46,67
100,0	6,67	50,00	56,67	50,00

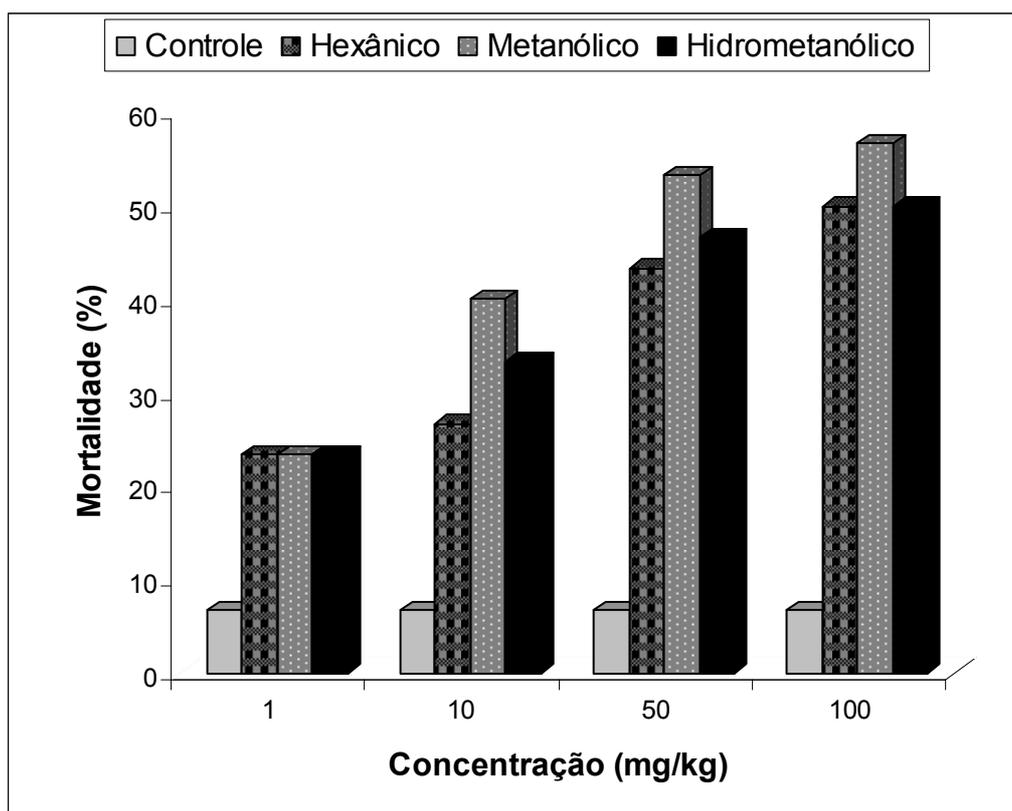


FIGURA 4.59. Médias da mortalidade do ciclo total de *S. frugiperda* alimentada com dieta artificial tratada com extratos orgânicos, a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg⁻¹, dos frutos de *T. elegans*.

4.7.3 – Atividade de triterpenóides isolados de *Cedrela fissilis* (Meliaceae) no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*

Prolongamento da fase larval foi observado para insetos tratados com ácido oleanólico (**XXVIII**), ácido oleanônico (**XXIX**) e odoratol (**XXXII**) a 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg⁻¹ quando comparado com o controle. A toosendanina (**XXXIII**) também causou prolongamento da fase larval a 100,0 mg kg⁻¹. Somente as larvas alimentadas com odoratol (**XXXII**) a 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg⁻¹ mostraram alterações na fase pupal quando comparadas com o controle. Todos os compostos reduziram o peso pupal.

Prolongamento de 6,5 dias na fase larval em relação ao controle (22,7 dias) foi observado para larvas tratadas com o odoratol (**XXXII**) a 1,0 mg kg⁻¹ em adição a uma significativa redução (42,04 mg) do peso pupal, quando comparado com o controle (272,74 mg) (TABELA 4.26). No entanto, quando a concentração de odoratol (**XXXII**) na dieta foi aumentada para 10,0 mg kg⁻¹, o prolongamento observado da fase larval foi de 10,6 dias e a redução no peso pupal de 50,64 mg. Com o aumento da concentração para 50,0 mg kg⁻¹ um significativo prolongamento da fase larval de 30,6 dias e redução de 93,47 mg no peso pupal (TABELA 4.26) foram observados. As larvas tratadas com odoratol (**XXXII**) a 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg⁻¹ mostraram redução na fase pupal de 1,7; 2,0 e 2,1 dias, respectivamente, quando comparados com o controle (10,1 dias) (TABELA 4.26). Estes dados sugerem que o odoratol (**XXXII**) age como inibidor de crescimento larval e antialimentar. Adultos emergidos de pupas com baixo peso podem ser mais debilitados e conseqüentemente terão menor capacidade de competição para atividades vitais (BATISTA-PEREIRA et al., 2002). Desta forma, os insetos serão mais vulneráveis a ação de entomopatógenos, agentes entomofágos e variações ambientais (TANZUBIL & McCAFFERY, 1990).

Ácido oleanólico (**XXVIII**) e ácido oleanônico (**XXIX**) também provocaram prolongamento da fase larval seguido de redução do peso pupal. As larvas tratadas com ácido oleanólico (**XXVIII**) mostraram prolongamento da fase larval de 5,5 (1,0 e 10,0 mg kg⁻¹) e 5,7 dias (50,0 mg kg⁻¹) quando comparados com o controle (22,7 dias) (TABELA 4.26). A redução do peso pupal foi de 30,41; 46,46 e 47,25 mg a 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg⁻¹, respectivamente, quando comparados com o controle (272,74 mg) (TABELA 4.26). Para larvas tratadas com ácido oleanônico

(**XXIX**) a 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg⁻¹ foi observado um prolongamento da fase larval de 4,3; 5,6 e 6,5 dias, respectivamente, comparados com o controle (22,7 dias), seguido pela redução do peso pupal de 30,45; 34,49 e 48,17 mg, respectivamente, quando comparados com o controle (272,74 mg) (TABELA 4.26). Ácido oleanólico (**XXVIII**) e ácido oleanônico (**XXIX**) também demonstraram efeitos antialimentar e inibidor de crescimento larval.

Hispidol A (**XXX**) e piscidinol A (**XXXI**) não provocaram variações significantes nas fases larval e pupal. As larvas alimentadas com dieta artificial tratada com piscidinol A (**XXXI**) a 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg⁻¹ mostraram redução do peso pupal de 29,85; 33,79 e 40,85 mg, respectivamente (TABELA 4.26).

Toosendanina (**XXXIII**) foi utilizada como controle positivo e demonstrou prolongamento da fase larval seguido por redução do peso pupal (FIGURAS 4.61 e 4.62).

Odoritol (**XXXII**) apresentou-se como o mais potente inibidor de crescimento larval e antialimentar (FIGURAS 4.61 e 4.62). Ácidos oleanólico (**XXVIII**) e oleanônico (**XXIX**) possuem estruturas químicas semelhantes, a diferença entre eles é que em **XXIX** há uma hidroxila e em **XXVIII** uma carbonila no C-3 (FIGURA 4.60). Ambos provocaram variações significativas das fases larval e pupal e peso pupal, no entanto suas atividades antialimentar e inibidor de crescimento larval são similares (FIGURAS 4.61 e 4.62). Hispidol A (**XXX**) e piscidinol A (**XXXI**) apresentaram variações similares na fase larval e peso pupal.

Entre 1,0 e 50,0 mg kg⁻¹, hispidol A (**XXX**) e piscidinol A (**XXXI**) apenas levaram a mortalidades moderadas (< 40 %) (TABELA 4.27). Ácido oleanólico (**XXVIII**) e ácido oleanônico (**XXIX**), a 1,0; 10,0 and 50,0 mg kg⁻¹, hispidol A (**XXX**) a 100,0 mg kg⁻¹ e odoritol (**XXXII**) a 1,0 mg kg⁻¹ produziram mortalidades um pouco mais elevadas (≅ 50 %) (TABELA 4.27). Porém, ácido oleanólico (**XXVIII**) apresentou moderada atração alimentar e significativa toxicidade pós-ingestiva em *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) (PUNGITORE et al., 2005) além de atividade antialimentar sobre *Heliothis zea* (L.) (ARGANDOÑA et al., 1993).

Em concentrações de 10,0 e 50,0 mg kg⁻¹ odoritol (**XXXII**) causou altas taxas de mortalidade larval de 63,3 e 66,7 %, respectivamente, e a 100,0 mg kg⁻¹ demonstrou a mais alta atividade inseticida com 90,0 % de mortalidade na fase larval (TABELA 4.27). A alta atividade inseticida do odoritol (**XXXII**) pode provavelmente estar relacionada com a presença de duas hidroxilas em C-23 e C-21

(SURESH et al., 2002). CÉSPEDES et al. (2000) sugere que a presença de uma função oxigenada em C-23 foi necessária para atividade elevada da mistura epimérica de acetato de fotogedunina e da mistura epimérica de fotogedunina sobre *S. frugiperda*, ambos isolados de *Cedrela salvadorensis* e *Cedrela dugessi* (Meliaceae). Odoratol (**E**) causou mortalidade larval maior que cedrenolídeo, isolado de *C. salvadorensis* sobre a praga europeia do milho, *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae) (JIMENEZ et al., 1997; ARNASON et al., 1987).

Os triterpenóides ácido oleanólico (**XXVIII**), ácido oleanônico (**XXIX**) e odoratol (**XXXII**), demonstraram atividade inibidora de crescimento larval e antialimentar comparável ao inseticida comercial toosendanina (**XXXIII**). Odoratol (**XXXII**) mostrou ser um poderoso inseticida e possui potencial para futuros estudos.

TABELA 4.26. Médias da duração da fase larval e peso pupal de *S. frugiperda* alimentada com dieta artificial tratada com triterpenóides (**XXVIII**, **XXIX**, **XXXI** e **XXXII**) a 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg⁻¹ e (**XXX** e **XXXIII**) a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg⁻¹. Temp.: 25 ± 1°C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.

Compostos	Concentração (mg kg ⁻¹)	Duração (dias)(±EP)		Peso pupal (mg)
		Fase		
		Larval	Pupal	
Ácido olenólico (XXVIII)	1,0	28,2(±4,8)	9,4(±1,7)	242,33
	10,0	28,4(±1,8)	9,3(±0,7)	226,18
	50,0	28,4(±4,7)	9,3(±2,3)	225,29
	Controle	22,7(±3,0)	10,1(±1,4)	272,74
Ácido oleanônico (XXIX)	1,0	26,0(±2,9)	10,2(±1,4)	242,29
	10,0	28,3(±3,1)	9,7(±1,7)	238,25
	50,0	29,2(±5,7)	9,6(±1,7)	224,57
	Controle	22,7(±3,0)	10,1 (±1,4)	272,74
Hispidol A (XXX)	1,0	21,2(±3,0)	10,3(±1,4)	252,89
	10,0	21,5(±5,1)	10,3(±1,1)	252,75
	50,0	19,9(±1,7)	10,6(±0,9)	251,68
	100,0	21,0(±2,3)	10,1(±1,3)	252,38
	Controle	22,7(±3,0)	10,1(±1,4)	272,74
Piscidinol A (XXXI)	1,0	22,9(±3,5)	10,0(±1,0)	242,85
	10,0	22,5(±2,9)	9,9(±1,2)	238,95
	50,0	22,7(±2,3)	9,7(±1,5)	231,89
	Controle	22,7(±3,0)	10,1(±1,4)	272,74
Odoratól (XXXII)	1,0	29,2(±5,3)	8,4(±1,5)	230,80
	10,0	33,3(±4,9)	8,1(±0,6)	222,20
	50,0	53,3(±3,8)	8,2(±0,6)	179,37
	Controle	22,7(±3,0)	10,1(±1,4)	272,74

Toosendanina	1,0	19,1(±2,7)	10,0(±1,6)	259,35
(XXXIII)	10,0	19,9(±3,4)	10,4(±1,3)	258,96
	50,0	24,4(±3,3)	10,3(±2,1)	216,22
	100,0	31,0(±5,2)	10,6(±2,5)	203,14
Controle		22,7(±3,0)	10,1(±1,4)	272,74

TABELA 4.27. Médias da mortalidade larval *S. frugiperda* alimentada com dieta artificial tratada com triterpenóides (**XXVIII**, **XXIX**, **XXXI** e **XXXII**) a 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg⁻¹ e (**XXX** e **XXXIII**) a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg⁻¹. Temp.: 25 ± 1°C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.

Concentração (mg kg ⁻¹) Composto	Mortalidade da fase larval (%)				
	Controle	1,0	10,0	50,0	100,0
(XXVIII)	10,0	40,0	43,3	56,7	NT
(XXIV)	10,0	43,3	46,7	53,3	NT
(XXX)	10,0	30,0	33,3	33,3	56,7
(XXXI)	10,0	30,0	33,3	33,3	NT
(XXXII)	10,0	46,7	63,3	66,7	90,0
(XXXIII)	10,0	10,0	10,0	23,3	26,7

NT – Não testada.

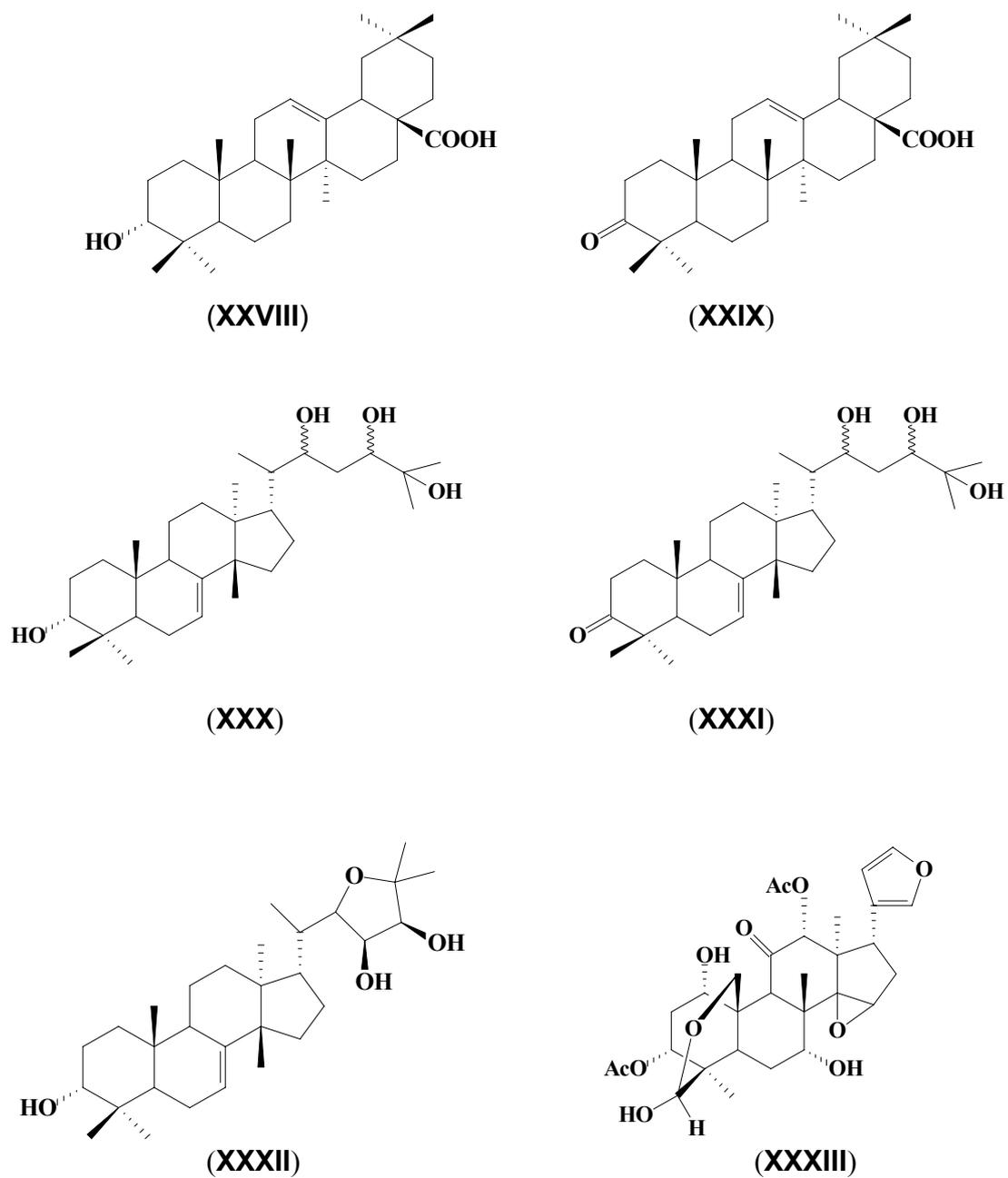


FIGURA 4.60. Triterpenóides (XXVIII - XXXII) isolados de *Cedrela fissilis* e toosendanina (XXXIII).

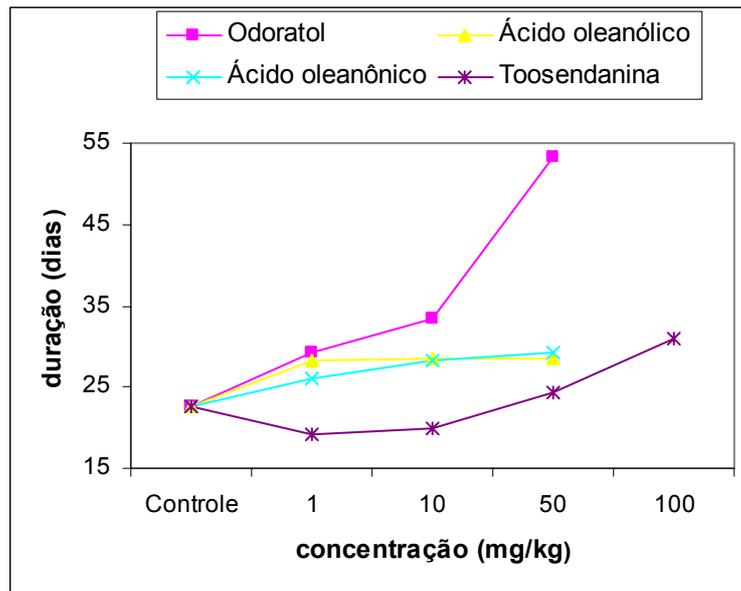


FIGURA 4.61. Médias da duração da fase larval de *S. frugiperda* alimentada com dieta artificial tratada com triterpenóides (**XXVIII**, **XXIX** e **XXXII**) a 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg⁻¹ e (**XXXI**) a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg⁻¹.

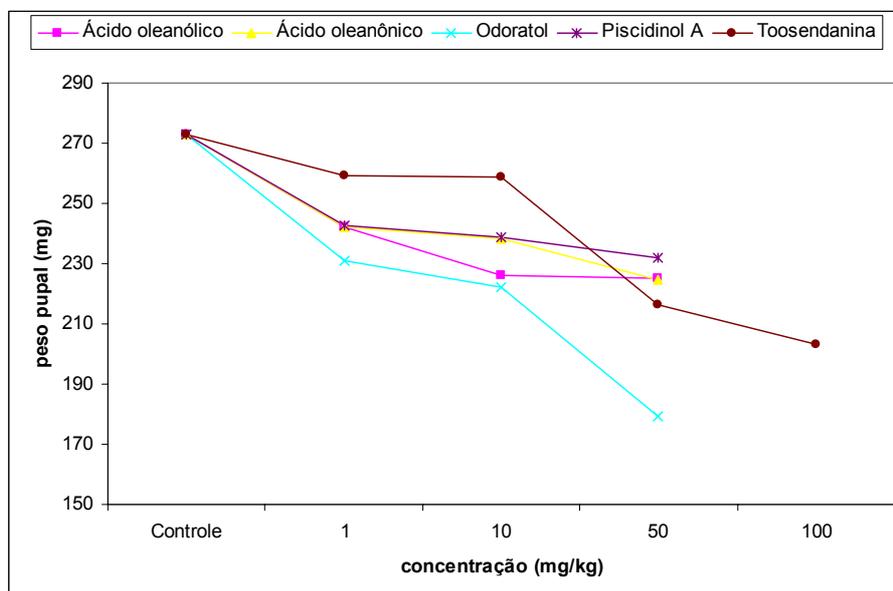


FIGURA 4.62. Médias do peso pupal de *S. frugiperda* alimentada com dieta artificial tratada com triterpenóides (**XXVIII**, **XXIX**, **XXXI** e **XXXII**) a 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg⁻¹ e (**XXXIII**) a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg⁻¹.

4.7.4 – Atividade de limonóides isolados de *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) no desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda*

Diferenças significativas foram observadas para mortalidade larval, pupal e ciclo de vida total (lagarta recém-eclodida até emergência do adulto) para *S. frugiperda* pelo aumento da concentração de febrifugina A (**XXXVIII**) na dieta (TABELA 4.28 e FIGURA 4.63). A mortalidade variou de 10,0 % (controle) para 20,0 %; 46,7 % e 50,0 % (na fase larval para 1,0; 10,0 e 50,0 mg kg⁻¹, respectivamente). Na fase pupal, a mortalidade variou de 0 % (controle) para 6,7 % (1,0 mg kg⁻¹); 6,7 % (10,0 mg kg⁻¹) e 23,3 % (50,0 mg kg⁻¹) (TABELA 4.28). Estas variações interferiram significativamente com a mortalidade do ciclo total, a média observada da mortalidade variou de 10,0 % (controle) para 73,3 % (50,0 mg kg⁻¹). Deste modo, febrifugina A (**XXXVIII**) apresentou a mais alta atividade inseticida a 50,0 mg kg⁻¹ com 73,3 % de mortalidade. Por outro lado, as larvas tratadas com khayasina T (**XXXIX**) demonstraram alta mortalidade do ciclo total (50,0 %) a 50,0 mg kg⁻¹ ao compararmos com o controle (10,0 %) (TABELA 4.28).

Os compostos cipadesina A (**XXXIV**), cipadesina (**XXXVI**), febrifugina (**XXXVII**) e toosendanina (**XXXIII**) (CHAMPAGNE et al., 1992) provocaram mortalidades moderadas para o ciclo total ($\leq 40,0$ %) a 50,0 mg kg⁻¹ quando comparados com o controle (10,0 %) (TABELA 4.28).

A alta atividade da febrifugina A (**XXXVIII**) reforça a observação de SURESH et al. (2002) de que uma hidroxila no C-23 e uma carbonila no C-21 são importantes para a atividade. Estes autores demonstraram que os limonóides com anel furano fotooxidado apresentaram um aumento na atividade antialimentar quando comparado com limonóides com o anel furano intacto. CÉSPEDES et al. (2000) sugerem que a alta atividade da mistura epimérica de acetato de fotogedunina e da mistura epimérica de fotogedunina sobre *S. frugiperda* deve-se à presença de uma oxigenação em C-23. Estes dados são confirmados quando comparados com a mortalidade moderada do ciclo total apresentada por larvas tratadas com febrifugina (**XXXVII**) (FIGURA 4.63).

Os efeitos dos limonóides do tipo mexicanolídeo na mortalidade de *S. frugiperda* verificados em nossos estudos foram similares aos huminolídeos sobre a

praga do milho européia, *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae) demonstrado por JIMENEZ et al. (1997).

Prolongamento da fase larval foi observado para larvas tratadas com khayasina T (**XXXIX**) e febrifugina (**XXXVII**) a 50,0 mg kg⁻¹, toosendanina (**XXXIII**) a 50,0 e 100,0 mg kg⁻¹ de 1,2; 1,8; 3,7 e 10,8 dias, respectivamente, ao compararmos com o controle. Os dados apresentados sugerem que estes compostos agiram como inibidores de crescimento larval. Por outro lado, as larvas tratadas com cipadesina A (**XXXIV**) a 100,0 mg kg⁻¹ e cipadesina (**XXXVI**) a 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg⁻¹ apresentaram um encurtamento da fase larval de 2,1; 1,7; 1,6 e 0,8 dias, respectivamente (TABELA 4.29).

Uma significativa redução (de 276,0 para 244,0 mg) no peso pupal para *S. frugiperda* tratada com febrifugina (**XXXVII**) foi observada quando comparada com o controle. De todos os limonóides testados, somente toosendanina (**XXXIII**) reduziu significativamente o peso pupal a 50,0 e 100,0 mg kg⁻¹ (TABELA 4.29). Esta redução no peso pupal sugere que febrifugina (**XXXVII**) e toosendanina (**XXXIII**) agiram como antialimentar.

Estes dados estão de acordo com aqueles apresentados por JIMENEZ et al. (1997) em que a toosendanina (**XXXIII**) apresentou significativa redução no peso das pupas de machos e fêmeas de *O. nubilalis* a 50,0 mg kg⁻¹. Pupas de baixo peso conseqüentemente levarão a adultos fracos e vulneráveis incapazes de realizarem atividades vitais (BATISTA-PEREIRA et al., 2002).

TANZUBIL & McCAFFERY (1990) observaram que larvas tratadas com baixas doses de azadiractina produziram pupas com peso comparável ao controle, sugerindo que não houve nenhuma severa inibição de alimentação. Isto foi observado para o khayasina T (**XXXIX**). Casos similares de alteração no crescimento sem inibição de alimentação têm sido reportados por outros trabalhos (SEIBER & REMBOLD, 1983; GAABOUB & HAYES, 1984).

Uma pequena redução na fase pupal foi observada para larvas alimentadas com dieta artificial tratada com cipadesina A (**XXXIV**) a 10,0 e 50,0 mg kg⁻¹ e khayasina T (**XXXIX**) a 50,0 mg kg⁻¹ quando comparamos com o controle de 0,9; 0,6 e 1,2 dias, respectivamente.

Todos os compostos testados exceto ruageanina A (**XXXV**) mostraram atividades comparáveis a toosendanina (**XXXIII**), o que nos leva a crer que estes limonóides possuem potencial para continuidade dos trabalhos. Febrifugina A

(XXXVIII) apresentou a mais alta taxa de atividade inseticida a $50,0 \text{ mg kg}^{-1}$. Febrifugina (XXXVII) além de uma taxa de atividade inseticida moderada também demonstrou ser um inibidor de crescimento e um antialimentar a $100,0 \text{ mg kg}^{-1}$.

TABELA 4.28. Médias das mortalidades larval, pupal e ciclo total de *S. frugiperda* alimentada com dieta artificial tratada com limonóides (**XXXIV**, **XXXVI**, **XXXVII** e **XXXIII**) a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg⁻¹ e (**XXXV**, **XXXVIII** e **XXXIX**) a 1,0; 10,0; 50,0 mg kg⁻¹. Temp.: 25 ± 1°C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.

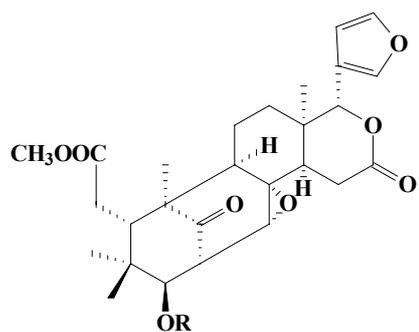
	Concentração (mg kg ⁻¹)	Mortalidade(%)		
		Fase larval	Fase pupal	Ciclo total
Cipadesina A (XXXIV)	1,0	16,7	3,3	20,0
	10,0	30,0	6,7	36,7
	50,0	30,0	6,7	36,7
	100,0	30,0	10,0	40,0
Controle		10,0	0	10,0
Ruageanina A (XXXV)	1,0	3,3	3,3	6,7
	10,0	6,7	6,7	13,3
	50,0	10,0	10,0	20,0
Controle		10,0	0	10,0
Cipadesina (XXXVI)	1,0	10,0	6,7	16,7
	10,0	30,0	6,7	36,7
	50,0	30,0	6,7	36,7
	100,0	30,0	10,0	40,0
Controle		10,0	0	10,0
Febrifugina (XXXVII)	1,0	13,3	0	13,3
	10,0	13,3	16,7	30,0
	50,0	13,3	26,7	40,0
	100,0	16,7	26,7	43,3
Controle		10,0	0	10,0
Febrifugina A (XXXVIII)	1,0	20,0	6,7	26,7
	10,0	46,7	6,7	53,3
	50,0	50,0	23,3	73,3
Controle		10,0	0	10,0
Khayasina T (XXXIX)	1,0	13,3	0	13,3
	10,0	13,3	23,3	36,7
	50,0	26,7	23,3	50,0
Controle		10,0	0	10,0

Toosendanina	1,0	10,0	3,3	13,3
(XXXIII)	10,0	10,0	3,3	13,3
	50,0	23,3	3,3	26,7
	100,0	26,7	3,3	30,0
Controle		10,0	0	10,0

TABELA 4.29. Médias da duração das fases larval, pupal e peso pupal de *S. frugiperda* alimentada com dieta artificial tratada com limonóides (**XXXIV**, **XXXVI**, **XXXVII** e **XXXIII**) a 1,0; 10,0; 50,0 e 100,0 mg kg⁻¹ e (**XXXV**, **XXXVIII** e **XXXIX**) a 1,0; 10,0; 50,0 mg kg⁻¹. Temp.: 25 ± 1°C; UR: 70 ± 5% e fotofase: 12 h.

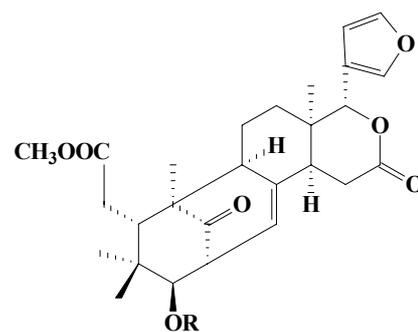
	Concentração (mg kg ⁻¹)	Duração (dias) (±ED)		Peso pupal (mg)
		Fase larval	Fase pupal	
Cipadesina A (XXXIV)	1,0	20,4 (±1,1)	11,1 (±0,7)	279,29
	10,0	20,2 (±1,4)	10,3 (±1,0)	279,14
	50,0	20,2 (±1,4)	10,6 (±1,0)	276,19
	100,0	18,6 (±0,9)	11,3 (±1,1)	276,68
Controle		20,7 (±1,1)	11,2 (±1,2)	276,96
Ruageanina A (XXXV)	1,0	20,3 (±1,3)	11,1 (±0,7)	273,42
	10,0	20,0 (±1,2)	11,0 (±1,0)	273,38
	50,0	19,6 (±1,7)	11,1 (±1,0)	275,44
	Controle		20,7 (±1,1)	11,2 (±1,2)
Cipadesina (XXXVI)	1,0	20,0 (±1,5)	11,0 (±0,2)	279,64
	10,0	19,0 (±2,1)	11,7 (±1,7)	280,71
	50,0	19,1 (±1,0)	11,5 (±1,0)	280,00
	100,0	19,9 (±1,2)	10,9 (±1,3)	267,52
Controle		20,7 (±1,1)	11,2 (±1,2)	276,96
Febrifugina (XXXVII)	1,0	20,7 (±0,6)	11,2 (±0,9)	277,65
	10,0	21,2 (±3,3)	10,5 (±1,4)	262,80
	50,0	22,2 (±2,2)	11,0 (±1,1)	252,73
	100,0	22,5 (±1,9)	11,1 (±1,3)	244,12
Controle		20,7 (±1,1)	11,2 (±1,2)	276,96
Febrifugina A (XXXVIII)	1,0	20,7 (±1,9)	11,2 (±1,0)	273,96
	10,0	19,6 (±1,7)	10,9 (±1,1)	269,75
	50,0	19,7 (±1,1)	11,1 (±1,0)	268,92
Controle		20,7 (±1,1)	11,2 (±1,2)	276,96
Khayasina T (XXXIX)	1,0	20,7 (±0,7)	11,1 (±0,4)	278,27
	10,0	20,6 (±2,1)	11,0 (±1,4)	268,34
	50,0	21,9 (±1,8)	10,0 (±0,7)	265,18

Controle		20,7 ($\pm 1,1$)	11,2 ($\pm 1,2$)	276,96
Toosendanina	1,0	19,1 ($\pm 2,7$)	10,0 ($\pm 1,6$)	259,35
(XXXIII)	10,0	19,9 ($\pm 3,4$)	10,4 ($\pm 1,3$)	258,96
	50,0	24,4 ($\pm 3,3$)	10,3 ($\pm 2,1$)	216,22
	100,0	31,0 ($\pm 5,2$)	10,6 ($\pm 2,5$)	203,14
Controle		20,7 ($\pm 1,1$)	11,2 ($\pm 1,2$)	276,96



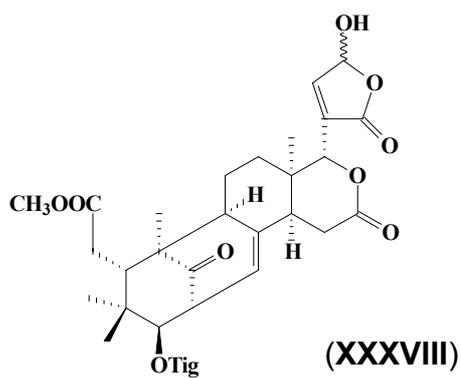
(XXXIV) R = COCH(CH₃)CH₂CH₃

(XXXV) R = COCH(CH₃)CH₃

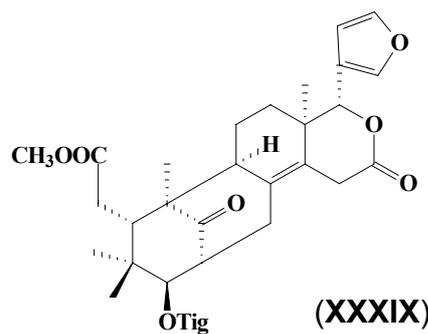


(XXXVI) R = COCH(CH₃)CH₂CH₃

(XXXVII) R = Tig



(XXXVIII)



(XXXIX)

FIGURA 4.63. Limonóides (XXXIV - XXXIX) isolados de *Cipadessa fruticosa*.

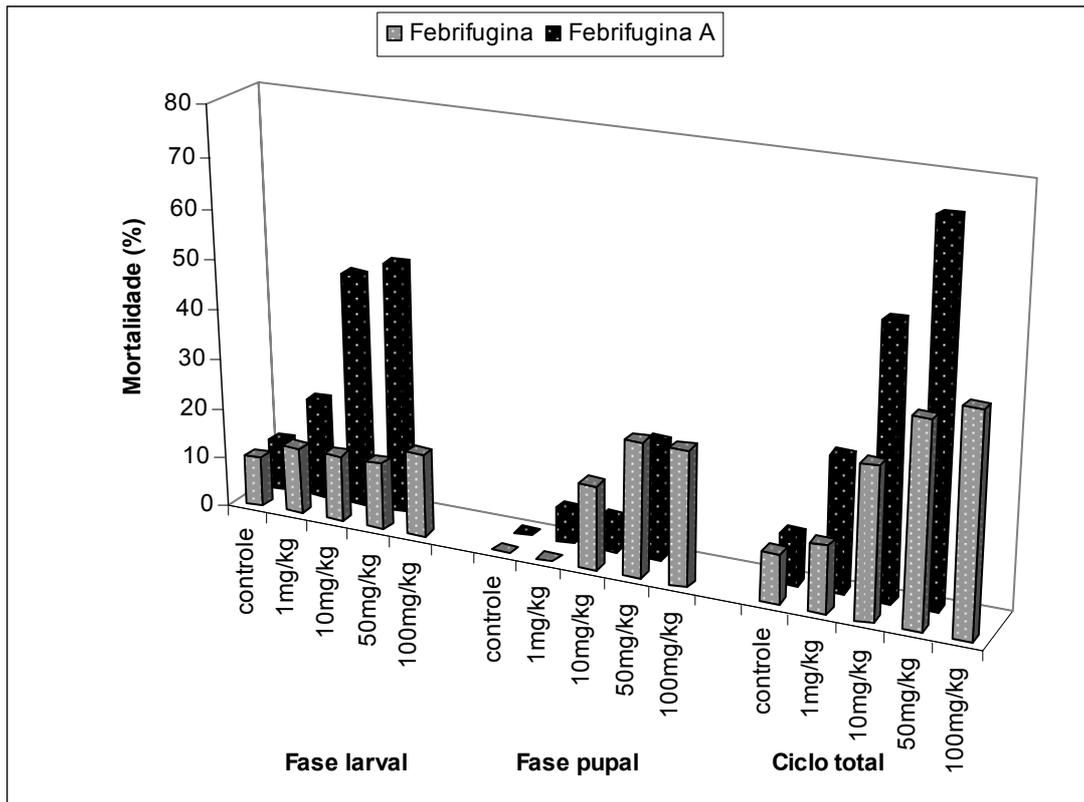


FIGURA 4.64. Médias das mortalidades larval, pupal e ciclo total de *S. frugiperda* alimentadas com dieta artificial tratada com febrifugina (XXXVII) e febrifugina A (XXXVIII).

5 - CONCLUSÕES

Os ensaios biológicos realizados com os extratos hexânico, metanólico e hidrometanólico de diversas estruturas vegetais de *Trichilia catigua*, *Trichilia clausenii* e *Trichilia elegans* quando incorporadas a dieta artificial para *S. frugiperda* a concentração de 1000 mg kg⁻¹ demonstraram que vários extratos são ativos. Os extratos hexânico e metanólico dos frutos de *T. elegans* provocaram a maior taxa de mortalidade larval (100 %), no entanto não foram isoladas as substâncias responsáveis por esta atividade inseticida. Além destes, os extratos metanólico dos frutos, hexânico e metanólico das folhas de *T. clausenii* apresentaram atividade inseticida. Já o extrato hidrometanólico dos frutos de *T. elegans* apresentou atividades antialimentar e inibidora de crescimento.

O estudo químico dos extratos de *T. catigua*, *T. clausenii* e *T. elegans* levou ao isolamento de 20 metabólitos, incluindo limonóides, triterpenos, esteróides, cumarinas e um sequiterpeno. Este trabalho contribuiu principalmente para o conhecimento químico de *T. catigua* já que existem poucos relatos na literatura sobre o estudo desta planta, além de ser o primeiro relato do isolamento de limonóides nesta espécie.

Os objetivos deste trabalho foram atingidos, já que além do estudo fitoquímico de *T. catigua*, *T. clausenii* e *T. elegans* foram realizados vários ensaios biológicos com *S. frugiperda*, abrindo novas perspectivas para se trabalhar com o isolamento de metabólitos secundários associado à bioensaios.

Os ensaios biológicos realizados com os limonóides e triterpenóides isolados de outras espécies de Meliaceae apresentaram resultados promissores já que o odorato provocou inibição de crescimento e de alimentação. Dentre os limonóides testados somente a febrifugina A apresentou atividade inseticida interessante a 50 mg kg⁻¹.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELGALEIL, S. A. M. & NAKATANI, M. "Antifeeding activity of limonoids from *Khaya senegalensis* (Meliaceae)". *J. Appl. Entomol.* **127**: 236, 2003.
- ADESIDA, G. A. & OKORIE, D. A. "Heudebolin: a new limonoid from *Trichilia heudelottii*". *Phytochemistry* **12**: 3007, 1973.
- ADESOGAN, E. K. "Coumarins and other components of *Afraegle paniculata*". *Phytochemistry* **12**: 2310, 1973.
- AGRAWAL, K. P. "NMR spectroscopy in the structural elucidation of oligosaccharides and glycosides". *Phytochemistry* **31**: 3307, 1992.
- 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*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química, UFSCar, 2004. Tese de Doutorado. 219 p.
- ARENAS, C. & RODRÍGUEZ-HAHN, L. "Limonoids from *Trichilia havanensis*". *Phytochemistry* **29**: 2953, 1990.
- ARGANDOÑA, V. & FAINI, F. "Oleanolic acids content in *Baccharis linearis* and its effects on *Heliothis zea* larvae". *Phytochemistry* **33**: 1377, 1993.
- ARNASON, J. T.; PHILOGÉNE, B. J. R.; DONSKOV, N. & KUBO, I. "Limonoids from the Meliaceae and Rutaceae reduce feeding, growth and development of *Ostrinia nubilalis*". *Entomol. Exp. Appl.* **43**: 221, 1987.
- BANERJI, B. & NIGAM, S. K. "Wood constituents of Meliaceae: A Review" *Fitoterapia*, **55**: 3, 1984.
- BATISTA-PEREIRA, L. G.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; CORRÊA, A. G.; VIEIRA, P. C.; DA SILVA, M. F. G. F. & MALASPINA, O. "Biological activity of astilbin from *Dimorphandra mollis* against *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda*". *Pest. Manag. Sci.* **58**: 503, 2002.
- BERDEGUÉ, M.; WHITE, K. K. & TRUMBLE, J. T. "Feeding deterrence of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae by low concentrations of linear furanocoumarins". *Environ. Entomol.* **26**: 912, 1997.
- BOGORNÍ, P. C. & VENDRAMIM, J. D. "Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho". *Neot. Entomol.* **32**: 665, 2003.
- BOGORNÍ, P. C. & VENDRAMIM, J. D. "Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho". *Neot. Entomol.* **34**: 311, 2005.

BRAY, D. H.; WARHURST, D. C.; CONNOLLY, J. D.; O'NEILL, M. J. & PHILLIPSON, J. D. "Plants as sources of antimalarial drugs. Part 7. Activity of some species of Meliaceae plants and their constituent limonoids" *Phytoterapy Res.*, **4**: 29, 1990.

BREITMAIER, E. & VOELTER, G. "Carbon-13 NMR spectroscopy: high-resolution methods and applications in organic chemistry". 3 Ed. New York: VCH, 1987, p. 350.

BUTTERWORTH, J. H. & MORGAN, E. D. "Isolation of a substance that suppresses feeding in locust". *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **23**, 1968.

CALDERÓN, J. S.; CÉSPEDES, C. L.; ROSAS, R.; GÓMEZ-GARIBAY, F.; SALAZAR, J. R.; LINA, L.; ARANDA, E. & KUBO, I. "Acetylcholinesterase and insect growth inhibitory activities of *Gutierrezia microcephala* on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith". *Z. Naturforschung* **56c**: 382, 2001.

CÉSPEDES, C. L.; CALDERÓN, J. S.; KING-DIAZ, B. & LOTINA-HENNSEN, B. "Phytochemical and biochemical characterization of epimeric photogedunin derivatives. Their different sites of interaction on the redox electron transport carrier of *Spinacea oleracea* L. Chloroplasts". *J. Agric. Food Chem.* **46**: 2810, 1998.

CÉSPEDES, C. L.; CALDERÓN, J. S.; LINA, L. & ARANDA, E. "Growth inhibitory effects on fall armyworm *Spodoptera frugiperda* of some limonoids isolated from *Cedrela* spp. (Meliaceae)". *J. Agric. Food Chem.* **48**: 1903, 2000.

CHAMPAGNE, D. E.; KOUL, O.; ISMAN, M. B.; SCUDDER, G. G. E. & TOWERS, G. H. N. "Biological activity of limonoids from the Rutales" *Phytochemistry*, **31**:377, 1992.

CHAN, W. R.; GIBBS, J. A. & TAYLOR, D. R. "Triterpenoids from *Trichilia havanensis* Jacq. Part I. The acetates of havanensin and trichilenone, new tetracarbocyclic tetranortriterpenes". *J. Chem. Soc. Perkin I* 1047, 1973.

CHAURET, D. C.; DURST, T.; ARNASON, J. T.; SANCHEZ-VINDAS, P.; ROMAN, L. S.; POVEDA, L. & KEIFER, P. A. "Novel steroids from *Trichilia hirta* as identified by nanoprobe INADEQUATE 2D-NMR spectroscopy". *Tetrahedron Letters*, **37**: 7875, 1996.

CONNOLLY, J. D.; LABBÉ, C.; RYCROFT, D.; OKORIE, D. A. & TAYLOR, D. A. H. "Tetranortriterpenoids and related compounds. Part 23. Complex tetranortriterpenoids from *Trichilia prieuriana* and *Guarea thompsonii* (Meliaceae), and the hydrolysis products of dregeanin, prieurianin, and related compounds". *J. Chem. Research (S)* 256, 1979.

CONNOLLY, J. D. "Chemistry of the limonoids of the Meliaceae and Cneoraceae". IN: *Chemistry and Chemical Taxonomy of the Rutales*.

- WATERMAN, P. G. & GRUNDON, M. F. (Eds.). Londres, Academic Press, 1983. p. 175-213.
- CORTEZ, D.A.G.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; DA SILVA, M. F. G. F. & FERREIRA, A. G. "Limonoids from *Trichilia hirta*". *Phytochemistry* **31**: 625, 1992.
- CORTEZ, D.A.G.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; DA SILVA, M. F. G. F.; FERREIRA, A. G.; CASS, Q. B. & PIRANI, J. R. "Meliacin butenolides from *Trichilia estipulata*". *Phytochemistry* **49**: 2493, 1998.
- CORTEZ, D.A.G.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C.; DA SILVA, M. F. G. F. & FERREIRA, A. G. "A limonoid from *Trichilia estipulata*". *Phytochemistry* **55**: 711, 2000.
- COSTA, J. M. D. A.; SANTOS, Z. F. A. F & CORREIA, J. S. "Pragas da cultura do milho e meios de controle". (EPABA, Circular Técnica nº 8). Salvador: EPABA. 19., 1984.
- CRUZ, I. "A lagarta-do-cartucho na cultura do milho". Sete Lagoas: Embrapa/CNPMS. 1995. 45p. (EMBRAPA-CNPMS, Circular Técnica, n. 21).
- CRUZ, I.; VIANA, P. A. & WAQUIL, J. M. "Cultivo do milho: pragas da fase vegetativa e reprodutiva". Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS. 2002. 8p. (EMBRAPA/CNPMS. Comunicado Técnico, n. 49).
- DA SILVA, M. F. G. F.; GOTTLIEB, O. R. & DREYER, D. L. "Evolution of limonoids in the Meliaceae". *Biochem. Syst. Ecol.*, **12**: 299, 1984.
- EVANS, F. E.; MILLER, D. W.; CAIRNS, T.; BADDELEY, G. V. & WENKERT, E. "Structure analysis of proximadiol (cryptomeridiol) by ¹³C NMR spectroscopy". *Phytochemistry*, **21**: 937, 1982.
- GAABOUB, A. I. & HAYES, D. K. "Effects of larval treatment with azadirachtin, a moulting inhibition component of the Neem tree on reproductive capacity of the fly *Musca autumnalis*". *Environ. Entomol.* **13**:1639, 1984.
- GALO, M. B. C. *Busca de produtos naturais bioativos de plantas das famílias Mirtaceae (Siphoneugena densiflora) e Verbenaceae (Vitex polygama)*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química, UFSCar, 2004. Tese de Doutorado.
- GALLO, D., NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S. & OMOTO, C. Manual de Entomologia Agrícola. Pragas das Plantas e seu Controle, 2ª ed. Agrônômica Ceres, Piracicaba, FEALQ, 920p, 2002.

- GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; RODRIGUES, E. D.; POTT, V. J. & ROQUE, N. F. "Seco-protolimonoids from *Trichilia elegans* ssp. *elegans*". *Phytochemistry* **42**:1399, 1996.
- GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; TSUTSUMI, M. T. & ROQUE, N. F. "Limonoids from *Trichilia elegans* ssp. *elegans*". *Phytochemistry* **45**:141, 1997a.
- GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; ROQUE, N. F.; CASTELLANO, E. E. & ZUCKERMAN-SCHPECTOR, J. "7-beta-oxigenated limonoids from *Trichilia elegans* ssp. *elegans*". *Phytochemistry* **55**:733, 2000.
- GARCEZ, W. S.; GARCEZ, F. R.; RAMOS, I. & CAMARGO, M. J. "Sesquiterpenes from *Trichilia catigua*" *Fitoterapia* **LXVIII**: 87, 1997b.
- INADA, A.; KONISHI, M.; MURATA, H. & NAKANISHI, T. "Structures of a new limonoid and a new triterpenoid derivative from pericarps of *Trichilia connaroides*". *J. Nat. Prod.* **57**: 1446, 1994.
- JANUÁRIO, A. H. *Estudo fitoquímico de Esenbeckia grandiflora e Almeidea rubra (Rutaceae)*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química, UFSCar, 1995. Tese de Doutorado.
- JIMENEZ, A.; MATA, R.; PEREDA-MIRANDA, R.; CALDERÓN, J.; ISMAN, M. B.; NICOL, R. & ARNASON, J. T. "Insecticidal limonoids from *Swietenia humilis* and *Cedrela salvadorensis*". *J. Chem. Ecol.* **23**: 1225, 1997.
- JOLAD, S. D.; HOFFMANN, J. J. & COLE, J. R. "Constituents of *Trichilia hispida* (Meliaceae). 2. A new triterpenoid, hispidone and bourjotinolone A". *J. Org. Chem.* **45**: 3132, 1980.
- JOLAD, S. D.; HOFFMANN, J. J.; SCHRAM, K. H.; COLE, J. R.; M.S. TEMPESTA & BATES, R. B. "Constituents of *Trichilia hispida* (Meliaceae). 3. Structures of the cytotoxic limonoids: hispidins A, B and C". *J. Org. Chem.* **46**: 641, 1981a.
- JOLAD, S. D.; HOFFMANN, J. J.; SCHRAM, K. H. & COLE, J. R. "Constituents of *Trichilia hispida* (Meliaceae). 4. Hispidols A and B, two new tirucallane triterpenoids". *J. Org. Chem.* **46**: 4085, 1981b.
- KADOTA, S.; MARPAUNG, L.; KIKUCHI, T. & EKIMOTO, H. "Constituents of seeds of *Swietenia mahagoni* JACQ. I. Isolation, structures, and ¹H and ¹³C – nuclear magnetic resonance signal assignments of new tetranortriterpenoids related to switenine and switenolide". *Chem. Pharm. Bull* **38**: 639, 1990.
- KASTEN, P. J. R., PRECETTI, A. A. C. M. & PARRA, J. R. P. "Dados biológicos comparativos de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) em duas dietas artificiais e substrato natural". *Rev. Agric.* **53**: 68-78, 1978.

- KETWARU, P.; KLASS, J. & TINTO, W. F. "Pregnane steroids from *Trichilia schomburgkii*". *J. Nat. Prod.* **56**: 430, 1993.
- KOUL, O. & ISMAN, M. B. "Toxicity of the limonoid allelochemical cedrelone to noctuid larvae". *Entomol. Exp. Appl.* **64**: 281, 1992.
- KUBO, I. & KLOCKE, J. A. "An insect growth inhibitor from *Trichilia roka* (Meliaceae)". *Experientia* **38**: 639, 1982.
- KUBO, I. & KLOCKE, J. A. "Insect ecdysis inhibitors. In: M. B. Green & P. A. Hedin (eds), Natural Resistance of Plants to Pests". ACS Symp. Ser. 296, pp. 206 – 219, Amer. Chem. Soc., Washington, DC, 1986.
- LEE, S. M.; KLOCKE, J. A.; BARNABI, M. A.; YAMASAKI, R. B. & BALANDRIN, M. F. "Insecticidal constituents of *Azadirachta indica* and *Melia azedarach* (Meliaceae)". IN: *Naturally Occurring Pest Bioregulators*, ACS Symposium Series 449. HEDIN, P. H. (Eds.). Washington, ACS, 1991. p. 293.
- LEITE, A. C. *Estudo Químico e Atividades Biológicas de Cedrela fissilis e Cipadessa fruticosa (Meliaceae)*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química, UFSCar, 2005. Tese de Doutorado. 323 p.
- LEITE, A. C.; MATOS, A. P.; BATISTA-PEREIRA, L. G.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C. & DA SILVA, M. F. G. F. Activity of triterpenoids from *Cedrela fissilis* (Meliaceae) against *Spodoptera frugiperda*. *J. Agric. Food. Chem.*, submetido.
- LORENZI, H. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova odessa: Plantarum, 1992, p.244.
- LUO, X.; WU, S.; MA, Y. & WU, D. "Tetranortriterpenoids from *Walsura yunnanensis*". *J. Nat. Prod.* **63**: 947, 2000.
- MAFEZOLI, J. "Atividade tripanocida e antimicrobiana de plantas da família Rutaceae". Tese de Doutorado, DQ, UFSCar, São Carlos, SP, 2001.
- MARTINEZ, S. S. (ed.) "O Nim *Azadirachta inidica*: Natureza, usos múltiplos, produção. Londrina, Instituto Agrônômico do Paraná, 142p.
- MATOS, A. P.; NEBO, L.; BATISTA-PEREIRA, L. G.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; DA SILVA, M. F. G. F & RODRIGUEZ, R. R. "Atividade biológica de extratos orgânicos de *Trichilia* spp. sobre a lagarta do cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em dieta artificial". *Bioassay.*, aceito.
- MATOS, A. P.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B.; DA SILVA, M. F. G. F & RODRIGUEZ, R. R. "Effects of organics extracts of seeds and fruits of *Trichilia* spp. on survival, growth and development of the *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)". *Crop Protection*, submetido b.

- MATOS, A. P.; LEITE, A. C.; BATISTA-PEREIRA, L. G.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. & DA SILVA, M. F. G. F. "Effects of limonoids from *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) on survival, growth and development of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda*" *Pest. Manag. Science*, submetido c.
- MAHATO, S. B. & KUNDU, A. P. "¹³C NMR Spectra of pentacyclic triterpenoids – a compilation and some salient features." *Phytochemistry*, **37**: 1517, 1994.
- MCMILLIAN, W.W., M.C. BOWMAN, R.L. BURTON, K.J. STARKS & WISEMAN, B. R. "Extracts of chinaberry leaf as a feeding deterrent and growth retardant for larvae of the corn earworm and fall armyworm". *J. Econ. Entomol.* **62**: 708, 1969.
- MIKOLAJCZAK, K. L. & REED, D. K. "Extractives of seeds of the Meliaceae: Effects on *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith), *Acalymma vitattum* (F) and *Artemia salina* Leach". *J. Chem. Ecol.* **13**: 99, 1987.
- MIKOLAJCZAK, K.L., D. WEISLEDER, L. PARKANYI & CLARDY, J. "A limonoid antifeedant from seed of *Carapa procera*". *J. Nat. Prod.* **51**: 606, 1988.
- MIKOLAJCZAK, K. L.; ZILKOWSKI, B. W. & BARTELT, R. J. "Effects of meliaceous seed extracts on growth and survival of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)". *J. Chem. Ecol.* **15**: 121, 1989.
- MULHOLAND, D. A. & TAYLOR, D. H. "Limonoids from the seed of the natal mahogany, *Trichilia dregeana*". *Phytochemistry* **19**: 2421, 1980.
- MÜLLER, A. H. "Constituintes químicos de *Metrodorea* e *Pilocarpus*: contribuição à quimiosistemática de *Pilocarpinae*". Tese de Doutorado, DQ, UFSCar, São Carlos, SP, 1994.
- MUSZA, L. L.; KILLAR, L. M.; SPEIGHT, P.; BARROW, C. J.; GILLUM, A. M. & COOPER, R. "Minor limonoids from *Trichilia rubra*". *Phytochemistry* **39**: 621, 1995.
- NANAYAKKARA, N. P. D.; KINGHORN, A. D. & FARNSWORTH, N. R. "New hydroxylated eudesmane sesquiterpenoids from *Amanoa oblongifolia*". *J. Chem. Res.*, **5**: 454, 1986.
- NAKATANI, M.; IWASHITA, T.; NAOKI, H. & HASE, T. "Structure of a limonoid antifeedant from *Trichilia roka*". *Phytochemistry* **24**: 195, 1985.
- NAKATANI, M.; JAMES, J. C. & NAKANISHI, K. "Isolation and structures of trichilins, antifeedants against the southern army worm". *J. Am. Chem. Soc.* **103**: 1228, 1981.
- NIELSEN, B. E. "Coumarins of Umbelliferous Plants". Copenhagen, Kandrup & Wunsch, 1970, 52p.

- OLUGBADE, T. A. "Tetracyclic triterpenoids from *Trichilia prieuriana* leaves". *Phytochemistry* **30**: 698, 1991.
- OLUGBADE, T. A. & ADESANYA, S. A. "Prieurianoside, a protolimonoid glucoside from the leaves of *Trichilia prieuriana*". *Phytochemistry* **54**: 867, 2000.
- PARRA, J. R. P. "Criação de insetos para estudos com patógenos", p. 348-373. In S.B. Alves (eds.) Controle microbiano de insetos. São Paulo, Editora Manole, 1986.
- PATEL, P. N. *Estudos de fatores bióticos de controle natural de população de Spodoptera frugiperda (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)*. Campinas, Programa de Pós Graduação em Zoologia, Universidade Estadual de Campinas, 1981. Dissertação de Mestrado. 98 p.
- PENNINGTON, T. D. & STYLES, B. T. "A generic monograph of the Meliaceae". *Blumea*, **22**: 419, 1975.
- PENNINGTON, T. D. "A monograph of neotropical Meliaceae". *Flora Neotr.*, **28**: 1, 1981.
- PEREIRA, A. *Química e atividade inseticida de Trichilia catigua em relação à lagarta do cartucho-do-milho Spodoptera frugiperda*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química, UFSCar, 2001. Dissertação de Mestrado.
- PIZZOLATTI, M. G.; VENSON, A. F.; SMÂNIA JR, A.; SMÂNIA, E. F. A. & BRAZ-FILHO, R. "Two epimeric flavalignans from *Trichilia catigua* (Meliaceae) with antimicrobial activity". *Z. Naturforsch.* **57c**: 483, 2002.
- PIZZOLATTI, M. G.; VERDI, L. G.; BRIGHENTE, I. M. C. "Minor γ -lactones from *Trichilia catigua* (Meliaceae) and its precursors by GC-MS". *Nat. Prod. Research* **18**: 433, 2004.
- POTT, A. & POTT, V. J. Plantas do Pantanal. Brasília, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1994, p. 204.
- POWELL, R. G., MIKOLAJCZAK, K. N., ZILKOWSKI, B. W., MANTUS, E. K., CHERRY D. & CLARDY, J. "Limonoid antifeedants from seed of *Sandoricum koetjape*". *J. Nat. Prod.* **54**: 241, 1991.
- PUNGITORE, C. R.; GARCÍA, M.; GIANELLO, J. C.; SOSA, M. E. & TOON, C. E. "Insecticidal and antifeedant effects of *Junellia aspera* (Verbenaceae) triterpenes and derivatives on *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae)". *J. Stor. Prod. Research* **41**: 433, 2005.
- PUPO, M.T.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. & DA SILVA, M.F.G.F. "A cycloartane triterpenoid and ω -phenyl alkanolic and alkenolic acids *Trichilia clausenii*". *Phytochemistry* **42**: 795, 1996.

PUPO, M.T.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. & DA SILVA, M.F.G.F. "Androstane e pregnane 2- β ,19-hemiketal steroids from *Trichilia clausenii*". *Phytochemistry* **45**: 1495, 1997.

PUPO, M. T.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. & DA SILVA, M. F. G. F. "Gamma-lactones from *Trichilia clausenii*". *Phytochemistry* **48**: 307, 1998.

PUPO, M.T.; ADORNO, M. A. T.; VIEIRA, P. C.; FERNANDES, J. B. & DA SILVA, M.F.G.F. "Terpenoides and Steroids from *Trichilia* Species". *J. Braz. Chem. Society*. **13**: 382, 2002.

RAMÍREZ, M. C.; TOSCANO; R. A.; ARNASON, J.; OMAR, S.; CERDA-GARCÍA-ROJAS, C. M. & MATA, R. "Structure, conformation and absolute configuration of new antifeedant dolabellanes from *Trichilia trifolia*". *Tetrahedron* **56**: 5085, 2000.

REYNOLDS, W. F.; McLEAN S.; POPLAWSKI, J.; ENRIQUEZ, R. G.; ESCOBAR, L. I. & LEON, I. "Total assignment of ^{13}C and ^1H spectra of three isomeric triterpenol derivatives by 2D NMR: an investigation of the potential utility of ^1H chemical shifts in structural investigations of complex natural products". *Tetrahedron* **42**: 3419, 1986.

REMBOLD, H. "Azadirachtins". IN: *Insecticides of Plant Origin*, ACS Symposium Series 387. ARNASON, J. T.; PHILÓGENE, B. & MORAND, P. (Eds.) Washington, ACS, 1989, p. 150.

ROCHA, W. C. *Busca de substâncias bioativas em plantas amazônicas: Adiscanthus fusciflorus (Rutaceae), Trichilia pallida e Trichilia rubra (Meliaceae)*. São Carlos, Programa de Pós-Graduação em Química, UFSCar, 2004. Tese de Doutorado.

RODRÍGUEZ-HAHN, L.; CÁRDENAS, J. & ARENAS, C. "Trichavensin, a prieurianin derivative from *Trichilia havanensis*". *Phytochemistry* **43**: 457, 1996.

RODRÍGUEZ H., C. & VENDRAMIM, J. D. "Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae)". *Man. Integ. Plagas* **42**: 14, 1996.

RODRÍGUEZ H., C. & VENDRAMIM, J. D. "Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith)". *Rev. Agric.* **72**: 305, 1997.

RODRÍGUEZ, B.; CABALLERO, C.; ORTEGO, F. & CASTAÑERA, P. "A new tetranortriterpenoid from *Trichilia havanensis*". *J. Nat. Prod.* **66**: 452, 2003.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S. & FRIGHETTO, N. "Efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho". *Bragantia* **59**: 53, 2000.

- SAKAKIBARA, J.; KAIYA, T.; FUKUDA, H. & OHKI, T. "6 β -Hydroxyursolic acid and other triterpenoids of *Enkianthus cernuus*". *Phytochemistry* **22**: 2553, 1983.
- SEIBER, K. P. & REMBOLD, H. "The effects of azadirachtin on the endocrine control of moulting in *Locusta migratoria*". *J. Insect Physiol.* **29**: 523, 1983.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C. & MORRILL, T. C. *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*. Editora Guanabara Koogan S.A.; 5ª Edição, 1994. 387 p.
- SHUN-HUA, W.; HONG-JIE, Z.; ZHON-WEN, L. & HAND-DONG, S. "Terpenoids from *Isadon grandiflora* var. *atuntzensis*". *Phytochemistry*, **34**: 1176, 1993.
- SIMMONDS, M. S. J.; STEVENSON, P. C.; PORTER, E. A. & VEITCH, N. C. "Insect antifeedant activity of three new tetranortriterpenoids from *Trichilia pallida*". *J. Nat. Prod.* **64**: 1117, 2001.
- SUGA, T. & KONDO, S. Alkanes and triterpenoids of *Quercus glauca*". *Phytochemistry*, **13**: 522, 1974.
- SURESH, G.; GOPALAKRISHNAN, G.; WESLEY, S. D.; SINGH, N. D. P.; MALATHI, R. & RAJAN, S. S. "Insect antifeedant activity of tetranortriterpenoids from the Rutales. A perusal of structural relations". *J. Agric. Food Chem.* **50**: 4484, 2002.
- TANZUBIL, P.B. & A.R. McCaferry. "Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the African armyworm, *Spodoptera exempta*". *Crop Prot.* **9**: 383, 1990.
- TAYLOR, D. A. H. "The chemistry of the limonoids from Meliaceae". IN: *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. Herz, W.; GRISEBACH, H. & KIRBY, G. W. (Eds.). New York, Springer, 1984. p. 1-102.
- TINTO, W. F.; JAGESSAR, P. K.; KETWARU, P.; REYNOLDS, W. F. & MCLEAN, S. "Constituents of *Trichilia schomburgkii*". *J. Nat. Prod.* **54**: 972, 1991.
- TORRECILAS, S. M. & VENDRAMIM, J. D. "Extrato aquoso de ramos de *Trichilia pallida* e o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em genótipos de milho". *Scientia Agricola*, **58**: 27, 2001.
- VALICENTE, F. H. & CRUZ, I. "Controle biológico da lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* com baculovirus". Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS. 1991. 23p. (EMBRAPA/CNPMS. Circular Técnica, n. 115).
- VIEGAS JR., C. "Terpenos com atividade inseticida: uma alternativa para o controle químico de insetos". *Quim. Nova*, **26**: 390, 2003.

WHEELER, D. A.; ISMAN, M. B.; SANCHEZ-VINDAS, P. E. & ARNASON, J. T. "Screening of Costa Rican *Trichilia* species for biological activity against the larvae of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae)". *Biochem. Syst. Ecol.* **29**: 347, 2001.

WHEELER, D. A. & ISMAN, M. B. "Antifeedant and toxic activity of *Trichilia americana* extract against the larvae of *Spodoptera litura*". *Entomol. Exp. Appl.* **98**: 9, 2001.

WHERLI, F. W. & NISHIDA, T. "The use of carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy in natural products chemistry". *Fort. Schritted, Chem. Org. Naturst.*, **36**: 111, 1979.

XIE, Y. S.; ISMAN, M. B.; GUNNING, P.; MACKINNON, S.; ARNASON, J. T.; TAYLOR, D. R.; SANCHEZ, P.; HASBUN, C. & TOWERS, G. H. N. "Biological activity of extracts of *Trichilia* species and the limonoid hirtin against lepidopteran larvae". *Biochem. Syst. Ecol.* **22**: 129, 1994.

YAJIMA, T. & MUNAKATA, K. "Phloroglucinol-type furocoumarins, a group of potent naturally-occurring insect antifeedants". *Agric. Biol. Chem.* **43**: 1701, 1979.

ZAR, J. H. "Biostatistical analysis" Prentice-Hall Inc, Englewood Cliffs, NJ, USA, pp 133-139, 1984.

ZHANG, H.; WU, S.; SHEN, Y.; MA, Y.; WU, D.; QI, S. & LUO, X. "A pentanortriterpenoid with a novel carbon skeleton and a new pregnane from *Trichilia connaroides*". *Can. J. Chem.* **81**: 253, 2003.

SITES:

www.esalq.usp.br/trilhas/medicina/am13.htm acessado no dia 05/01/06.