

CONSTITUINTES QUÍMICOS E ATIVIDADE INSETICIDA DE *Trichilia  
ramalhoi* Rizzini (Meliaceae)

**MAYARA BARRETO DE SOUZA ARANTES**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE  
DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
FEVEREIRO - 2021

CONSTITUINTES QUÍMICOS E ATIVIDADE INSETICIDA DE *Trichilia ramalhoi* Rizzini (Meliaceae)

**MAYARA BARRETO DE SOUZA ARANTES**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal”

Orientador: Prof. Ivo José Curcino Vieira

CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ  
FEVEREIRO - 2021

A66

Arantes, Mayara Barreto de Souza.

CONSTITUENTES QUÍMICOS E ATIVIDADE INSETICIDA DE *Trichilia ramalhoi* Rizzini (Meliaceae) / Mayara Barreto de Souza Arantes. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2021.

132 f. : il.

Bibliografia: 103 - 111.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2021.

Orientador: Ivo Jose Curcino Vieira.

1. Meliaceae. 2. Tuta absoluta. 3. Triterpenos. 4. *Trichilia*. 5. Manejo Integrado de Pragas. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

CONSTITUÍNTES QUÍMICOS E ATIVIDADE INSETICIDA DE *Trichilia ramalhoi* Rizzini (Meliaceae)

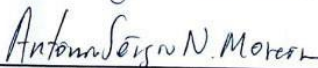
**MAYARA BARRETO DE SOUZA ARANTES**


“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal”


Aprovada em 25 de Fevereiro de 2021

Comissão Examinadora:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Gerson Adriano Silva (D.Sc., Fitotecnia) - UENF

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Antonio Sérgio Nascimento Moreira (D.Sc., Ciências Naturais) – IFF  
Campos - *campus* Itaperuna

  
\_\_\_\_\_  
Profª. Drª. Milena Gonçalves Curcino Vieira (D.Sc., Ciências Naturais) – IFF  
Campos - *campus* centro

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ivo José Curcino Vieira (D.Sc., Química) – UENF  
(Orientador)

Dedico a Deus e a Nossa Senhora.  
Aos meus pais Maria Helena e Enos e a minha irmã Mariana,  
E a todos que me auxiliaram durante a jornada

## Quando olhares para trás

“Quando olhares para trás,  
Terás a certeza  
De que o ontem foi importante  
Na construção do hoje,  
Te dando força e coragem  
Pra enfrentar o amanhã.

Quando olhares para trás,  
Verás que as pedras  
Que cruzaram teu caminho  
Não foram maiores do que  
Os passos largos  
Que destes para chegar aonde chegastes.

Quando olhares para trás,  
lembrarás de momentos  
que te fizeram sofrer,  
pois estes também foram importantes  
pra fortalecer e lapidar quem você é.

Quando olhares pra trás,  
Sentirás saudades  
Daqueles que fizeram a diferença em tua vida,  
E que mesmo na hora da despedida  
Deixaram no rosto  
O sorriso sincero do que é o AMOR.

Quando olhares para trás,  
Perceberás que na vida  
Pessoas vem e vão.  
Porém, as marcas que deixam  
Sempre permanecerão  
Pra nos mostrar o que fomos,  
Somos e seremos.

Ah...  
Quando olhares para trás,  
Entenderás que a jornada nunca termina,  
Pois quem plantou no passado  
Colherá no futuro  
O doce fruto que outrora foi semeado”

Autoria de Carlos Fabiano de Souza (*In memoriam*), homenagem ao professor, poeta e primo amado.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por ser a força presente em todos os momentos da minha vida e a Nossa Senhora por me guardar em seu manto protetor durante as dificuldades.

Agradeço aos meus pais, Enos e Maria Helena, por todo amor e carinho e por serem minha inspiração de vida, força e determinação, por sempre incentivarem meus estudos e apoiado minhas escolhas.

Agradeço à minha irmã Mariana e ao meu cunhado Marcelo por sempre serem presentes na minha vida, por todo apoio, carinho e amizade.

Agradeço ao meu namorado Rafael, por todo amor, apoio e por me acolher em todos os momentos, além de me ajudar nas avaliações do experimento.

Agradeço à minha cachorrinha Espoleta, que é presença forte do amor de Deus na vida da minha família, por sempre me trazer alegria e o amor mais puro da criação do Nosso Senhor.

Agradeço às minhas amigas irmãs, Aline, Aminthia e Laís, pela linda amizade que cultivamos durante todos esses anos, por sempre estarem presentes me dando forças, apoio e carinho.

Agradeço às amigas que fiz na UENF, Maria Clara, Kássila, Jaqueline, Kalyane e Giovanna que foram fonte de apoio e incentivo durante toda a trajetória, sempre dando força umas as outras, levarei para a vida.

Agradeço aos meus amigos do Laboratório de Química dos Produtos Naturais, Thalya, Michel, Lara, Noemi, Fabíola, Renata, Samyra, Mariah, George

e Polyana pelos momentos agradáveis e de grande amizade que sempre tivemos no nosso laboratório que tornaram todo percurso mais leve, e um agradecimento especial a Michel e Thalya por todos os ensinamentos, conselhos e ajuda ao longo da caminhada.

Agradeço ao técnico Márcio por realizar sempre com muita eficiência e disponibilidade os experimentos do RMN e também pela amizade.

Agradeço aos alunos do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas, Laís, Ludmila, Pedro, Renata Pereira e Wanderson por sempre estarem disponíveis a ajudar, ensinar e por todo acolhimento durante o tempo que estive com eles.

Agradeço ao professor Gerson do Laboratório de Manejo Integrado de Pragas pela co-orientação, apoio, disponibilidade e generosidade por me passar ensinamentos importantes e por me ajudar durante todo o experimento de atividade biológica, desde a idealizar os experimentos até as análises estatísticas dos dados.

Agradeço ao professor Raimundo Braz-Filho por sua generosidade e disposição para nos auxiliar na elucidação de substâncias, sendo um grande mestre para todos nós, exemplo de humildade e sabedoria que levarei para vida.

Agradeço ao meu orientador Ivo pela orientação, ensinamentos, apoio e confiança que foram importantes para a conclusão desta dissertação.

Agradeço à Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro por ser minha segunda casa desde 2013. Sou grata pelo ensino superior público e de qualidade que transforma vidas e sonhos em realidade, inclusive a minha.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Brasil – código de financiamento 001 pela concessão de bolsa de estudos, necessária à conclusão deste curso.



## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS .....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	ix
RESUMO .....	xiii
ABSTRACT .....	xv
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivo Geral .....	3
2.2. Objetivo Específico .....	3
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
3.1. Família Meliaceae .....	4
3.2. Gênero <i>Trichilia</i> .....	6
3.2.1. Constituintes químicos do gênero <i>Trichilia</i> .....	7
3.2.2. Atividade Inseticida do Gênero <i>Trichilia</i> .....	8
3.2.3. <i>Trichilia ramalhoi</i> .....	10
3.3. Plantas Inseticidas .....	11
3.4. <i>Tuta absoluta</i> .....	12
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	14
4.1. Coleta do material vegetal .....	14
4.2. Secagem, moagem e preparação do material.....	14
4.3. Isolamento e purificação das substâncias .....	15
4.4. Identificação e elucidação das substâncias isoladas.....	15
4.5. Análises por Cromatografia .....	16
5. ANÁLISE DAS PARTIÇÕES OBTIDAS DOS EXTRATOS DE FOLHA DE <i>Trichilia ramalhoi</i> Rizzini .....	17
5.1. Análise da Fração Diclorometano.....	17
5.1.1. Estudo Fitoquímico da Fração TR3 (9,40 g) .....	18

5.1.2. Estudo Fitoquímico da Fração TR4 (9,5319 g) .....	18
5.1.3. Estudo Fitoquímico da Fração TR6 (10 g) .....	20
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	21
6.1. Aliantusaltinina A e Tirucalano-7,22,24-trien-3-ona .....	21
6.2. Betulona .....	37
6.3. Itesmol .....	50
6.4. Felochina .....	62
6.5. Tetranoiraldeído Bourjotilona C .....	74
6.6. Piscidinol A .....	87
7. RESUMO E CONCLUSÕES .....	100
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	102
APÊNDICE .....	111

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estudo cromatográfico do extrato diclometânico de folhas de <i>T. ramalhoi</i>	18
Tabela 2. Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz) De I e II. Os valores dos deslocamentos químicos $\delta_{\text{H}}$ e $\delta_{\text{C}}$ estão em ppm e as constantes de acoplamento $J$ estão em Hz	25
Tabela 3. Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz) De III. Os valores dos deslocamentos químicos $\delta_{\text{H}}$ e $\delta_{\text{C}}$ estão em ppm e as constantes de acoplamento $J$ estão em Hz	40
Tabela 4. Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz) De IV. Os valores dos deslocamentos químicos $\delta_{\text{H}}$ e $\delta_{\text{C}}$ estão em ppm e as constantes de acoplamento $J$ estão em Hz	53
Tabela 5. Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz) do V. Os valores dos deslocamentos químicos $\delta_{\text{H}}$ e $\delta_{\text{C}}$ estão em ppm e as constantes de acoplamento $J$ estão em Hz	65
Tabela 6. Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz) de VI. Os valores dos deslocamentos químicos $\delta_{\text{H}}$ e $\delta_{\text{C}}$ estão em ppm e as constantes de acoplamento $J$ estão em Hz	77
Tabela 7. Dados de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ (125 MHz) de VI. Os valores dos deslocamentos químicos $\delta_{\text{H}}$ e $\delta_{\text{C}}$ estão em ppm e as constantes de acoplamento $J$ estão em Hz	90

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Perda de quatro carbonos na cadeia lateral para formação do limonoide.	5
Figura 2. Estrutura da substância 1.	6
Figura 3. Representação esquemática das duas rotas metabólicas referente à síntese de terpenos/terpenoides: via do mevalonato e via do 1-desoxxilulose-5-fosfato (DXP)	8
Figura 4. Partição do extrato metanólico das folhas de <i>T. ramalhoi</i>	15
Figura 5. Análise Cromatográfica da Fração TR3	18
Figura 6. Análise Cromatográfica da Fração TR4 + TR5	19
Figura 7. Análise Cromatográfica da Fração TR6	20
Figura 8. Triterpenos isolados do extrato metanólico das folhas de <i>T.ramalhoi</i> (I e II).	22
Figura 9. Cromatograma da mistura de I e II.	26
Figura 10. Espectro de massas dos tempos de retenção 30.617 e 30.900s de I e II.	27
Figura 11. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de I e II.	28
Figura 12. Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de I e II.	29
Figura 13. Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de I e II.	30
Figura 14. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de I e II.	31
Figura 15. Ampliação do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de I e II.	32
Figura 16. Ampliação do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de I e II.	33
Figura 17. Espectro de correlação Homonuclear $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em $\text{CDCl}_3$ de I e II.	34
Figura 18. Espectro de HSQC em $\text{CDCl}_3$ de I e II.	35

Figura 19. Espectro de correlação Heteronuclear de HMBC de I e II.	36
Figura 20. Ampliação do Espectro de correlação Homonuclear $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY em $\text{CDCl}_3$ de I e II.	37
Figura 21. Triterpeno isolado do extrato metanólico das folhas de <i>T.ramalhoi</i> (III).	38
Figura 22. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de III.	41
Figura 23. Ampliação do Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de III.	42
Figura 24. Ampliação do Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de III.	43
Figura 25. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de III.	44
Figura 26. Ampliação do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de III.	45
Figura 27. Ampliação do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de III.	46
Figura 28. Espectro de correlação Homonuclear $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em $\text{CDCl}_3$ de III.	47
Figura 29. Espectro de correlação Heteronuclear de HSQC de III.	48
Figura 30. Espectro de correlação Heteronuclear de HMBC de III.	49
Figura 31. Espectro de correlação Homonuclear de $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY de III.	50
Figura 32. Esteróide isolado do extrato metanólico das folhas de <i>T.ramalhoi</i> (IV).	51
Figura 33. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de IV.	54
Figura 34. Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de IV.	55
Figura 35. Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de IV.	56
Figura 36. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de IV.	57
Figura 37. Ampliação do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de IV.	58
Figura 38. Ampliação do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de IV.	59
Figura 39. Espectro de correlação Homonuclear $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de IV.	60
Figura 40. Espectro de correlação Heteronuclear de HSQC de VI.	61
Figura 41. Espectro de correlação Heteronuclear de HMBC de VI.	62

Figura 42. Triterpeno isolado do extrato metanólico das folhas de <i>T.ramalhoi</i> (V).	63
Figura 43. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de V.	66
Figura 44. Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de V.	67
Figura 45. Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de V.	68
Figura 46. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de V.	69
Figura 47. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de V.	70
Figura 48. Espectro de correlação Homonuclear $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em $\text{CDCl}_3$ de V.	71
Figura 49. Espectro de correlação Heteronuclear de HSQC de V.	72
Figura 50. Espectro de correlação Heteronuclear de HMBC de V.	73
Figura 51. Espectro de correlação Homonuclear de $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY de V.	74
Figura 52. Triterpeno isolado do extrato metanólico das folhas de <i>T.ramalhoi</i> (VI).	75
Figura 53. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VI.	78
Figura 54. Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VI.	79
Figura 55. Ampliação do espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VI.	80
Figura 56. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VI.	81
Figura 57. Ampliação do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VI.	82
Figura 58. Ampliação do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VI.	83
Figura 59. Espectro de correlação Homonuclear $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em $\text{CDCl}_3$ de VI.	84
Figura 60. Espectro de correlação Heteronuclear de HSQC de VI.	85
Figura 61. Espectro de correlação Homonuclear de HMBC de VI.	86
Figura 62. Espectro de correlação Homonuclear de $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY de VI.	87
Figura 63. Triterpeno isolado do extrato metanólico das folhas de <i>T.ramalhoi</i> (VII).	88
Figura 64. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VII.	92
Figura 65. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VII.	93
Figura 66. Ampliação do Espectro de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VII.	94
Figura 67. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VII.	95

Figura 68. Ampliação do Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VII.	96
Figura 69. Ampliação do Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) de VII.	97
Figura 70. Espectro de correlação Homonuclear $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em $\text{CDCl}_3$ de VII.	98
Figura 71. Espectro de correlação Heteronuclear de HSQC de VII.	99
Figura 72. Espectro de correlação Heteronuclear de HMBC de VII.	100

## RESUMO

ARANTES, Mayara Barreto de Souza, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Fevereiro de 2021. Constituintes Químicos e Atividade Inseticida de *Trichilia ramalhoi* Rizzini (Meliaceae). Orientador: Prof. Ivo José Curcino Vieira.

Os produtos do metabolismo secundário das plantas vêm atraindo cada vez mais a atenção dos pesquisadores da área de química dos produtos naturais. Esses produtos possuem atividades biológicas importantes para o sistema de defesa do vegetal. Deste modo, na área agrícola é de grande importância a identificação de novas substâncias que tenham atividade inseticida eficiente, pois, atualmente os insetos praga, como a traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*) têm adquirido resistência a muitos pesticidas comerciais e essas substâncias posteriormente podem ser usadas como modelo para novos pesticidas. Nesse cenário, o estudo fitoquímico e o potencial de atividade biológica da espécie *Trichilia ramalhoi* tem sido pouco investigada, fazendo-se necessário um estudo mais aprofundado dessa espécie já que plantas da mesma família e mesmo gênero têm mostrado resultados promissores quando testadas as atividades biológicas em diversas áreas e principalmente a atividade inseticida. *T. ramalhoi*, foi coletada em Linhares-ES em 2019, passou por métodos cromatográficos clássicos e técnicas espectroscópicas e espectrométricas para identificação estrutural das substâncias.



O estudo fitoquímico das folhas de *T. ramalhoi* levou a identificação e caracterização de 7 substâncias sendo, 6 triterpenos: Alitusaltinina A **(I)** em mistura com Tirucalano – 7,22,24 – trien – 3 – ona **(II)**, Betulona **(III)**, Felochina **(V)**, Tetranóiraldeído Bourjotilona C **(IV)**, Piscidinol A **(VI)**; e um esteroide: Itesmol **(IV)**. Sendo as substâncias **II** e **IV** isoladas pela primeira vez de forma natural e a **V** inédita para o gênero *Trichilia*. O experimento de atividade inseticida demonstrou que o uso da concentração mais alta do extrato de *T. ramalhoi* (5% m/v) afetou a biologia da *Tuta absoluta*, aumentando a mortalidade de imaturos (larvas+pupas), diminuindo a fertilidade diária e total do inseto e a viabilidade das pupas.

## ABSTRACT

ARANTES, Mayara Barreto de Souza, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, February, 2021. Chemical Constituents and Insecticidal Activity of the *Trichilia ramalhoi* Rizzini (Meliaceae). Advisor: Prof. Ivo José Curcino Vieira.

The products of secondary metabolism in plants are increasingly attracting the attention of researchers in the field of natural product chemistry. These products have important biological activities both for the plant's defense system. Thus, in the agricultural area, it is of great importance to identify new substances that have an efficient insecticidal activity, since currently insect pests such as the tomato moth (*Tuta absoluta*) have acquired resistance to many commercial pesticides and these substances later can be used as a model for new pesticides. In this scenario, the phytochemical study and the biological activity potential of the species *Trichilia ramalhoi* has been little investigated, making it necessary to further study this species since plants of the same family and same genus have shown promising results when testing biological activities in several areas and mainly the insecticidal activity. *T. ramalhoi*, collected in Linhares-ES in 2019, underwent classical chromatographic methods and spectroscopic and spectrometric techniques for structural identification of substances. The phytochemical study of *T. ramalhoi* leaves led to the identification and

characterization of 7 substances, 6 of which are triterpenes: Alitusaltinina A **(I)** in mixture with Tirucalano - 7,22,24 - trien - 3 - one **(II)**, Betulona **(III)** , Felochina **(IV)**, Tetranoiraldehyde Bourjotilona C **(V)**, Piscidinol A **(VI)**; and a steroid: Itesmol **(VI)**. Substances **II** and **V** isolated for the first time naturally and unprecedented **IV** for the genus *Trichilia*. The experiment of insecticidal activity demonstrated that The use of the highest concentration of *T. ramalhoi* extract (5% w / v) affected the biology of *Tuta absoluta*, increasing the mortality of immatures (larvae + pupae), decreasing the daily and total fertility of the insect. insect and pupae viability.

## 1. INTRODUÇÃO

O livro “Primavera silenciosa”, obra da bióloga Rachel Carson que revolucionou o mundo em 1962 ao denunciar os efeitos danosos causados pelo uso indiscriminado do pesticida dicloro-difenil-tricloroetano, mais conhecido pela sigla DDT (Carson, 2010), foi um marco importante para agricultura e desde então se tem aumentado o apelo por um sistema de produção mais consciente, sendo que atualmente existem legislações nacionais e internacionais de controle de qualidade de alimentos para que não sejam consumidos alimentos com teor de pesticidas acima do permitido (ANVISA, 2020).

Os produtos do metabolismo secundário das plantas possuem atividades biológicas, que apesar de não terem participação direta para a sobrevivência da planta, são importantes para o sistema de defesa do vegetal. Sendo assim, para a área agrícola é de grande importância a busca por novos compostos, devido à ampla utilização desses produtos no campo e muitas vezes pela falta de opções voltadas para o manejo mais ecológico e também devido à resistência desenvolvida por pragas através do uso indiscriminado desses produtos ao longo do tempo. Os novos compostos devem possuir atividade inseticida eficiente, além de não contribuírem para a contaminação ambiental, não deixar resíduos nos alimentos e não prejudicar os insetos inimigos naturais (Vendramim, 1997).

Além disso, o mercado internacional é rigoroso na inspeção de resíduos nos alimentos que são importados. O estudo de Rezende et al. 2019 determinou a quantidade do pesticida paraquate presente em maçãs que são exportadas para a

Europa e concluiu que a maçã Fuji estava fora dos limites da Anvisa e da União Europeia. Segundo o IBGE (2020), no período que compreende de 2005 a 2014 houve um aumento de cerca de 60% na comercialização de pesticidas no Brasil. De acordo com dados de Gonçalves et al. (2016) das 504 substâncias com uso autorizado no Brasil, 149 estão proibidas na União Europeia, gerando um cenário de grande preocupação, pois a maioria dessas substâncias podem acarretar grandes danos à saúde humana.

No Brasil, a praga *Tuta absoluta*, inseto pertencente à ordem dos lepidópteros e da Família Gelechiidae, mais conhecida como traça-do-tomateiro tem causado prejuízos à lavoura. Esta é uma praga que causa injúrias ao fruto do tomate e minas nas folhas, provocando queda na produtividade e conseqüente prejuízo aos produtores. Segundo levantamento feito pela Arthropod Pesticide Resistance Database (2020), a traça-do-tomateiro apresentou resistência a 16 ingredientes ativos pelo mundo, sendo eles pertencentes aos grupos: Piretroides, benzoilureias, oxadiazinas, diamidas, carbamatos e espinosinas.

Portanto, há um apelo por estudos de plantas que possuam atividade inseticida eficiente para que se tornem uma alternativa futura ao uso de inseticidas convencionais que são prejudiciais à saúde do homem e ao meio ambiente. A família Meliaceae vem sendo amplamente estudada devido aos bons resultados que se tem obtido por ter atividade biológica eficiente, dentre as atividades estudadas nessa família está a ação inseticida que vem mostrando resultados promissores (Gómez-Garcia et al., 2019).

A *Trichilia ramalhoi* é uma espécie que pertencente à família Meliaceae e tem sido pouco explorada cientificamente em estudos fitoquímicos e atividade inseticida, reforçando a importância de investigar essa espécie que pode vir a ter resultados promissores.

Os dados da atividade inseticida do extrato de *Trichilia ramalhoi* Rizzini foram apresentados na forma de artigo e encontra-se na sessão anexo desta dissertação.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo Geral

Isolar e identificar estruturalmente os constituintes químicos do extrato metanólico/partição diclorometano das folhas da espécie *Trichilia ramalhoi* (Meliaceae) Rizzini e testar sua ação inseticida sobre a traça-do-tomateiro (*Tuta absoluta*), inseto praga de importância agrícola.

### 2.2. Objetivo Específico

- Fazer levantamento bibliográfico relacionado à composição química da espécie *Trichilia ramalhoi* e sobre as atividades biológicas, especialmente a ação inseticida, visando um maior conhecimento sobre a espécie em estudo.
- Isolar, identificar e caracterizar substâncias do metabolismo secundário da espécie *Trichilia ramalhoi*.
- Testar a atividade inseticida dos extratos e substâncias isoladas da espécie *Trichilia ramalhoi* sobre a *Tuta absoluta*.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Família Meliaceae

As Plantas da família Meliaceae pertencem à ordem Sapindales, compreendem cerca de 1400 espécies distribuídas em aproximadamente 50 gêneros e dentre estes, seis são nativos do Brasil: *Cedrela*, *Cabralea*, *Swietenia*, *Carapa*, *Guarea*, e *Trichilia* (Pennington & Styles, 1975).

A família Meliaceae é caracterizada quimicamente pela produção de limonoides. Além da Meliaceae, a Rutaceae e a Cneoraceae são as únicas famílias de espécies vegetais a produzirem limonoides, sendo esta última com menos frequência (Tan et al., 2011).

Os limonoides (também conhecidos como tetranortriterpenoides) pertencem à classe de triterpenos modificados no qual ocorre a perda de 4 carbonos da cadeia lateral do apoeufol (20R)/apotirucalol (20S) e posteriormente é formado o anel furano, sumarizado na Figura 1 (Dewick, 2009).

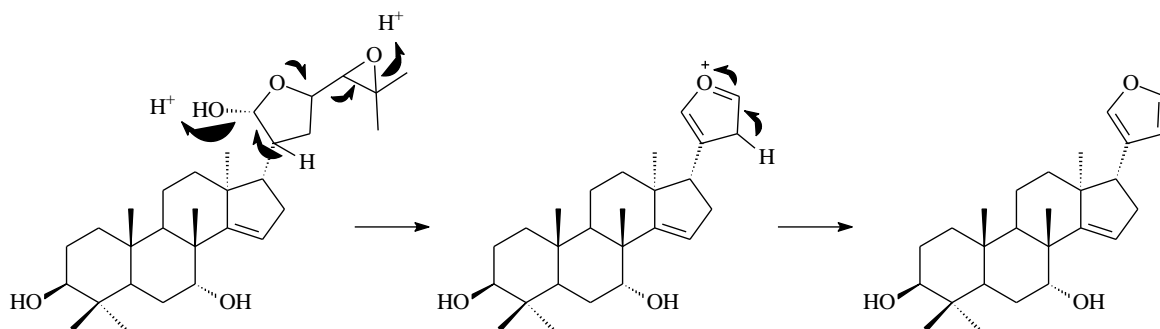


Figura 1. Perda de quatro carbonos na cadeia lateral para formação do limonoide.

A atividade biológica da família Meliaceae é atribuída principalmente pela presença de limonoides e tem sido descritas em muitos trabalhos. Segundo Matos et al. (2010), o extrato diclorometânico de folhas da *Cedrela fissilis* apresentou atividade inseticida ocasionando morte larval de 63% da população avaliada de *Spodoptera frugiperda*. Na revisão feita por Beneli et al. (2017), trata a cerca da importância da espécie de planta *Azadirachta indica* - mais conhecida popularmente como neem – no cenário de produtos naturais principalmente pela sua atividade inseticida que se dá pela presença do composto azadiractina (figura 2), que pertence ao grupo de limonoides. No trabalho de Siddiqui et al. (2003), foi isolado um novo tetranortriterpenoide chamado meliatetraolenone [24,25,26,27-tetranor-apotirucalla-(apoeupha)-6a-O-metil,7a-senecioil(7-deacetil)-11a,12a,21,23-tetrahidroxi-21,23-epoxi-2,14,20(22)-trien-1,16-dione] a partir do extrato metanólico de neem que apresentou atividade inseticida contra larvas do quarto ínstar de *Anopheles stephensi*.

Além da atividade inseticida, a família Meliaceae também possui atividade antimicrobiana, antidiarreica (Konaté et al., 2015), antifúngica (Opawale et al., 2015), antiviral (Espada et al., 2015), entre outras (Komane et al., 2011).



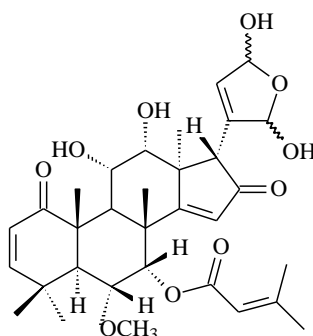


Figura 2. Estrutura da substância azadiractina.

### 3.2. Gênero *Trichilia*

O gênero *Trichilia* é um dos maiores em quantidade pertencentes à família Meliaceae, composto por plantas caracterizadas por terem porte arbóreo ou arbustivo. Pode ser encontrada nos neotrópicos, do norte do México até o norte da Argentina. Possui 81 espécies catalogadas até então na América Tropical e está presente em 23 estados brasileiros (Pennington, 2016).

Segundo Vieira et al. (2014), através de uma revisão do perfil fitoquímico de plantas do gênero *Trichilia* pode-se concluir que dos 334 compostos isolados até 2014, 87,7% pertencem à classe dos terpenos.

Estudos recentes têm mostrado trabalhos relevantes envolvendo plantas do gênero *Trichilia* que possuem alta atividade inseticida (Liu et al., 2018), sendo de grande importância para a agricultura moderna.

Segundo dados de Curcino et al. (2014), 27 plantas pertencentes a este gênero estão sendo estudadas quimicamente, sendo elas: *T. americana*, *T. catigua*, *T. casaretti*, *T. cipo*, *T. claussenii*, *T. connaroides*, *T. cuneata*, *T. dregeana*, *T. emetica*, *T. elegans*, *T. estipulata*, *T. havanensis*, *T. heudellotti*, *T. hirta*, *T. hispida*, *T. lepidota*, *T. martiana*, *T. pallida*, *T. prieuriana*, *T. quadrijuga*, *T. reticulata*, *T. rubescens*, *T. rubra*, *T. schomburgkii*, *T. silvatica*, *T. trifolia* e *T. ramalhoi*, esta última sendo a espécie escolhida para o estudo da constituição química e seu potencial inseticida.

Trabalhos foram realizados no laboratório (LCQUI-UENF), tendo como objeto de estudo plantas do gênero *Trichilia*, com as espécies *Trichilia casaretti*

(Vieira et al., 2010, Vieira et al., 2018), *Trichilia hirta* (Vieira et al., 2013, Vieira et al., 2016), *Trichilia lepidota* (Terra et al., 2013), *Trichilia quadrijuga* (Rodrigues et al., 2009).

### 3.2.1. Constituintes químicos do gênero *Trichilia*

Sabe-se que plantas do gênero *Trichilia* tem como característica química a presença de limonoides. Porém, segundo Curcino et al. (2014) outras classes de substâncias foram isoladas como: monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, esteroides, cumarinas, flavonoides, lignanas e lactonas. A maioria dessas substâncias isoladas pertencem a substâncias provenientes da rota biossintética dos terpenoides.

Duas vias metabólicas levam a biossíntese de terpenoides: a via do mevalonato e a via 1-desoxilulose-5-fosfato (DXP) apresentadas na Figura 3. Todos os carbonos da estrutura derivam bioquimicamente do isopentenil pirofosfato (IPP) que possui 5 carbonos.

Os terpenoides são classificados de acordo com a quantidade de unidades de isopreno que são incorporados na estrutura, são eles: hemiterpenos (C<sub>5</sub>), monoterpenos (C<sub>10</sub>), sesquiterpenos (C<sub>16</sub>), diterpenos (C<sub>20</sub>), sesterpenos (C<sub>25</sub>), triterpenos (C<sub>30</sub>) e tetraterpenos (C<sub>40</sub>) (Dewick, 2009).

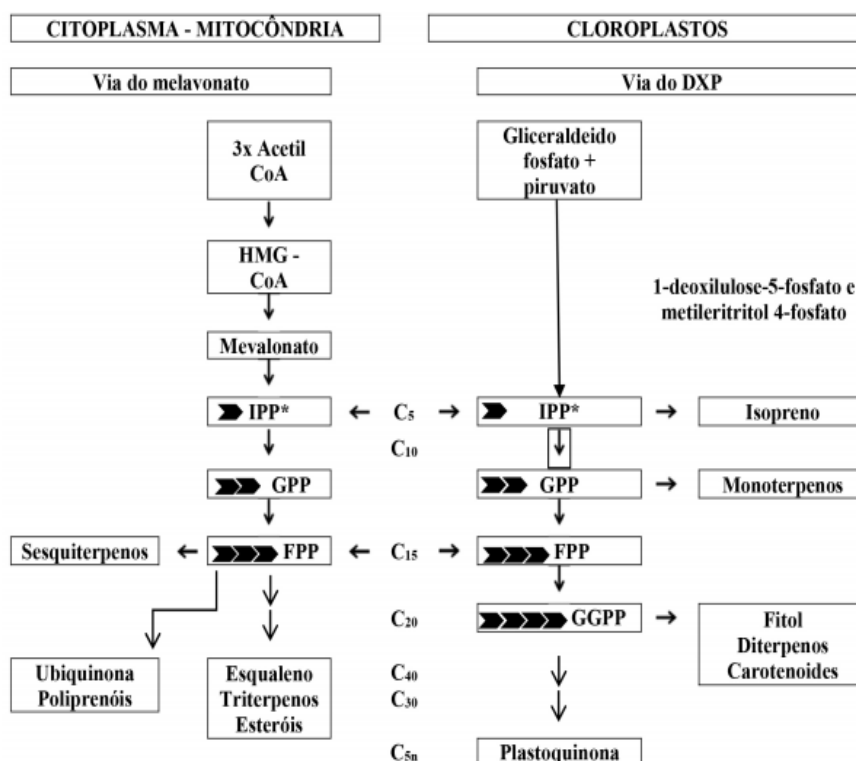


Figura 3. Representação esquemática das duas rotas metabólicas referente à síntese de terpenos/terpenoides: via do mevalonato e via do 1-desoxilulose-5-fosfato (DXP) (Felipe e Bicas, 2016).

Foi realizado por Curcino et al. (2014) e Vieira (2015) um levantamento bibliográfico das substâncias que foram isoladas de plantas do gênero *Trichilia*, sendo em sua maioria terpenoides. A partir deste levantamento, Passos et al. 2020 listou em sua pesquisa 227 limonoides identificados a partir de 21 espécies do gênero *Trichilia* entre os anos de 1966 e 2020.

### 3.2.2. Atividade Inseticida do Gênero *Trichilia*

Plantas da família Meliaceae têm obtido bons resultados quando estudadas visando atividade inseticida. Na literatura existem muitos trabalhos envolvendo a ação inseticida de extratos ou compostos isolados de plantas do gênero *Trichilia*, como no trabalho de Liu et al., (2018), onde foi isolada a substância trisinlina A de raízes de *Trichilia sinensis*. Essa substância pertence à

classe dos limonoides e apresentou um resultado promissor quando testada contra larvas de *Spodoptera litura*.

No trabalho desenvolvido por Cunha et al. (2005), extratos aquosos e não aquosos (provenientes de partições feitas com solventes orgânicos) foram testados a fim de identificar qual fração seria a mais eficiente contra o inseto *Tuta absoluta*, sendo os extratos da partição acetato de etila e metanol (provenientes de um extrato diclometânico), ambas a 0,15% as mais eficientes.

Simmonds et al. (2001) isolou 3 novos limonoides inéditos das raízes de *Trichilia pallida*, e somente a substância 6,11  $\beta$ -dihidroxi-12 $\alpha$ -(2-metilpropanoiloxi)-3,7-dioxo-1,4  $\beta$ ,15-epoxi-1,5-meliacadien-29-oato de metila obteve maior atividade antialimentar contra todas as larvas de lepidopteras testadas no experimento: *Spodoptera littoralis*, *Spodoptera exígua*, *Heliothis virescens* e *Heliocoverpa armigera*.

Nebo et al. (2010) obteve bons resultados a partir do experimento realizado com frutos da espécie *Trichilia clauseenii*. O bioensaio revelou uma atividade inseticida eficiente da partição metanólica que provocou a morte de cerca de 64% da população das lagartas. Essa ação inseticida foi atribuída principalmente a presença de ácidos graxos  $\omega$  – fenilalquil e alcenil.

Wheeler et al. (2001) trabalharam com a investigação da atividade do extrato da *Trichilia americana* sobre a *Spodoptera litura* e após a realização dos bioensaios pode-se concluir que o extrato bruto metanólico apresentou atividade antialimentar sob 50% da população larval e ação tóxica. Também houve redução do crescimento.

A espécie *Trichilia americana* foi estudada por Brito et al. (2019) e apresentou resultados promissores contra o inseto *Copitarsia decolora* (lepidoptera). Dentre os 4 extratos de plantas analisadas, o extrato de acetato de etila e acetona de *T. americana* causaram morte larval de 90% e 50% respectivamente. Além da atividade inseticida, também diminuiu o peso larval médio, aumentou a duração do estágio larval, ocasionou má formação das pupas e afetou a fertilidade.

No trabalho de Baldin et al. 2020, plantas pertencentes à família Meliaceae e Asteracea foram testadas quanto ao seu efeito inseticida e inibitório de seus extratos sobre a mosca-branca (*Bremisia tabasi*). Todos os extratos obtiveram resultados promissores: *T. casaretti*, *T. catigua*, *T. clausenii*, *T. elegans*,

*M. glomerata*, *L. ericoides*, *L. granmongolense* e *L. salicifolia*, causando efeito de deterrência na ovoposição, com exceção do extrato etanólico de *T. pallida* e extrato hexânico de *M. azedarach*.

O gênero *Trichilia* pertencente à família Meliaceae, a mesma dos gêneros *Melia* e *Azadirachta*, é conhecido por possuir espécies com atividade inseticida eficiente (Isman et al., 1996). O Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) possui uma vasta literatura sobre o controle de pragas realizado utilizando suas sementes, o perfil fitoquímico das sementes de Nim é constituída principalmente do limonoide azadiractina, que tem a sua presença atribuída à eficácia dos extratos contra insetos (Forim et al., 2010).

Portanto, os estudos das plantas do gênero *Trichilia* é importante, pois pode-se encontrar substâncias semelhantes às encontradas nos gêneros *Melia* e *Azadirachta*.

Estudos têm evidenciado que espécies do gênero *Trichilia* têm apresentado resultados promissores quanto ao seu uso inseticida (Garcia Gomez et al., 2018). Estudos de triagem de plantas do gênero *Trichilia* na Costa Rica de Wheeler et al. 2001 demonstraram através de experimento o potencial inseticida dessas espécies. Foram avaliadas 6 espécies que reduziram significativamente o crescimento larval de *Spodoptera litura*. A espécie que apresentou melhor resultado foi a *Trichilia americana*.

### 3.2.3. *Trichilia ramalhoi*

A espécie *Trichilia ramalhoi*, popularmente conhecida na região da Bahia como caixão-preto (Pennington, 1981), é caracterizada por possuir porte arbóreo podendo alcançar 30 metros de altura, flores com tons esverdeados e esbranquiçados e frutos maduros amarronzados. A floração ocorre entre os meses de maio e agosto e a frutificação entre agosto e fevereiro (Pennington, 2016a). No Brasil pode ser encontrada nos estados do Ceará, Espírito Santo, Bahia, Minas Gerais e Rio de Janeiro (Pennington, 2016).

Em 2004 a *Trichilia ramalhoi* foi estudada pela primeira vez por (Ambrozin et al. 2004). Neste trabalho, três substâncias foram isoladas dos galhos: mistura de  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol (esteroides), lupeol e lupenona, estas duas últimas

pertencentes à classe de triterpenos pentacíclicos. A substância lupeol apresentou atividade contra o *Tripanossoma cruzi*.

A atividade tripanocida desta espécie ainda é descrita por Leite et al. (2009) onde este afirma depois de experimentos com extratos de *Trichilia ramalhoi* que esta é uma planta promissora contra a atividade deste protozoário.

O trabalho mais recente envolvendo a espécie foi conduzido por Gomes et al. (2020). Neste trabalho, foram isoladas 7 substâncias de extratos metanólicos de caules e folhas, sendo elas: metil 5-O-cafeoilquinato, apocinina C, uma mistura de dois estereoisômeros de cinconains Ia e Ib e alguns compostos previamente identificados nesta espécie:  $\beta$ -sitosterol, estigmasterol e lupeol. Os extratos de *T. ramalhoi* foram submetidos a avaliação biológica e mostrou eficiente ação antioxidante, antinociceptivo e anti-inflamatória.

A atividade biológica e o estudo fitoquímico de *Trichilia ramalhoi* têm sido pouco explorados não havendo outros relatos de atividade inseticida, portanto, sendo importante a ampliação dos estudos desta espécie já que quando estudada obteve resultados promitentes. Visto os bons resultados da atividade inseticida no gênero *Trichilia*, se faz importante a investigação desta atividade na *Trichilia ramalhoi*.

### 3.3. Plantas Inseticidas

A busca por moléculas que apresente atividade inseticida eficiente tem sido cada vez maior devido ao crescente número de insetos que se tornaram resistentes aos produtos já utilizados (Nogueira et al., 2020), a ocorrência de morte de insetos inimigos naturais (Guedes et al., 2016), contaminação de alimentos (Balleste & Mantelli 2020). Além disso, o avanço na área de síntese química proporcionou que moléculas complexas provenientes do metabolismo secundário das plantas fossem modificadas em escala industrial (Saito e Luchinni 1988).

Pesquisas que estudam o metabolismo secundário de plantas e visam isolar e identificar novas moléculas que possuam atividade inseticida tem por objetivo que essas moléculas sejam modelo para a síntese de novos compostos

inseticidas ou para obter inseticidas vegetais para uso *in natura* (Vendramim e Castiglioni 2000).

Diversos estudos vêm demonstrando a eficiência de extratos quando utilizados para controlar pragas de forma eficiente. Segundo Neri (2020), extratos aquosos de nim a 5% diminuíram a incidência de ovoposição e ação antialimentar da *Bremisia tabasi* biótipo B em plantas de melancia. Nebo et al. 2010 concluiu que o extrato hexânico de sementes de *Trichilia clausenii* apresentou atividade inseticida sobre *Spodoptera frugiperda* causando 70% de mortalidade de lagartas. Baldin et al. 2020 avaliou a atividade inseticida em 7 extratos de plantas pertencentes à família Meliaceae e 4 plantas da família Asteraceae sobre *Bemisia tabaci*. Foi possível concluir que todas as plantas apresentaram efeito repelente para *Bemisia tabaci*, exceto o extrato etanólico de *Trichilia pallida* e extrato hexânico de *Melia azadirachta*.

No Brasil, o extrato de sementes da planta *Sophora flavescens*, conhecido comercialmente como oximatrine ou oxymatrine, é registrado pela ANVISA para uso agrícola. Tem ação acaricida e pode ser usado em diversas culturas como: abóbora, abobrinha, algodão, ameixa, berinjela, café, chuchu, citros, jiló, maçã, marmelo, nectarina, nêspira, pêra, pêssego, pimenta, pimentão, quiabo, tomate e soja (ANVISA, 2003).

### 3.4. *Tuta absoluta*

A *Tuta absoluta* (Meyrick), pertence à ordem das Lepdopteras e à família Gelechiidae e é considerada uma das pragas mais importantes da cultura do tomate. O ciclo completo do inseto é de aproximadamente 30 dias, os adultos são pequenas mariposas de cor cinza e as lagartas chegam a 6 mm e possuem coloração parda ( França & Coelho 1992).

As lagartas desse inseto se alimentam do interior das folhas, provocando minas transparentes nas folhas e galerias de coloração escura nos frutos do tomate. A severidade do ataque pode levar à planta a morte e conseqüentemente provocando prejuízos ao produtor (EMBRAPA, 2009).

No Brasil ela foi identificada pela primeira vez no ano de 1979 na cidade de Morretes no estado do Paraná (Muszinsk et al., 1982). Além do Brasil, ela pode

ser encontrada em lavouras de tomate do mundo todo, em diferentes áreas da Europa, norte da África, Mediterrâneo, na Índia e América do Sul, Central e Norte (PROMIP, 2020).

Seu controle depende de aplicação de inseticidas e nos últimos anos tem se observado que a *Tuta absoluta* adquiriu resistência a principais classes de inseticidas usados em seu controle. Roditaski et al. 2015 relataram pela primeira vez a resistência da praga ao grupo de inseticida Diamida, que é uma classe amplamente utilizada para combater pragas da ordem dos lepidópteros e age no controle dos receptores da rianodina.

Além de apresentar resistência à inseticidas do grupo Diamida, segundo levantamento feito pela Arthropod Pesticide Resistance Database (2020), a traça-do-tomateiro apresentou resistência a mais 16 ingredientes ativos pelo mundo, sendo eles pertencentes aos grupos: piretroides, benzoilureias, oxadiazinas, carbamatos e espinosinas.



## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Coleta do material vegetal

Para o experimento, foi coletado a espécie *Trichilia ramalhoi* na Reserva Natural Vale, localizada na cidade de Linhares (latitude: 19°23'28" sul e longitude: 40°04'20" oeste) situada no norte do estado do Espírito Santo. No estudo foi utilizado folhas desta espécie.

### 4.2. Secagem, moagem e preparação do material

O material vegetal foi seco ao ar livre, posterior à coleta, durante dez dias e moído no moinho de martelo. Para preparação dos extratos brutos foi feita uma maceração exaustiva em metanol e em seguida realizou-se uma partição com solventes orgânicos imiscíveis em ordem crescente de polaridade ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , ACOEt e ButOH) (Figura 4).

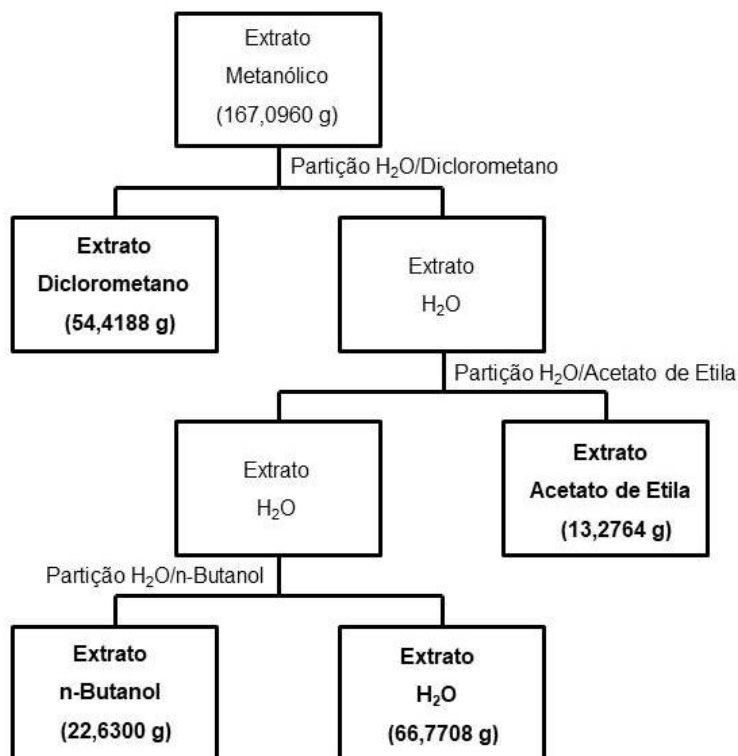


Figura 4. Partição do extrato metanólico das folhas de *T. ramalhoi*.

#### 4.3. Isolamento e purificação das substâncias

As técnicas utilizadas para isolamento e purificação de substâncias foram Cromatografia em Coluna (CC), Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP) e Cromatografia em Camada Delgada (CCD) para análise de pureza.

#### 4.4. Identificação e elucidação das substâncias isoladas

Na identificação e a elucidação das substâncias isoladas foram utilizadas métodos espectroscópicos, sendo eles: Ressonância Magnética Nuclear (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ) e Espectrometria de Massas (EM).

#### 4.5. Análises por Cromatografia

As análises utilizando o método cromatográfico em coluna foram realizadas com gel de sílica e sílica gel 60 PF<sub>254</sub> para fazer a Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP). Para as análises por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA) foram utilizadas cromatofolhas de alumínio com gel sílica 60 F254. As substâncias eluídas na placa foram observadas por irradiação com lâmpada ultravioleta com comprimento de onda de 254 nm e 365 nm, posteriormente foram pinceladas com reagente cromogênico H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc./vanilina e aquecidas em seguida. As análises de RMN foram realizadas no equipamento da marca Bruker, modelo Ascend 500 (500 MHz para <sup>1</sup>H e 125 MHz para <sup>13</sup>C).

## 5. ANÁLISE DAS PARTIÇÕES OBTIDAS DOS EXTRATOS DE FOLHA DE *Trichilia ramalhoi* Rizzini

### 5.1. Análise da Fração Diclorometano

A fração diclorometano foi submetida ao processo de cromatografia em coluna utilizando como fase estacionária gel de sílica e eluída com os solventes hexano:acetato de etila, tendo a polaridade elevada a 100% com o solvente acetato de etila. Foram obtidas 6 frações (Tabela 1).

Tabela 1. Estudo cromatográfico do extrato diclorometânico de folhas de *T. ramalhoi*

Fração	Código	Quantidade (g)	Substância(s)
1	TR1	3,1052 g	
2	TR2	9,31 g	
3	TR3	9,40 g	Aliantusaltinina A (I) + Tirucalano – 7,22,24 – trien – ona (II)
4	TR4 + TR5	9,5319 g	Betulona (III), Itesmol (IV), Felochina (V) Tetranoraldeído Bourjotilona C (VI),
6	TR6	9,8257 g	Piscidinol A (VII)
7	TR7	17,2389 g	

### 5.1.1. Estudo Fitoquímico da Fração TR3 (9,40 g)

A fração TR3 foi submetida ao processo de cromatografia em coluna. A coluna foi empacotada com gel de Sílica. O sistema de solventes utilizado foi hexano:acetato de etila, em ordem crescente de polaridade até a concentração de 100% (v/v) de acetato de etila. Foram obtidas 12 frações. A fração TR3.5 foi escolhida para passar novamente pelo processo de cromatografia em coluna, utilizando o mesmo sistema de solventes. Posteriormente a fração TR3.5.6 foi submetida ao mesmo processo de separação e obteve-se a substância Aliantusaltinina A (Figura 5).

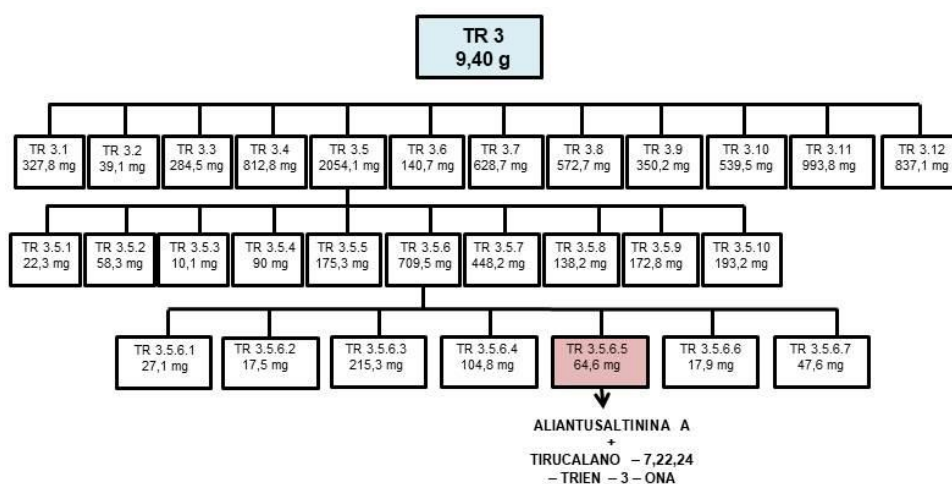


Figura 5. Análise Cromatográfica da Fração TR3.

### 5.1.2. Estudo Fitoquímico da Fração TR4 (9,5319 g)

A fração TR4 foi submetida ao processo de cromatografia em coluna. A coluna foi empacotada com gel de Sílica. O sistema de solventes utilizado foi hexano:acetato de etila, em ordem crescente de polaridade até a concentração de 100% de acetato de etila. Foram obtidas 7 frações. As frações TR4 + TR5 foram reunidas e recromatografadas obtendo-se 11 frações. A partir das 11 frações obtidas a TR4.6 foi escolhida para passar novamente pelo processo de cromatografia em coluna, utilizando o mesmo sistema de solventes. Posteriormente a fração TR4.6.10 foi fracionada em 11 frações, também a partir

do mesmo método de separação e utilizando o mesmo sistema de solvente. Em seguida, a partir da fração TR4.6.9 foi submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa e obteve-se a substância Betulona. A fração TR4.6.13 foi submetida a cromatografia em coluna obtendo-se 7 frações e obteve-se a substância Itesmól. Destas 7 frações obtidas, a fração TR4.6.13.2 foi submetida ao processo de cromatografia em coluna, obtendo-se a substância Felochina (Figura 6).

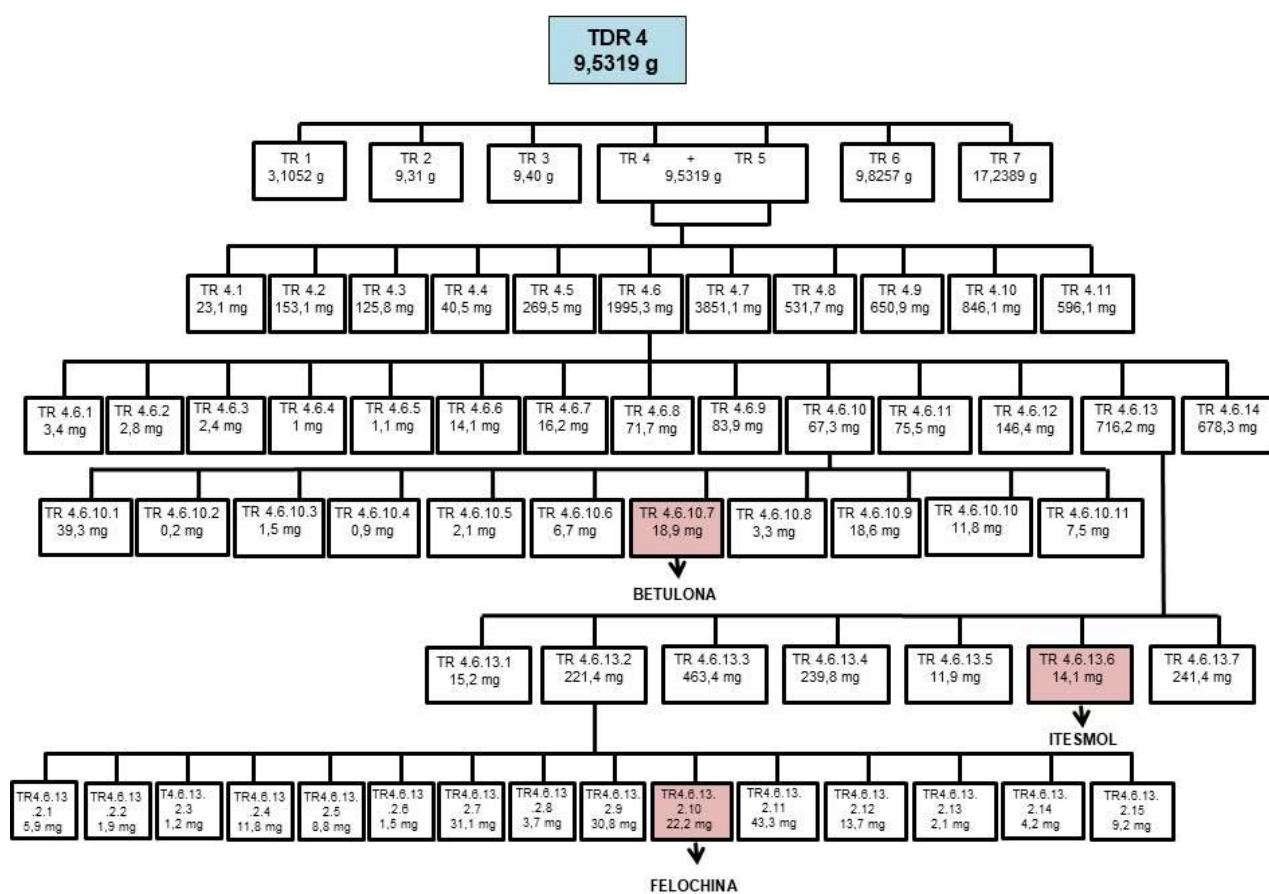


Figura 6. Análise Cromatográfica da Fração TR4 + TR5.

### 5.1.3. Estudo Fitoquímico da Fração TR6 (10 g)

A fração TR6 foi submetida ao processo de cromatografia em coluna. A coluna foi empacotada com gel de Sílica. O sistema de solvente utilizado foi dicloro:metanol, em ordem crescente de polaridade até a concentração de 100% (v/v) de metanol. Foram obtidas 10 frações. A fração TR6.3 foi escolhida para passar novamente pelo processo de cromatografia em coluna, utilizando o sistema de solventes hexano:acetato de etila e obteve-se a substância Tetranoraldeído Bourjotilona C. Posteriormente a fração TR6.3.8 foi submetida ao mesmo processo de separação utilizando o sistema de solventes hexano:acetato, e a partir das duas frações obtidas, a TR6.3.8.1 foi submetida ao método cromatográfico de coluna e obteve-se a substância Piscidinol A (Figura 7).

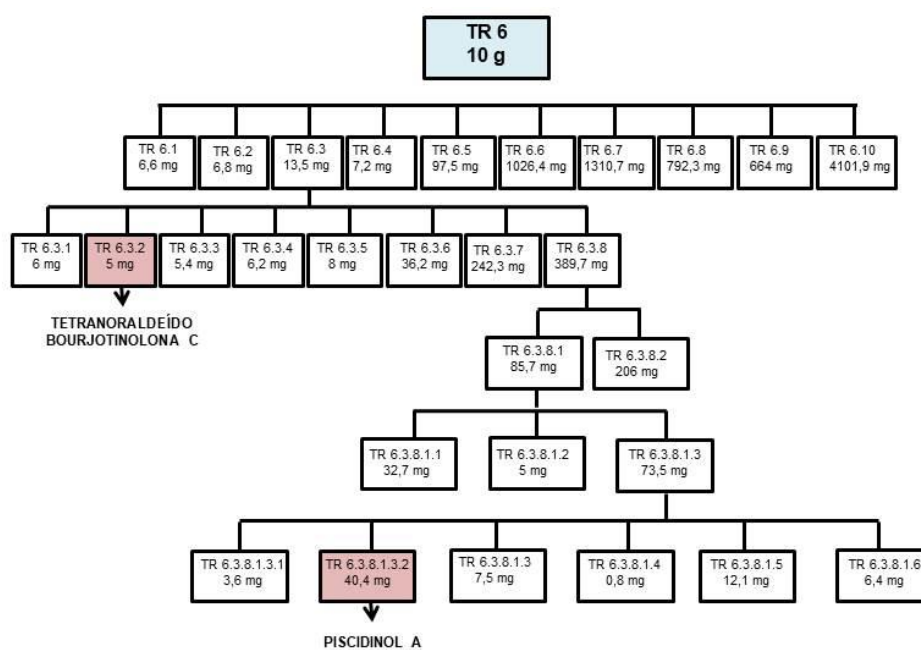


Figura 7. Análise Cromatográfica da Fração TR6.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1. Aliantusaltinina A e Tirucalano-7,22,24-trien-3-ona

O triterpeno Aliantusaltinina A (I) foi isolado em mistura com a substância Tirucalano-7,22,24-trien-3-ona (II) (Figura 8) na fração metanólico/fração diclorometano das folhas de *Trichilia ramalhoi*. As estruturas foram determinadas através da análise dos espectros de massas (EM) (Figura 5 à 6) e RMN  $^1\text{H}$  (Figura 7 à 9),  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (Figura 10 à 12),  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (Figura 13), HSQC (Figura 14), HMBC (Figura 15) e  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY (Figura 16), o que permitiu a elaboração da Tabela 2.

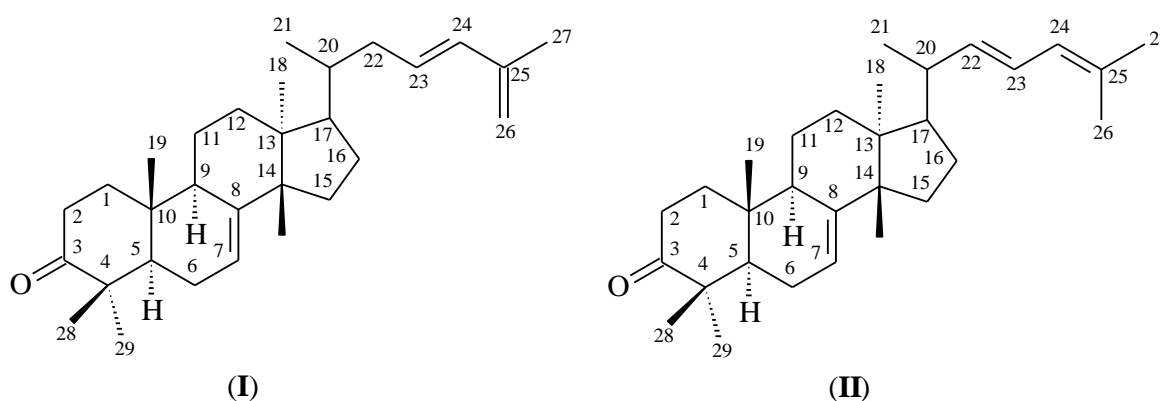


Figura 8. Triterpenos isolados do extrato metanólico das folhas de *T. ramalhoi*.



Foi possível observar no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (Figura 10 à 12) uma duplicação nos sinais apontando para uma mistura onde verificou-se, sete sinais de grupos metilas para a substância I e oito sinais de grupos metilas para a substância II. Além disso, os sinais com deslocamento químico em  $\delta_{\text{C}}$  118,43; 145,94 e 27,41 foram atribuídos aos carbonos C-7, C-8 e C-30, respectivamente para ambas as substâncias por apresentarem o mesmo ambiente químico ocorrendo, assim, sobreposição dos sinais. Já o sinal da carbonila em C-3 foi observado em  $\delta_{\text{C}}$  217,03 e os carbonos olefínicos da cadeia lateral em  $\delta_{\text{C}}$  114,07 (C-26, I), 124,29 (C-23, II), 125,89 (C-24, II), 130,06 (C-23, I), 132,00 (C-25, II), 134,54 (C-24, I), 138,55 (C-22, II) e 142,21 (C-25, I). Juntamente com o auxílio do CG/EM, onde foi possível observar dois picos majoritários com o mesmo valor m/z de 422, possibilitou estabelecer a mesma fórmula molecular  $\text{C}_{30}\text{H}_{46}\text{O}$  indicando que se trata de um esqueleto triterpênico do tipo tirucalano.

No espectro de RMN  $^1\text{H}$ , pode-se observar a presença de um grupo metileno em  $\text{CH}_2$ -26 na substância I pela presença do sinal em  $\delta_{\text{H}}$  4,87 (s), que está ausente em II, além dos outros sinais dos hidrogênios olefínicos da cadeia lateral que diferem para as duas substâncias  $\delta_{\text{H}}$  5,33 (m, H-22, II), 5,62 (m, H-23, I), 5,79 (m, H-24, II), 6,14 (d, 14, 7, H-24, I) e 6,17 (m, H-23, II).

A diferença entre as substâncias I e II se pela estrutura da cadeia lateral ligada ao carbono CH-17. No espectro de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY é possível visualizar hidrogênios vizinhos a 3 ligações. Na substância I a presença do sinal  $\delta_{\text{H}}$  4,86 indica a presença dos hidrogênios de  $\text{CH}_2$ -24 a 3 ligações dos hidrogênios metílicos de  $\text{CH}_3$ -27 indicados pela presença do sinal  $\delta_{\text{H}}$  1,86. Já na substância II a presença do sinal  $\delta_{\text{H}}$  5,79 indica a presença dos hidrogênios de  $\text{CH}_2$ -24 a 3 ligações dos hidrogênios metílicos de  $\text{CH}_3$ -26 e  $\text{CH}_3$ -27, indicados respectivamente pelos sinais  $\delta_{\text{H}}$  1,76 e  $\delta_{\text{H}}$  1,77.

No espectro de HSQC, foi possível evidenciar a diferença entre as substâncias I e II na posição da dupla ligação, na substância I temos uma insaturação nos carbonos CH-23 ( $\delta_{\text{C}}$  130,06) e CH-24 ( $\delta_{\text{C}}$  134,54) que apresenta correlação com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  5,62 e 6,14, respectivamente, e outra insaturação nos carbonos C-25 ( $\delta_{\text{C}}$  142,21) e  $\text{CH}_2$ -26 ( $\delta_{\text{C}}$  114,07), sendo este último correlacionado com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  4,87. Já na substância II a insaturação está nos carbonos CH-22 ( $\delta_{\text{C}}$  138,55 e  $\delta_{\text{H}}$  5,33) /CH-23 ( $\delta_{\text{C}}$  124,39 e  $\delta_{\text{H}}$  6,17) e CH-24 ( $\delta_{\text{C}}$  125,89 e  $\delta_{\text{H}}$  5,79)/C-25 ( $\delta_{\text{C}}$  132,00).

No espectro de HMBC pode-se visualizar para a substância **I** as correlações entre 3H-27 com os carbonos C-24, C-25 e C-26. Já para a substância **II** pode-se observar as correlações entre 3H-27 e 3H-26 com os carbonos C-24 e C-25.

Assim, o conjunto desses dados em comparação com dados da literatura (Zhou et al., 2011; Kim et al., 2011) permitiram identificar a mistura dos compostos **I** e **II** como tirucalan-7,22,24-trien-3-ona e Aliantusaltinina A, respectivamente. A substância tirucalan-7,22,24-trien-3-ona foi isolada pela primeira vez como produto natural. Kumar et al. 1991 haviam sintetizado essa molécula através de modificações estruturais de triterpenos isolados da espécie *Paramignya monophyela*.

Tabela 2. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de I e II. Os valores dos deslocamentos químicos  $\delta_{\text{H}}$  e  $\delta_{\text{C}}$  estão em ppm e as constantes de acoplamento  $J$  estão em Hz

	I				II			
	HSQC		HMBC		HSQC		HMBC	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$
<b>C</b>								
3	217,03	-			217,03	-		
4	47,89	-	3H-28; 3H-29		47,89	-		
8	145,94	-		3H-30	145,94	-		
10	37,49	-	3H-19		37,49	-		
13	43	-	3H-18	3H-30	43,00	-		
14	51,61	-	3H-30	3H-18	47,89	-		
25	142,21	-	3H-27		132,00	-	3H-26; 3H-27	
<b>CH</b>								
5	52,54	1,75		3H-19; 3H-28; 3H-29	52,54	1,75		
7	118,43	5,32 (m)	2H-6		118,43	5,32 (m)		
9	48,51	2,30			48,51	2,30		
17	53,10	1,56 - 1,50		3H-18; 3H-21	53,10	1,56 - 1,50		
20	36,69	1,40	3H-21		40,54	2,10	3H-21	
22	-	-	-	-	138,55	5,33 (m)		
23	130,06	5,62 (m)			124,39	6,17 (m)		
24	134,54	6,14 (d, 14,7)		3H-27	125,89	5,79 (m)		3H-26; 3H-27
<b>CH<sub>2</sub></b>								
1	38,54	2,00, 1,47		3H-19	38,54	2,00, 1,47		
2	34,94	2,77 (dd, 14,3, 5,7)			34,94	2,77 (dd, 14,3, 5,7)		
		2,25				2,25		
6	24,37	2,15			24,37	2,15		
11	18,23	1,55			18,26	1,55		
12	33,48	1,80, 1,65		3H-18	33,48			
15	34,08	1,45		3H-30	34,08			
16	28,21	1,98, 1,38			28,48	1,85, 1,30°		
22	39,51	2,25, 1,80		3H-21	-	-	-	-
26	114,07	4,87 (s)		3H-27				
<b>CH<sub>3</sub></b>								
18	22,04	0,86 (s)			22,23	0,87 (s)		
19	12,83	1,03 (s)			12,83	1,03 (s)		
21	20,19	0,91			19,28	0,93 (d)		
26	-	-	-	-	18,59	1,76 (s)		3H-27
27	18,75	1,86 (s)			26,17	1,77 (s)		3H-26
28	24,50	1,07 (s)		3H-29	24,50	1,07 (s)		
29	21,7	1,13 (s)		3H-28	21,7	1,13 (s)		
30	27,41	1,04 (s)			27,41	1,04 (s)		

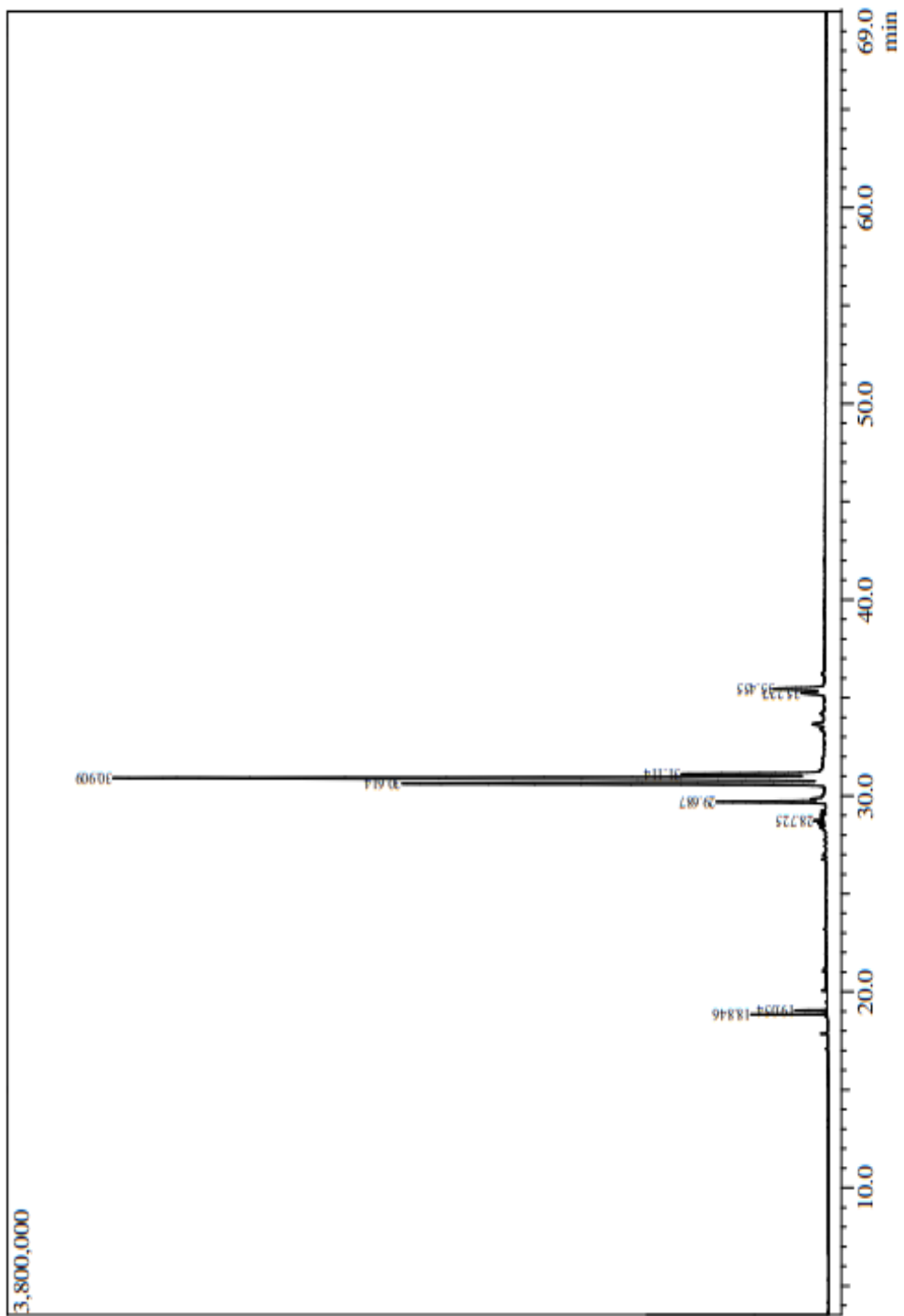


Figura 9. Cromatograma da mistura de I e II.

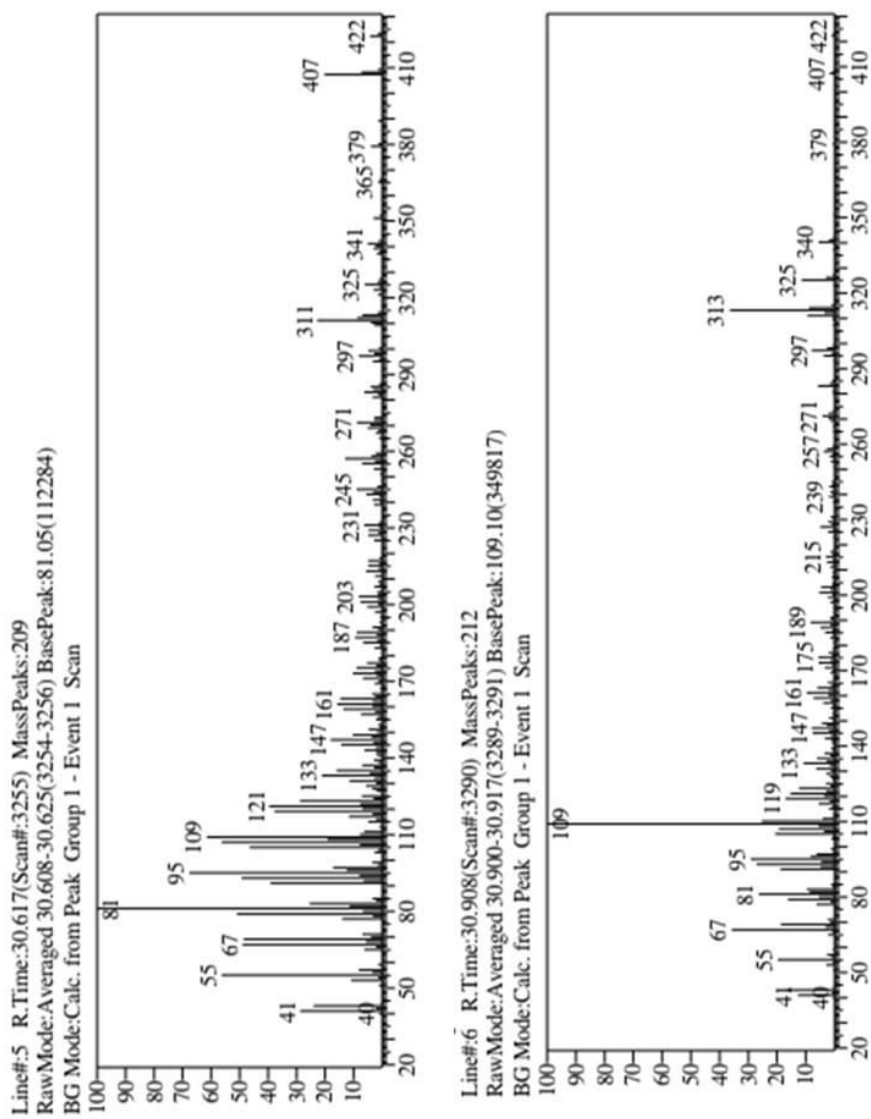
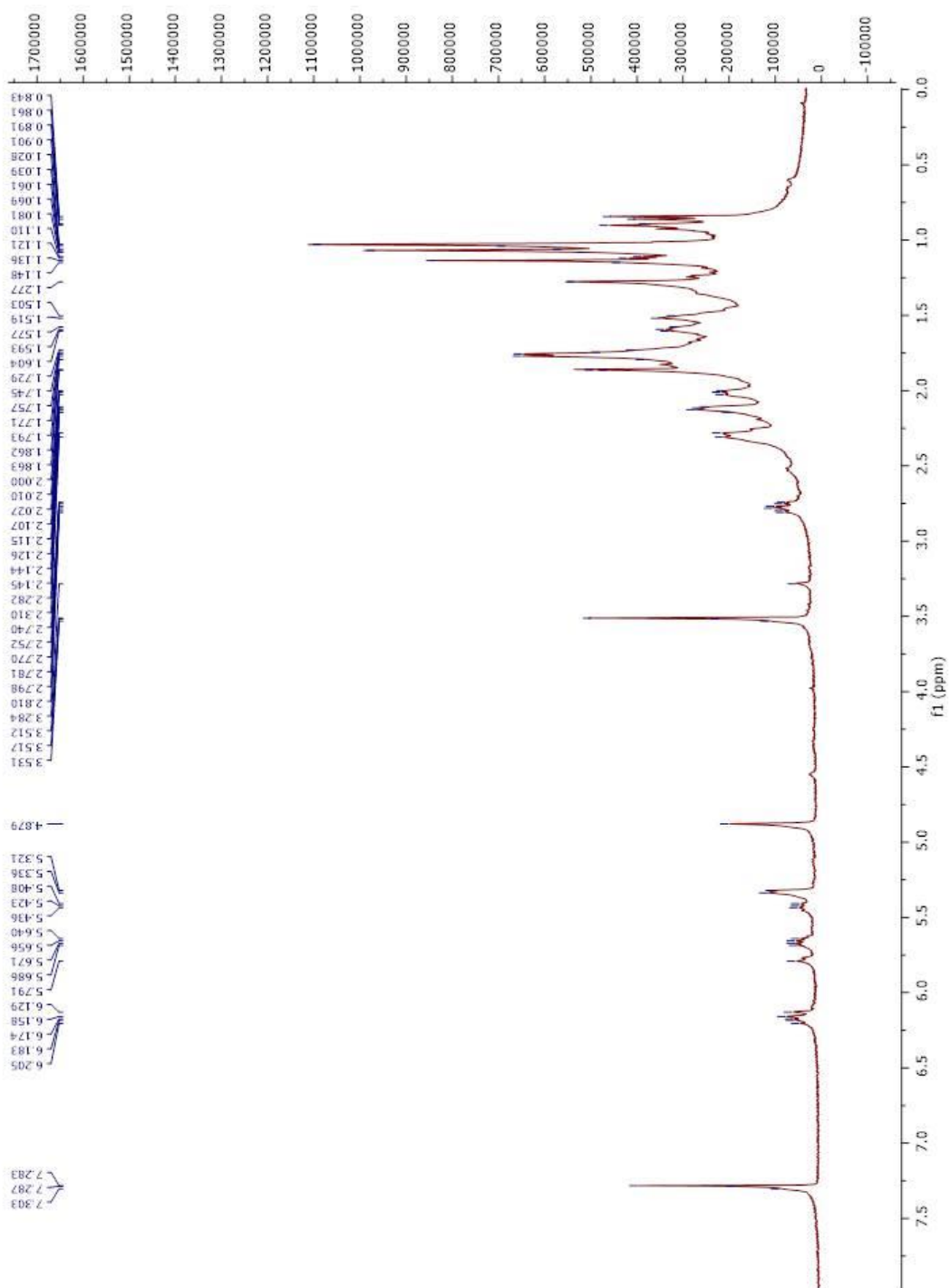


Figura 10. Espectro de massas dos tempos de retenção 30.617 e 30.900s de I e II.

Figura 11. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de I e II.

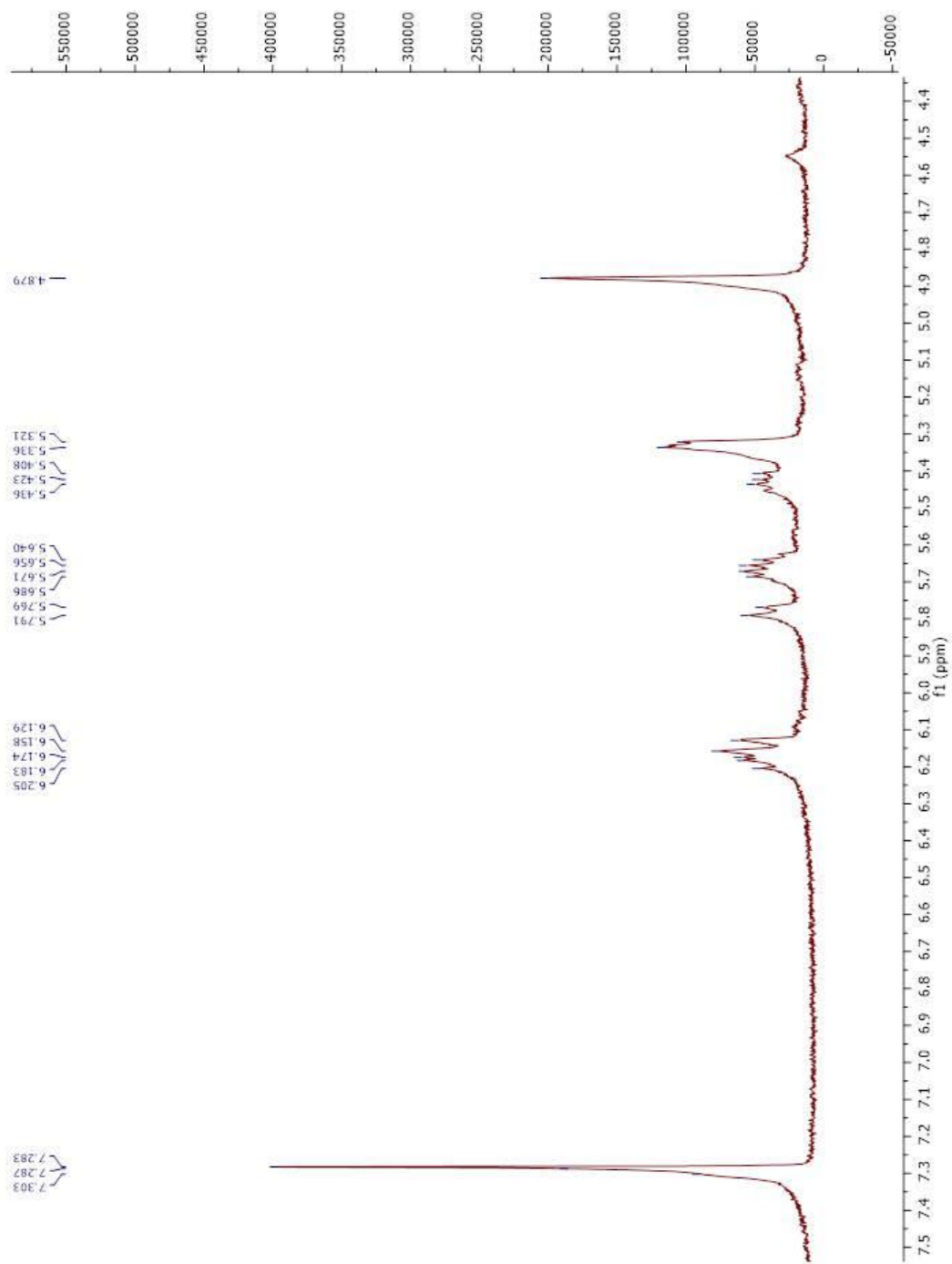


Figura 12. Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de I e II.

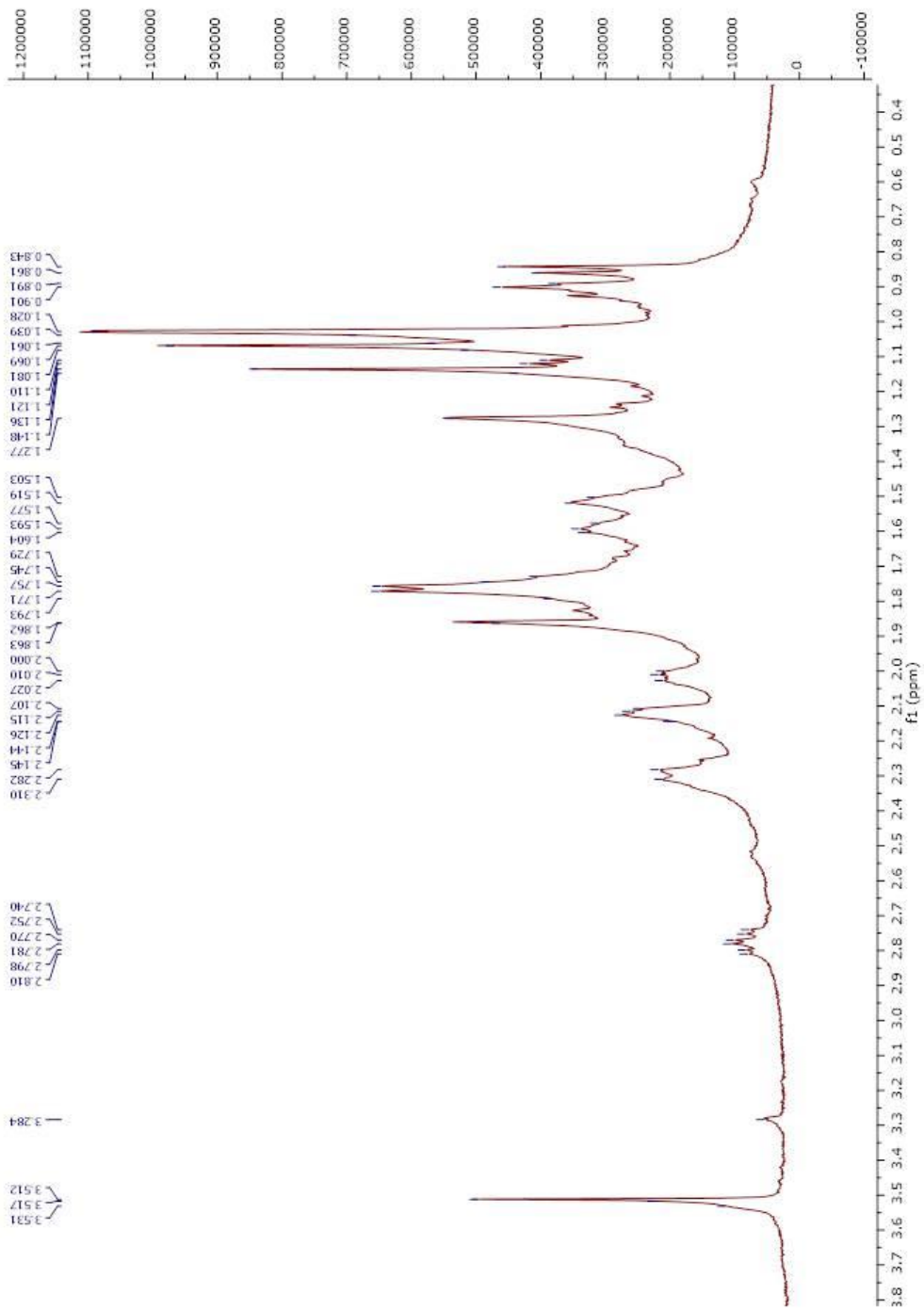


Figura 13. Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de I e II.



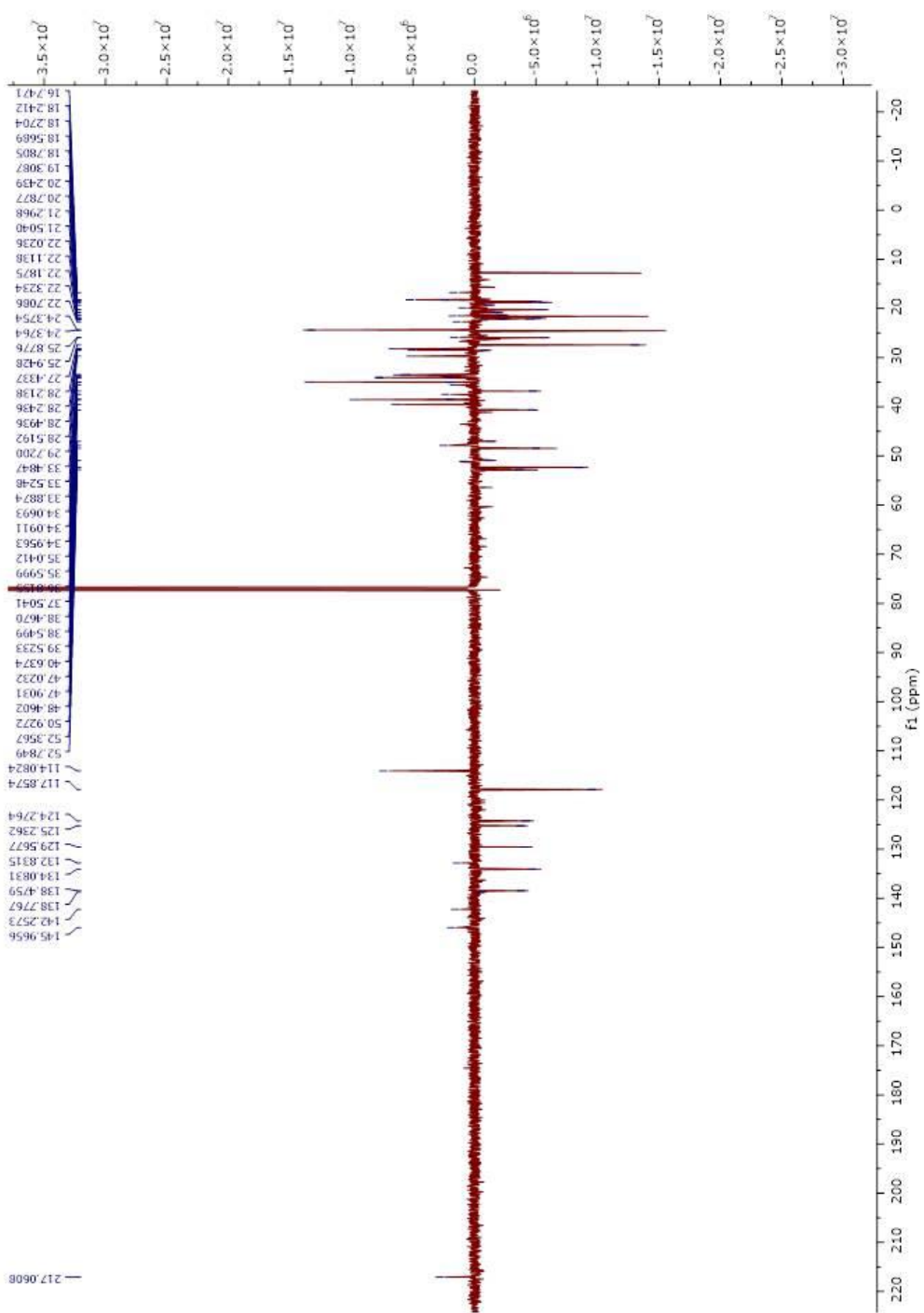


Figura 14. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de I e II.

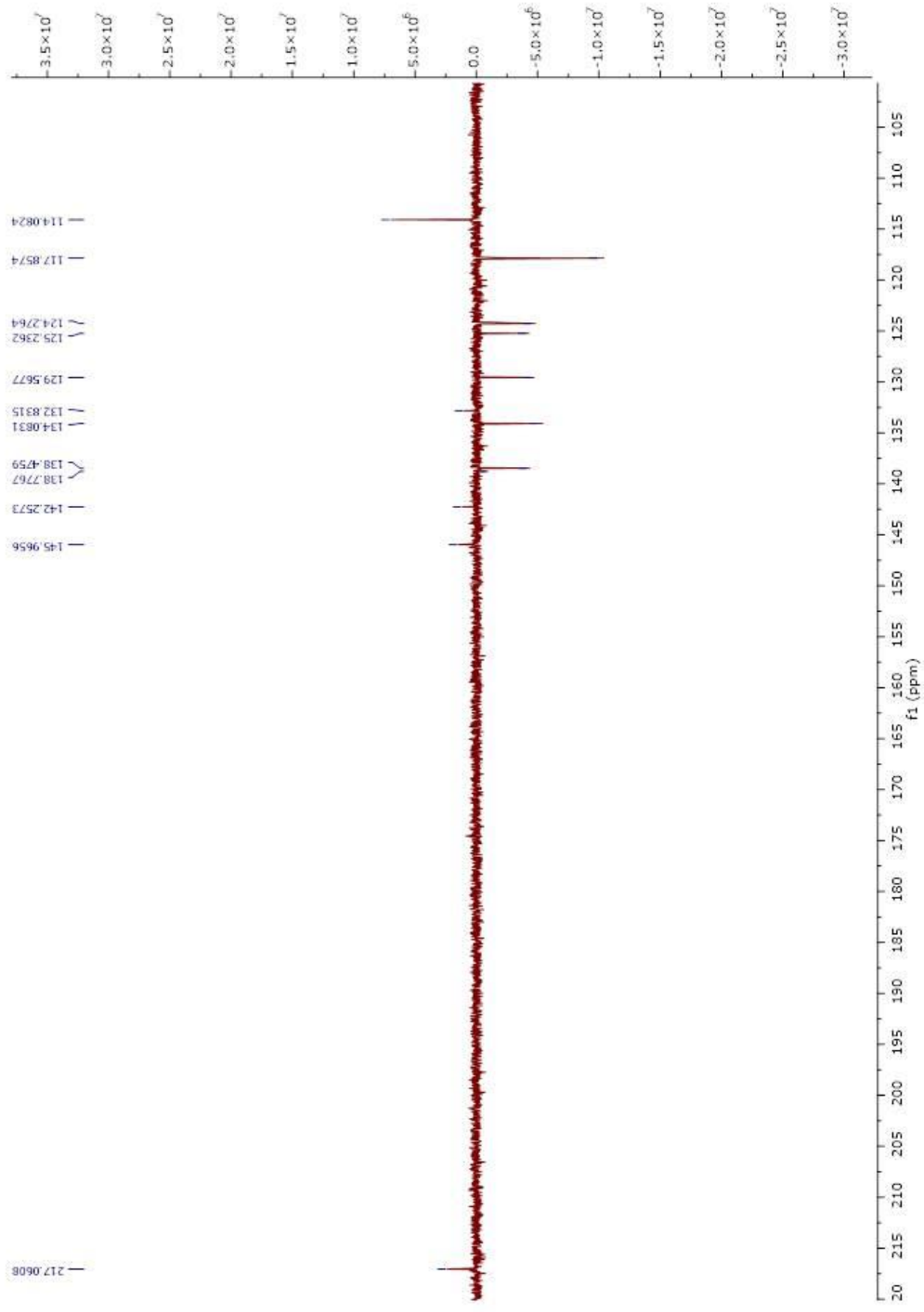


Figura 15. Ampliação do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de I e II.

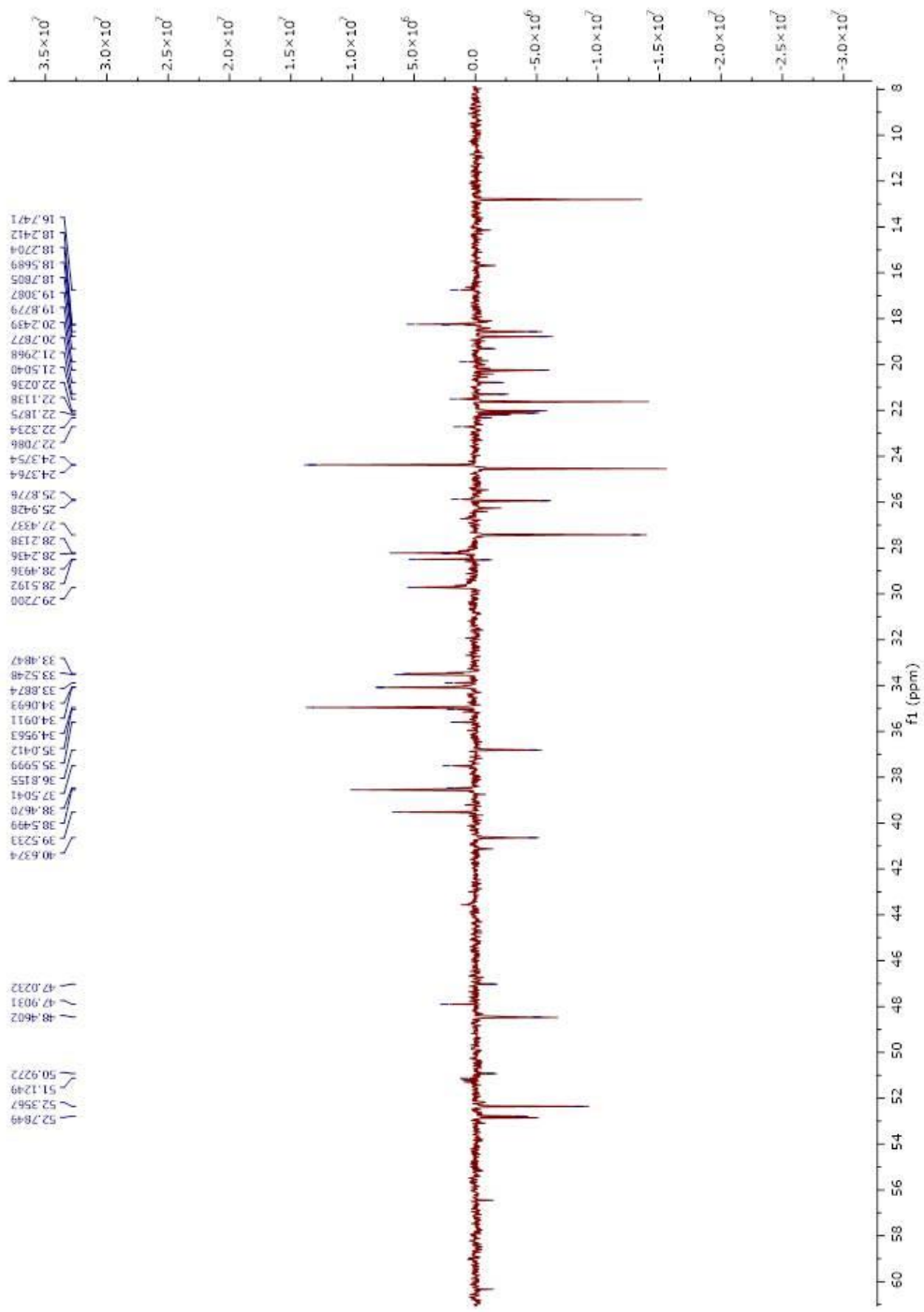


Figura 16. Ampliação do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de I e II.

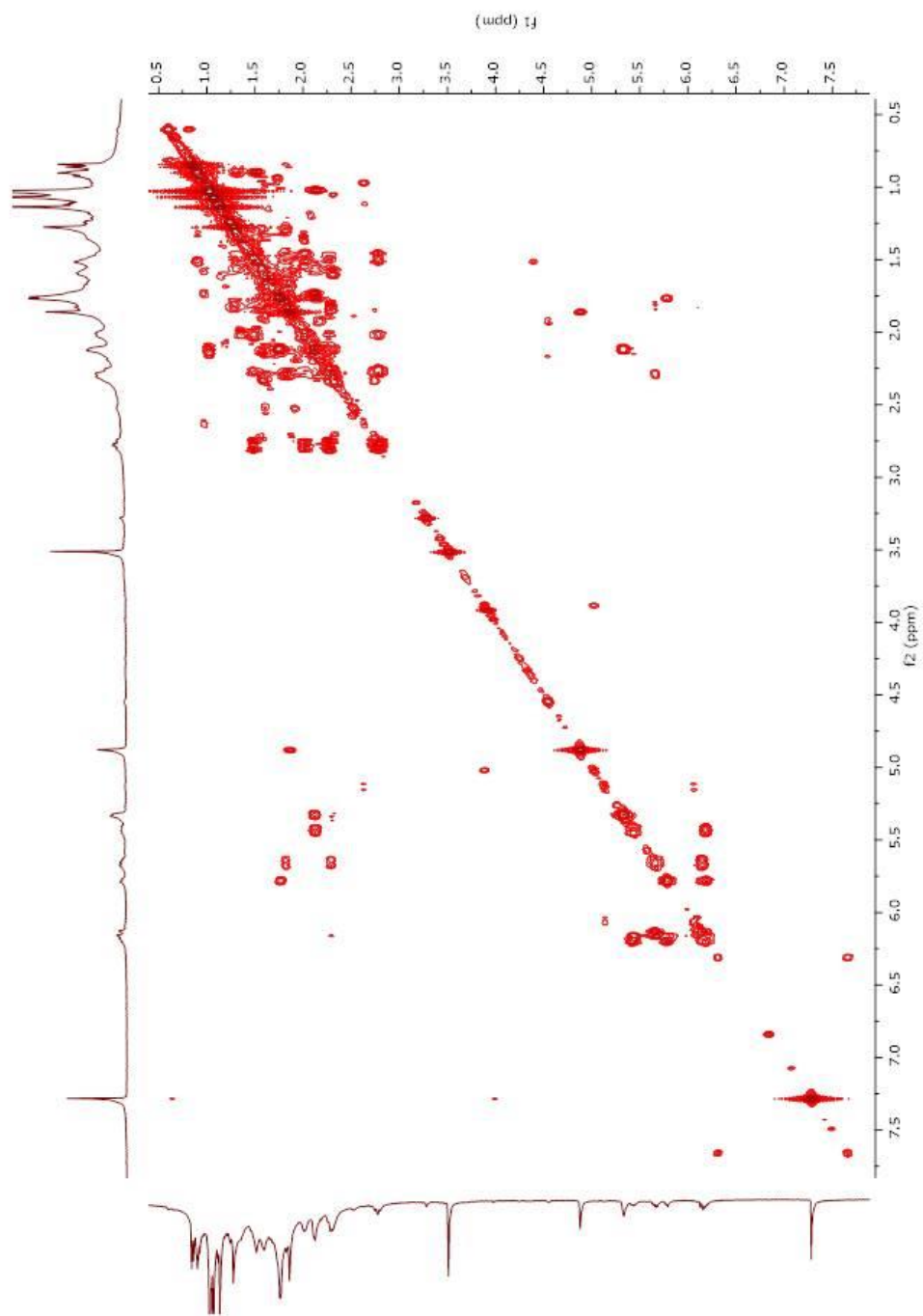


Figura 17. Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  de I e II.

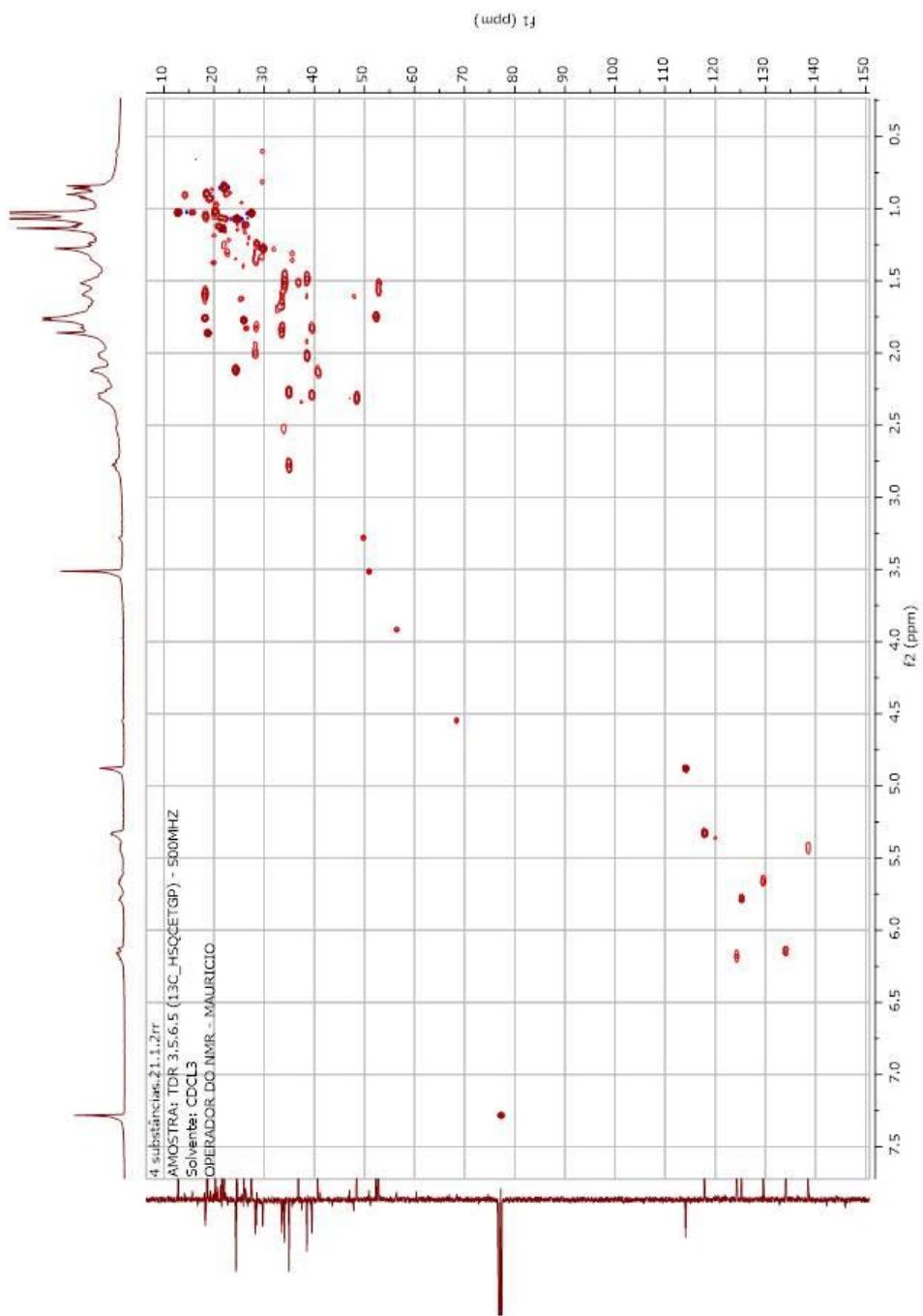


Figura 18. Espectro de HSQC em CDCl<sub>3</sub> de I e II.

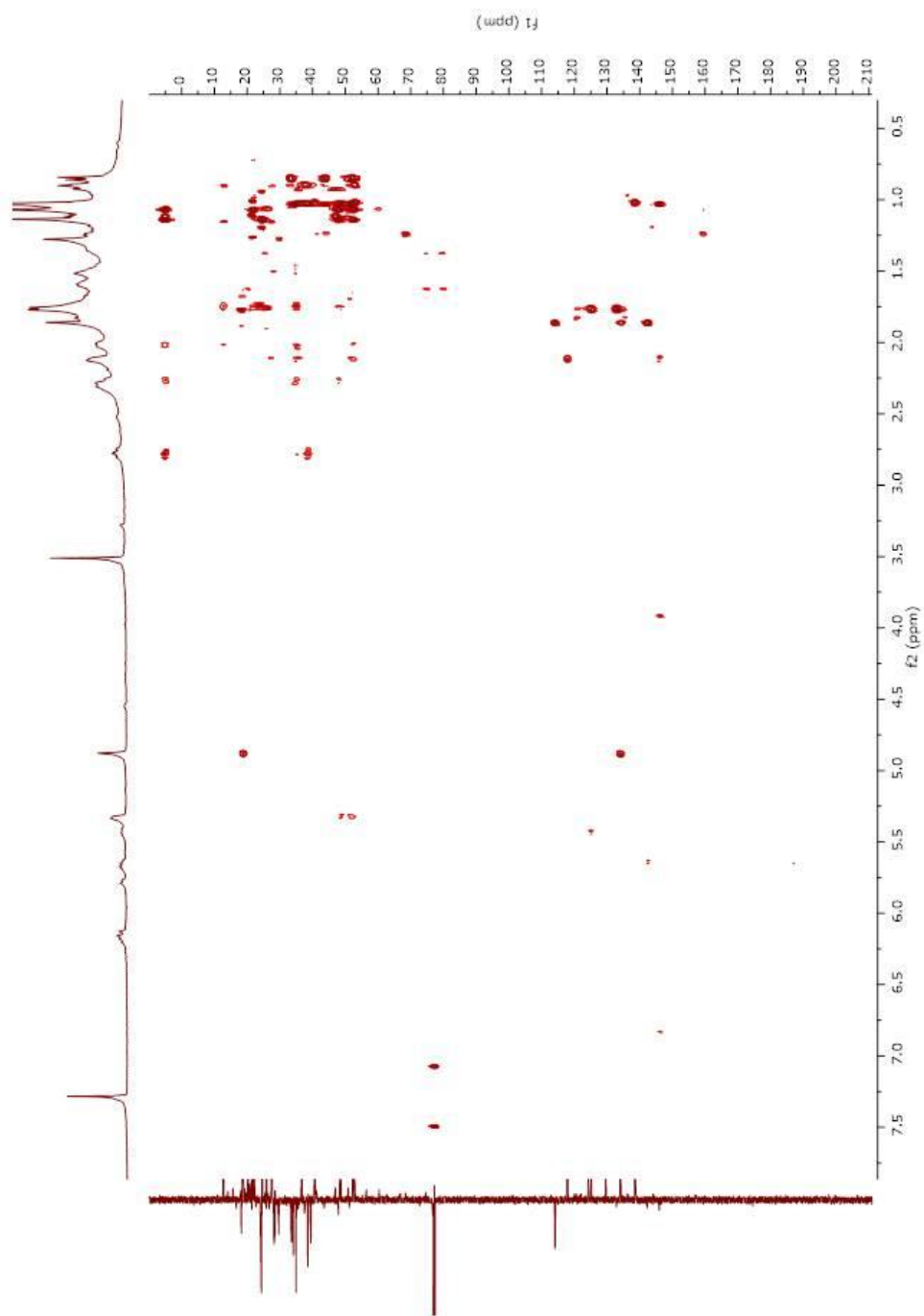


Figura 19. Espectro de correlação Heteronuclear de HMBC de I e II.

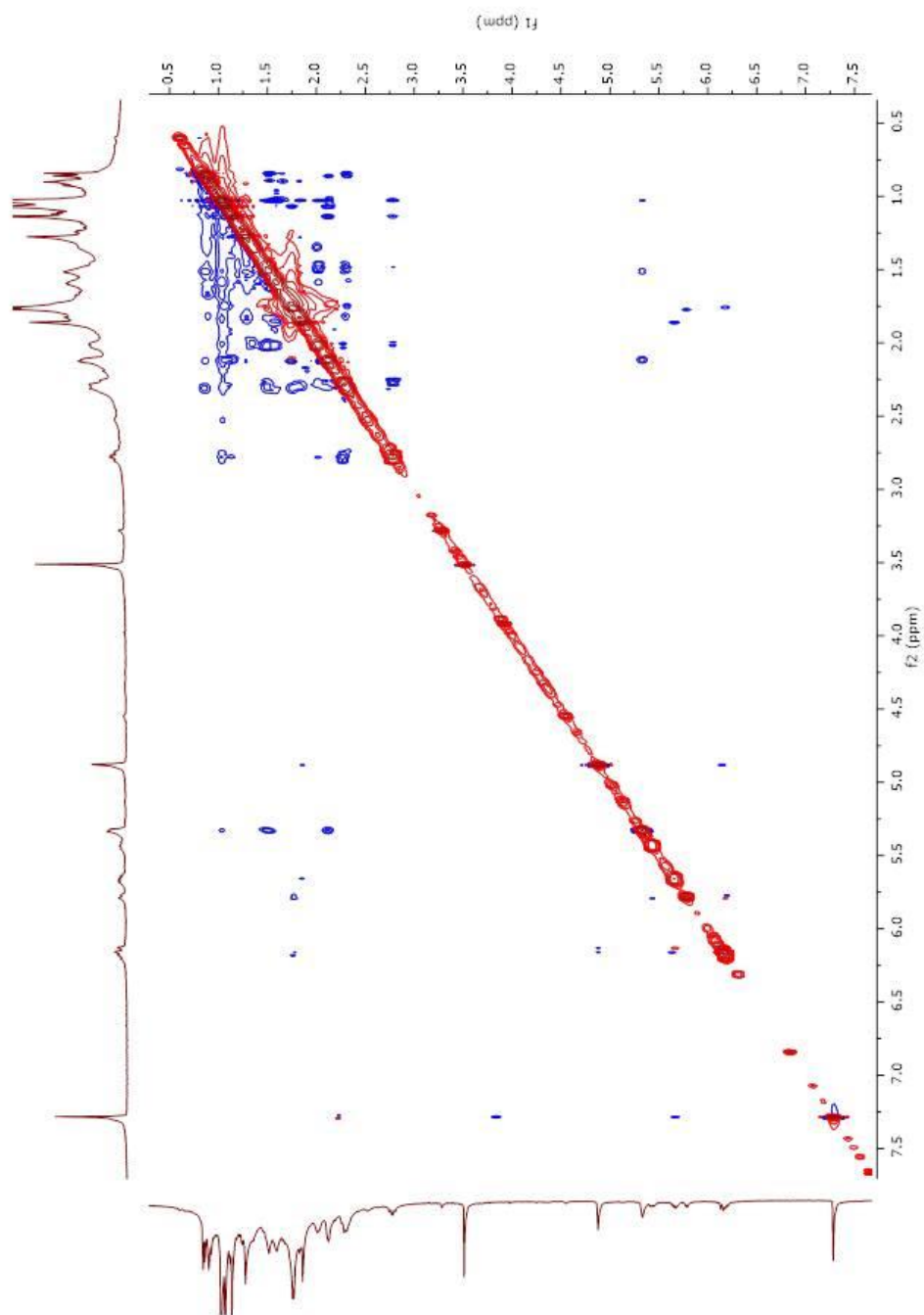


Figura 20. Ampliação do Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY em  $\text{CDCl}_3$  de I e II.

## 6.2. Betulona

O triterpeno Betulona (III) (Figura 21) foi isolado da fração metanólica/fração diclorometano das folhas de *Trichilia ramalhoi*. A estrutura foi determinada através da análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 18 à 20),  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (Figura 21 à 23),  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (Figura 24), HSQC (Figura 25), HMBC (Figura 26) e  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY (figura 27), o que permitiu a elaboração da Tabela 3.

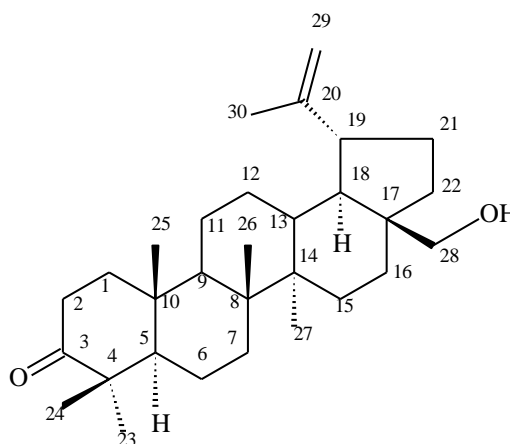


Figura 21. Triterpeno isolado do extrato metanólico das folhas de *T. ramalhoi* (III).

A partir da análise de espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (Figura 21 à 23), constatou-se a presença de trinta carbonos, sendo sete não hidrogenados ( $\delta_{\text{C}}$  36,87, 40,86, 42,77, 47,35, 56,89, 150,40 e 218,18), cinco metínicos ( $\delta_{\text{C}}$  37,54, 47,97, 48,84, 49,83, 54,95), doze metilênicos ( $\delta_{\text{C}}$  19,65, 21,48, 25,20, 27,02, 29,1, 29,72, 33,51, 33,96, 34,14, 39,60, 60,54 e 109,77) e seis metílicos ( $\delta_{\text{C}}$  14,62, 15,79, 15,88, 19,14, 21,35 e 26,62). Sendo os sinais em  $\delta_{\text{C}}$  109,77 (C-29) e 150,40 (C-20) atribuídos ao grupo insaturado, além do sinal em  $\delta_{\text{C}}$  60,54 atribuído ao carbono ligado a hidroxila C-28.

O espectro de RMN de  $^1\text{H}$  mostrou seis singletos em  $\delta_{\text{H}}$  0,95, 1,01, 1,04, 1,08, 1,09 e 1,70, característicos de grupos metílicos. O sinal em  $\delta$  1,70 sugere um grupo metílico ligado a uma insaturação. Também apresentou dois singletos em  $\delta_{\text{H}}$  4,70 e 4,60 de grupo metileno terminal (2H-29) e dois dubletos em  $\delta_{\text{H}}$  3,82 (d, 10,0) e 3,36 (d, 10,0) de grupo carbinólico (2H-28).



O espectro de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY é possível visualizar Hidrogênios vizinhos a 3 ligações. Na substância **III** a presença do sinal  $\delta_{\text{H}}$  4,70 (s), 4,60 (s) indica a presença dos hidrogênios de  $\text{CH}_2$ -29 à 3 ligações dos hidrogênios metílicos de  $\text{CH}_3$ -30 e  $\text{CH}$ -19 indicados respectivamente pela presença do sinal  $\delta_{\text{H}}$  1,70 e 2,40.

O espectro de correlação heteronuclear HSQC corroborou na confirmação da proposta do triterpeno através das correlações entre os sinais  $\delta_{\text{C}}$  60,54 com os hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  4,70 e 4,60 atribuído ao grupo metileno e o sinal em  $\delta_{\text{C}}$  109,77 com os hidrogênios  $\delta_{\text{H}}$  3,82 e 3,36 atribuído ao carbono carbinólico.

No espectro de HMBC pode-se visualizar as correlações entre H-19 e 3H-30 com os carbonos C-19 e C-29, e 2H-29 com o carbono C-19 confirmando a localização do grupo metileno, também foi possível observar as correlações entre 2H-28 com os carbonos C-16 e C-22.

Esses resultados em conjunto com os dados da literatura (Ollenikov et al., 2017) corroboram para o triterpeno betulona.

Tabela 3. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) De III. Os valores dos deslocamentos químicos  $\delta_{\text{H}}$  e  $\delta_{\text{C}}$  estão em ppm e as constantes de acoplamento  $J$  estão em Hz

	III				
	HSQC		HMBC		(Olennikov et al., 2017)
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}$
<b>C</b>					
3	218.18	-			218.0
4	47.35	-	3H-23; 3H-24	H-2b	47.4
8	40.86	-	3H-26	3H-27	40.7
10	36.87	-	3H-25		36.5
14	42,77	-	3H-27	3H-26	42.5
17	56.89	-			56.8
20	150.40	-	H-19; 3H-30	H-18	150.0
<b>CH</b>					
5	54.95	1.32		H-1a; 3H-23; 3H-24; 3H-25	54.9
9	49.83	1.40		3H-26; 3H-27	50.1
13	37.54	1.70	H-12a	3H-27	38.3
18	48.84	1.65		H-12a; H-21a	48.8
19	47.97	2.40		2H-29; 3H-30	47.0
<b>CH<sub>2</sub></b>					
1	39.60	1.90, 1.42	2H-2	3H-25	39.5
2	34.14	2.50 (m), 2.42 (m)			34.0
6	19.65	1.48			19.4
7	33.51	1.45		3H-26	33.5
11	21.48	1.42, 1.25			21.2
12	25.20	1.65, 1.08			25.2
15	27.02	1.70, 1.05		3H-27	29.4
16	29.72	1.45, 1.20		H-28b	32.4
21	29.11	1.92, 1.42			29.8
22	33.96	1.90, 1.10		2H-28	37.1
28	60.54	3.82 (d, 10.0), 3.36 (d, 10.0)		H-18	59.4
29	109.77	4.70 (s), 4.60 (s)		H-19; 3H-30	110.2
<b>CH<sub>3</sub></b>					
23	26.62	1.09 (s)		3H-24	26.5
24	21.35	1.04 (s)		3H-23	20.7
25	15.88	0.95 (s)			15.8
26	15.79	1.08 (s)		2H-7	15.6
27	14.62	1.01 (s)			14.5
30	19.14	1.70 (sl)		2H-29	19.0

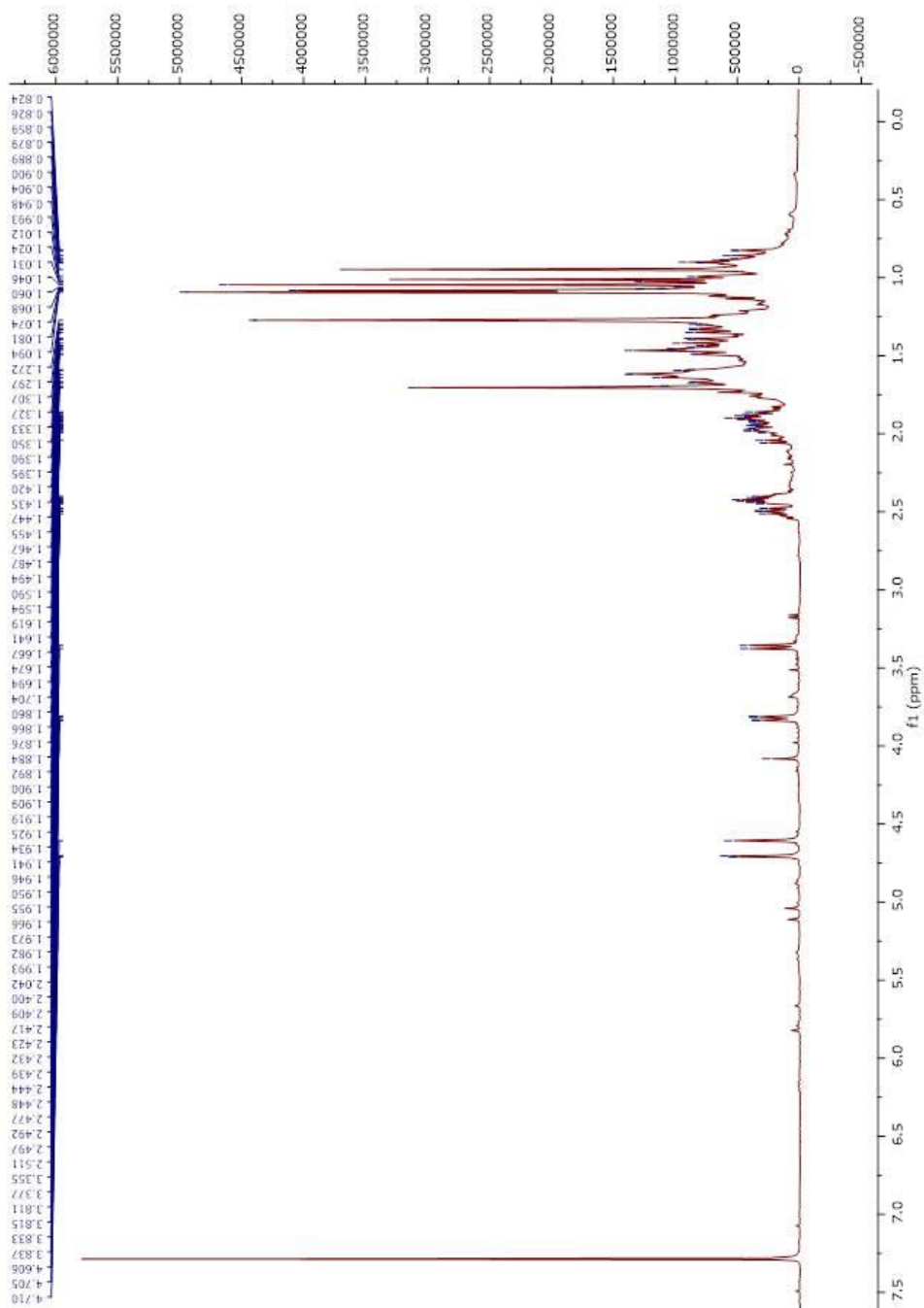


Figura 22. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de III.

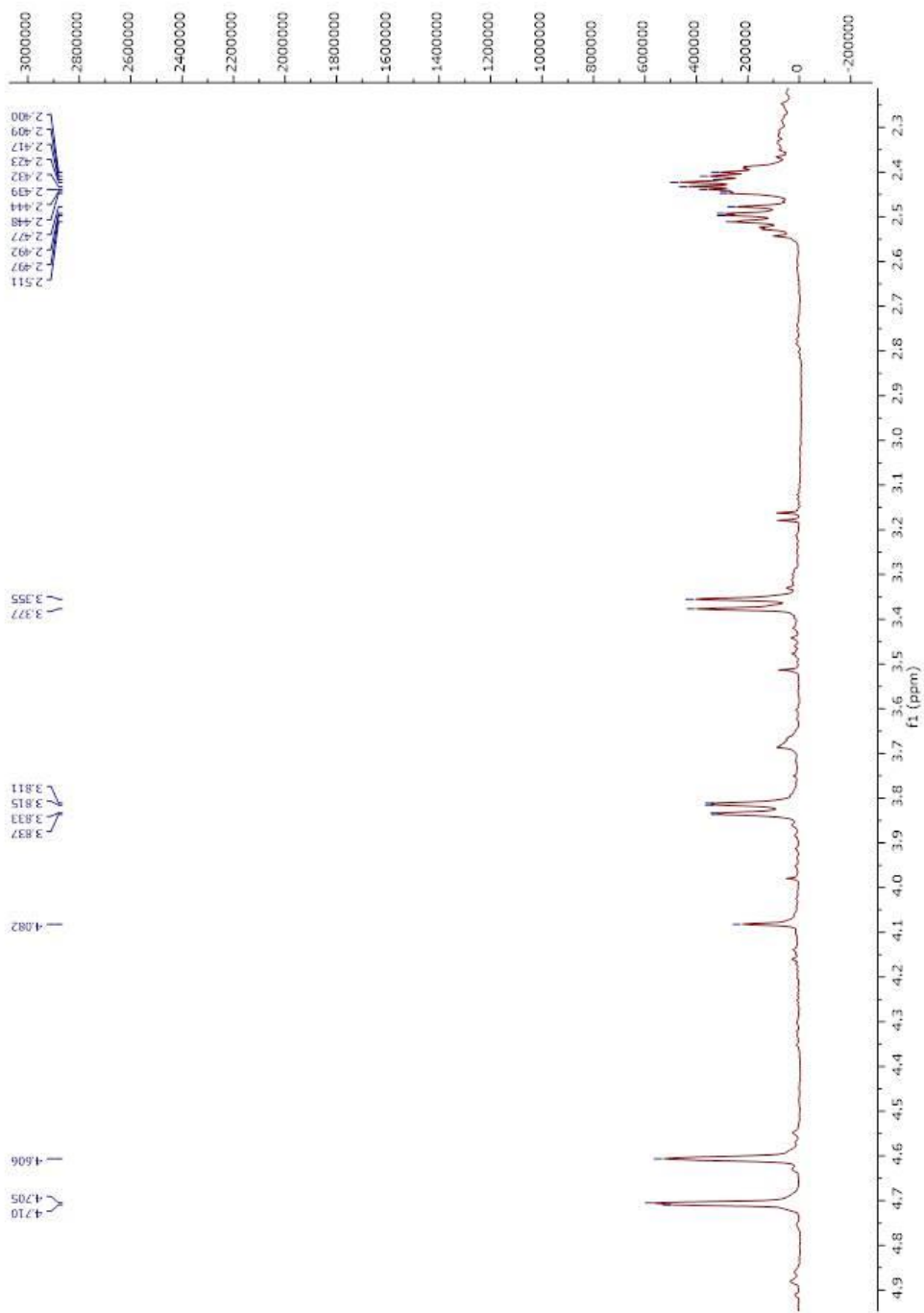


Figura 23. Ampliação do Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de III.

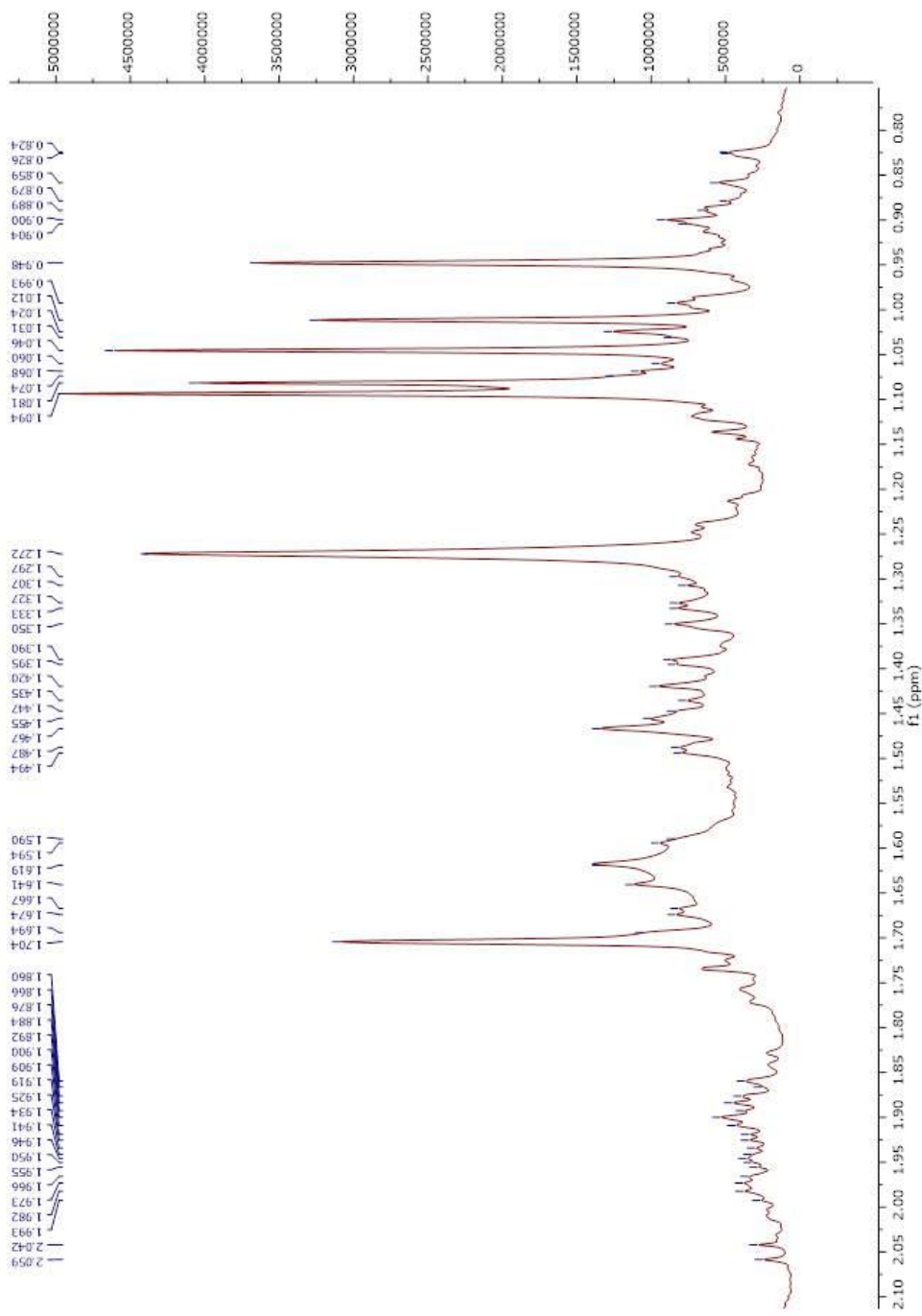


Figura 24. Ampliação do Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de III.

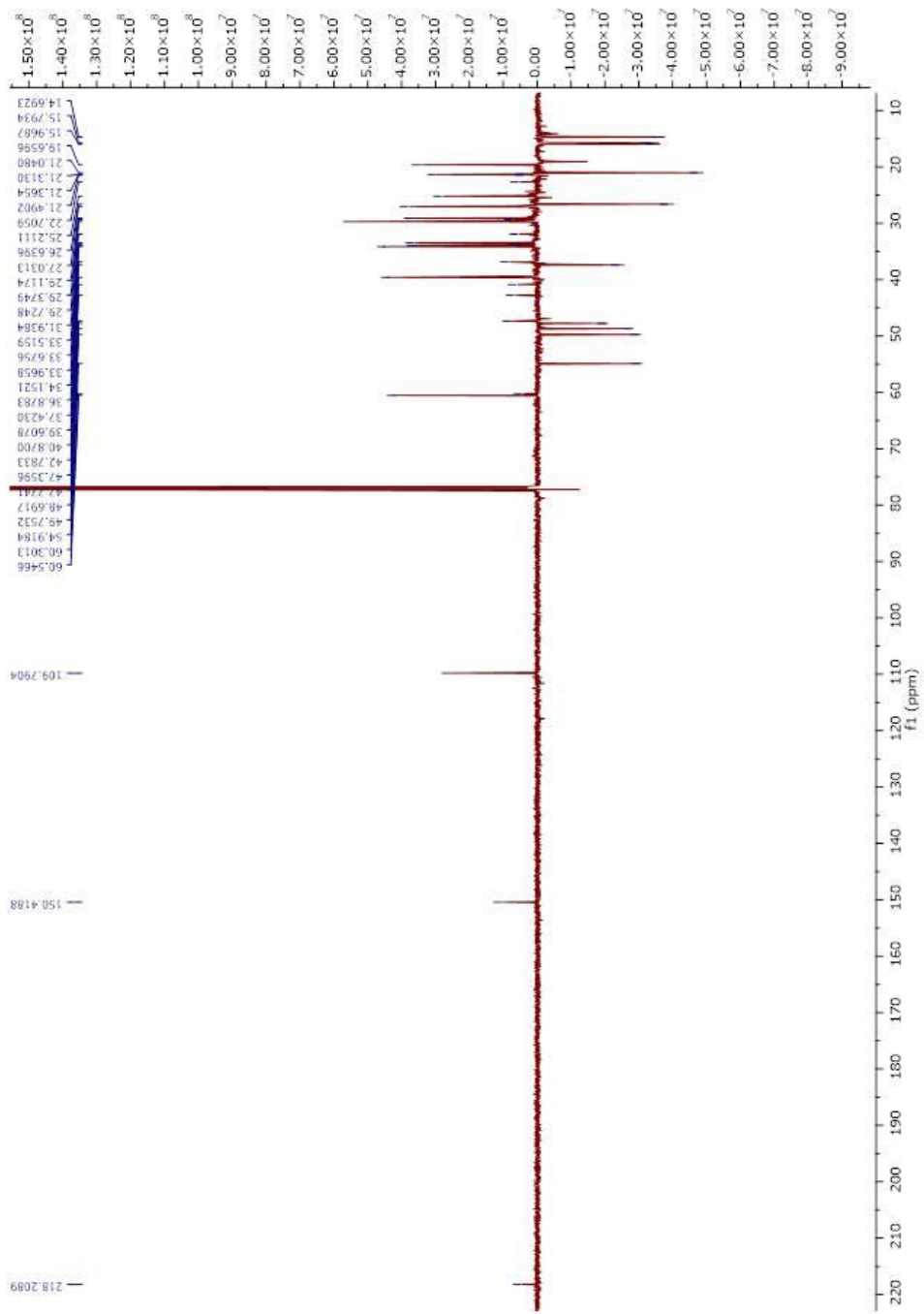


Figura 25. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de III.

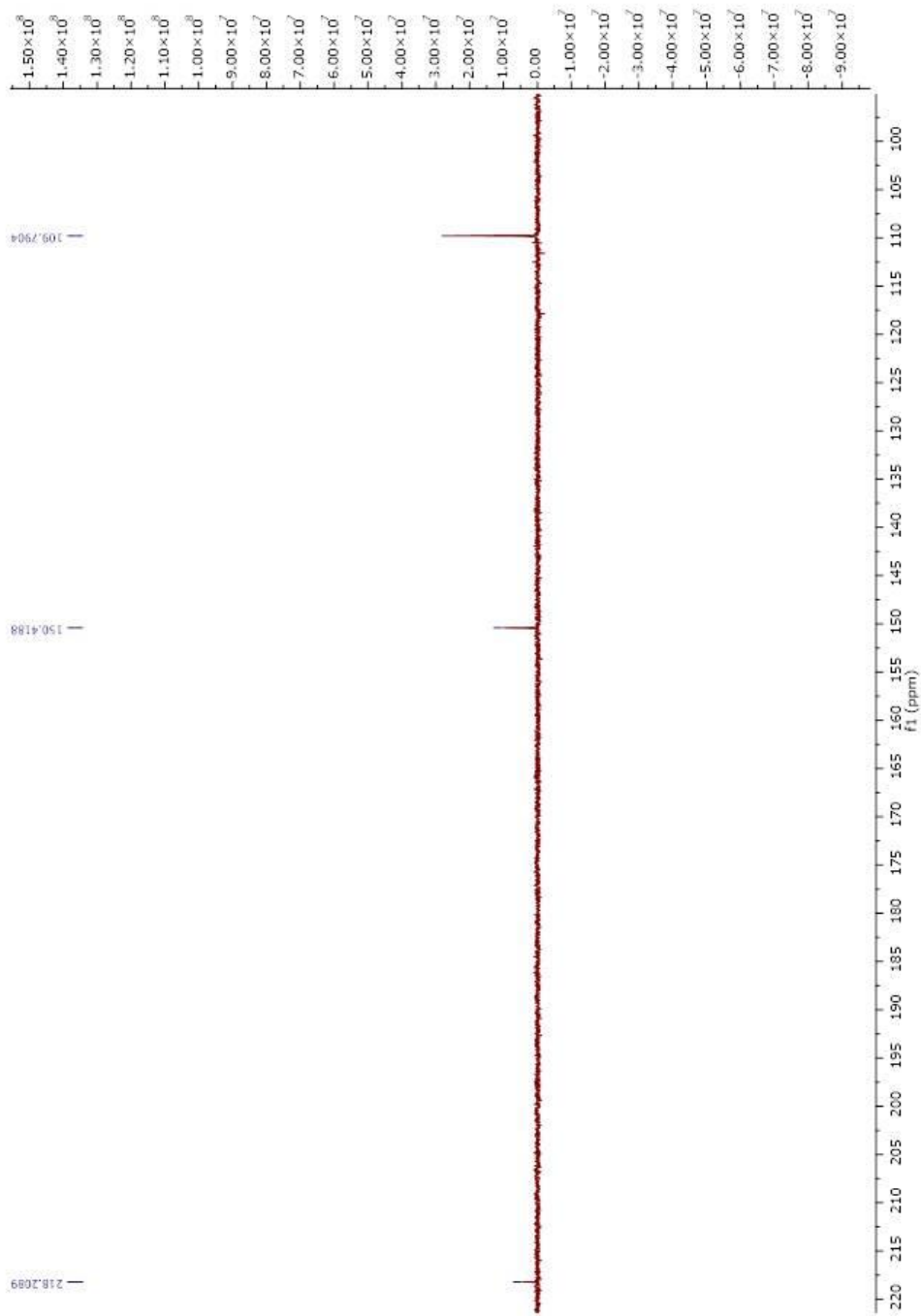


Figura 26. Ampliação do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de III.

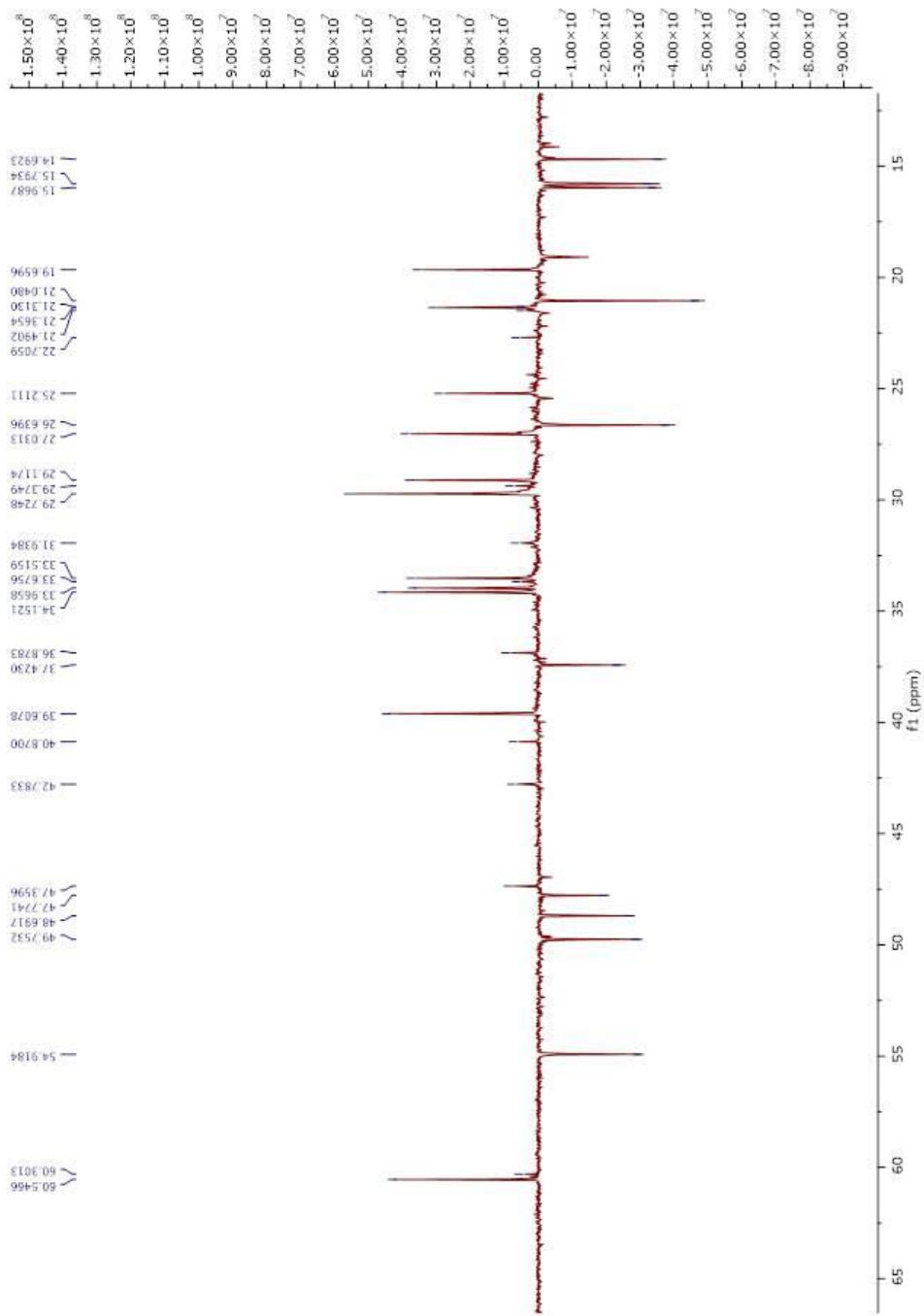


Figura 27. Ampliação do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de III.



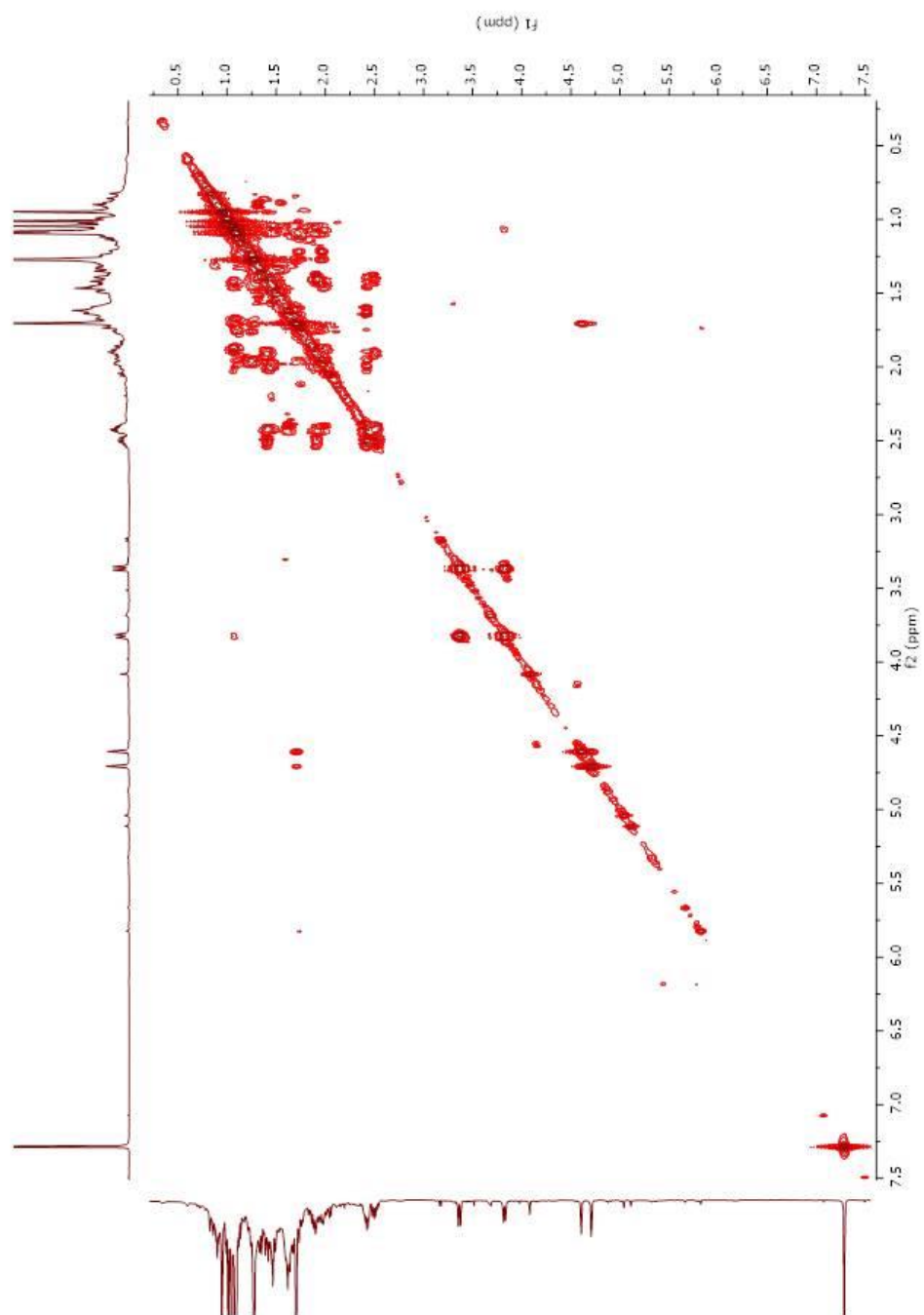


Figura 28. Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  de III.

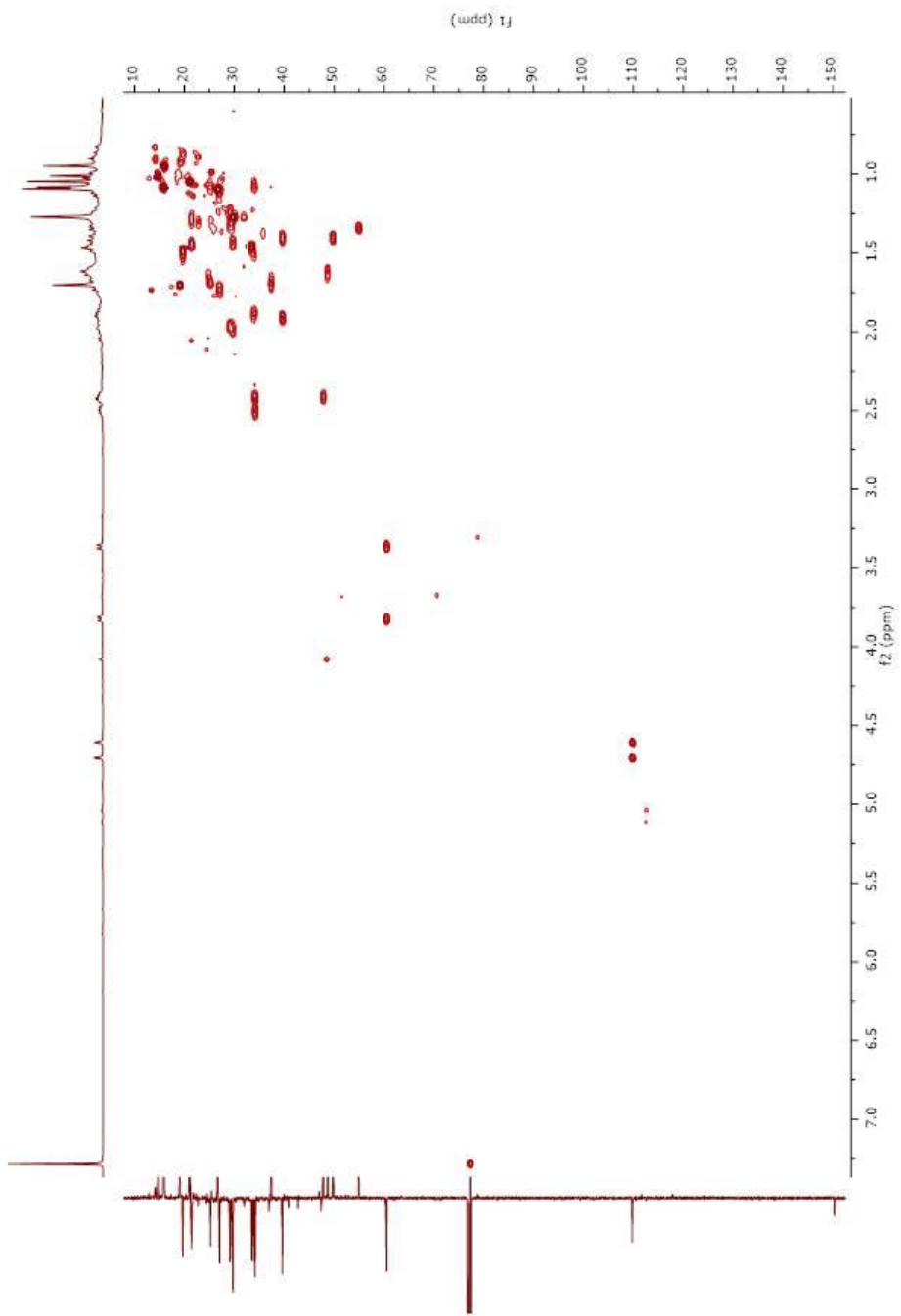


Figura 29. Espectro de correlação Heteronuclear de HSQC de III.

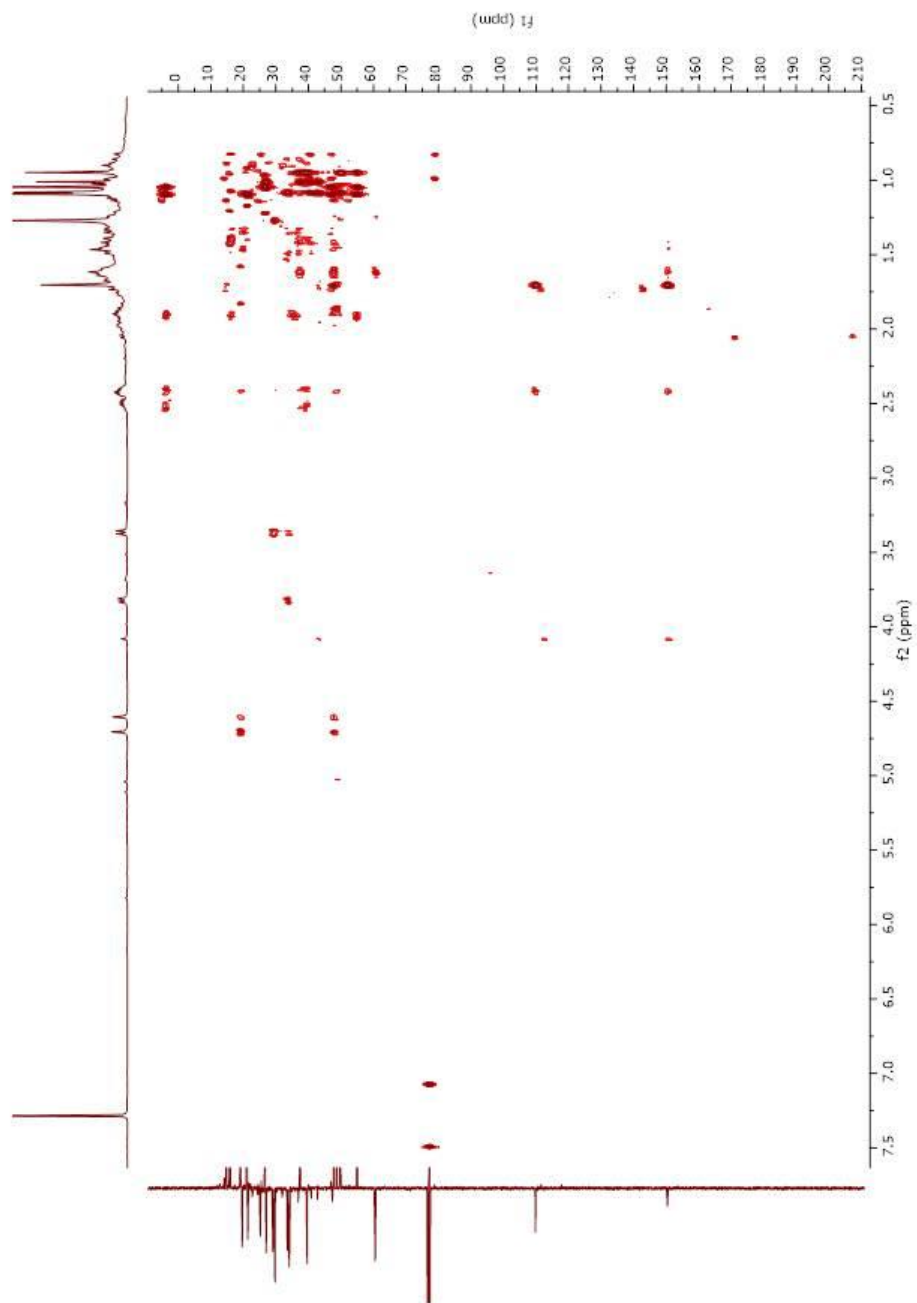


Figura 30. Espectro de correlação Heteronuclear de HMBC de III.

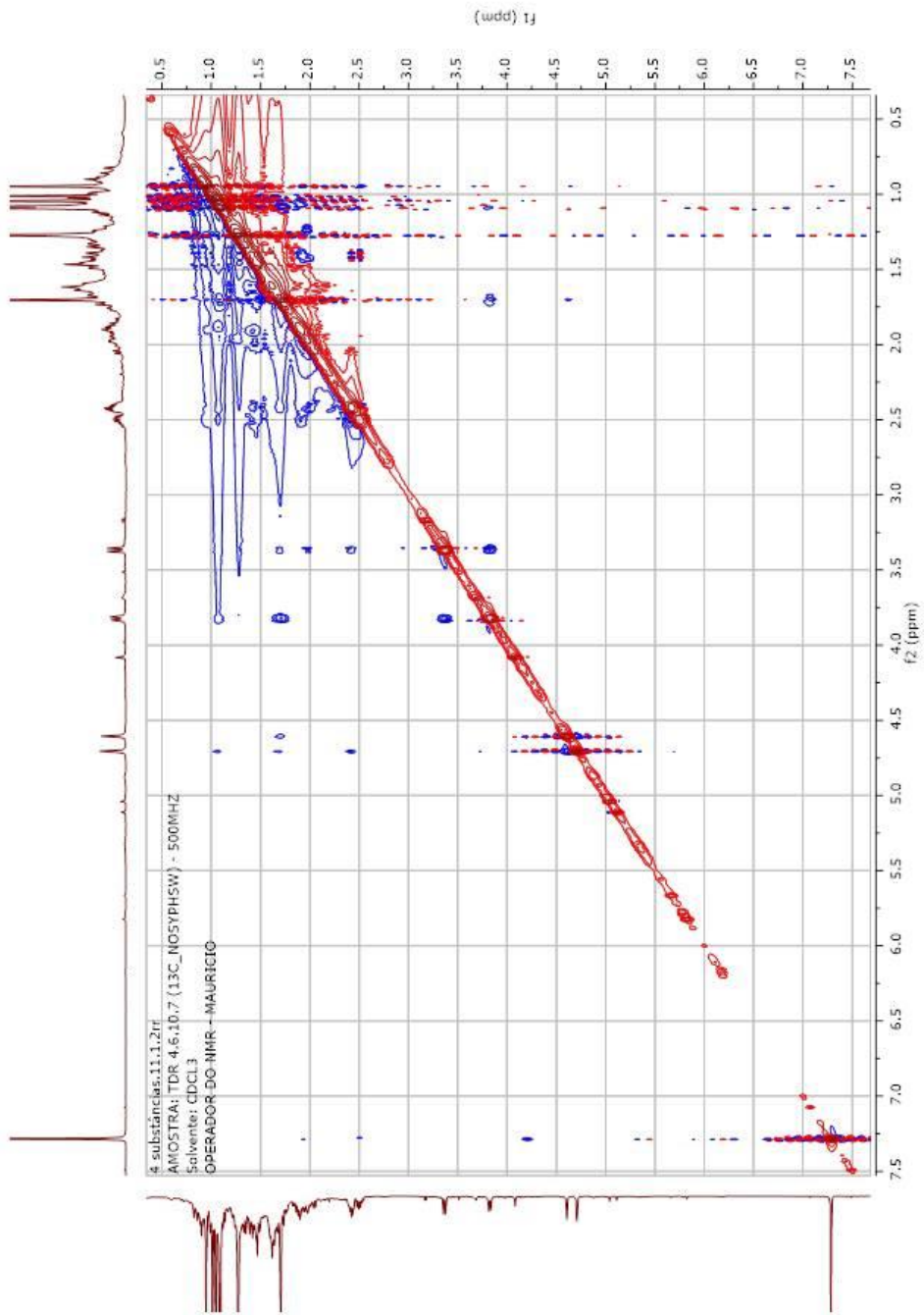


Figura 31. Espectro de correlação homonuclear de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY de III.

### 6.3. Itesmol

O esteroide itesmol (IV) (Figura 32) foi isolado da fração metanólica/fração diclorometano das folhas de *Trichilia ramalhoi*, como cristais incolores. A estrutura foi determinada através da análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 29 à 31),  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (Figura 32 à 34),  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (Figura 35), HSQC (Figura 36) e HMBC (Figura 37), o que permitiu a elaboração da Tabela 3.

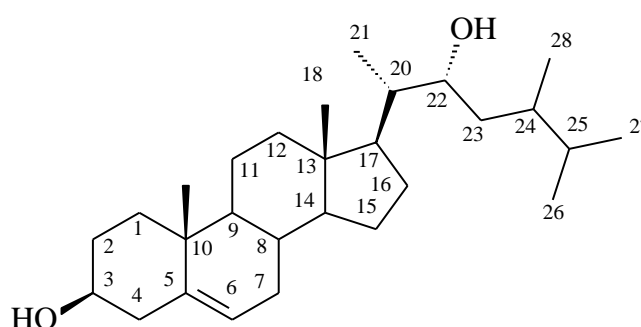


Figura 32. Esteroide isolado do extrato metanólico das folhas de *T. ramalhoi*.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (Figura 32 à 34), apresentou sinais para 29 átomos de carbono, três sinais para átomos de carbono quaternário sendo um característico de ligação dupla em  $\delta_{\text{C}}$  140,8 (C-5), dez sinais para grupos metilênicos (CH), sendo dois ligados a átomos de oxigênio em  $\delta_{\text{C}}$  71,8 (CH-3) e 71,3 (CH-22) e um característico de ligação dupla  $\delta_{\text{C}}$  121,6 (CH-6), dez sinais para grupos metínicos ( $\text{CH}_2$ ), seis sinais para grupos metílicos ( $\text{CH}_3$ ).

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 29 à 31) apresentou dois singletos e quatro dupletos referentes a grupos metila em  $\delta_{\text{H}}$  0,73 (s, 3H-18), 0,82 (d, 8,5, 3H-21), 0,91 (d, 8,6, 3H-26), 0,91 (d, 8,6, 3H-27), 0,94 (d, 8,6, 3H-28) e 1,03 (s, 3H-19), além de dois grupos hidroxila em  $\delta_{\text{H}}$  3,55 (m, H-3) e 3,74 (dd, 13,5, 2,1, 3H-22) e um hidrogênio olefínico  $\delta_{\text{H}}$  5,37 (d, 6,4, H-6).

No espectro de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY é possível visualizar hidrogênios vizinhos a 3 ligações. Na substância **IV** a presença do sinal  $\delta_{\text{H}}$  0,91 indica a presença dos hidrogênios de  $\text{CH}_3$ -26 a 3 ligações dos hidrogênios metílicos de  $\text{CH}_3$ -27

indicados pela presença do sinal  $\delta_H$  0,91. A presença do sinal  $\delta_H$  1,28 indica a presença dos hidrogênios de CH-24 a 3 ligações dos hidrogênios metílicos de CH<sub>3</sub>-26 e CH<sub>3</sub>-27, indicados respectivamente pelos sinais  $\delta_H$  0,91 e  $\delta_H$  0,91.

No espectro de HSQC, pode-se observar qual carbono está ligado à uma ligação da molécula de hidrogênio. Na cadeia lateral da substância **IV** o CH-20 está ligado aos hidrogênios do carbono metílico CH<sub>3</sub>-21 por uma ligação saturada e estão indicados respectivamente pelos sinais de carbono  $\delta_C$  42,5 e  $\delta_C$  17,6 e pelos sinais de hidrogênios indicados respectivamente de  $\delta_H$  1,73 e  $\delta_H$  17,6.

No espectro de HMBC pode-se visualizar a qual carbono os hidrogênios estão distantes a duas ou três ligações. No CH-25 o espectro indica que este carbono está a duas ligações dos hidrogênios de C<sub>3</sub>H-26 e CH<sub>3</sub>-27 indicados respectivamente pelos sinais  $\delta_H$  0,91 e  $\delta_H$  0,91, indicando duas metilas ao final da cadeia lateral.

Os dados espectrais do esteroide **IV** estão de acordo com os dados descritos em literatura (Zanno et al., 1973) para o esteroide ltesmol.

Tabela 4. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) De IV. Os valores dos deslocamentos químicos  $\delta_{\text{H}}$  e  $\delta_{\text{C}}$  estão em ppm e as constantes de acoplamento  $J$  estão em Hz

	IV					
	HSQC		HMBC		(Zanno et al., 1973)*	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
<b>C</b>						
5	140,8	-	2H-4;	2H-7; 3H-19	140,7	-
10	36,5	-	3H-19		36,5	-
13	42,3	-	2H-18		42,3	-
<b>CH</b>						
3	71,8	3,55 (m)			71,7	3,48 (m)
6	121,6	5,37 (d, 6,4)		2H-4	121,5	5,36 (d)
8	31,9	1,50 (m)	H-9	3H-6	31,9	
9	50,1	0,93 (m)		2H-7; H-14	50,1	
14	56,3	1,00 (m)		H-14; 3H-18	56,3	
17	53,0	1,10 (m)	2H-20	3H-18; 3H-21	53,0	
20	42,5	1,73 (m)	H-17		42,7	
22	71,3	3,74 (dd, 13,5, 2,1)	H-20		71,3	3,76 (dt, 10, 5)
24	41,4	1,28 (m)	2H-23	3H-26; 3H-27	41,4	
25	28,7	1,78 (m)	3H-26; 3H-27		28,8	-
<b>CH<sub>2</sub></b>						
1	37,3	1,90 (m) 1,09 (m)			37,3	
2	31,9	2,02 (m) 1,20 (m)			31,9	
4	42,3	2,34-2,19 (m)			42,3	
7	31,6	2,03 (m) 1,86 (m)			31,6	
11	21,1	1,65-1,52 (m)			21,1	
12	39,7	2,02 (m) 1,20 (m)			39,8	
15	24,4	1,65 (m) 1,10 (m)		H-17	24,3	
16	27,5	1,77 (m) 1,38 (m)			27,5	
23	29,9	1,26 (m) 1,03 (m)			29,9	
<b>CH<sub>3</sub></b>						
18	11,9	0,73 (s)		2H-12	12,3	
19	19,4	1,03 (s)			19,4	
21	17,6	0,82 (d, 8,5)			17,6	
26	11,8	0,91 (d, 8,6)		3H-27	21,1	
27	20,5	0,91 (d, 8,6)			20,5	
28	12,3	0,94 (d, 8,5)			11,9	

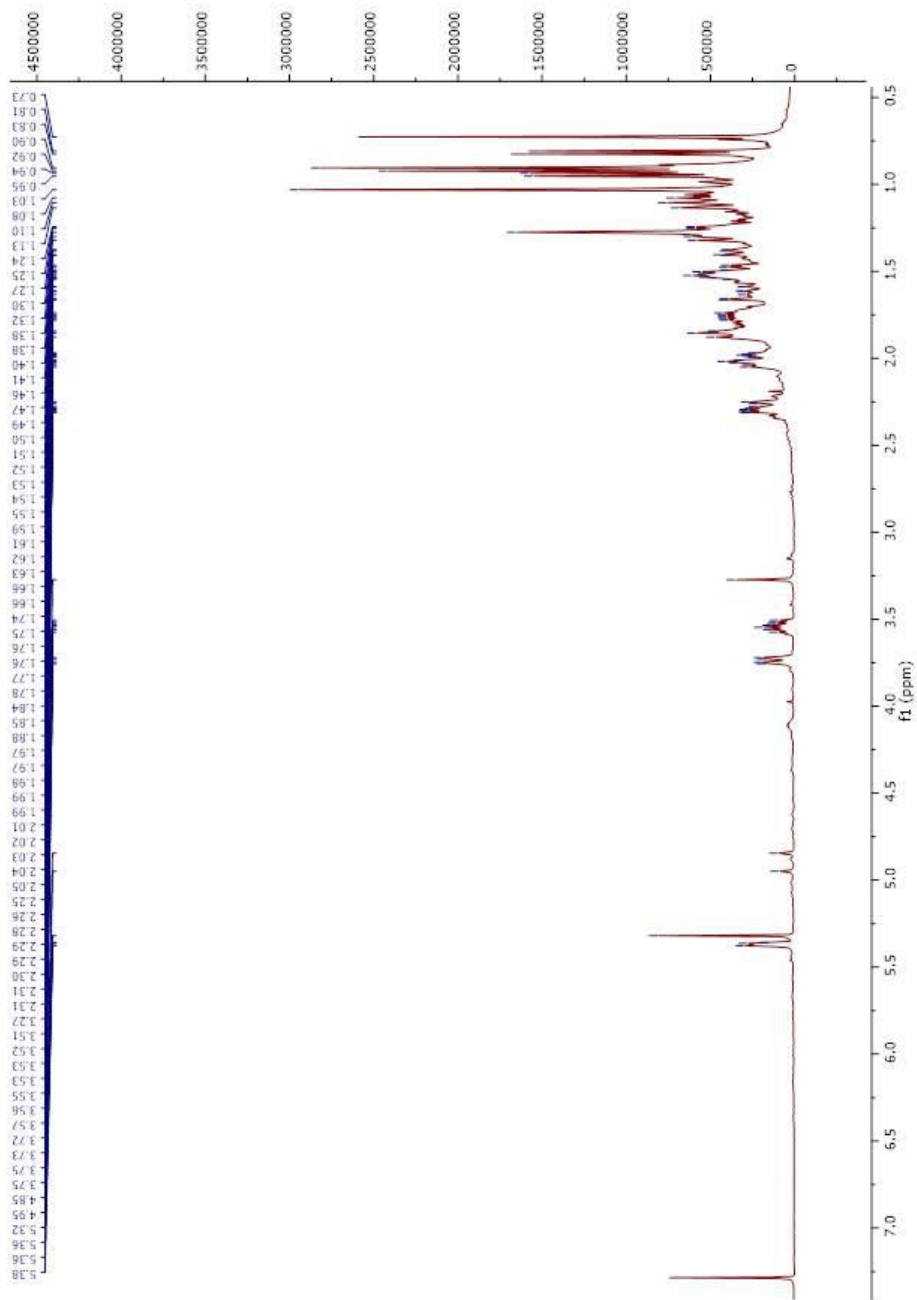


Figura 33. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV.



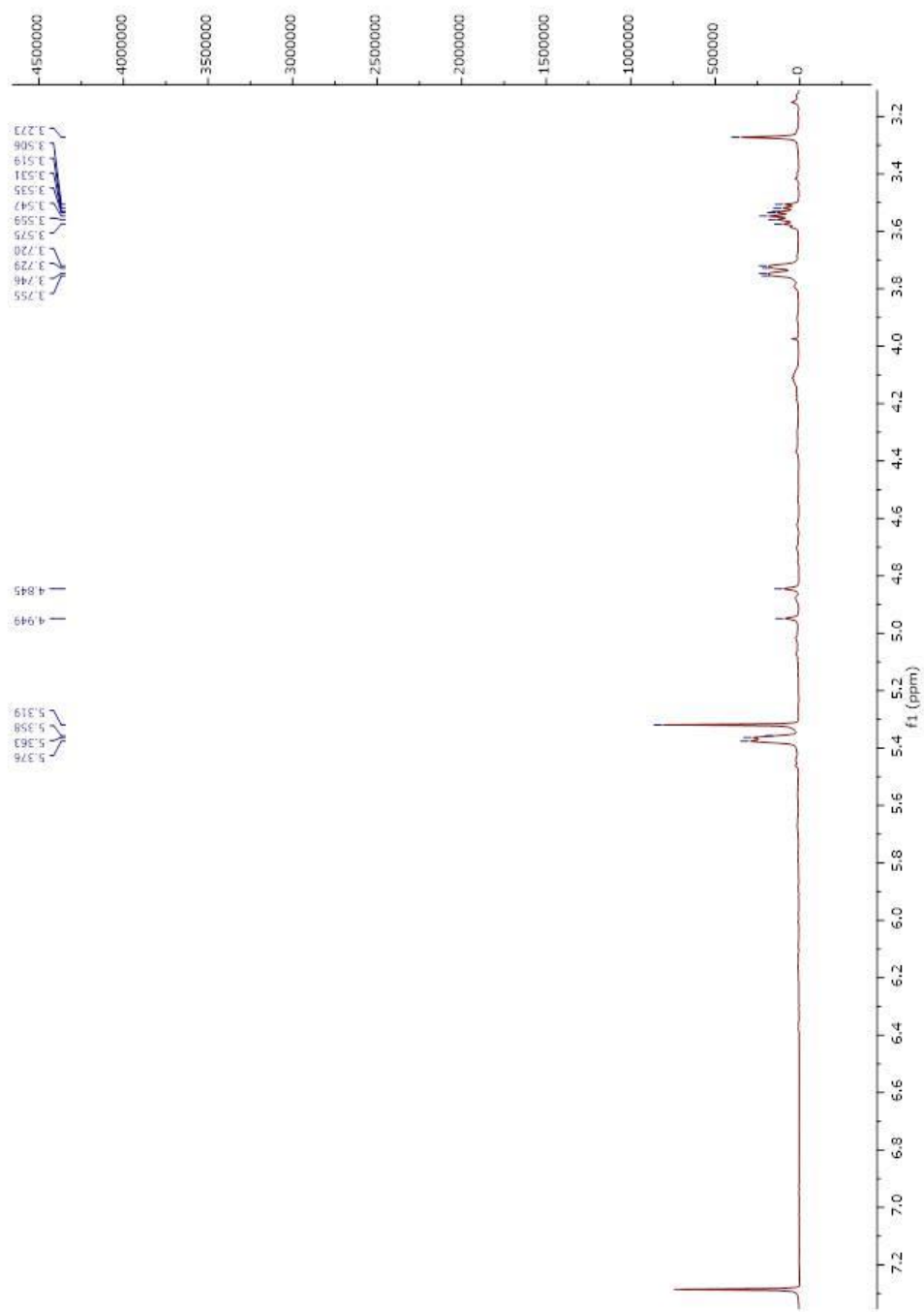


Figura 34. Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV.

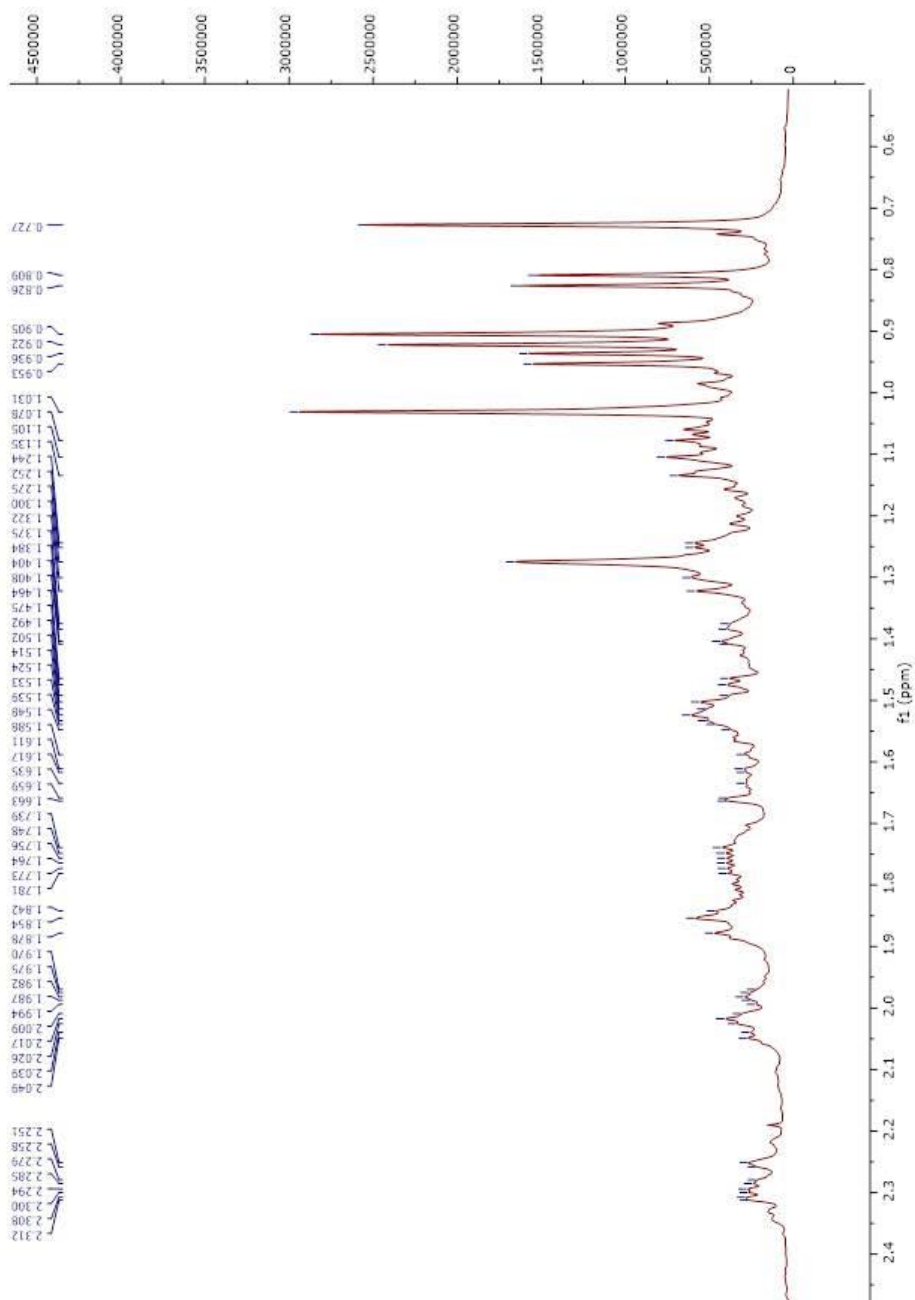


Figura 35. Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV.

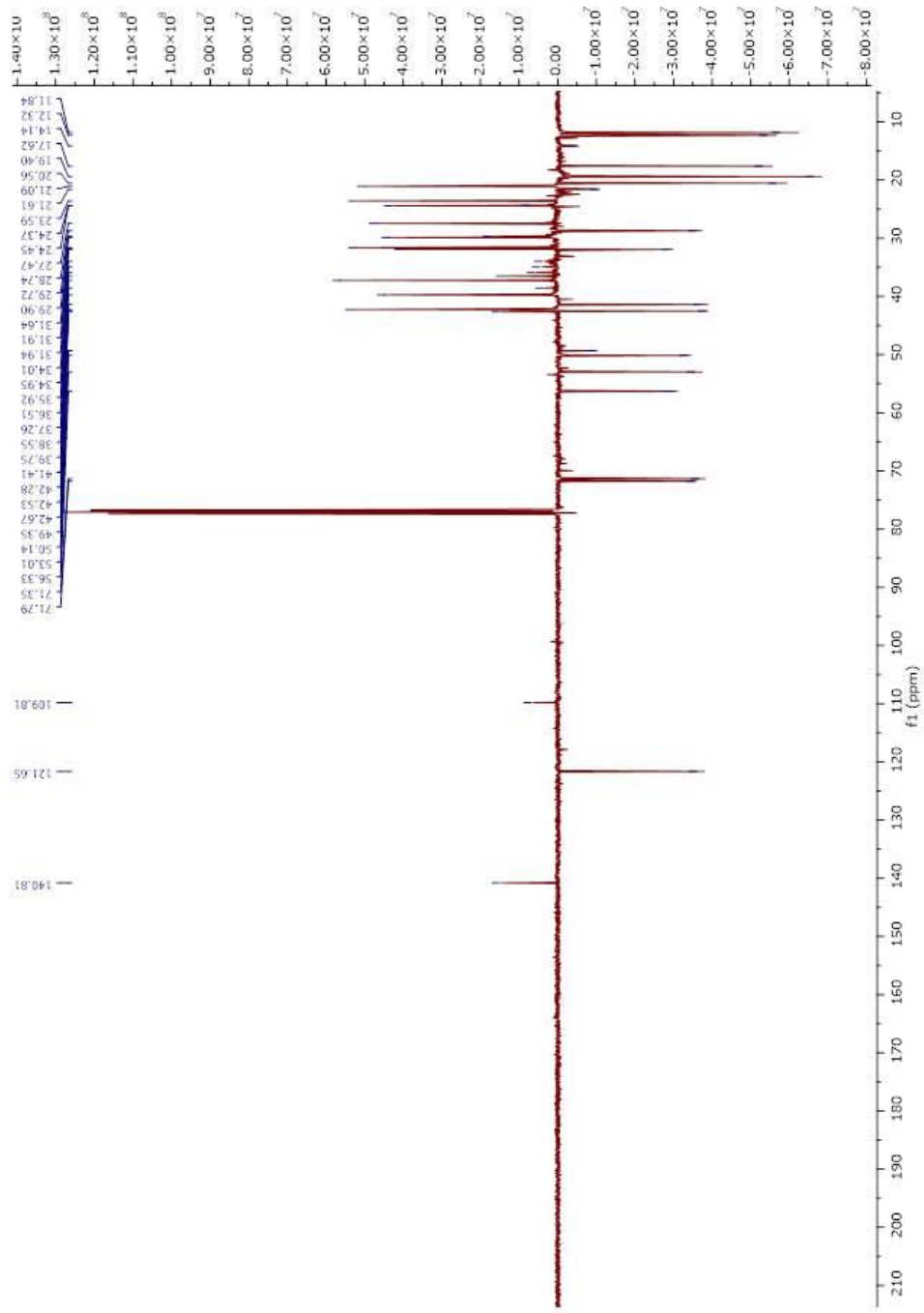


Figura 36. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV.

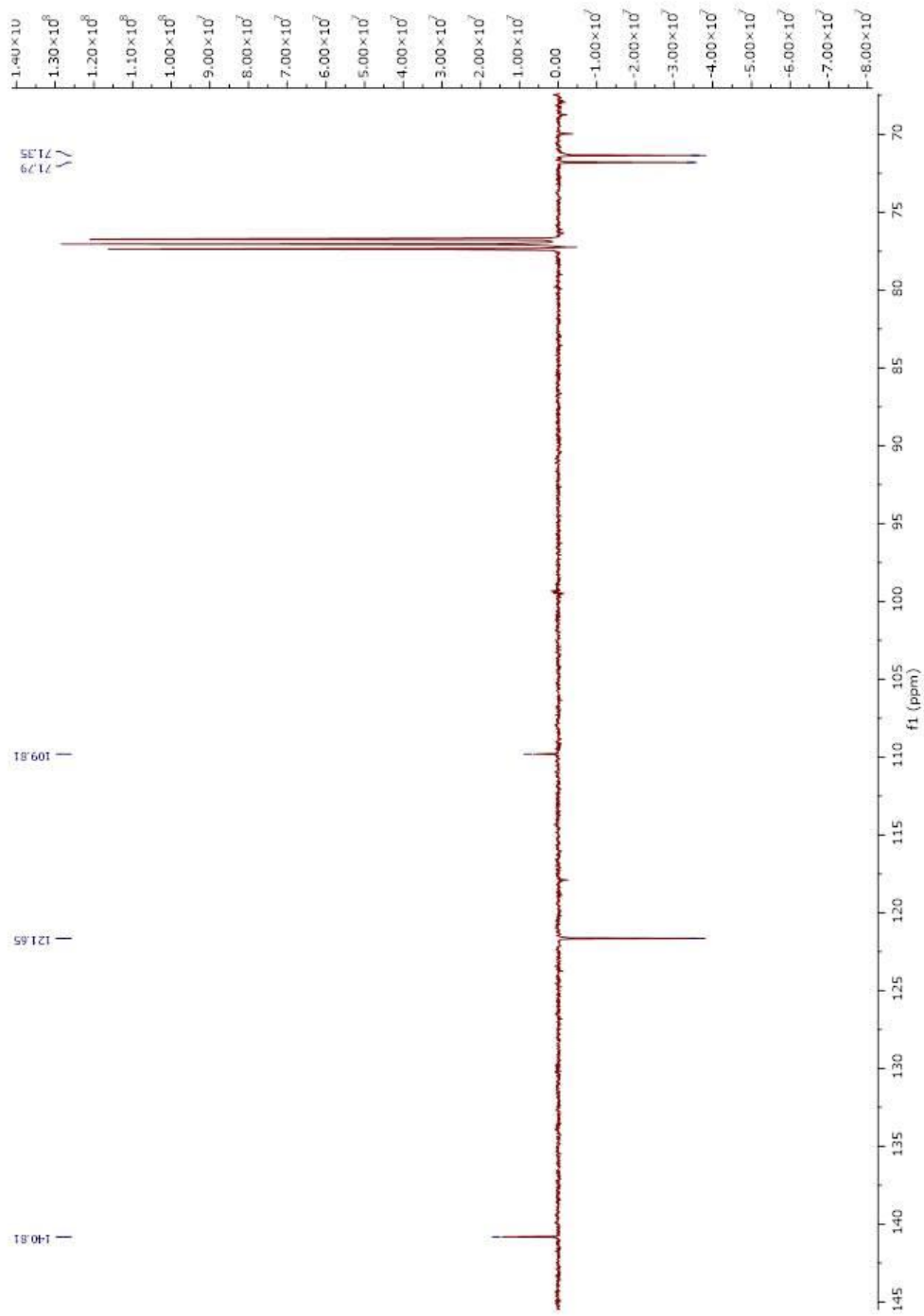


Figura 37. Ampliação do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV.

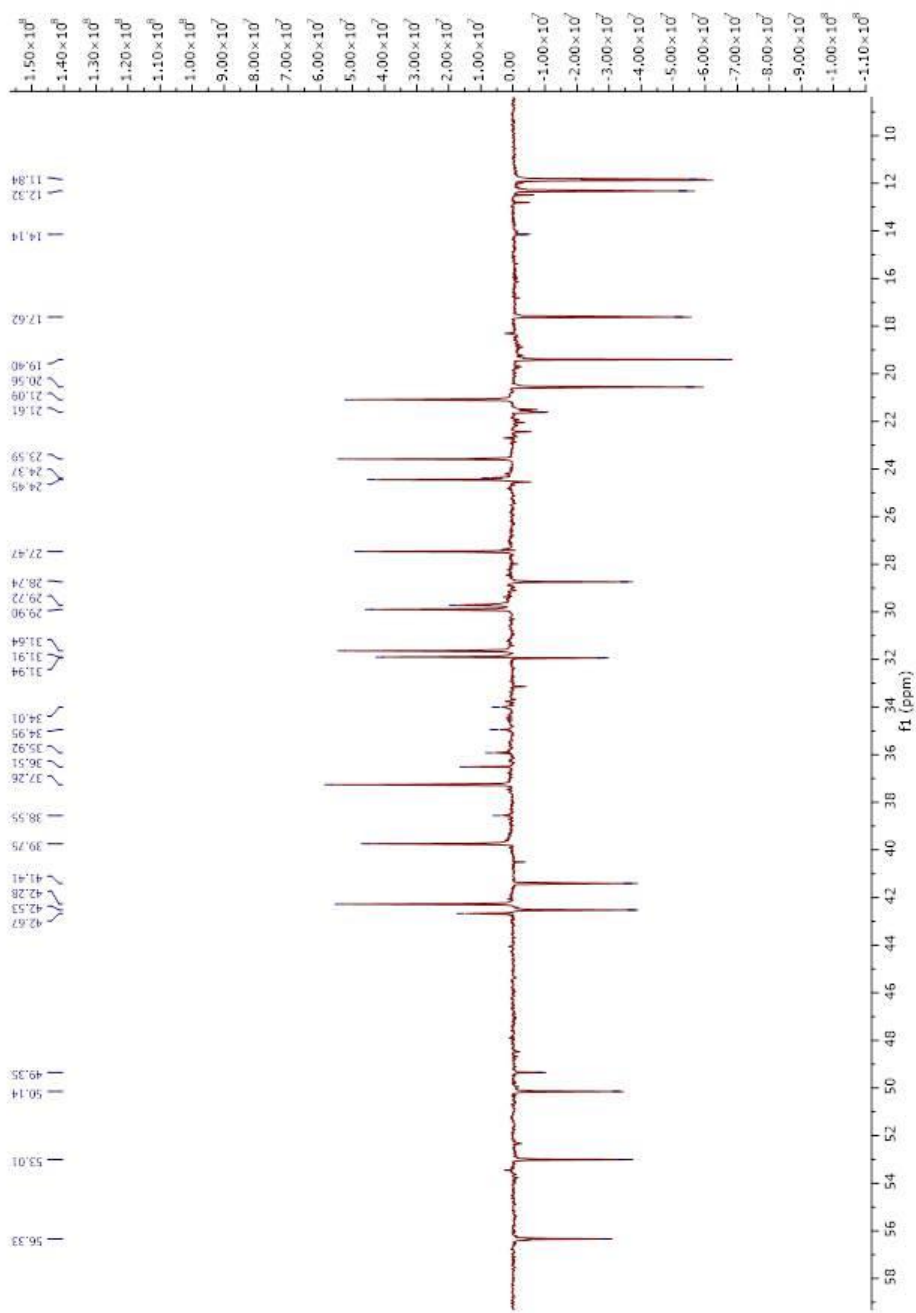


Figura 38. Ampliação do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV.

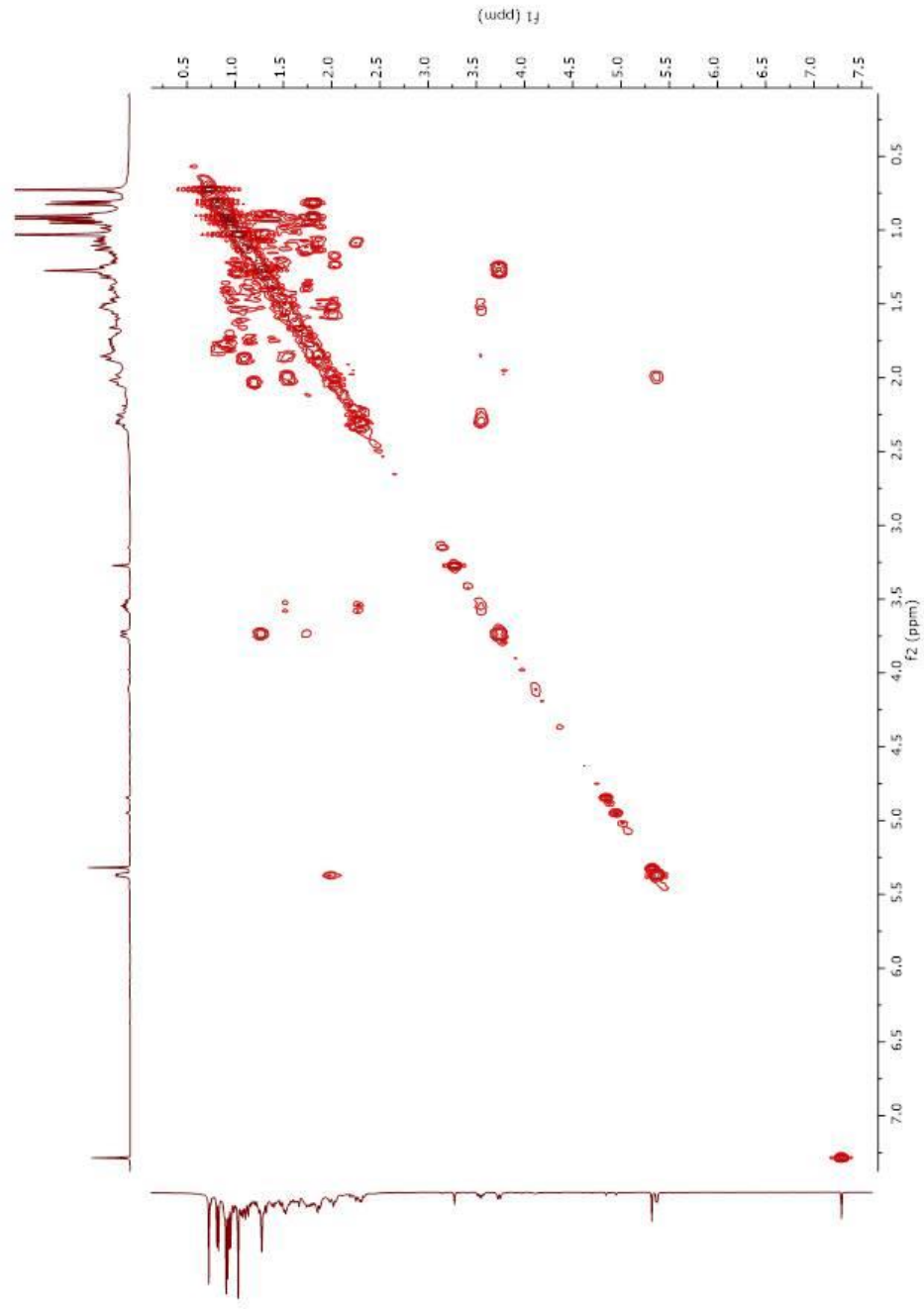


Figura 39. Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de IV.

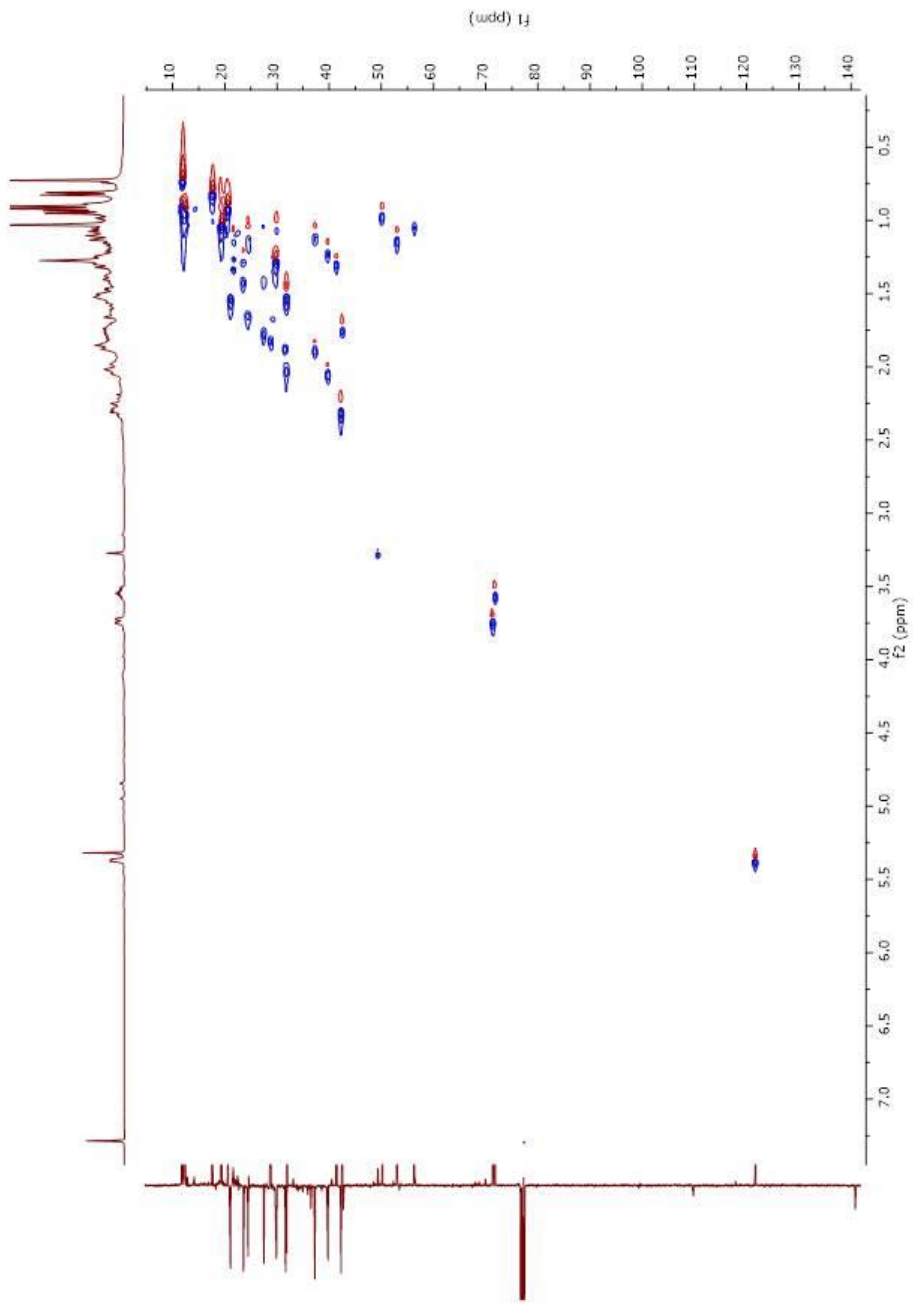


Figura 40. Espectro de correlação Heteronuclear de HSQC de VI.

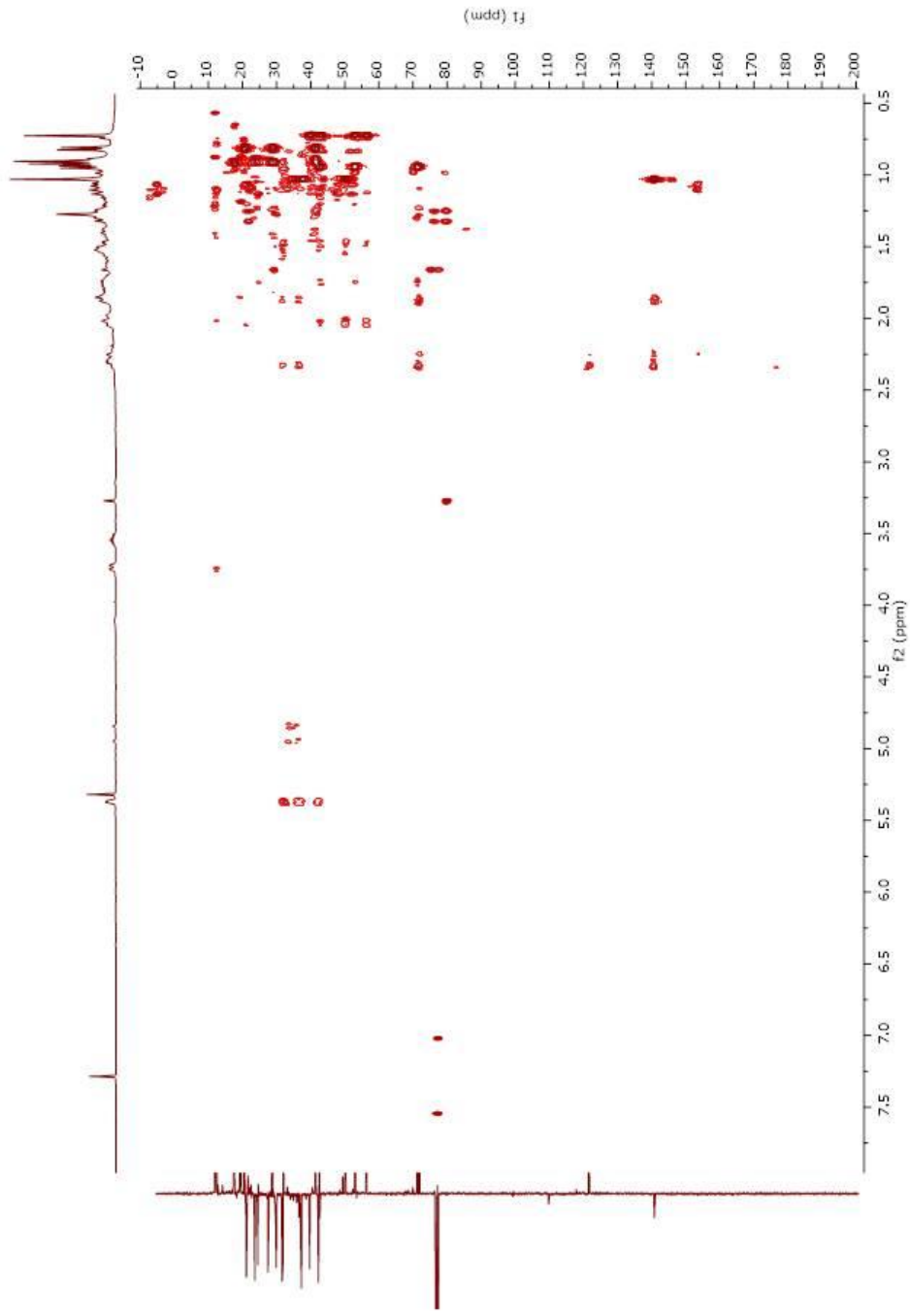


Figura 41. Espectro de correlação Heteronuclear de HMBC de VI.



#### 6.4. Felochina

O triterpeno Felochina (V) (Figura 42) foi isolado da fração metanólica/fração diclorometano das folhas de *Trichilia ramalhoi*, como cristais incolores. A estrutura foi determinada através da análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 39 à 41),  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (Figura 42 à 43),  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (Figura 44), HSQC (Figura 45), HMBC (Figura 46) e  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY (Figura 47), o que permitiu a elaboração da Tabela 4.

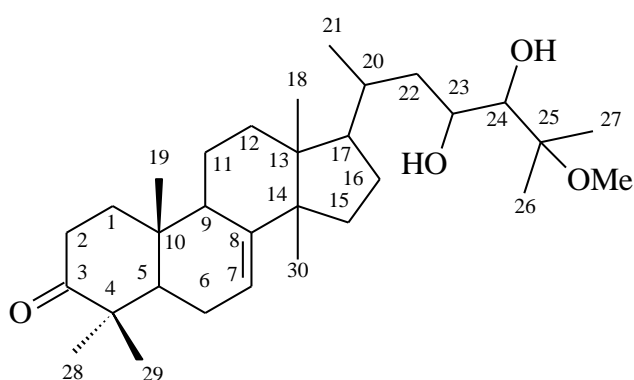


Figura 42. Triterpeno isolado do extrato metanólico das folhas de *T. ramalhoi* (V).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (Figura 42 à 43), revelou a presença de 31 sinais de átomos de carbono, sendo sete não hydrogenados [incluindo uma carbonila em  $\delta_{\text{C}}$  217,0 (C-3) e um carbometoxi em  $\delta_{\text{C}}$  79,8 (C-25)], sete carbonos metínicos [incluindo dois carbonos carbinólicos em  $\delta_{\text{C}}$  68,7 (CH-23) e 76,3 (CH-24) e um carbono olefínico em  $\delta_{\text{C}}$  117,9 (CH-7)], oito carbonos metilênicos e nove carbonos metílicos [incluindo um grupo metoxila em  $\delta_{\text{C}}$  49,4 (C-OMe)].

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 39 à 41) evidenciou a presença de sinais referentes a grupos metila em  $\delta_{\text{H}}$  0,85 (s, 3H-18), 0,93 (d, 6,3, 3H-21), 1,01 (s, 3H-19), 1,02 (s, 3H-30), 1,06 (s, 3H-28), 1,13 (s, 3H-29), 1,25 (s, 3H-26), 1,32 (s, 3H-27) e 3,26 (s, 3H-OMe), dois hidrogênios carbinólicos em  $\delta_{\text{H}}$  3,14 (s, H-24) e 4,11 (m) e um hidrogênio olefínico em  $\delta_{\text{H}}$  5,32 (d, 2,85, H-7).

No espectro de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY foi possível visualizar hidrogênios vizinhos a 3 ligações. Na substância **IV** a presença do sinal  $\delta_{\text{H}}$  1,53 indica a presença dos hidrogênios de CH-17 a 3 ligações dos hidrogênios metílicos de CH<sub>3</sub>-18 e CH<sub>3</sub>-21

indicados respectivamente pela presença dos sinais  $\delta_{\text{H}}$  0,85 e  $\delta_{\text{H}}$  18,9. A presença do sinal  $\delta_{\text{H}}$  3,14 indica a presença dos hidrogênios de CH-24 a 3 ligações dos hidrogênios metílicos de CH<sub>3</sub>-26 e CH<sub>3</sub>-27, indicados respectivamente pelos sinais  $\delta_{\text{H}}$  1,25 e  $\delta_{\text{H}}$  1,32. A presença do sinal  $\delta_{\text{H}}$  1,06 indica a presença dos hidrogênios de CH<sub>3</sub>-28 a 3 ligações dos hidrogênios metílicos de CH<sub>3</sub>-29, indicados pelos sinais  $\delta_{\text{H}}$  1,13.

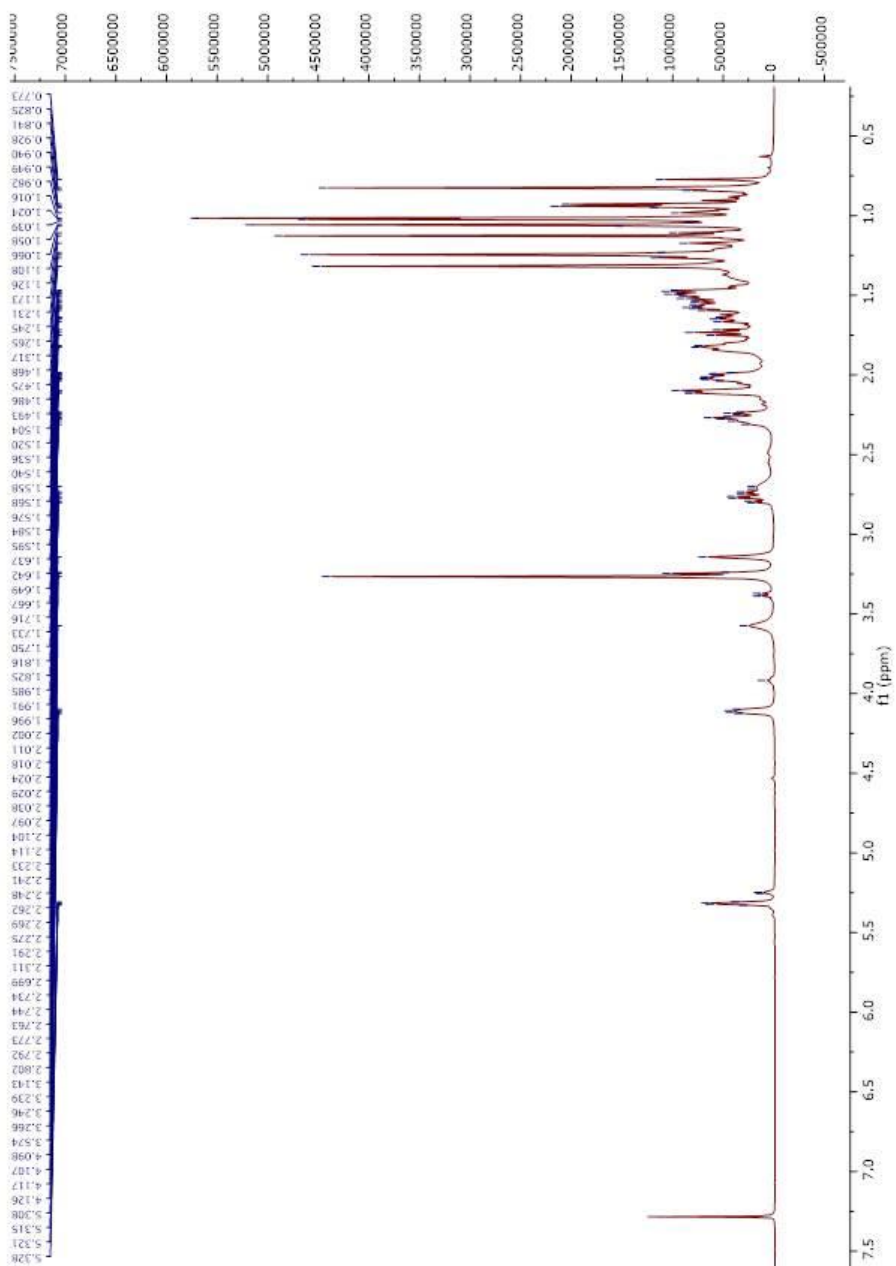
No espectro de HSQC, pode-se observar qual carbono está ligado à uma ligação da molécula de hidrogênio. Na cadeia lateral da substância **V** o carbono a do OCH<sub>3</sub> está ligado a três hidrogênios por uma ligação saturada indicado pela presença do sinal de carbono  $\delta_{\text{C}}$  49,4 e  $\delta_{\text{H}}$  3,26.

No espectro de HMBC pode-se confirmar posição da dupla ligação entre os C-7 e C-8 através das correlações de 2H-6 com ambos os carbonos, além de 3H-30 com C-8. Já as posições dos grupos oxigenados foram atribuídos pelas correlações de 3H-26, 3H-27 e 3H-OCH<sub>3</sub> com o carbono C-25, 3H-26 e 3H-27 com C-24 e 2H-22 com C-23.

Esses resultados corroboram com a proposta de Su et al. 1990 para caracterização da substância Felochina.

Tabela 5. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de V. Os valores dos deslocamentos químicos  $\delta_{\text{H}}$  e  $\delta_{\text{C}}$  estão em ppm e as constantes de acoplamento  $J$  estão em Hz

C	V					
	HSQC		HMBC		(Su et al., 1990)*	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
<b>C</b>						
3	217.0	-			216,97	-
4	47.9	-	3H-29; 3H-28; H-5		47,92	-
8	145.9	-		H-6; 3H-30	145,93	-
10		-				-
13	51.2	-	2H-12; 3H-18	2H-11	51,25	-
14	43.5	-		3H-18; 3H-30	43,80	-
25	79.8	-	3H-27; 3H-26	3H-OCH <sub>3</sub>	79,81	-
<b>CH</b>						
5	52.3	1.73 (t, 8.45)		3H-29; 3H-28, 3H-19	52,38	
7	117.9	5.32 (d, 2.85)	2H-6		118,03	5.31 (dd, 2.2, 5.49)
9	48.6	2.29 (m)		H-5; H-7; 3H-19	48,53	
17	53.8	1,53 (m)		3H-21; 3H-18	53,80	
20	30.7	1,40 (m)				
23	68.7	4.11 (m)	2H-22		68,72	4.09 (ddd, 1.65, 4.94, 8.94)
24	76.3	3.14 (s)		3H-26; 3H-27	76,39	3.13 (d, 9.89)
<b>CH<sub>2</sub></b>						
1	38.5	2.00 (m) 1.46 (m)	2H-2		38,59	
2	34.9	2.77 (dt, 5.5, 14.5) 2.26 (m)			34,97	2.76 (dt, 5.49, 14.26) 2.26 (m)
6	24.4	2.10 (m)			24,40	
11	18.3	1.67-1.47 (m)			18,35	
12	33.8	1.83 (m) 1.65 (m)	2H-18		33,80	
15	34.0	1.50 (m)			34,04	
16	28.5	2.03 (m) 1.30 (m)			28,50	
22	39.8	1.82 (m) 1,22 (m)		3H-21	38,86	
<b>CH<sub>3</sub></b>						
18	22.0	0.85 (s)			22,07	
19	12.8	1.01 (s)			12,85	
21	18.9	0.93 (d, 6.3)			18,93	0.93 (d, 6.6)
26	21.5	1.25 (s)		3H-27	21,60	
27	21.6	1.32 (s)		3H-26	21,65	
28	24.5	1.06 (s)		3H-29	24,58	
29	21.6	1.13 (s)		3H-28	-	
30	27.4	1.02 (s)			27,41	
OCH <sub>3</sub>	49.4	3.26 (s)			49,36	3.25 (s)

Figura 43. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de V.

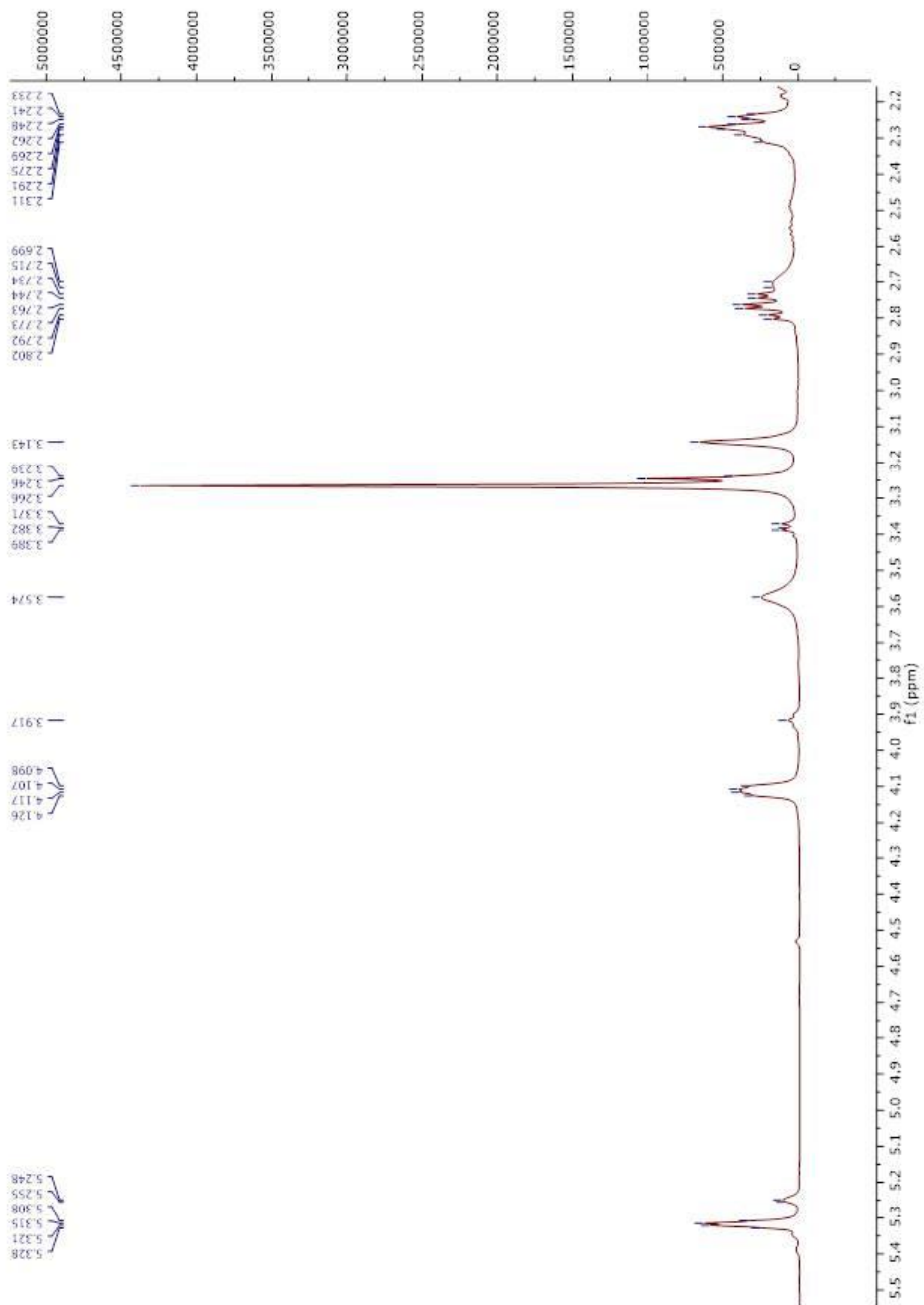


Figura 44. Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de V.

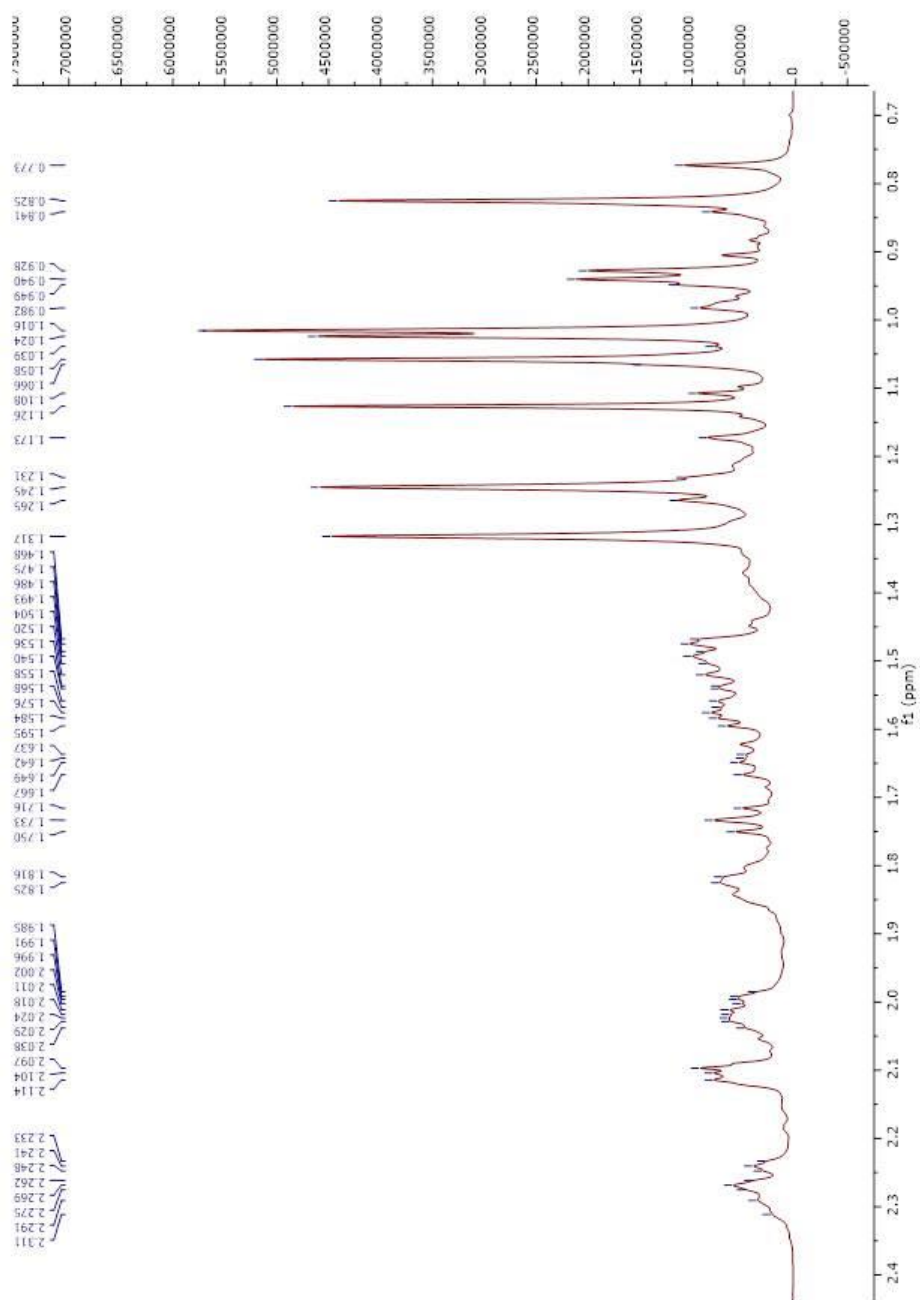


Figura 45. Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de V.

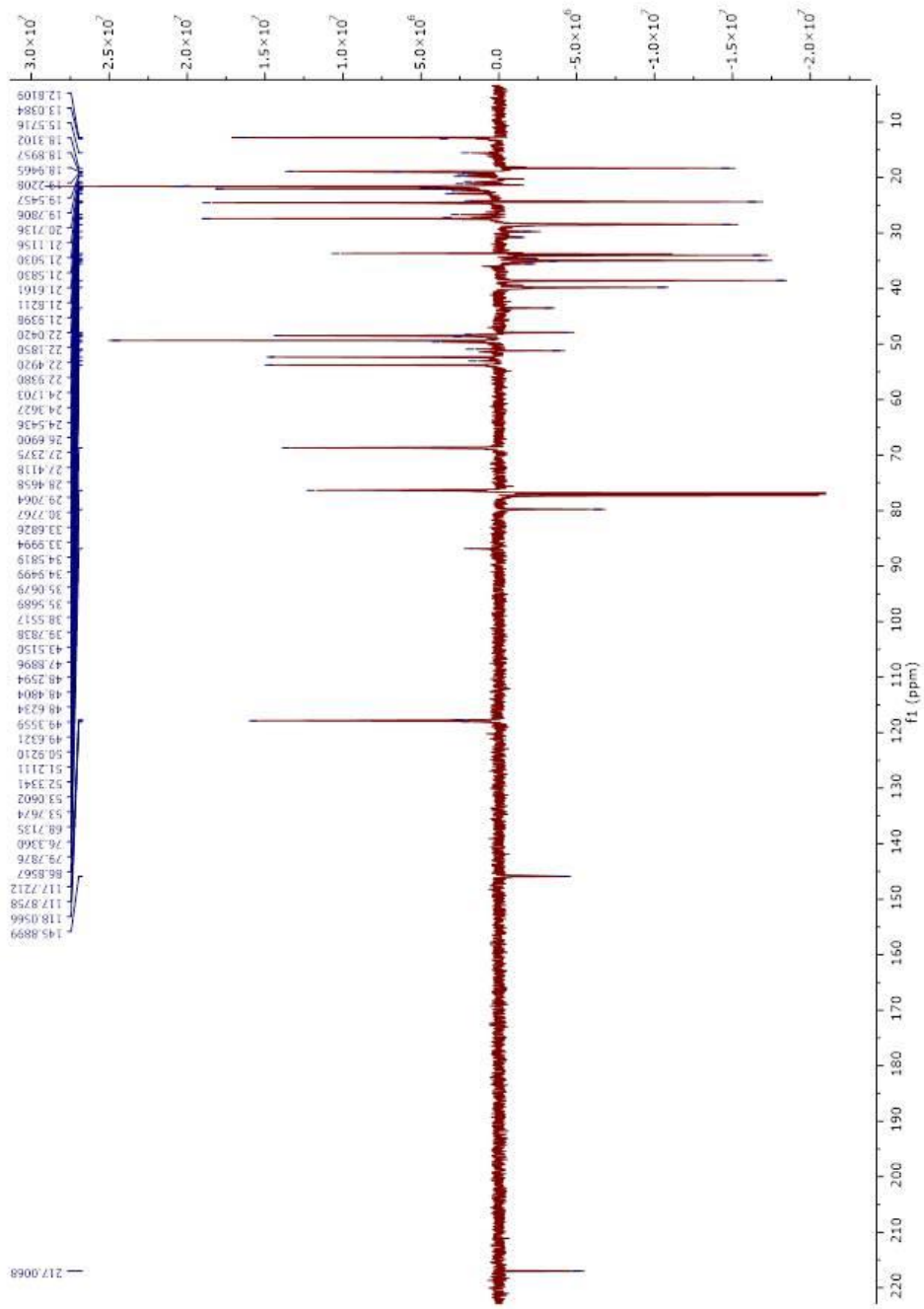


Figura 46. Espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPTQ (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de V.

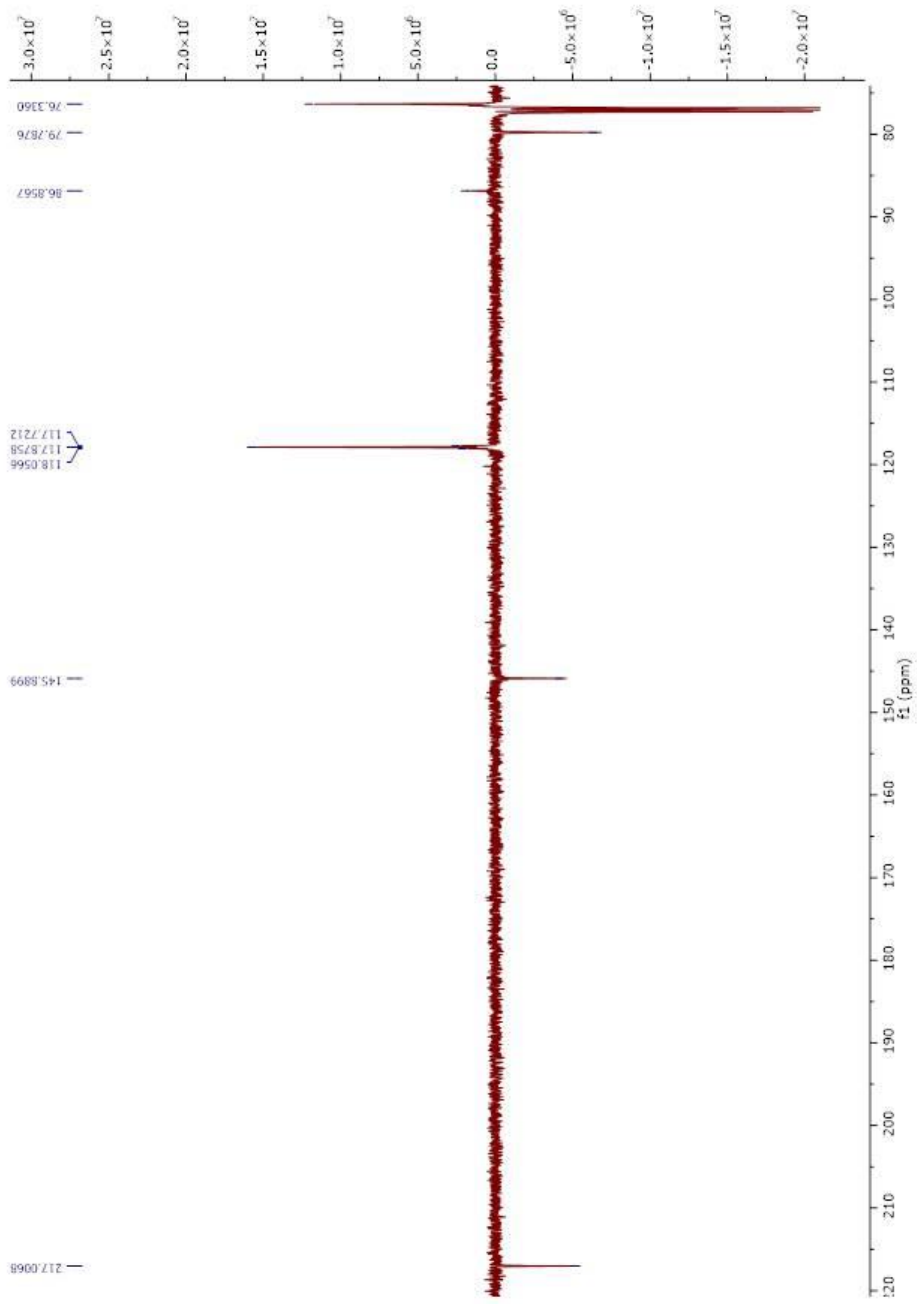


Figura 47. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de V.



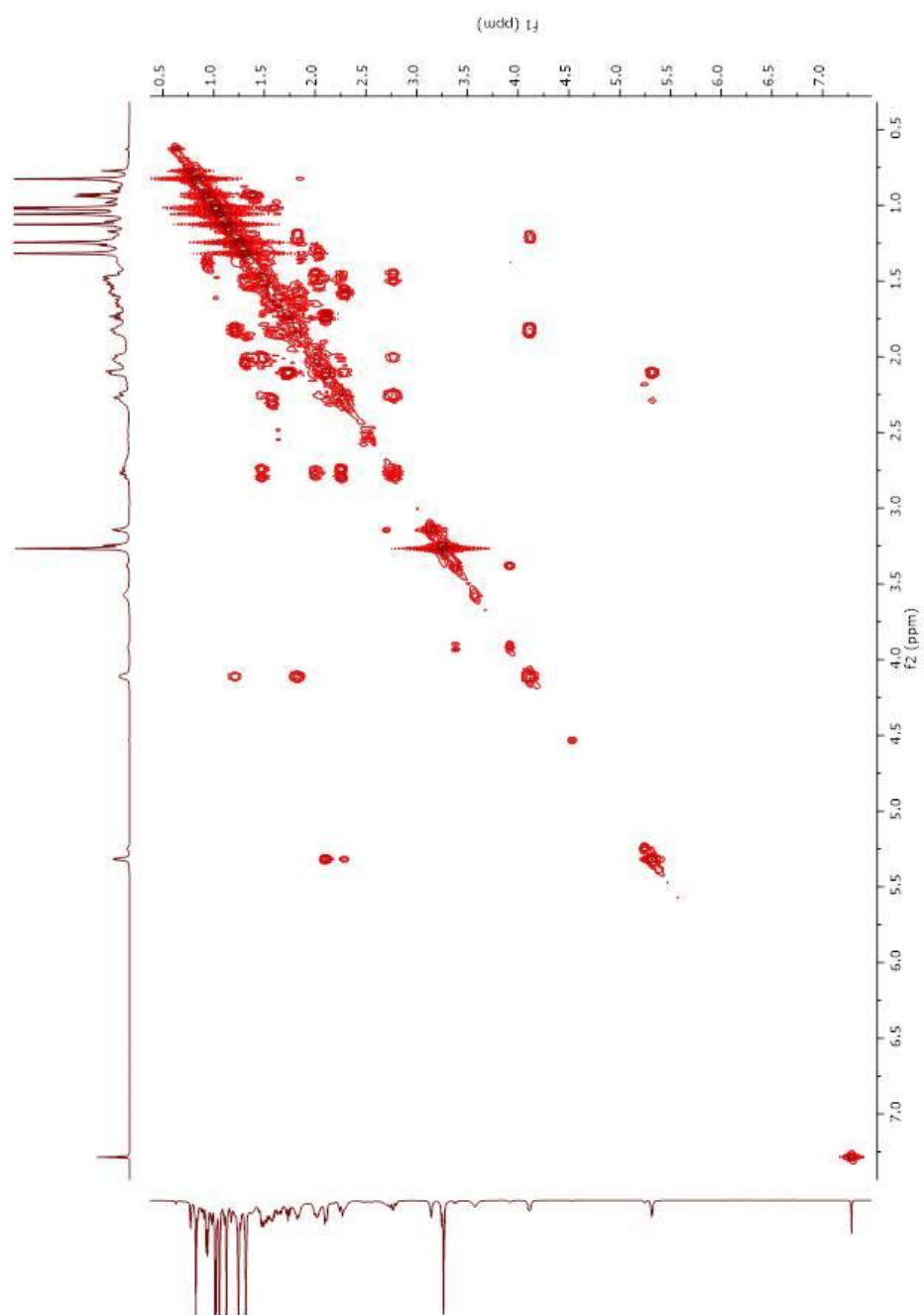


Figura 48. Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  de V.

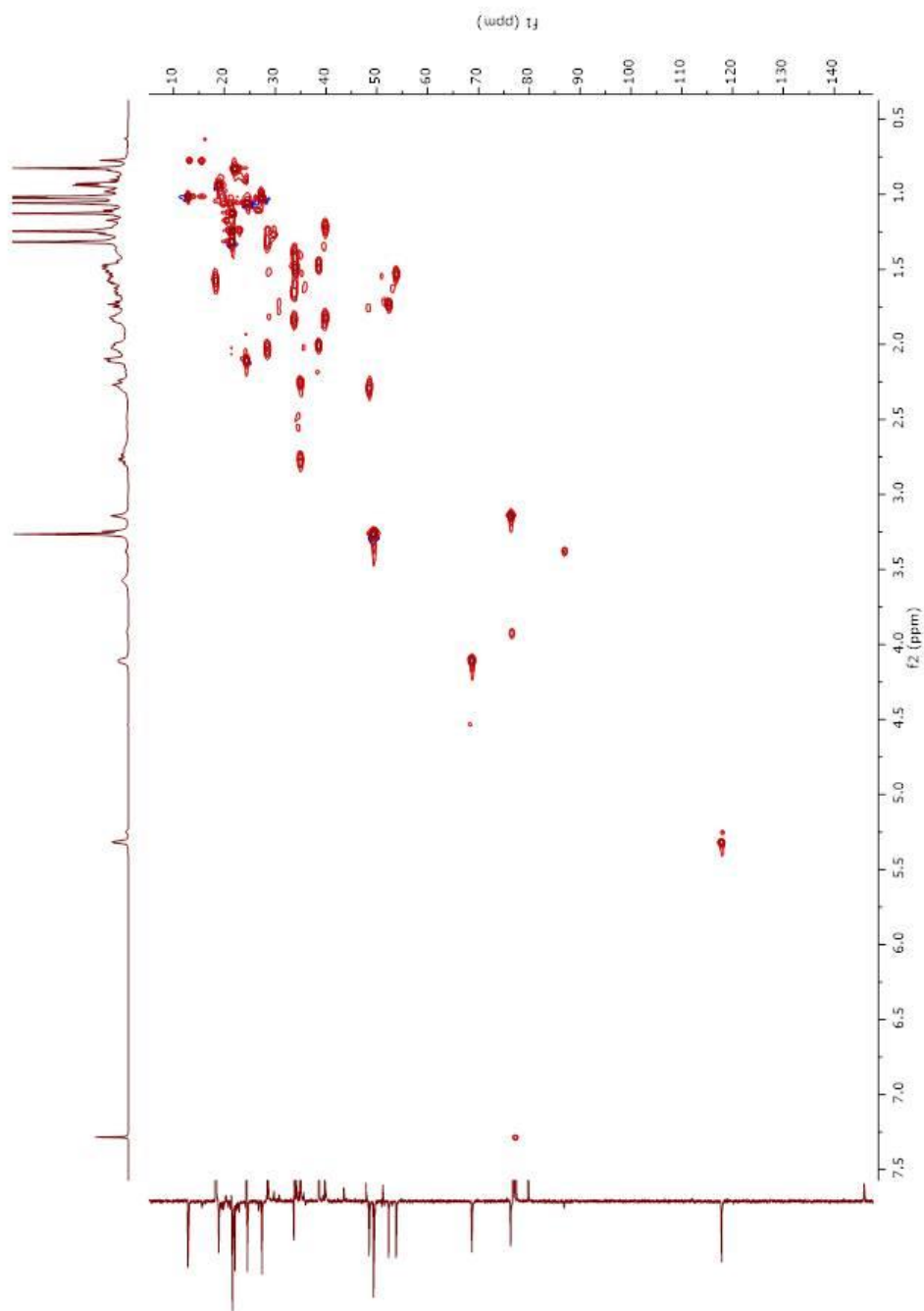


Figura 49. Espectro de correlação Heteronuclear de HSQC de V.

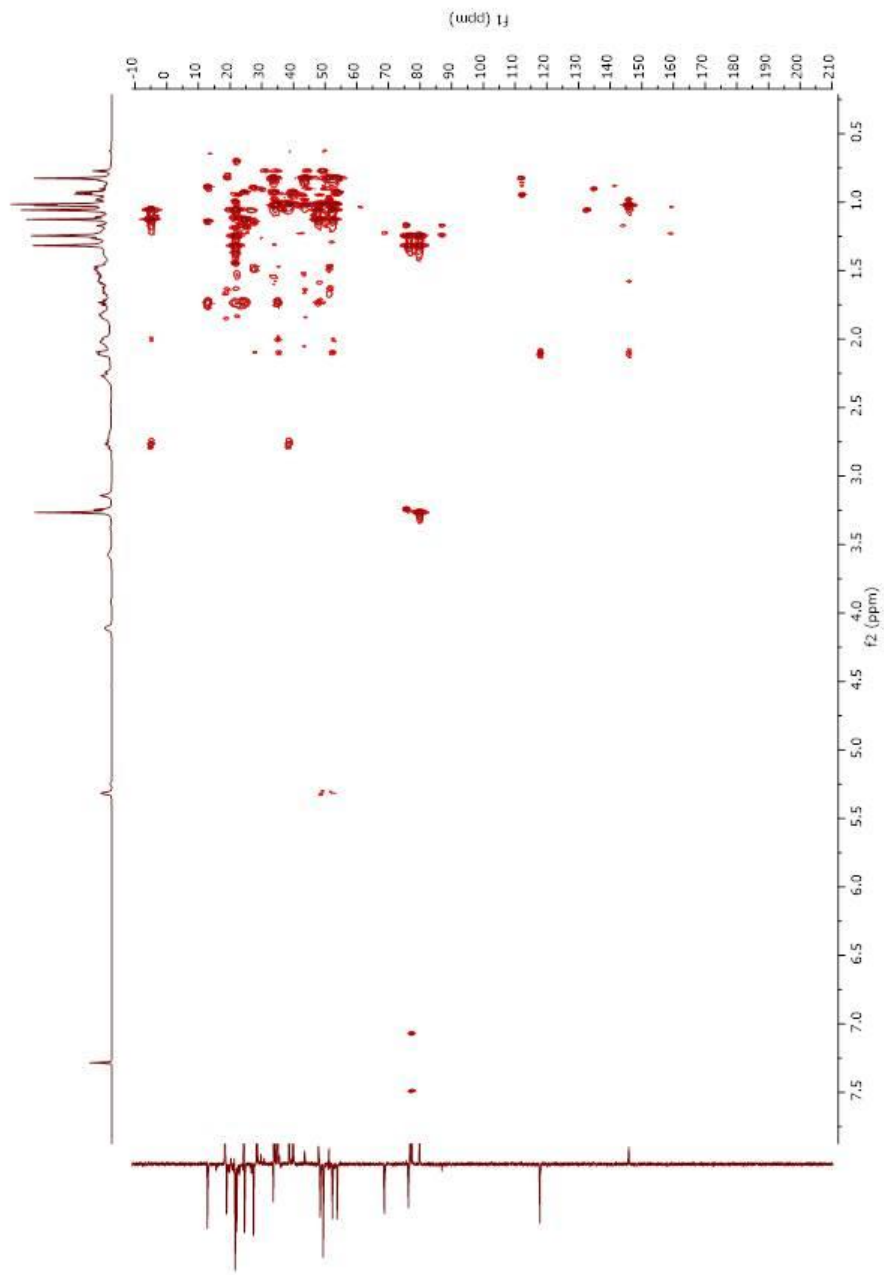


Figura 50. Espectro de correlação heteronuclear de HMBC de V.

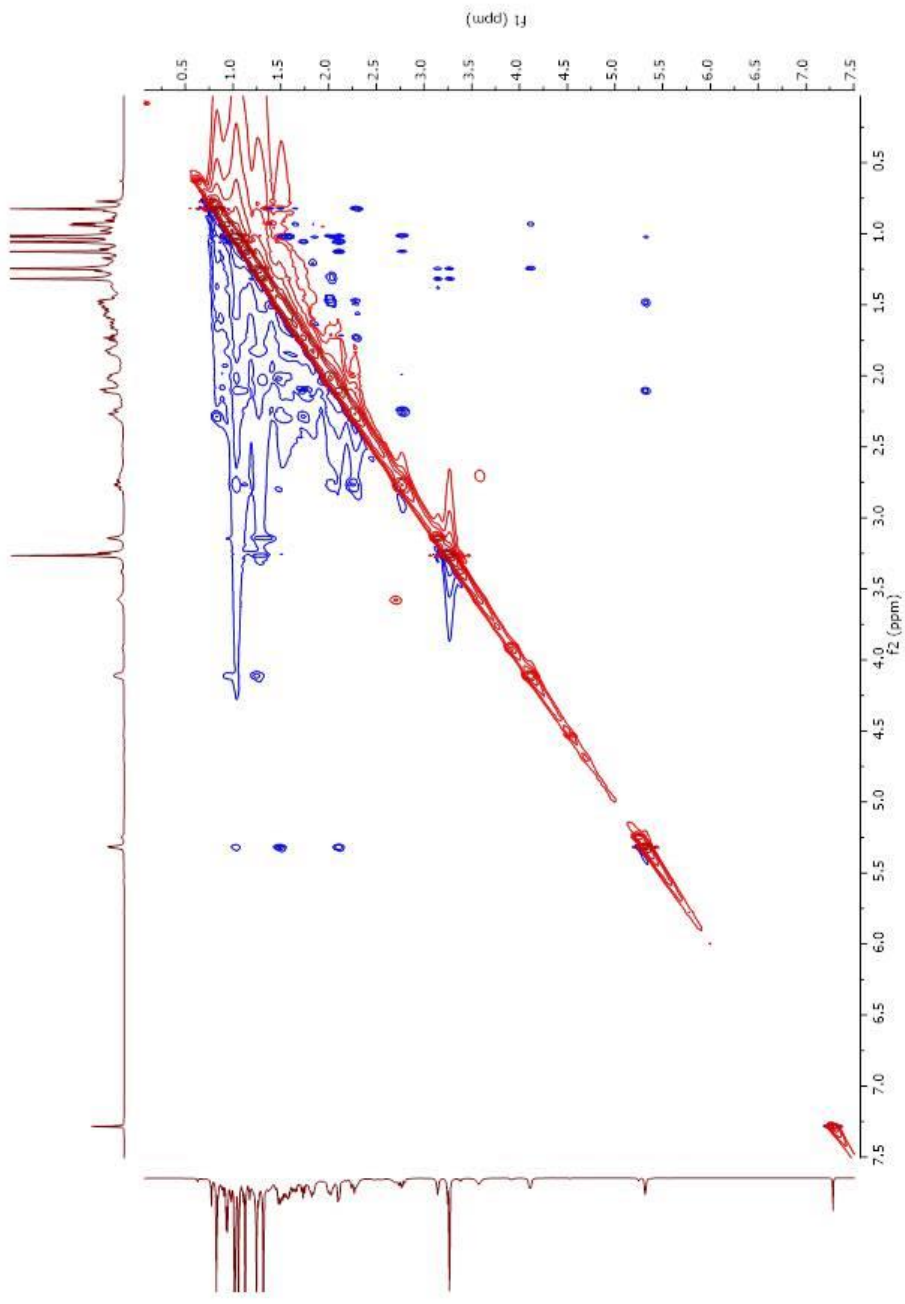


Figura 51. Espectro de correlação homonuclear de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY de V.

### 6.5. Tetranoiraldeído Bourjotilona C

O triterpeno Tetranoiraldeído Bourjotilona C (VI) (Figura 52) foi isolado da fração metanólica/fração diclorometano das folhas de *Trichilia ramalhoi*, como cristais incolores. A estrutura foi determinada através da análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 49 à 51),  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (Figura 42 à 54),  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (Figura 55), HSQC (Figura 56), HMBC (Figura 57) e  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY (Figura 58), o que permitiu a elaboração da Tabela 6.

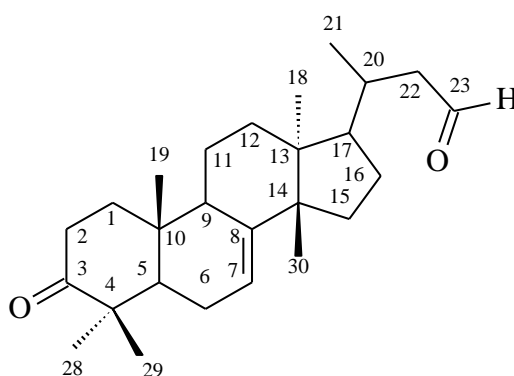


Figura 52. Triterpeno isolado do extrato metanólico das folhas de *T. ramalhoi* (VI).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (Figura 42 à 54), revelou a presença de vinte e seis átomos de carbono, seis sinais para átomos de carbono quaternário sendo um característico de ligação dupla em  $\delta_{\text{C}}$  145,57 (C-8), seis sinais para grupos metilênicos (CH), sendo um ligado a um átomo de oxigênio em  $\delta_{\text{C}}$  203,51 (CH-23) e um característico de ligação dupla  $\delta_{\text{C}}$  118,03 (CH-7), nove sinais para grupos metínicos ( $\text{CH}_2$ ) e cinco sinais para grupos metílicos ( $\text{CH}_3$ ) indicando ser um tetranortriterpeno.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 49 à 51) evidenciou a presença de um grupo aldeído pelo sinal em  $\delta_{\text{H}}$  9,79 (s, H-23), outros sinais importantes referentes a grupos metila foram observados em  $\delta_{\text{H}}$  0,88 (s, 3H-18), 0,99 (d, 7,0, 3H-21), 1,03 (s, 3H-19), 1,05 (s, 3H-30), 1,06 (s, 3H-28) e 1,13 (3H, s, H-29).

No espectro de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY é possível visualizar hidrogênios vizinhos a 3 ligações. Na substância **VI** a presença do sinal  $\delta_{\text{H}}$  2,60 indica a presença dos

hidrogênios de CH<sub>2</sub>-22 a 3 ligações dos hidrogênios de CH<sub>3</sub>-21 indicado pela presença do sinal  $\delta_H$  0,99.

No espectro de HSQC foi observado a correlação entre o sinal de carbono em  $\delta_C$  203,51 (CH-23) com o sinal de hidrogênio em 9,79 (s, H-23), evidenciando ser uma função aldeído.

No espectro de HMBC pode-se visualizar as correlações entre H-23 e 3H-21 com C-22 atribuindo o aldeído a cadeia lateral, além da confirmação da ausência de quatro carbonos da cadeia lateral.

Esses resultados corroboram com a proposta de Vieira et al., 2013 e Mcchesney et al., 1997 para caracterização de parte da substância, identificando-a como triterpeno tirucalano. É a primeira vez que esta substância é isolada de forma natural, pois Bree et al., 1966 e Mulholland & Taylor (1988) relatam a obtenção desta substância através de síntese.

Tabela 6. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de VI. Os valores dos deslocamentos químicos  $\delta_{\text{H}}$  e  $\delta_{\text{C}}$  estão em ppm e as constantes de acoplamento  $J$  estão em Hz

	VI							
	HSQC		HMBC		Vieira et al. 2013		Mcchesney et al. 1997	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
<b>C</b>								
3	216.74	-			216.9	-	217.0	
4	47.86	-	3H-28; 3H-29		47.84	-	47.8	
8	145.57	-		3H-30	145.72	-	145.7	
10	35.02	-	3H-19		36.05	-	35.0	
13	43,88	-	3H-18	3 H- 30	43.35	-	43.5	
14	51.28	-	3H-30	3H-18	51.23	-	51.2	
25	-	-	-	-	60.32	-	74.3	
<b>CH</b>								
5	52.27	1.75		H-7; 3H- 19; 3H-28; 3H-29	52.341	1.70	52.3	1.71 (t, 8.7)
7	118.03	5.34 (sl)			118.04	5.33 (m)	117.9	5.30 (dd, 6.1, 3.1)
9	47.85	2.30 (m)		H-7; 3H-19	48.47		48.4	2.28 (m)
17	52.80	1.52 (m)		3H-21	53.28		53.8	1.50 (m)
20	32.35	2.05	3H-21		33.69		33.7	1.38 (m)
23	203.51	9.79 (s)			69.25		69.7	4.09 (m)
24	-	-			68.46		75.0	3.13 (sl)
<b>CH<sub>2</sub></b>								
1	38.53	2.05, 1.52		3H-19	38.56	<b>2.02,</b> <b>1.50</b>	38.5	1.45 (m), 1.96 (m)
2	34.90	2.75 (td, 14.2, 5.4), 2.26 (m)			34.93	2.78 (td, 14.6, 5.6) 2.26(td, 14.6, 3.8)	34.9	2.20 (dt, 14.5, 3.5) 2.74 (td, 14.5, 5.6)
6	24.22	2.15 (m)			24.36	2.10	24.3	2.05-2.10 (m)
11	18.22	1.65			18.86	1.60	18.3	1.53 (m)
12	33.50	180, 1.65		3H-18	33.52	1.65, 1.40	33.8	1.47 (m)
15	33.98	1.48		3H-30	34.06	1.85, 1.65	34.0	1.47 (m)
16	28.38	1.90, 1.20			29.77	2.08, 1.18	28.4	1.29 (m), 1.99 (m)
21	-	-			-	-	-	-
22	50.92	2.60 (d, 17.5) 2.20)	<b>H-23</b>	3H-21	40.47	1.70 1.40	40.4	1.20 (m) 1.83(m)
<b>CH<sub>3</sub></b>								
18	22.07	0.88(s)			21.78	0.83 (s)	22.0	0.80 (s)
19	12.64	1.03 (s)			12.80	1.03 (s)	12.8	0.99 (s)
21	19.71	0.99 (d, 7.0)			19.89	0.98 (d, 6.1)	18.9	0.91 (d, 6.1)

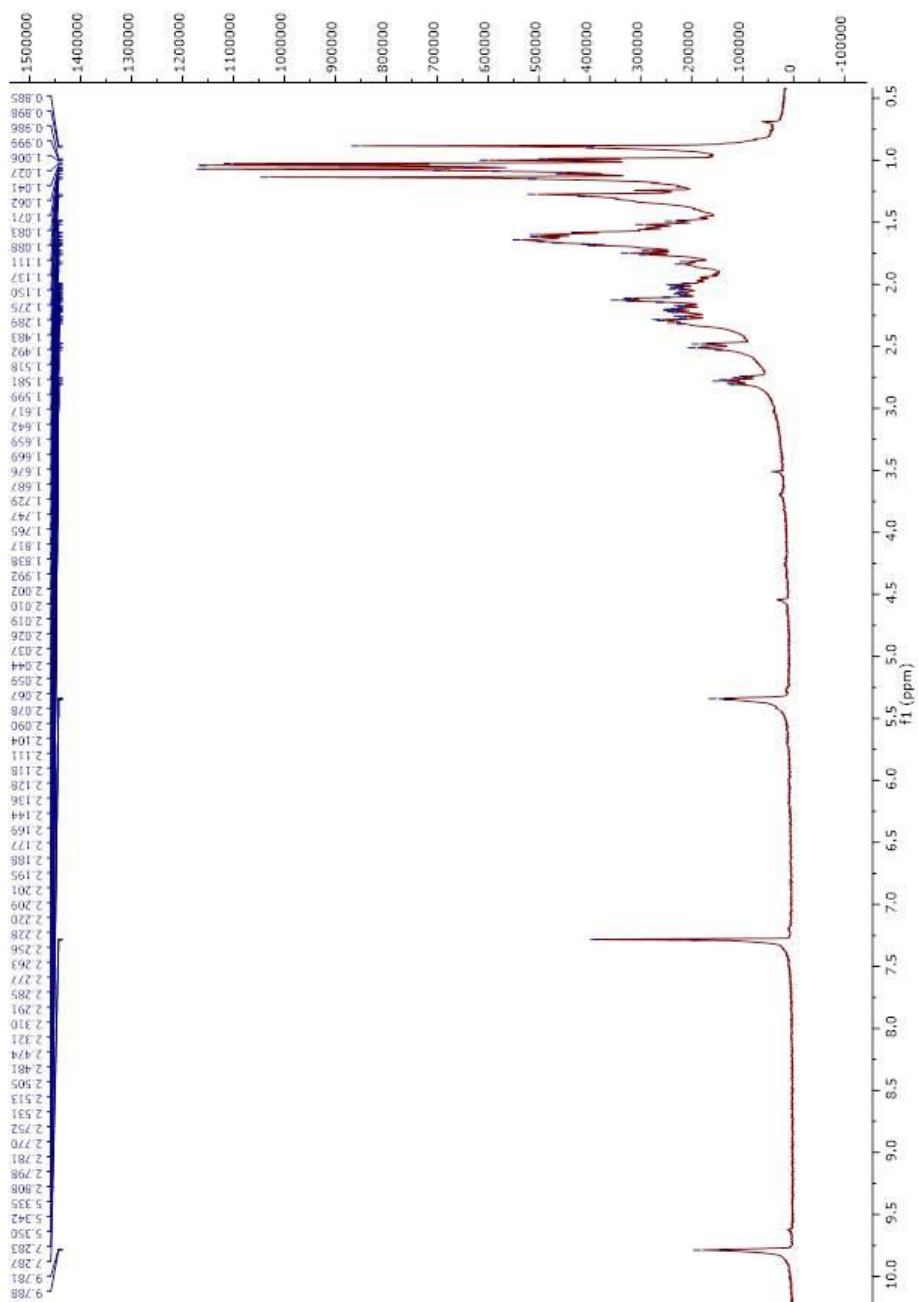


Figura 53. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de VI.



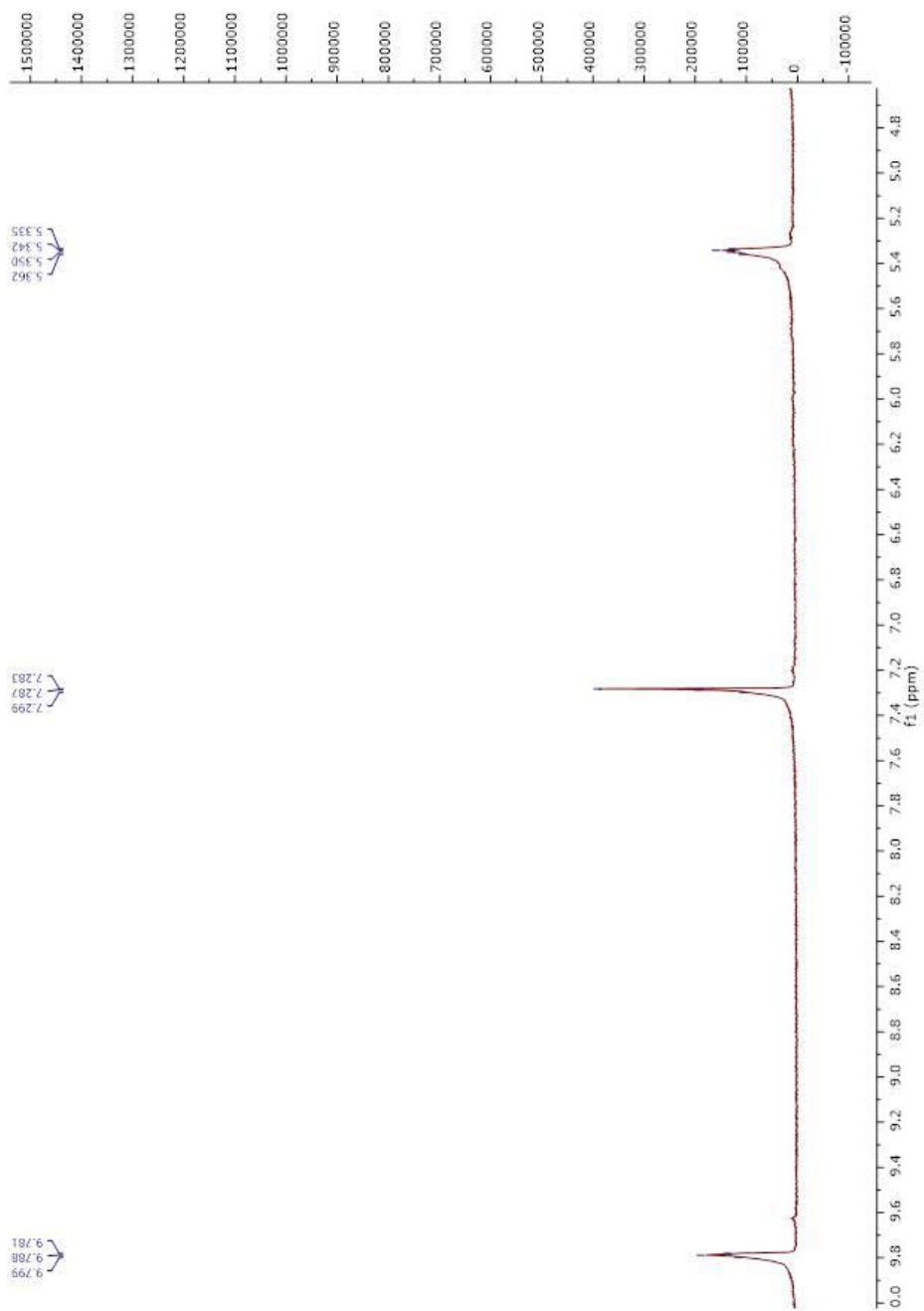


Figura 54. Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de VI.

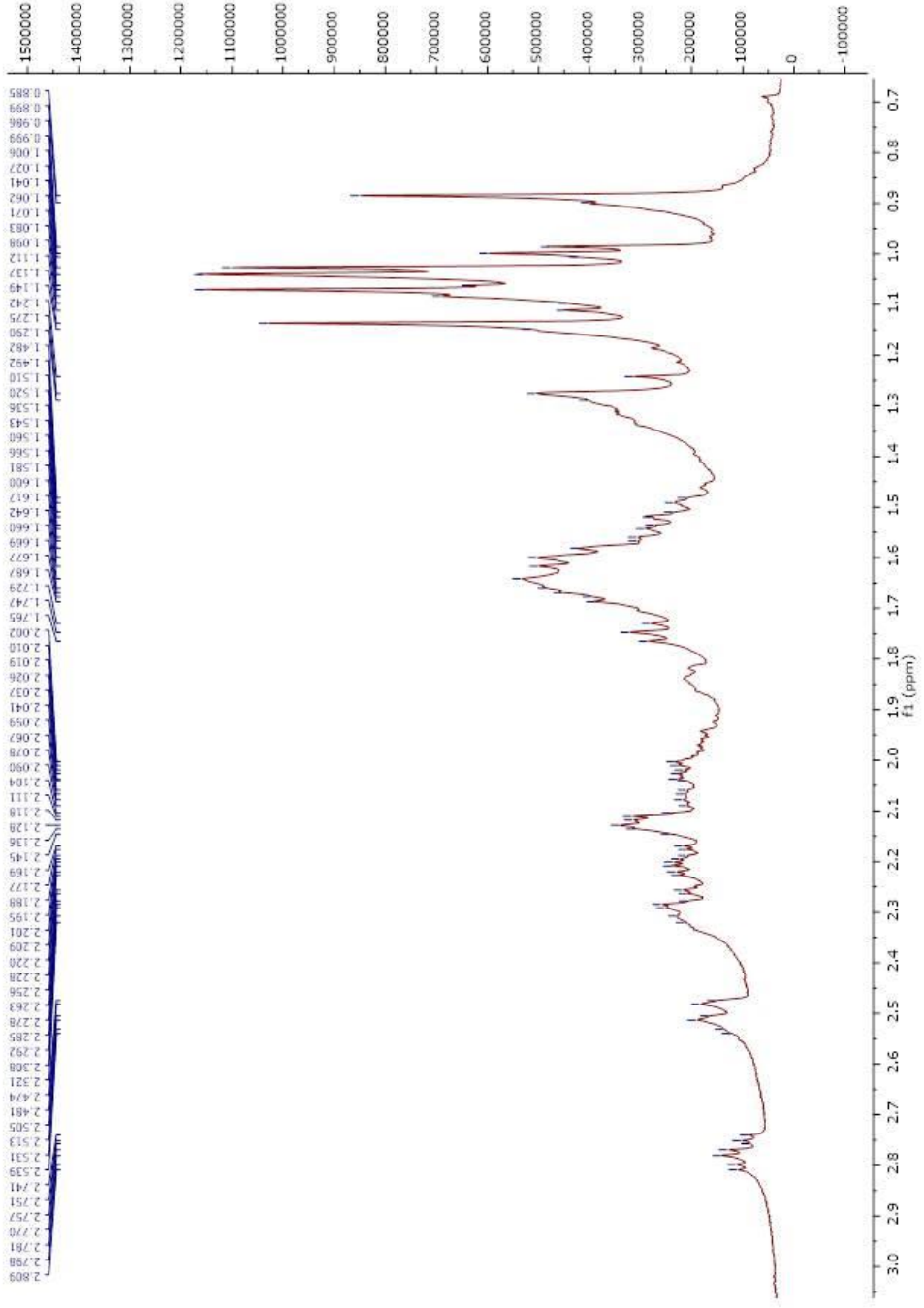


Figura 55. Ampliação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de VI.

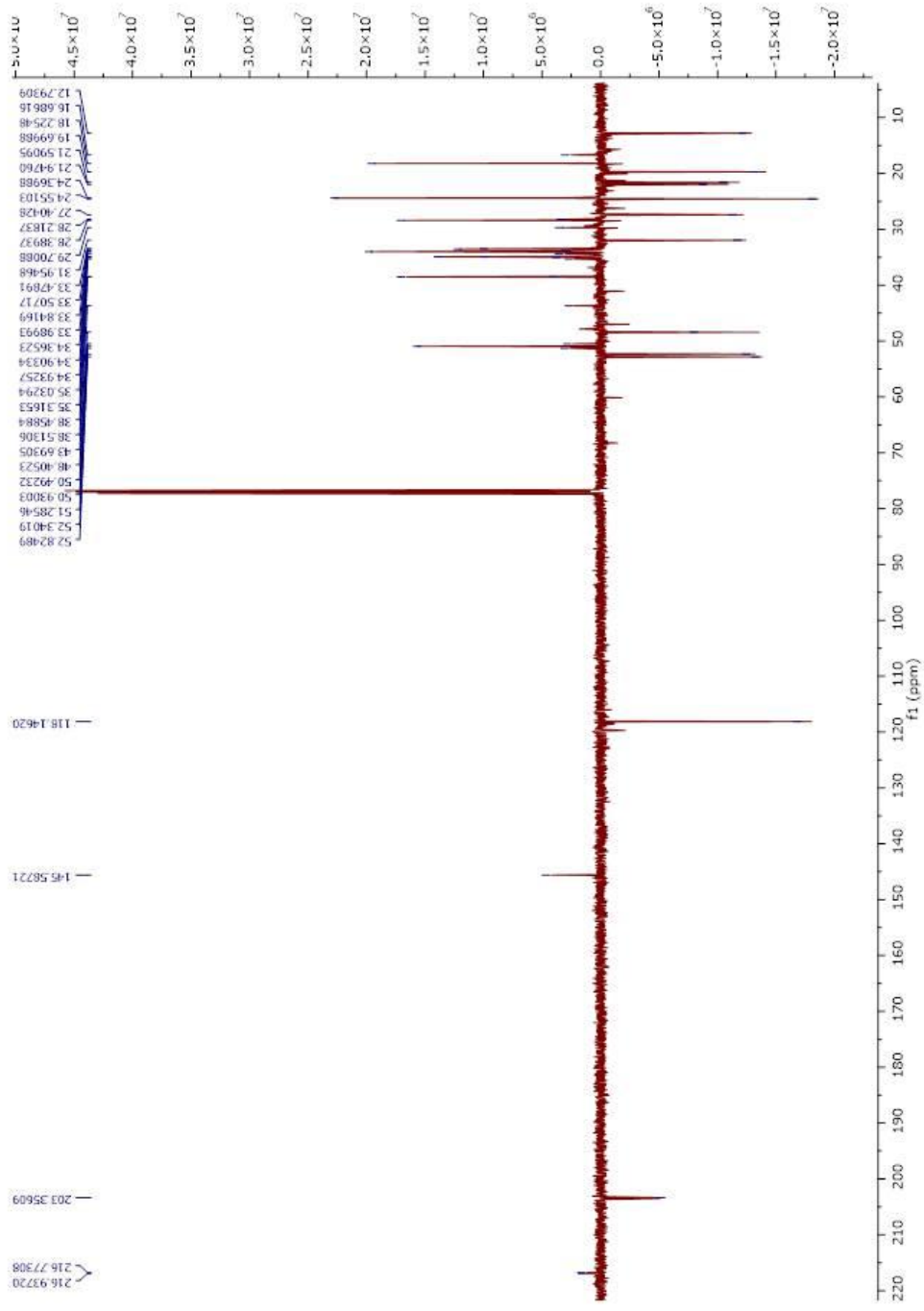


Figura 56. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de VI.

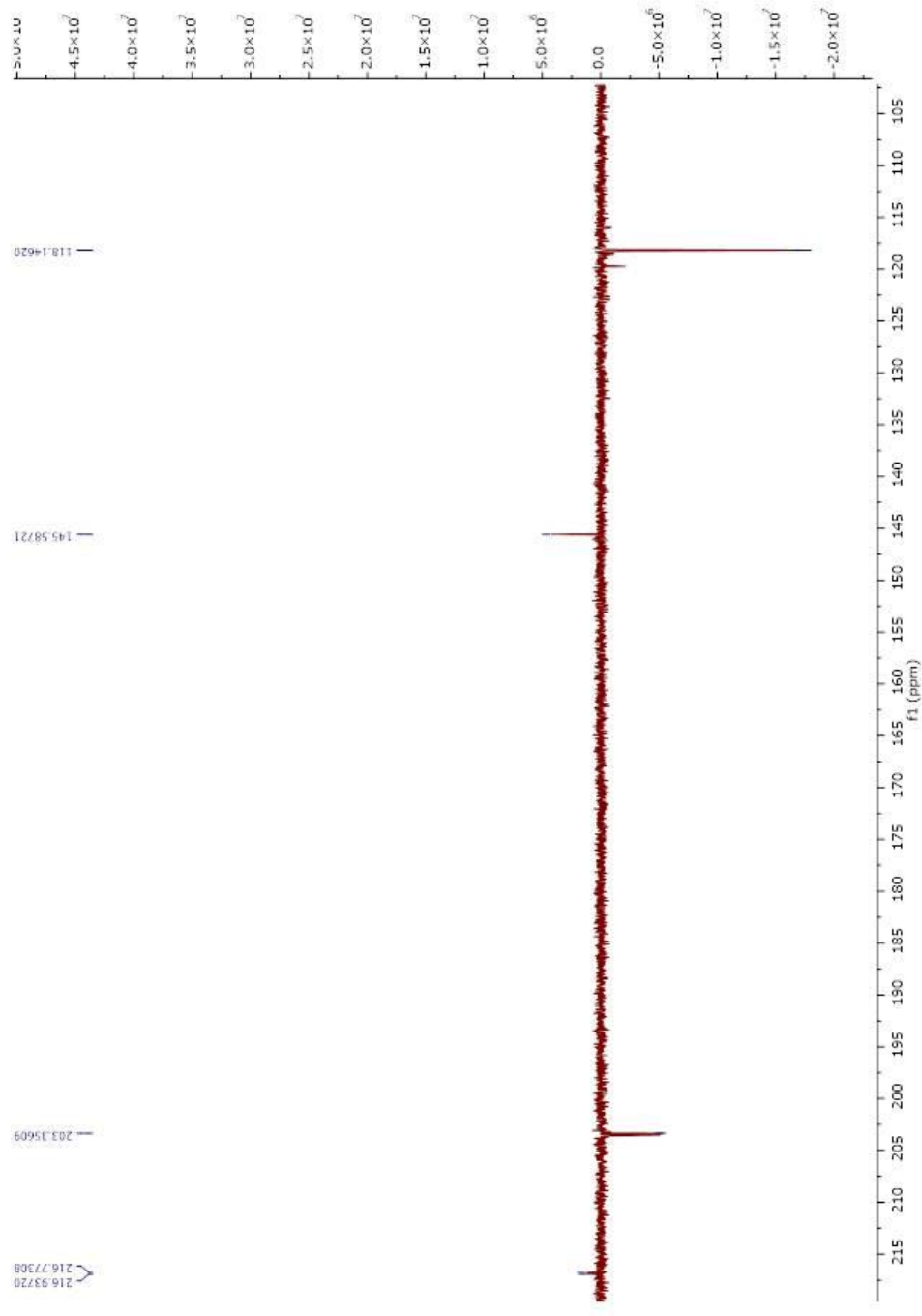


Figura 57. Ampliação do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de VI.

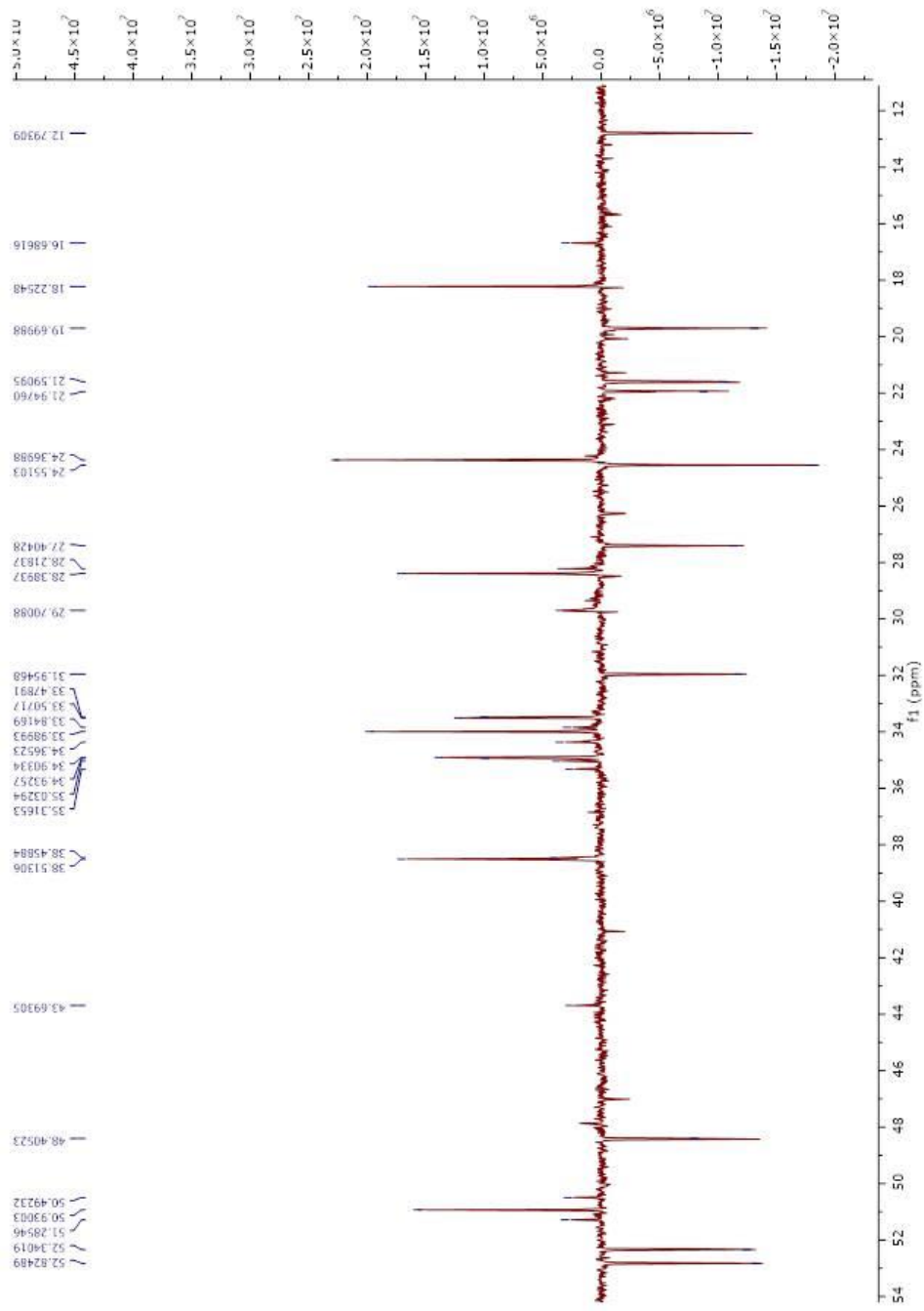


Figura 58. Ampliação do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de VI.

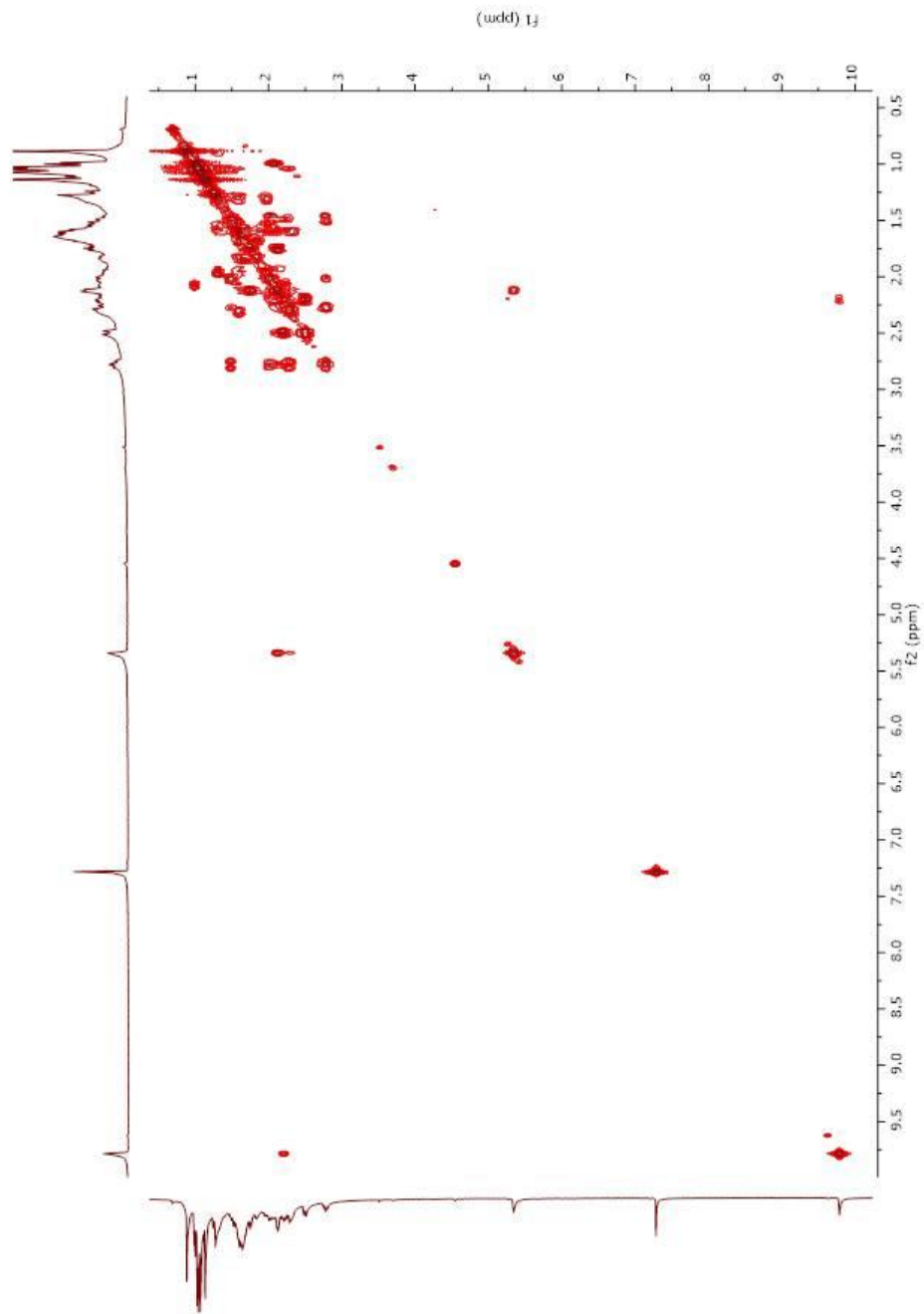


Figura 59. Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  de VI.

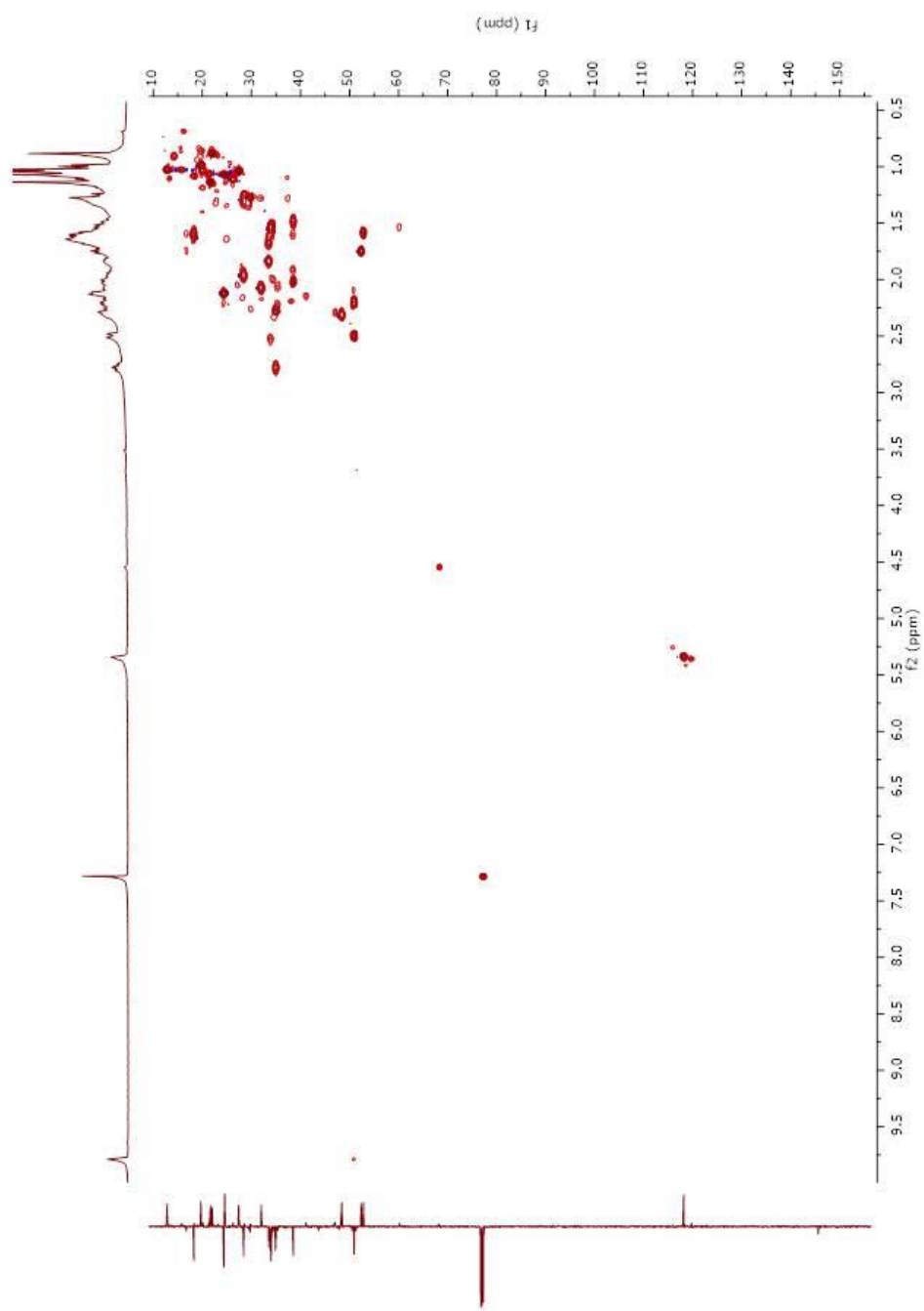


Figura 60. Espectro de correlação Heteronuclear de HSQC de VI.

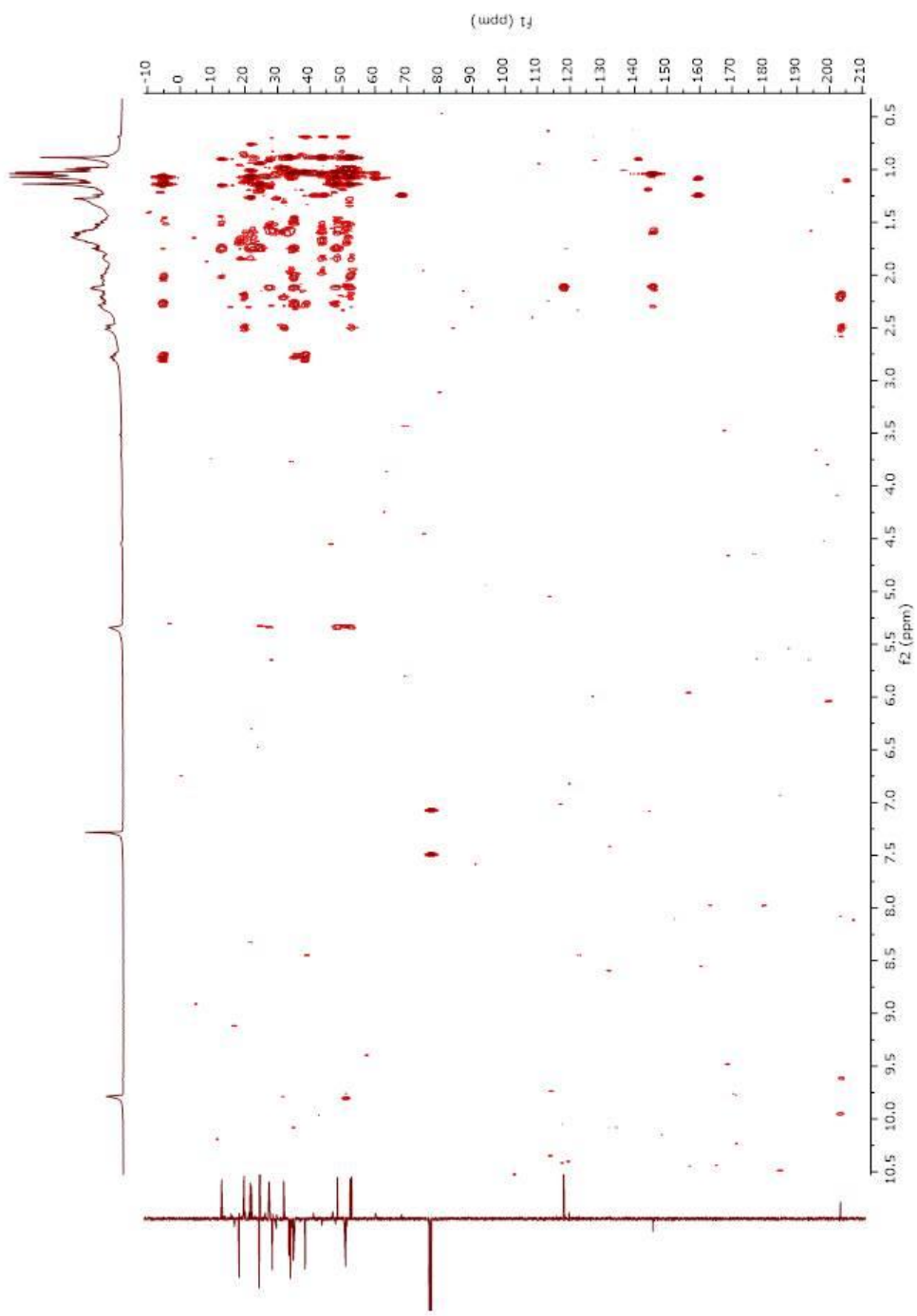


Figura 61. Espectro de correlação Homonuclear de HMBC de VI.



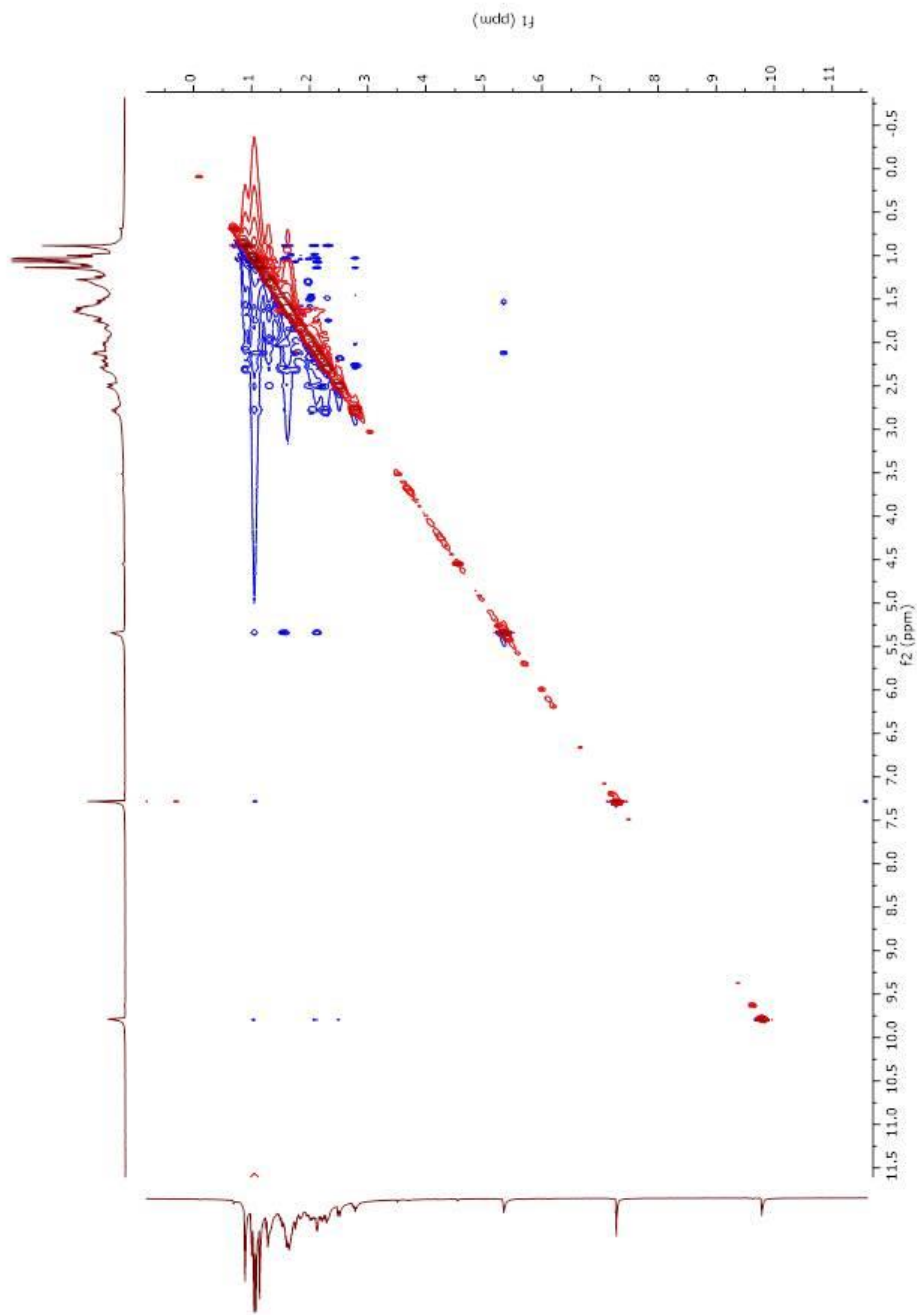


Figura 62. Espectro de correlação Homonuclear de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -NOESY de VI.

## 6.6. Piscidinol A

O triterpeno Piscidinol A (VII) (Figura 63) foi isolado da fração metanólica/fração diclorometano das folhas de *Trichilia ramalhoi*, como cristais incolores. A estrutura foi determinada através da análise dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 60 à 62),  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (Figura 63 à 65),  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY (Figura 66), HSQC (Figura 67) e HMBC (Figura 68), o que permitiu a elaboração da Tabela 7.

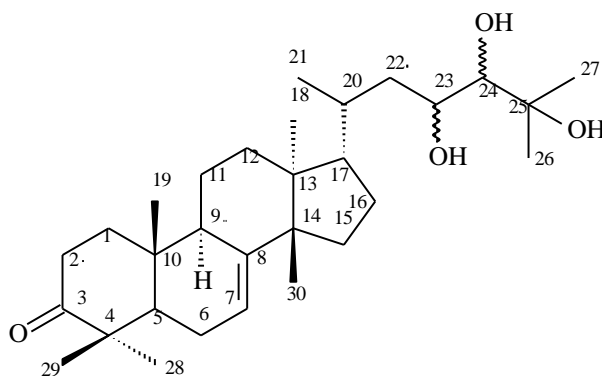


Figura 63. Triterpeno isolado do extrato metanólico das folhas de *T. ramalhoi* (VII).

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (Figura 66 à 68), onde revelou a presença de 30 sinais de átomos de carbono, sendo sete não hidrogenados [incluindo uma carbonila em  $\delta_{\text{C}}$  216,77 (C-3) e um hidrolisado em  $\delta_{\text{C}}$  74,28 (C-25)], sete carbonos metínicos [incluindo dois carbonos carbinólicos em  $\delta_{\text{C}}$  66,71 (CH-23) e 74,28 (CH-24) e um carbono olefínico em  $\delta_{\text{C}}$  117,96 (CH-7)], oito carbonos metilênicos e oito carbonos metílicos, apresentando similaridade com a substância **V**, indicando a ausência do grupo metoxi.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 60 à 62) evidenciou a presença sinais referentes a grupos metila em  $\delta_{\text{H}}$  0,84 (s, 3H-18), 0,95 (d, 6,3, 3H-21), 1,02 (s, 3H-19), 1,04 (s, 3H-30), 1,07 (s, 3H-28), 1,13 (s, 3H-29), 1,32 (s, 3H-26) e 1,34 (s, 3H-27), também caracterizando a ausência do grupo metoxi, dois hidrogênios carbinólicos em  $\delta_{\text{H}}$  3,18 (s, H-24) e 4,14 (dd, 8,9, 5,0, H-23) e um hidrogênio olefínico em  $\delta_{\text{H}}$  5,33 (m, H-7).

No espectro de  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY é possível visualizar hidrogênios vizinhos a 3 ligações. Na substância **VI** a presença do sinal  $\delta_{\text{H}}$  1,89 indica a presença dos hidrogênios de C-25 a 3 ligações dos hidrogênios de CH-23 indicado pela presença do sinal  $\delta_{\text{H}}$  4,14. A presença do sinal  $\delta_{\text{H}}$  1,32 indica a presença dos hidrogênios de CH<sub>3</sub>-26 a 3 ligações dos hidrogênios de CH-24 e CH<sub>3</sub>-27, indicados respectivamente pelos sinais  $\delta_{\text{H}}$  3,18 e  $\delta_{\text{H}}$  1,34. A presença do sinal  $\delta_{\text{H}}$  1,34 indica a presença dos hidrogênios de CH<sub>3</sub>-27 a 3 ligações dos hidrogênios de CH-24 e dos hidrogênios metílicos de CH<sub>3</sub>-26, indicados respectivamente pelos sinais  $\delta_{\text{H}}$  3,18 e  $\delta_{\text{H}}$  1,32.

No espectro de HSQC, pode-se observar qual carbono está ligado a uma ligação da molécula de hidrogênio. Na cadeia lateral o carbono CH-23 e CH-24 estão ligados cada um a um hidrogênio indicados respectivamente pela presença dos sinais de carbono  $\delta_{\text{C}}$  69,71 e  $\delta_{\text{C}}$  74,28 e os hidrogênios respectivamente pelos sinais  $\delta_{\text{H}}$  4,14 e  $\delta_{\text{H}}$  3,18, e cada um deles ligado a uma função hidroxila.

No espectro de HMBC pode-se confirmar a posição da dupla ligação entre os C-7 e C-8 através das correlações de 2H-6 com ambos os carbonos, além de 3H-30 com C-8. Já as posições dos grupos oxigenados foram atribuídas pelas correlações de H-23 com o carbono C-24 e H-23, 3H-26 e 3H-27 com o carbono C-25.

Esses resultados corroboram com a proposta de Mcchesney et al., 1997, Nunomura et al., 2012 e Vieira et al., 2013 para caracterização da substância Piscidinol A.

Tabela 7. Dados de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) de VI. Os valores dos deslocamentos químicos  $\delta_{\text{H}}$  e  $\delta_{\text{C}}$  estão em ppm e as constantes de acoplamento  $J$  estão em Hz

	VII					
	HSQC		HMBC		Mcchesney et al., 1997	
	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$	$^2J_{\text{CH}}$	$^3J_{\text{CH}}$	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
<b>C</b>						
3	216,77	-	2H-2	H-1a; 3H-28, 3H-29	217.0	-
4	47,85	-	H-5; 3H-28, 3H-29		47.8	-
8	145,78	-	H-9	H-6; H-11; 3H-30;	145.7	-
10	35,03	-	3H-19		35.0	-
13	43,59	-	3H-18	2H-15; 3H-30	43.5	-
14	51,22	-	3H-30	3H-18	51.2	-
25	74,28	-	3H-26; 3H-27	H-23	74.3	-
<b>CH</b>						
5	52,37	1.74 (t, 8.7)	2H-6	3H-19; 3H-28, 3H-29	52.3	1.71 (t, 8.7)
7	117,96	5.33 (m)	2H-6		117.9	5.30 (dd, 6.1, 3.1)
9	48,58	2.28 (m)		H-5; H-7; 3H-19	48.4	2.28 (m)
17	53,81	1.50 (m)		3H-18, 3H-21	53.8	1.50 (m)
20	33,74	1.37 (m)	3H-21		33.7	1.38 (m)
23	69,71	4.14 (dd, 8.9, 5.0)	H-24		69.7	4.09 (m)
24	74,28	3.18 (sl)			75.0	3.13 (sl)
<b>CH<sub>2</sub></b>						
1	38,52	1,99 (m), 1,45 (m)	H-2a	3H-19	38.5	1,96 (m), 1,45 (m)
2	34,89	2,74 (td, 14,6, 5,6) 2,19 (dt, 14,3, 3,5)			34,9	2,74 (td, 14,5, 5,6) 2,20 (dt, 14,5, 3,5)
6	24,37	2,10 (m), 2,05 (m)	H-5		24,3	2,10-2,05 (m)
11	18,31	1,54 (m)			18,3	1,53 (m)
12	33,82	1,67 (m), 1,50 (m)		3H-18	33,8	1,47 (m)
15	34,02	1,84 (m), 1,52		3H-30	34,0	1,47 (m)
16	28,45	2,02 (m), 1,52			28,4	1,99 (m), 1,29 (m)
22	40,65	1,89 (m), 1,22 (m),	H-23	3H-21; H-24	40,4	1,83(m), 1,20 (m)
<b>CH<sub>3</sub></b>						
18	22	0,84 (s)			22,0	0,80 (s)
19	12,78	1,02 (s)		H-5	12,8	0,99 (s)
21	18,95	0,95 (d, 6,4)		2H-22	18,9	0,91 (d, 6,1)
26	26,21	1,32 (s)		H-24; 3H-27	26,2	1,30 (s)
27	27,42	1,34 (s)		H-24; 3H-26	27,4	1,29 (s)
28	24,57	1,07 (s)		H-5; 3H-29	24,5	1,10 (s)

29	21,57	1.13 (s)	H-3; 3H-28	21.6	0.99 (s)
30	27,38	1.04 (s)		27.4	1.00 (s)

---

Tabela 7, cont.

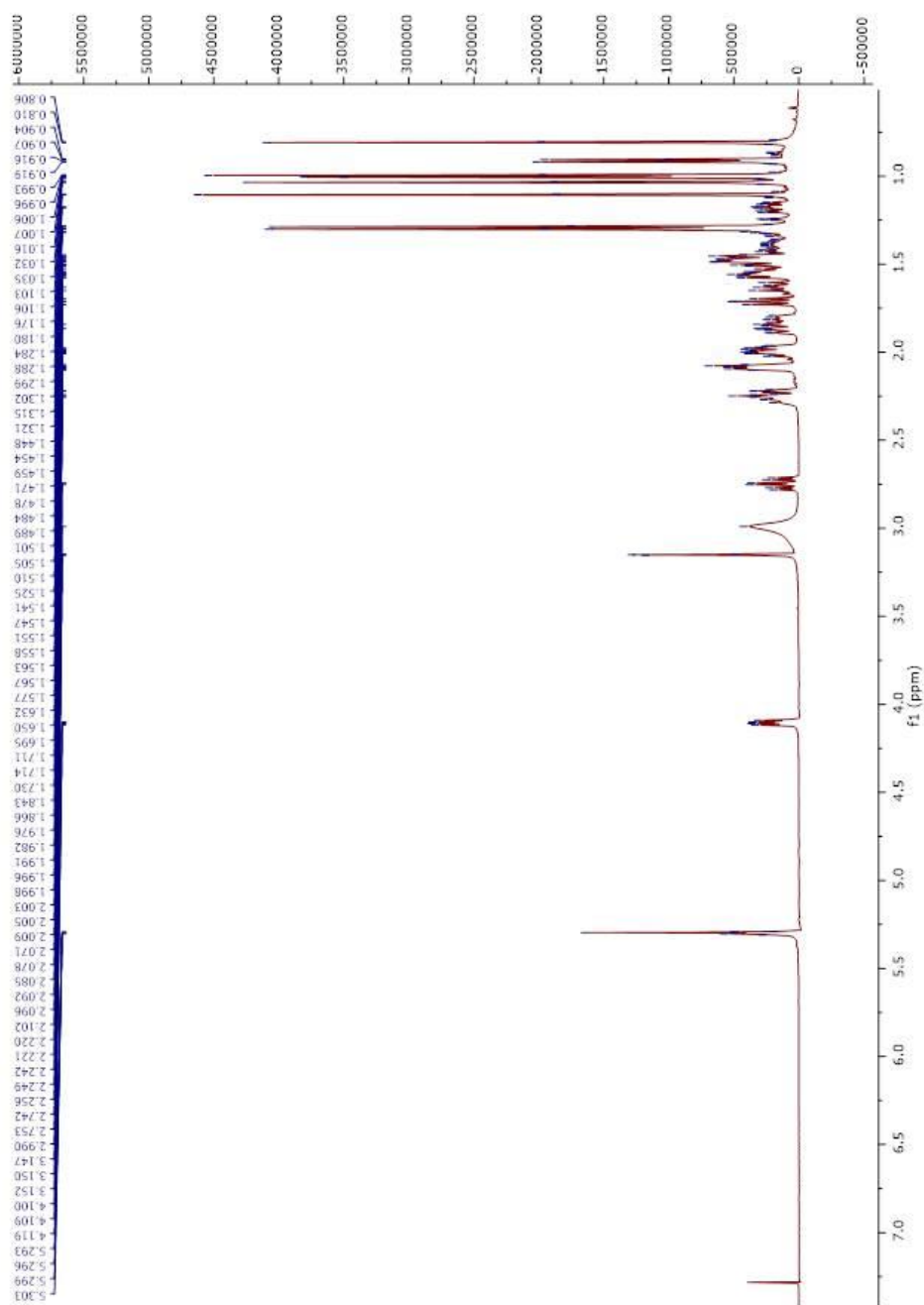


Figura 64. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de VII.

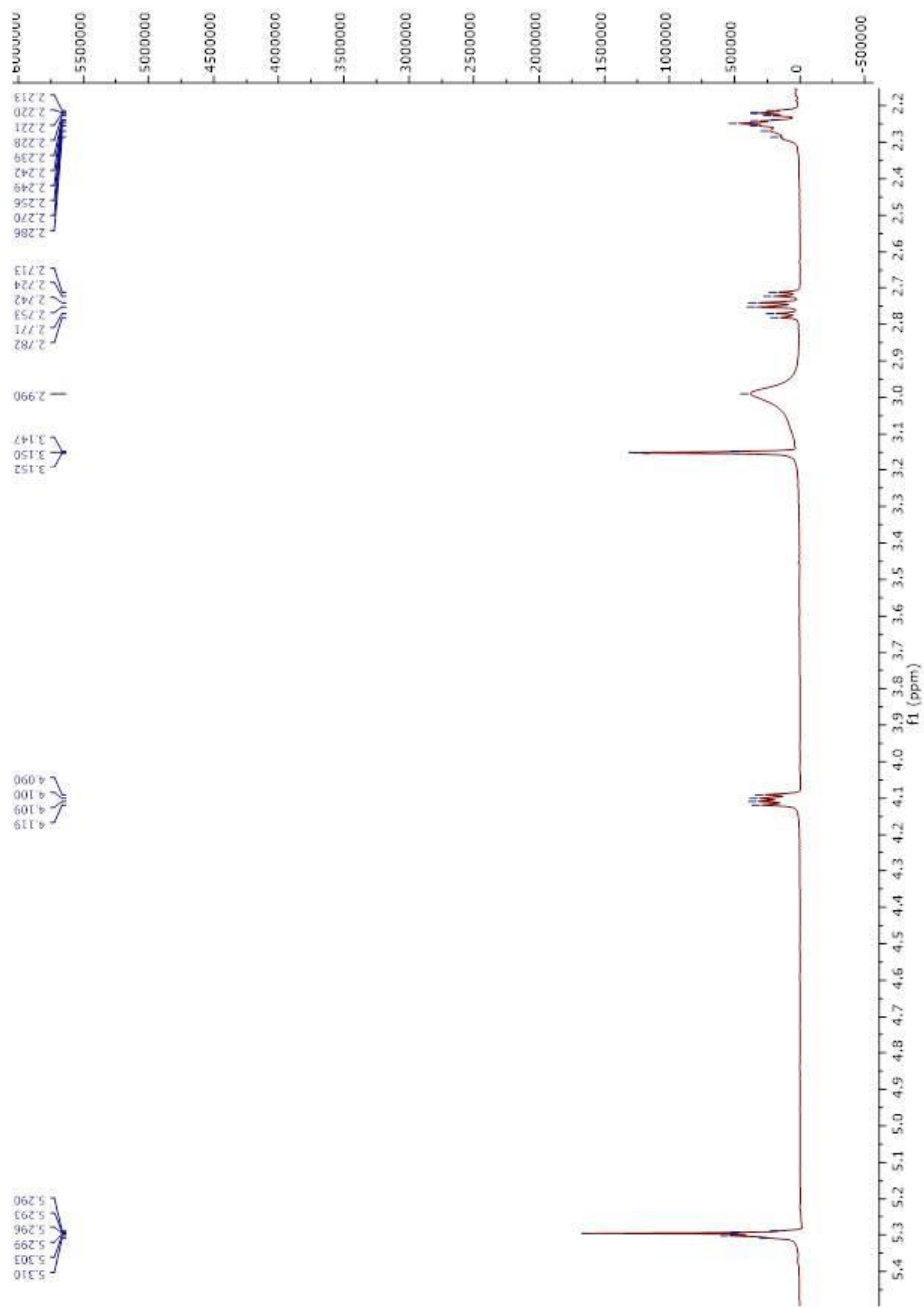


Figura 65. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de VII.

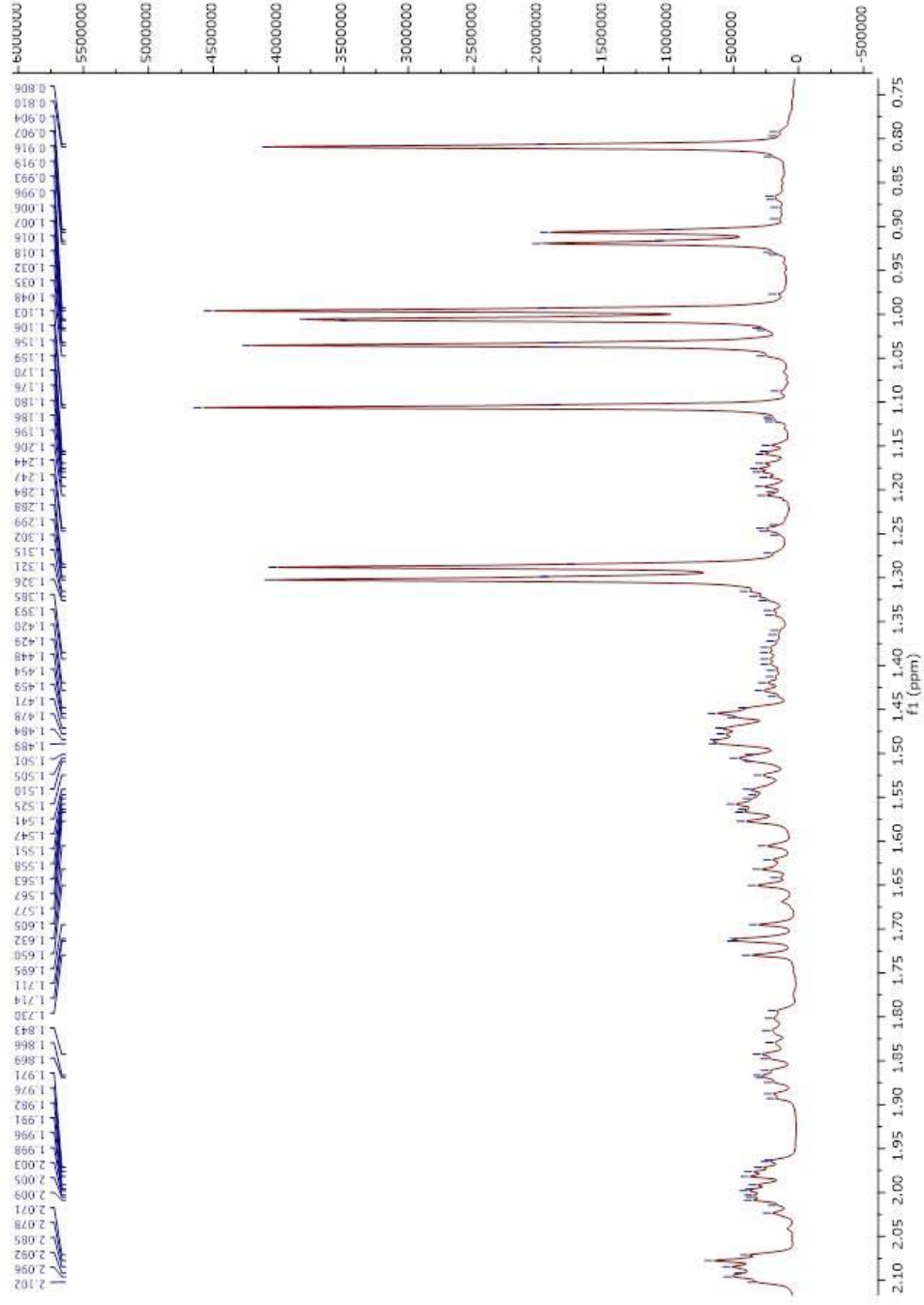


Figura 66. Ampliação do Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de VII.



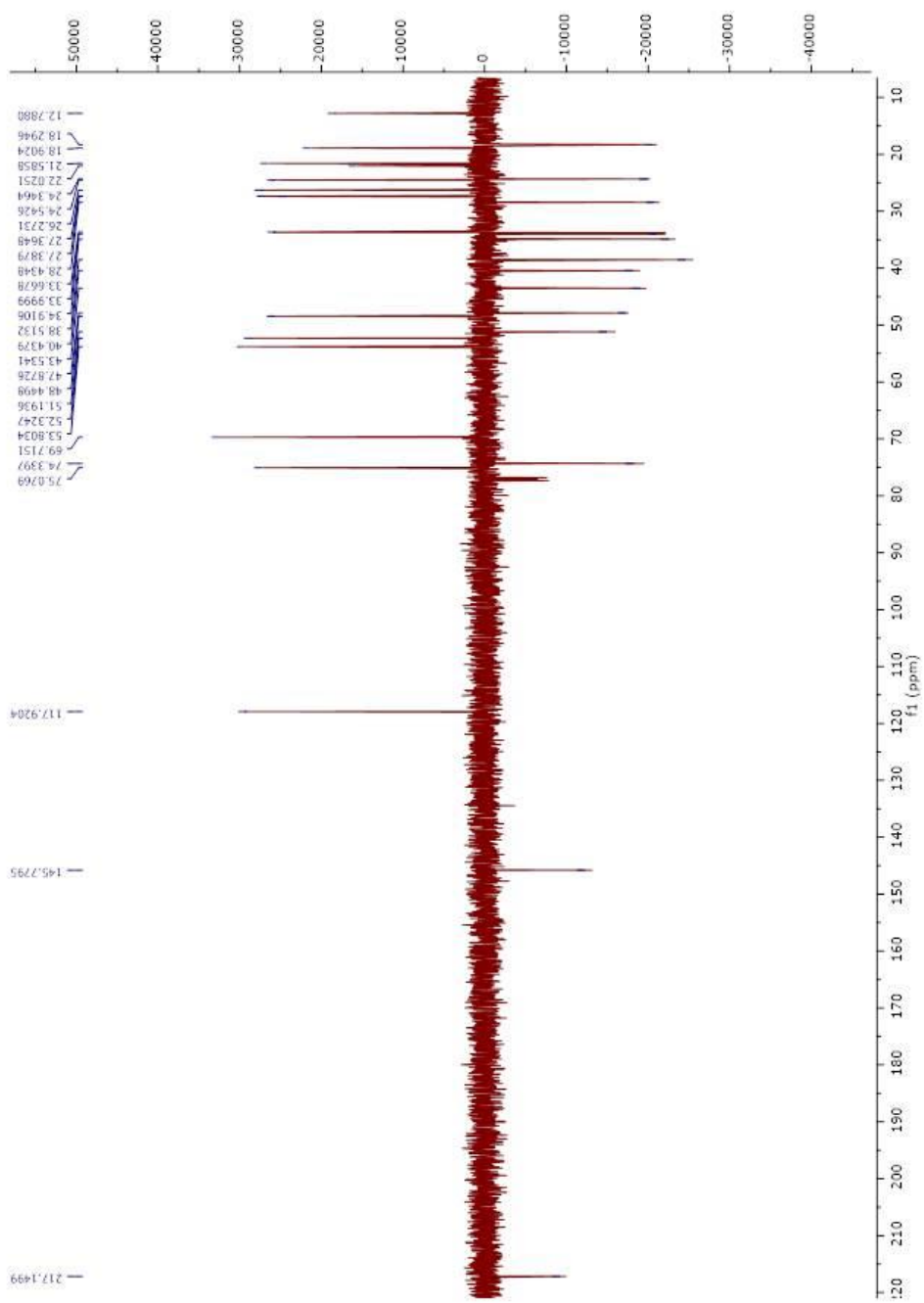


Figura 67. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de VII.

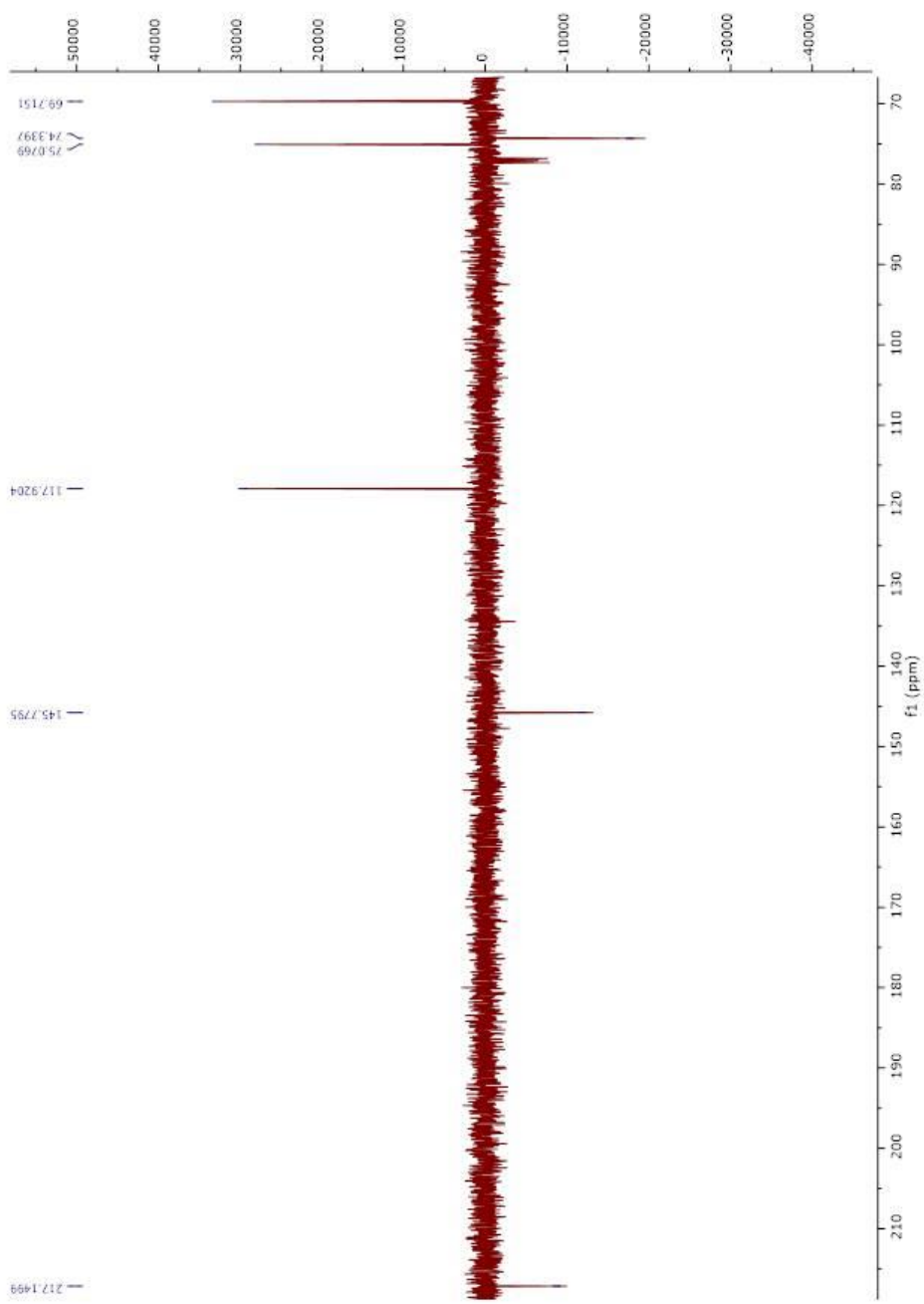


Figura 68. Ampliação do Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -DEPTQ (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) de VII.

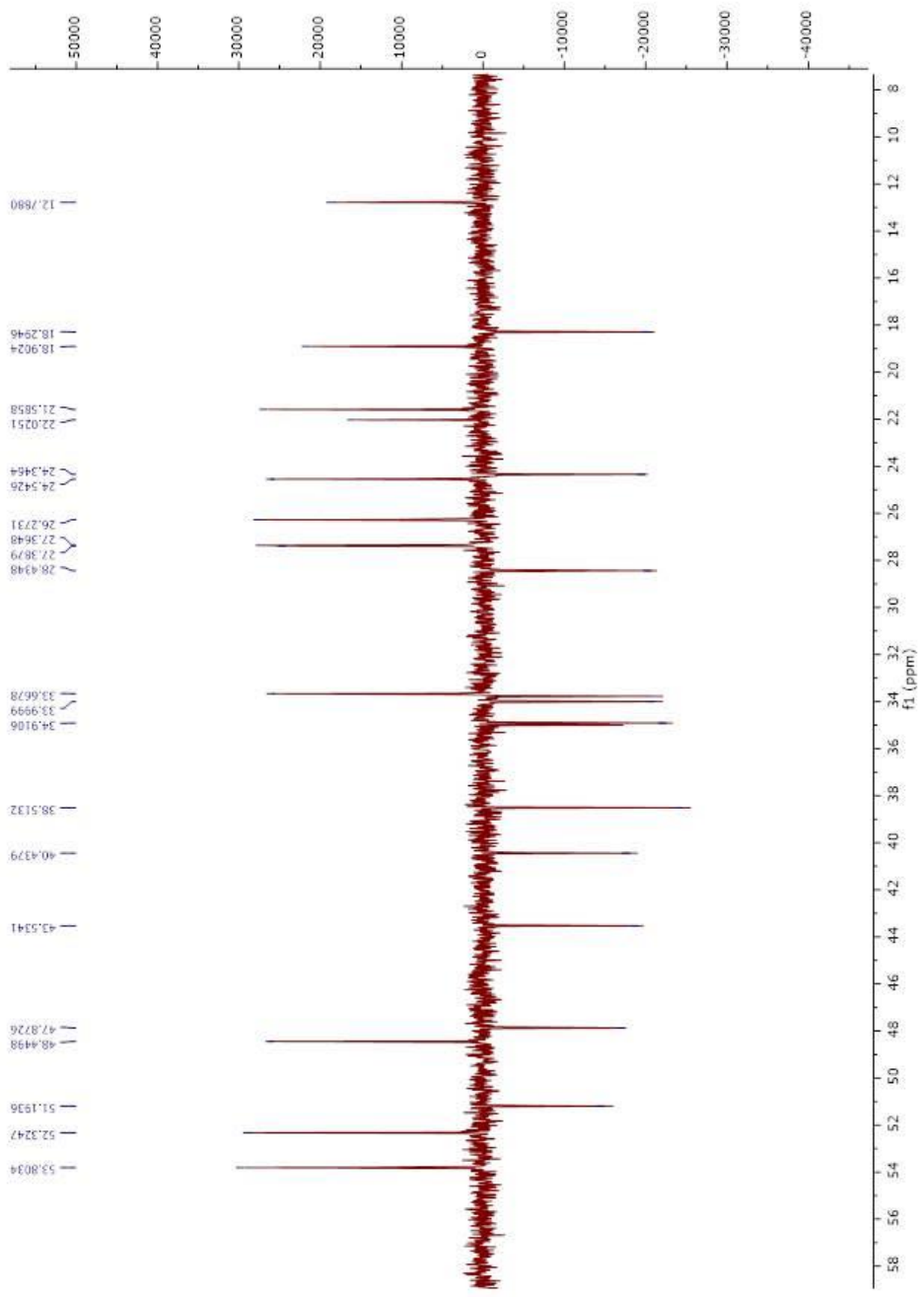


Figura 69. Ampliação do Espectro de RMN <sup>13</sup>C-DEPTQ (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) de VII.

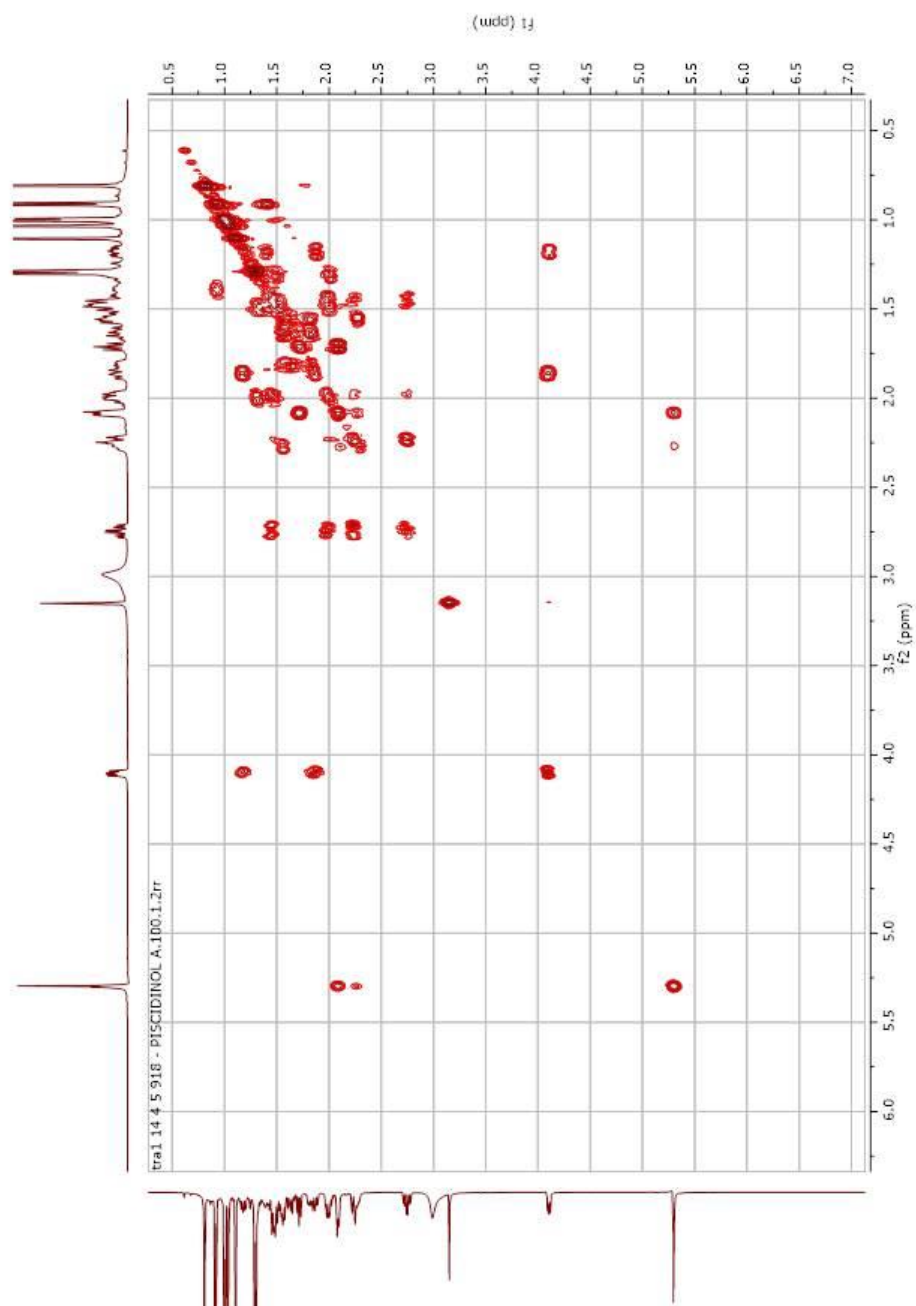


Figura 70. Espectro de correlação homonuclear  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY em  $\text{CDCl}_3$  de VII.

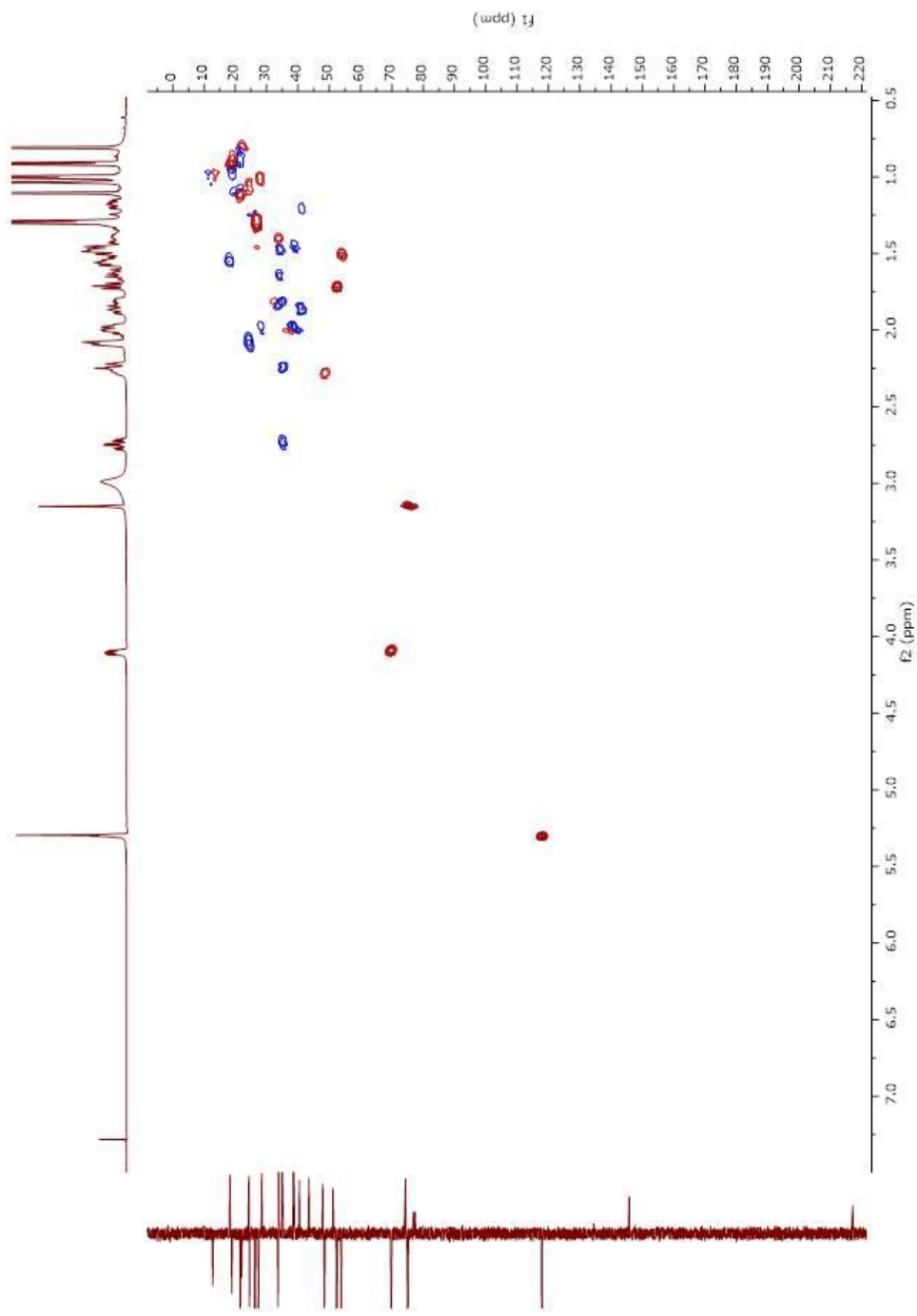


Figura 71. Espectro de correlação Heteronuclear de HSQC de VII.

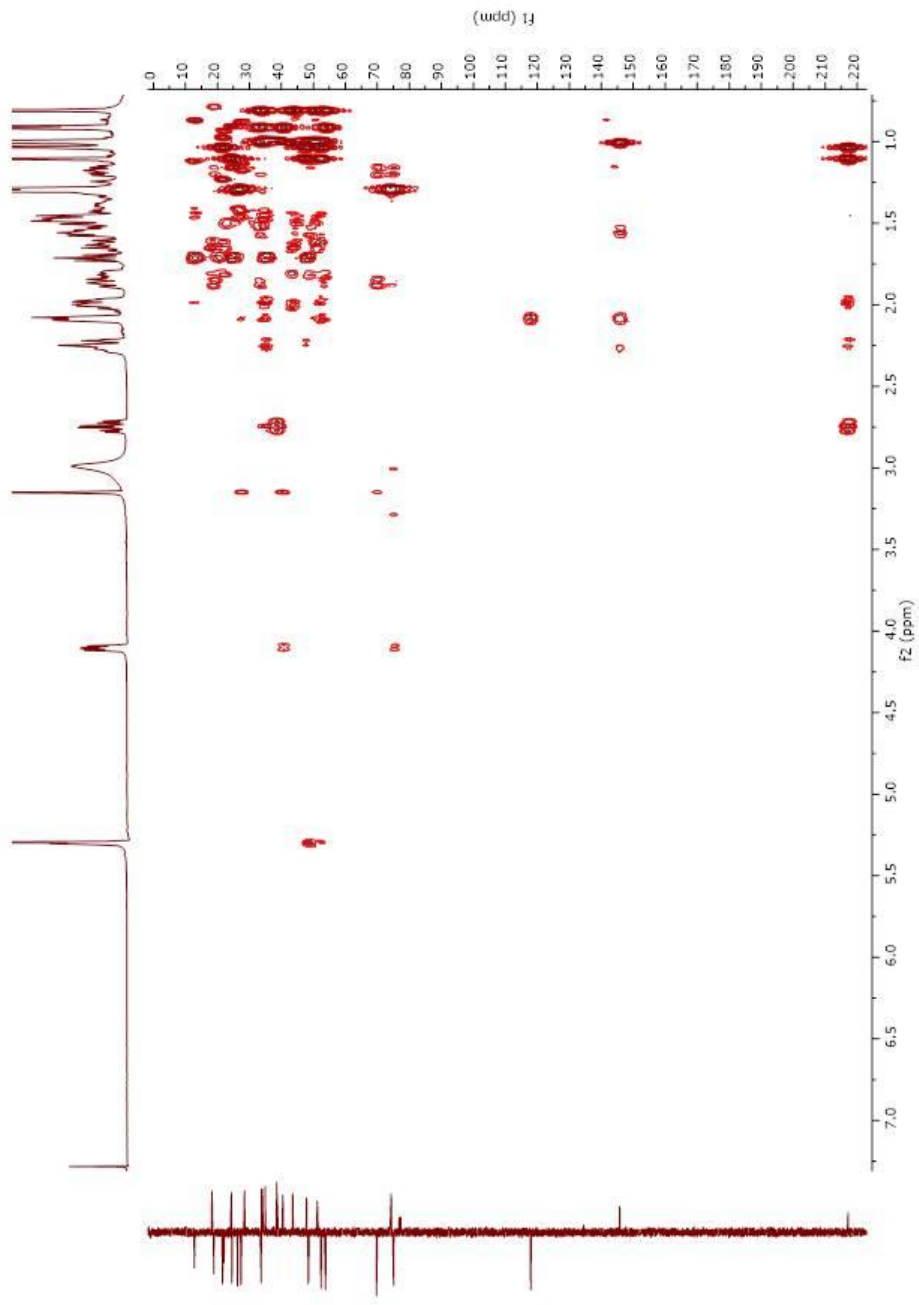


Figura 72. Espectro de correlação Heteronuclear de HMBC de VII.

## 7. RESUMO E CONCLUSÕES

O gênero *Trichilia*, pertencente à família Meliaceae, é amplamente estudada por possuir espécies promissoras quanto à atividade inseticida eficiente, apesar disso, não há relatos do estudo da atividade inseticida da espécie *Trichilia ramalhoi* e também há poucos estudos sobre sua composição química. Neste contexto, além de investigar a atividade inseticida, também a composição química foi estudada. Para o estudo da composição química, foi utilizado extrato metanólico/diclorometano das folhas da espécie *Trichilia ramalhoi*. A partir desse extrato foi realizado métodos cromatográficos clássicos para isolar substâncias e experimentos de RMN (1D e 2D) para identificar as estruturas das substâncias isoladas. Foram isoladas e identificadas 7 substâncias, entre elas, 6 triterpenos: Aliantusaltinina A em mistura com Tiraculano-7,22,24-trien-3-ona, Betulona, Felochina, Tetranioaldeído Bourjotilona C e Pisdinol A e 1 esteroide: Itesmol. Todas inéditas para a espécie, sendo que Tiraculano-7,22,24-trien-3-ona e Tetranioaldeído Bourjotilona C foram isoladas de forma natural pela primeira vez, e o triterpeno Felochina é inédito para a gênero *Trichilia*. Para o experimento de atividade inseticida, o inseto escolhido para realizar o teste foi a *Tuta absoluta*, pertencente ordem dos lepidopteros. É uma praga de grande importância para a agricultura, pois causa grandes prejuízos a culturas da família solanaceae, principalmente o tomate, sendo conhecida como nome popular de traça-do-tomateiro. Neste teste, larvas do segundo ínstar de *T. absoluta* foram tratadas com extrato metanólico de *T. ramalhoi* nas concentrações de 1%, 3% e 5%, e o

controle foi água, e todo o ciclo do inseto foi acompanhado, desde a fase do segundo ínstar das larvas à postura de ovos dos adultos. Foram avaliados parâmetros necessários para a elaboração da tabela de vida do inseto. Pode-se concluir a partir deste estudo, que a concentração mais alta do extrato de *T. ramalhoi* (5% m/v) afetou a biologia da *Tuta absoluta*, aumentando a mortalidade de imaturos (larvas+pupas), diminuindo a fertilidade diária e total do inseto e a viabilidade das pupas.



## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBROZIN. A. R. P. (2004) Estudo fitoquímico de plantas das famílias Rutaceae e Meliaceae visando o isolamento de substâncias protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos antichagásicos e antileishmanioses. Tese (Doutorado em Química) – São Carlos – SP, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, 241p.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Agrotóxicos em alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/ptbr/acessoainformacao/perguntasfrequentes/agrototoxicos/agrotoxicos-em-alimentos/agrotoxicos-em-alimentos>>. Acesso em: 2 de janeiro de 2021.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária -. *Sophora flavenses*. Resolução nº 165, 29 de agosto de 2003. Diário Oficial de 2 de dezembro de 2003. Antonio Barra Torres. (2003).

APRD – Arthropod Pesticide Resistance Database. Michigan State University. <<http://www.pesticideresistance.org>>. Acesso em: 5 de janeiro de 2021.

- BALDIN. E. L. L.; SCHLINK-SOUZA. E. C.; SOARES. M. C.; LOPES. N. P.; LOPES. J. L. C.; BOGORNI. P. C.; VENDRAMIM. J. D. (2020) Insecticidal and inhibitory effects of meliaceae and asteraceae extracts to silverleaf whitefly. *Horticultura Brasileira*. v. 38. n. 3. p. 280–287.
- BALLESTE. V. M.; MANTELLI. J. (2020) Presença de resíduos de agrotóxicos nos alimentos: um enfoque no pimentão e pepino. *Geografia em Atos (Online)*. v. 2. n. 17. p. 44–63.
- BREEN. G. J. W.; RITCHIE. E.; SIDWELL. W. T. L.; TAYLOR. W. C. (1966) The chemical constituents of Australian Flindersia species. XIX. Triterpenoids from the leaves of *F. bourjotiana* F. Muell. *Australian Journal of Chemistry*. v. 19. n. 3. p. 455-481.
- BRITO. R. F.; MIRANDA. E. H.; GÓMEZ. V. R. C. (2019) Biological Activity of *Trichilia americana* (Meliaceae) on *Copitarsia decolora* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Entomological Science*. v. 54. n. 2. p. 19-37.
- CARSON. R. (2010) Primavera silenciosa. São Paulo: Editora Gaia.
- COELHO. M. C. F.; FRANÇA. F. H. (1987) Biologia, quetotaxia e descrição da pupa e adulto da traça do tomateiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v. 22. n. 2. p. 129–135.
- CURCINO VIEIRA. I. J.; TERRA. W. S.; GONÇASVES. M. S.; BRAZ-FILHO. R. (2014) Secondary Metabolites of the Genus *Trichilia*: Contribution to the Chemistry of Meliaceae Family. *American Journal of Analytical Chemistry*. v. 05. n. 02. p. 91–121.
- CUNHA. U. S.; VENDRAMIN. J. D.; ROCHA. W. C.; VIEIRA. P. C. (2005) Potencial de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) como fonte de substâncias com atividade inseticida sobre a traça-do-tomateiro. *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology*.
- DEWICK. P. M. (2009) *Medicinal Natural Products*. 3. ed. : John Wiley and Sons.

- ESPADA. S. F.; GALHARDI. C. F. G.; RINCÃO. V. P.; BERNARDI. L. S. B.; LOPES. N.; LONGUINI. R.; MELLO. J. C. P.; LINHARES. R. E. C.; NOZAWA. C. (2015) Antiviral activity of *Trichilia catigua* bark extracts for herpesvirus and poliovirus. *Current pharmaceutical biotechnology*. v. 16. n. 8. p. 724-732.
- FELIPE. L. O.; BICAS. J. L. (2017) Terpenos. aromas e a química dos compostos naturais. *Química Nova na Escola*. v. 39. n. 2. p. 120-30.
- FORIM, M. R.; MATOS, A. P.; SILVA, M. F. G. F.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C.; BATISTA, J. B. (2010) Uso de CLAE no controle de qualidade em produtos comerciais de Nim: reprodutibilidade da ação inseticida. *Química Nova*, v. 33, n. 5, p. 1082–1087.
- GARCÍA-GÓMEZ. A.; FIGUEROA-BRITO. R.; GARCÍA. L. A. S.; JIMÉNEZ. P. A. (2018) *Trichilia* (Meliaceae) plants: an important source of biomolecules with insecticidal properties. *Florida Entomologist*. v. 101. n. 3. p. 470-480.
- GUEDES. R. N. C.; SMAGGHE. G.; STARK. J. D.; DESNEUX. N. (2016) Pesticide-Induced Stress in Arthropod Pests for Optimized Integrated Pest Management Programs. *Annual Review of Entomology*. v. 61. n. October. p. 43–62.
- GOMES. A. F. MOREIRA. B. O.; YATSUDA. R.; SOUZA. E. P.; DAVID. J. M.; ALVES. C. Q.; MACEDO. G. E. L.; CORREIA. S. J.; PAULA. V. F. (2020) Chemical constituents. antioxidant. anti-inflammatory and. antinociceptive activities of *Trichilia ramalhoi*. *Natural Product Research*. v. 0. n. 0. p. 1–5.
- GONÇALVES. M. S. (2016) Uso sustentável de pesticidas: análise comparativa entre a União Europeia e o Brasil. (Tese)
- ISMAN, M. B.; MATSUURA, H.; MACKINNON, S.; DURST, T.; TOWERS, G. H. N.; ARNASON, S. T. (1996) So Many Terpenoids , So Few Insecticides. p. 155–156,

- KOMANE. B. M.; OLIVIER. E. I.; VILJOEN. A. M. (2011) *Trichilia emetica* (Meliaceae) – review of traditional uses. biological activities and phytochemistry. *Phytochemistry Letters*. v. 4. n. 1. p. 1-9.
- KONATÉ. K.; YOMALAN. K. SYTAR. O.; BRESTIC. M. (2015) Antidiarrheal and antimicrobial profiles extracts of the leaves from *Trichilia emetica* Vahl.(Meliaceae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. v. 5. n. 3. p. 242-248.
- KUMAR. V.; NIYAZ. M.; WICKRAMARATNE. D. B. D.; BALASUBRAMANIAM. S. (1991) Tirucallane derivatives from *Paramignya monophylla* fruits. *Phytochemistry*. v. 30. n. 4. p. 1231–1233.
- LEITE. A. C.; AMBROZIN. A. R. P.; CASTILHO. M. S.; VIEIRA. P.C.; FERNANDES. J.B.; OLIVA. G.; SILVA. M. F. G. F.; THIEMANN.; LIMA. M. I. S.; PIRANI. J. R. (2009) Screening of *Trypanosoma cruzi* glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase enzyme inhibitors. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 19. n. 1A. p. 1-6.
- LIU. S. -B .; CHEN. H. -Q.; FENG. G.; GUO. Z. -K.; CAI. C. -H.; WANG. J.; MEI. W. -L.; DAI. H. -F. (2018) A new insecticidal havanensin-type limonoid from the roots of *Trichilia sinensis* Benth. *Natural product research*. v. 32. n. 23. p. 2797-2802.
- MATOS, A. P., NEBO, L., VIEIRA, P. C., FERNANDES, J. B., SILVA, M. F. G. F. (2010) Atividade de *Cedrela fissilis* e *Cipadessa fruticosa* (Meliaceae) sobre a lagarta-do-cartucho do milho *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae). *BioAssay*. v. 5.
- MCCHESENEY. J. D.; DOU. J.; SINDELAR. R. D.; GOINS. D. K.; WALKER. L. A.; ROGERS. R. D. (1997) Tirucallane-type triterpenoids: Nmr and X-ray diffraction analyses of 24-epi-piscidinol A and piscidinol A. *Journal of Chemical Crystallography*. v. 27. n. 5. p. 283–290.

- MUSZINSKI. T.; LAVENDOWSKI. I. M.; MASCHIO. L. D. A. (1982) Constatação de *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick. 1917)(= *G. norimoschema absoluta*)(Lepidoptera: Gelechiidae). como praga do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) no litoral do Paraná. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil. v. 11. n. 2. p. 291-292.
- MULHOLLAND. D. A.; TAYLOR. D. A. H. (1988) Protolimonoids from *Turraea nilotica*. *Phytochemistry*. v. 27. n. 4. p. 1220-1221.
- NEBO. L.; MATOS. A. P.; VIEIRA. P. C.; FERNANDES. J. B.; GRAÇAS. M. F.; SILVA. F. (2010) Atividade inseticida dos frutos de *Trichilia clausenii* (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda*. *Química Nova*. v. 33. n. 9. p. 1849-1852.
- NERI. D. K. P.; FREITAS. M. V. P.; GÓES. G. B. (2020) Vegetable Extracts in the Control of the White Fly in Watermelon. p. 1–14.
- NOGUEIRA. L.; MELVILE. C. C. (2020) Insetos e ácaros: resistência a pesticidas e estratégia de manejos. *Revista Agrotecnologia*. Ipanemiri. v. 11. n.1. 68–74.
- NUNOMURA. R. C. S.; PINTO. A. C.; NUNOMURA. S. M.; POHLIT. A. M.; AMARAL. A. C. F. (2012) Constituintes químicos dos galhos de *Simaba guianensis* subesp. ecaudata (Cronquist). *Química Nova*. v. 35. n. 11. p. 2153-2158.
- OLENNIKOV. D. N.. GORNOSTAI. T. G.. PENZINA. T. A.; BOROVSII. G. B. (2017) Lupane triterpenoids and sterols from *Inonotus rheades* mycelium and their anti-glucosidase activity. *Chemistry of Natural Compounds*. v. 53. n. 5. p. 988-990.
- OPAWALE. B.; OYETAYO. A.; AGBAJE. R. (2015) Phytochemical screening. antifungal and cytotoxic activities of *Trichilia heudelotii* Planc (Harm). *International Journal of Sciences: Basic and Applied Research (IJSBAR)*. v. 24. n. 6. p. 267-276.

- PASSOS. M. S.; JUNIOR. A. R. C.; BOENO. S. I.; VIRGENS. L. L. G.; CALIXTO. S. D.; VENTURA. T. L. B.; LASSOUNSKAIS. E.; BRAZ-FILHO. R.; VIEIRA. I. C. V. (2019) Terpenoids isolated from *Azadirachta indica* roots and biological activities. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 29. n. 1. p. 40–45.
- PENNINGTON, T. D.; STYLES, B. T. (1975) A generic monograph of the Meliaceae. *Blumea*, v. 22, n. 3, p. 419-540.
- PENNINGTON, T. D. (1981) Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Meliaceae – *Floresta Neotropical*, 28, 1-470.
- PENNINGTON, T. D.; CLARKSON, J. J. (2016) A revision of American *Trichilia* (Meliaceae). *Phytotaxa*, v. 259, n. 1, p. 1-2.
- PENNINGTON, T. D. (2016) Systematic treatment of American *Trichilia* (Meliaceae). *Phytotaxa*, v. 259, n. 1, p. 18-162.
- PROMIP - Manejo integrado de pragas. Disponível em: <<https://www.promip.agr.br/manejo-integrado-da-traca-do-tomateiro/>>. Acesso em: 15 de janeiro de 2021.
- SAITO. M. L.; LUCHINNI. F. (1998) Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA.46 p.
- SOUZA. M. P.; NOGUEIRA. S. R. T.; AZEVEDO. O . A.; VIEIRA. M. G. C.; TERRA. W. S.; BRAZ-FILHO. R.; VIEIRA. I. J. C. Limonoids from the genus *Trichilia* and biological activities : review. [s.l: s.n.]. v. 0123456789
- SIDDIQUI. B. S.; AFSHAN. F.; GULZAR. T.; SULTANA. R.; NAQVI. S. N. –H.; TARIQ. R. M. (2003) Tetracyclic triterpenoids from the leaves of *Azadirachta indica* and their insecticidal activities. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. v. 51. n. 4. p. 415-417.

- SIMMONDS. M. S. J.; STEVENSON. P. C.; PORTER. E. A.; VEITCH. N. C. (2001) Insect Antifeedant Activity of Three New Tetranortriterpenoids from *Trichilia pallida*. *Journal of Natural Products*. v. 64. n. 8. p. 1117-1120.
- SU. R.; KIM. KAWAGUCHI. H.; YAMAMOTO. T.; GOTO. K.; TAGA. T.; MIWA. Y.; KOZUKA. M.; TAKAHASHI. S. (1990) Triterpenoids from the Fruits of *Phellodendron chinense* SCHNEID.: The Stereostructure of Niloticin. *Chemical and pharmaceutical bulletin*. v. 38. n. 6. p. 1616-1619.
- TAN. Q-G.; LUO. X. -D. (2011) Meliaceous limonoids: chemistry and biological activities. *Chemical Reviews*. v. 111. n. 11. p. 7437-7522.
- VENDRAMIM. J. D. (1997) Plantas inseticidas. In: congresso brasileiro de entomologia. 16. Salvador. BA. Resumos. Salvador.: p.10.
- VENDRAMIM. J. D.; CASTIGLIONI. E. (2000) Aleloquímicos. resistência e plantas inseticidas. Bases e técnicas do manejo de insetos. Santa Maria: UFSM. p. 113-128.
- VIEIRA. M. G. C. (2015) Constituintes químicos de *Trichilia hirta* (MELIACEAE). 2015. Universidade Estadual do Norte Fluminense.
- VIEIRA. M. G. C.; FILHO. R. B.; CURCINO VIEIRA. I. J. (2019) Curcinomarcoide. a Novel Limonoid From *Trichilia hirta* (Meliaceae)—Complete <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C Chemical Shift Assignments. *Natural Product Communications*. v. 14. n. 5. p. 1934578X19843611.
- VIEIRA. I. J. C.; TERRA. W. S.; GONÇALVES. M. S.; FILHO. B. F. (2014) Secondary metabolites of the genus *Trichilia*: contribution to the chemistry of Meliaceae family. *American Journal of Analytical Chemistry*. v. 5. n. 02. p. 91.

- VIEIRA. I. J. C.; FIGUEIREDO. E. R.; FREITAS. V. R.; MATHIAS. L.; BRAZ-FILHO. R.; ARAÚJO. R. M. (2010) A New Sesquiterpene from *Trichilia casarettii* (Meliaceae). *American Journal of Analytical Chemistry*. v. 01. n. 02. p. 70–72.
- VIEIRA. I. J. C.; FIGUEIREDO. E. R.; VIEIRA. M. G. C.; JUNIOR. A. R. C.; PASSOS. M. S.; BOENO. S. I. S.; AZEVEDO. O. A.; BRAZ-FILHO. R. (2018) Two novel cycloartane-type triterpenes from *trichilia casaretti* C. DC. (Meliaceae). *Molecules*. v. 23. n. 4. p. 1–7.
- VIEIRA. I. J. C.; AZEVEDO. O. A.; SOUZAS. J. J.; BRAZ-FILHO. R.; GONÇALVES. M. S.; ARAÚJO. M. F. (2013) Hirtinone a novel cycloartane-type triterpene and other compounds from *Trichilia hirta* L. (Meliaceae). *Molecules*. v. 18. n. 3. p. 2589–2597.
- VIEIRA. M. G. C.; SANTOS. F. R.; BRAZ-FILHO. R.; VIEIRA. I. J. C. (2016) Chemical constituents of *Trichilia hirta* (Meliaceae). *Natural Product Communications*. v. 11. n. 5. p. 593–596.
- TERRA. W. D. S.; VIEIRA. I. J. C.; BRAZ-FILHO. R.; FREITAS. W. R.; TORRES. M. C. M. (2013) Lepidotrichilins A and B. new protolimonoids with cytotoxic activity from *Trichilia lepidota* (meliaceae). *Molecules*. v. 18. n. 10. p. 12180–12191.
- WHEELER. D. A.; ISMAN. M. B.; SANCHEZ-VINDAS. P. E.; ARNASON. J. T. (2001) Screening of Costa Rican *Trichilia* species for biological activity against the larvae of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Biochemical Systematics and Ecology*. v. 29. n. 4. p. 347–358.
- RODITAKIS. E.; VASAKIS. E.; GRISPOU. M.; STRAVRAKAKI. M.; NAUEN. R.; GRAVOUIL. M.; BASSI. A. (2015) First report of *Tuta absoluta* resistance to diamide insecticides. *Journal of Pest Science*.



RODRIGUES. V. F.; CARMO. H. M.; OLIVEIRA. R. R.; BRAZ-FILHO. R.; MATHIAS. L.; VIEIRA. I. J. C. (2009) Isolation of terpenoids from *Trichilia quadrijuga* (Meliaceae) by droplet counter-current chromatography. *Chromatographia*. v. 70. n. 7–8. p. 1191–1195.

ZANNO. P. R.; NAKANISHI. K. (1973) The structure of itesmol and its C-24 congener. *Steroids*. v. 22. n. 6. p. 829-833.

## APÊNDICE

ATIVIDADE INSETICIDA E COMPONENTES QUÍMICOS DA ESPÉCIE *Trichilia ramalhoi* Rizzini (Meliaceae)<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> Parte da dissertação de mestrado que será submetida em formato de artigo na Revista Neotropical Entomology.

## RESUMO

A *Trichilia ramalhoi* Rizzini pertencente à família Meliaceae e possui poucos relatos sobre sua característica fitoquímica, porém ainda não havia sido testada quanto à atividade inseticida, o que torna seu estudo importante, já que plantas da mesma família e mesmo gênero têm mostrado resultados promissores quando testada a atividade inseticida. A partir da partição diclorometano do extrato metanólico das folhas de *T. ramalhoi* foi realizada métodos cromatográficos clássicos e técnicas espectroscópicas e espectométricas para isolamento e identificação estrutural das substâncias. O estudo fitoquímico levou a identificação e caracterização de 7 substâncias: Betulona (**I**), Itesmol (**II**), Felochina (**III**), Alitusaltinina A (**IV**) em mistura com Tirucalano – 7,22,24 – trien – 3 – ona (**V**), Tetranoiraldeído Bourjotilona C (**VI**) e Piscidinol A (**VII**). Sendo as substâncias **V** e **VI** isoladas pela primeira vez de forma natural e substância **III** inédita para o gênero *Trichilia*. A atividade inseticida foi realizada a partir do extrato bruto metanólico das folhas de *T. ramalhoi*. O experimento demonstrou que o uso da concentração mais alta do extrato de *T. ramalhoi* (5% m/v) afetou a biologia da *Tuta absoluta*, aumentando a mortalidade de imaturos (larvas + pupas), diminuindo a fertilidade diária e total do inseto e a viabilidade das pupas.

Palavras-chaves: Meliaceae, *Tuta absoluta*, *Trichilia*

## 1. INTRODUÇÃO

A busca por moléculas que apresente atividade inseticida tem sido cada vez maior devido ao crescente número de insetos que se tornaram resistentes aos produtos já utilizados (Roditsaki et al., 2015), a ocorrência de morte de insetos inimigos naturais (Marques et al., 2020), contaminação de alimentos (Nogueira et al., 2020). Além disso, o avanço na área de síntese química proporcionou que moléculas complexas provenientes do metabolismo secundário das plantas fossem modificadas em escala industrial (Fumagali et al., 2008).

Pesquisas que estudam o metabolismo secundário de plantas e visam isolar e identificar novas moléculas que possuam atividade inseticida tem por objetivo que essas moléculas sejam modelo para a síntese de novos compostos inseticidas ou para obter inseticidas vegetais para uso *in natura* (Vendramim e Castiglioni, 2000).

A ascensão do pesticida dicloro-difenil-tricloroetano, mais conhecido pela sigla DDT e de outros inseticidas sintéticos nos anos 40 diminuiu o interesse da comunidade científica em investigar os inseticidas botânicos. No entanto, o uso inadequado e indiscriminado dos inseticidas sintéticos teve como consequência o advento de doenças graves em humanos, bem como a devastação do meio ambiente. Diante desse cenário, pesquisas vêm sendo desenvolvidas a fim de encontrar novas alternativas para o controle de pragas que não sejam prejudiciais ao meio ambiente e ao ser humano (Yo, 2008). O aumento na frequência de insetos resistentes também tem despertado o interesse de vários pesquisadores com relação aos extratos vegetais (Vendramim, 1997).

A traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), tem causado prejuízos às lavouras de tomate ao redor do mundo. Esse inseto-praga é nativo da América do Sul, sendo encontrado comumente em lavouras de tomate no Brasil, Chile, Argentina, Peru, Paraguai, Uruguai, Bolívia e Colômbia (Filho et al., 2013). Atualmente, a *T. absoluta* também pode ser encontrada em países da Europa, Norte da África, África Subsaariana, e na Índia (Desneux et al., 2010 e 2011; Sridhar et al., 2014; Biondi et al., 2018; Guedes et al., 2019; Silva et al., 2021). O efeito destrutivo desses insetos se deve à formação de minas nas folhas e galerias nos caules, frutos e flores, que podem causar perdas de até 100% nas lavouras de tomate, caso não seja corretamente manejado (Picanço et al., 2007).

Segundo um levantamento feito pela Arthropod Pesticide Resistance Database (2020), a traça-do-tomateiro apresentou resistência a 16 ingredientes ativos pelo mundo,

sendo eles pertencentes aos grupos: Piretroides, benzoilureias, oxadiazinas, diamidas, carbamatos e espinosinas

Nesse contexto, a família Meliaceae evidencia-se por agrupar espécies com eficiente ação inseticida. Por volta dos anos 80 a espécie *Azadirachta indica* A. Juss se destacou por apresentar resultados promissores contra diversas pragas, o que foi importante para a retomada dos estudos de inseticidas botânicos e busca por novas moléculas (Suarez, 2015). A partir daí, a atividade inseticida vem sendo amplamente estudada em muitos trabalhos (Baldin et al., 2020, Lucie et al., 2016, Garcia Gomez et al., 2018).

O gênero *Trichilia* pertencente à família Meliaceae reúne uma grande quantidade de plantas com porte arbóreo ou arbustivo que vêm se destacando por apresentarem resultados eficientes contra as pragas. Podem ser encontradas nos neotrópicos, do norte do México até o norte da Argentina. Possui 81 espécies catalogadas até então na América Tropical e está presente em 23 estados brasileiros (Pennington, 2016).

Segundo Vieira et al. (2014), através de uma revisão do perfil fitoquímico de plantas do gênero *Trichilia* pode-se concluir que dos 334 compostos isolados até 2014, 87,7% pertencem à classe dos terpenos. Estudos recentes têm mostrado trabalhos relevantes envolvendo plantas do gênero *Trichilia* que possuem alta atividade inseticida (Liu et al., 2018) sendo de grande importância para a agricultura moderna.

A atividade biológica e o estudo fitoquímico da espécie *Trichilia ramalhoi* têm sido pouco explorados não havendo outros relatos de atividade inseticida, portanto, sendo importante a ampliação dos estudos desta espécie já que quando estudada obteve resultados promissores. Visto os bons resultados da atividade inseticida do gênero *Trichilia*, se faz importante a investigação desta atividade na *Trichilia ramalhoi*.

## 2.MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Procedimentos gerais experimentais

Para os experimentos de isolamento e purificação de substâncias, foi utilizado o método de coluna clássica (CC) realizada em sílica gel 60 (0,063-0,200 mm, Merck). A cromatografia preparativa em camada fina (PTLC) foi realizada em sílica gel 60 PF254 contendo gesso (Merck). Metanol (CH<sub>3</sub>OH - 99,8%), diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> - 99,5%), n-hexano (98,5%), acetona (99,5%) e acetato de etila (EtOAc - 99,5%) foram usados como solventes de fase móvel, adquiridos da Synth (São Paulo, Brasil). Os experimentos de 1D e 2D RMN foram realizados usando um espectrômetro de 500 MHz Bruker Ascend 500, operando a 500 MHz para <sup>1</sup>H RMN e 125 MHz para <sup>13</sup>C RMN. Foi usado solvente deuterado, clorofórmio (CDCl<sub>3</sub>) contendo TMS (tetrametilsilano) como padrão interno.

### 2.2. Material Vegetal

Folhas e ramos da espécie *Trichilia ramalhoi* foi coletada na Reserva Natural Vale, localizada na cidade de Linhares (latitude: 19°23'28" sul e longitude: 40°04'20" oeste) situada no norte do estado do Espírito Santo, armazenadas em sacolas plásticas e levadas para o laboratório de química dos produtos naturais da Universidade Estadual Norte Fluminense Darcy Ribeiro para confecção dos extratos.

### 2.3. Extração e Isolamento

Posterior à coleta, as folhas de *T. ramalhoi* foram secas em temperatura ambiente durante 10 dias, até que o peso permanecesse constante, em seguida as folhas foram moídas em moinho de martelo (Tigre). O extrato bruto das folhas secas e moídas foi macerado em um erlenmeyer de 5 litros utilizando o solvente metanol (LabSynth) (TR, 167, 0960 g) e particionado com solventes orgânicos imiscíveis em ordem crescente de polaridade (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, ACOEt e ButOH).

A partição diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) foi selecionada para dar continuidade aos experimentos. Essa partição foi submetida ao processo de cromatografia em coluna (CC), com gradiente polar n-hexano: EtOAc, obtendo-se 7 frações (TR1 – TR7). A fração TR4 (9,5319 g) foi recomatografada com gradiente polar n-hexano: EtOAc, obtendo-se 11 frações (TR4.1 – TR4.11).

A fração TR4.6 foi recromatografada utilizando-se o mesmo gradiente polar anterior obtendo-se 14 frações (TR4.6.1 – TR4.6.14). O mesmo processo foi realizado para a fração TR4.6.10 o qual foi fracionado em 11 partes (TR4.6.10.1 – TR4.6.10.11) e a partir da fração TR4.6.10.7 (18,9 mg) foi submetida a uma cromatografia em camada delgada preparativa e obteve-se a substância Betulona (I). A fração TR4.6.13 foi submetida a cromatografia em coluna CC) obtendo-se 7 frações (TR4.6.13.1 – TR4.6.13.7) e a partir da fração TR4.6.13.6 (14,1 mg) obteve-se a substância Itesmól (II). Destas 7 frações obtidas, a fração TR4.6.13.2 foi submetida ao processo de cromatografia em coluna, obtendo-se 13 frações (TR4.6.13.2.10.1 – TR4.6.13.2.10.13) e a partir da fração TR4.6.13.2.10 (22,22 mg) obteve-se a substância Felochina (III). Todos utilizaram gradiente polar n-hexano: EtOAc. A fração TR3 (9,40 g) foi submetida ao processo de cromatografia em coluna com gradiente polar n-hexano: EtOAc, obtendo-se 12 frações (TR3.1 – TR3.12).

A fração TR3.5 foi recomatografada com gradiente polar n-hexano: EtOAc, obtendo-se 10 frações (TR3.5.1 – TR3.5.10). Posteriormente a fração TR3.5.6 foi submetida ao mesmo processo de separação e mesmo gradiente polar obtendo-se 7 frações (TR3.5.6.1 – TR3.5.6.7) e obteve-se a partir da fração TR3.5.6.5 (64,6 mg) a substância Aliantusalatina A em mistura (IV) com Tirucalano – 7,22,24 – trien – 3 – ona (V). A fração TR6 foi submetida ao processo de cromatografia em coluna com gradiente polar CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH e foram obtidas 11 frações (TR6.1 – TR6.11). A fração TR6.3 foi recomatografada com gradiente polar n-hexano: EtOAc obtendo-se 8 frações (TR6.3.1 – TR6.3.8) e a partir da fração TR6.3.2 (5 mg) obteve-se a substância Tetranoraldeído Bourjotilona C (VI). A fração TR6.3.8 foi submetida ao mesmo processo de separação utilizando o mesmo gradiente polar e obteve-se 2 frações (TR6.3.8.1 – TR6.3.8.2). A fração TR6.3.8.1 foi recomatografada com gradiente polar n-hexano: EtOAc, obtendo-se 3 frações (TR6.3.8.1.1 – TR6.3.8.1.3). A fração TR6.3.8.1.3 foi recomatografada com gradiente polar n-hexano: EtOAc obtendo-se 6 frações (TR6.3.8.1.3.1 – TR6.3.8.1.3.7). A partir da fração TR6.3.8.1.3.2 (40,2 mg) obteve-se a substância Piscidinol A (VII).

#### **2.4. Atividade Inseticida**

A verificação da atividade inseticida do extrato alcoólico de *T. ramalhoi* foi realizada no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do Setor de Entomologia e Fitopatologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Nessa etapa foi utilizado larvas de segundo ínstar da traça-do-tomateiro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Os tratamentos utilizados foram: extrato metanólico

de *T. ramalhoi* diluídos em água, nas concentrações de 1, 3 e 5% + 0,01% de espalhante adesivo (Adesil®, Nufarm do Brasil Ltda), o tratamento controle consistiu de água + 0,01% de espalhante adesivo. Todos os tratamentos foram constituídos de 4 repetições totalizando 16 unidades experimentais.

## 2.5. Atividade inseticida dos extratos de *T. ramalhoi*

Este experimento foi realizado para a construção de tabelas de vida biológica para a *T. absoluta*. A construção da tabela de vida seguiu a metodologia adaptada de Silva et al., (2021). No laboratório sob condições controladas ( $25^{\circ}\text{C}\pm 1,0$ ; 12E:12D; 75%UR) folhas de tomate (variedade Santa Clara, isentas de inseticidas) recém colhidas foram acondicionadas em potes (200 ml) contendo água e tratadas com os extratos metanólicos (nas concentrações 1, 3 e 5%), e secas à sombra por 2 horas, em seguida foram acomodadas no interior de gaiolas confeccionadas com garrafas Pet de 2 litros. Vinte larvas de segundo ínstar de *T. absoluta* foram transferidas, com auxílio de um pincel, para as folhas de tomate. Cada garrafa possuía uma abertura (10x15 cm), após a acomodação da folha no interior da garrafa a abertura foi fechada com tecido tipo organza.

A mortalidade das larvas foi acompanhada diariamente até a transformação das larvas em pupas. As pupas foram sexadas, pesadas, e acomodadas em Eppendorf (3 ml) e tiveram seu desenvolvimento acompanhado até a fase adulta.

Os adultos que emergiram das pupas foram avaliados novamente para confirmação do sexo, a confirmação do sexo ocorreu pela observação da diferença anatômica entre os abdomens de machos e fêmeas. À medida que os adultos emergiam, um macho e uma fêmea da mesma idade, totalizando 10 casais/tratamento, foram transferidos para uma gaiola de oviposição confeccionada com gaiola Pet (conforme acima). Em cada gaiola um folíolo de tomate foi oferecido para oviposição. O número de ovos postos pelas fêmeas foi registrado diariamente e os folíolos substituídos na época. Os adultos foram alimentados com solução de mel (10%).

## 2.6. Análise estatística

Os dados de mortalidade larval, inviabilidade de pupas foram submetidos à análise de variância (One-way ANOVA), e as médias foram comparadas pelo teste Tuckey ( $P < 0,05$ ), o programa utilizado foi SigmaPlot versão 12.1 (Systat SoftWare®). A tabela biológica de fertilidade da traça-do-tomateiro foi construída com base em Southwood &



Hendersen (2000) e Silva et al., (2021). Os parâmetros da tabela de vida foram calculados de acordo com as fórmulas:

Taxa reprodutiva líquida ( $R_0$ ):  $R_0 = \sum l_x m_x$

Taxa intrínseca de crescimento natural ( $rm$ );  $rm = \ln(R_0)/T$

Taxa finita de aumento ( $\lambda$ , indivíduos / fêmea / dia);  $\lambda = e^{rm}$

Tempo médio de geração ( $T$ );  $T = (\sum l_x m_x x) / R_0$ ,

Tempo de duplicação de geração ( $Dt$ , dia).

Onde  $x$  é a idade dos adultos em dia,  $l_x$  é a sobrevivência dos insetos até a idade  $x$ , e  $m_x$  é o número de ovos produzidos na idade  $x$ . Os parâmetros da tabela de vida foram estimados usando o procedimento Jack-Knife e analisados usando uma One-way ANOVA e as diferenças entre os parâmetros foram comparadas usando o teste  $t$  de Student (SAS Institute 2000) de acordo com procedimento estatístico desenvolvido por Maia et al., (2000). Os dados de mortalidade e tabela de vida se ajustaram à homogeneidade de variância e normalidade dos erros, portanto não foi necessário transformar os dados.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Elucidação de Substâncias

Ao todo foram isolados seis triterpenos do extrato metanólico de folhas de *Trichilia ramalhoi* a partir da partição diclometano, sendo eles: Betulona (I), Itesmol (II), Felochina (III), Aliantusaltinina A (IV) em mistura com Tirucalano – 7,22,24 – trien – 3 – ona (V), Tetranoiraldeído bourjotilona C (VI), Piscidinol A (VII) e o esteroide Itesmol (II) (Figura 1 e Anexo I), na identificação desses compostos utilizou-se dados espectrais de RMN (1D e 2D) e comparados com os dados descritos na literatura.

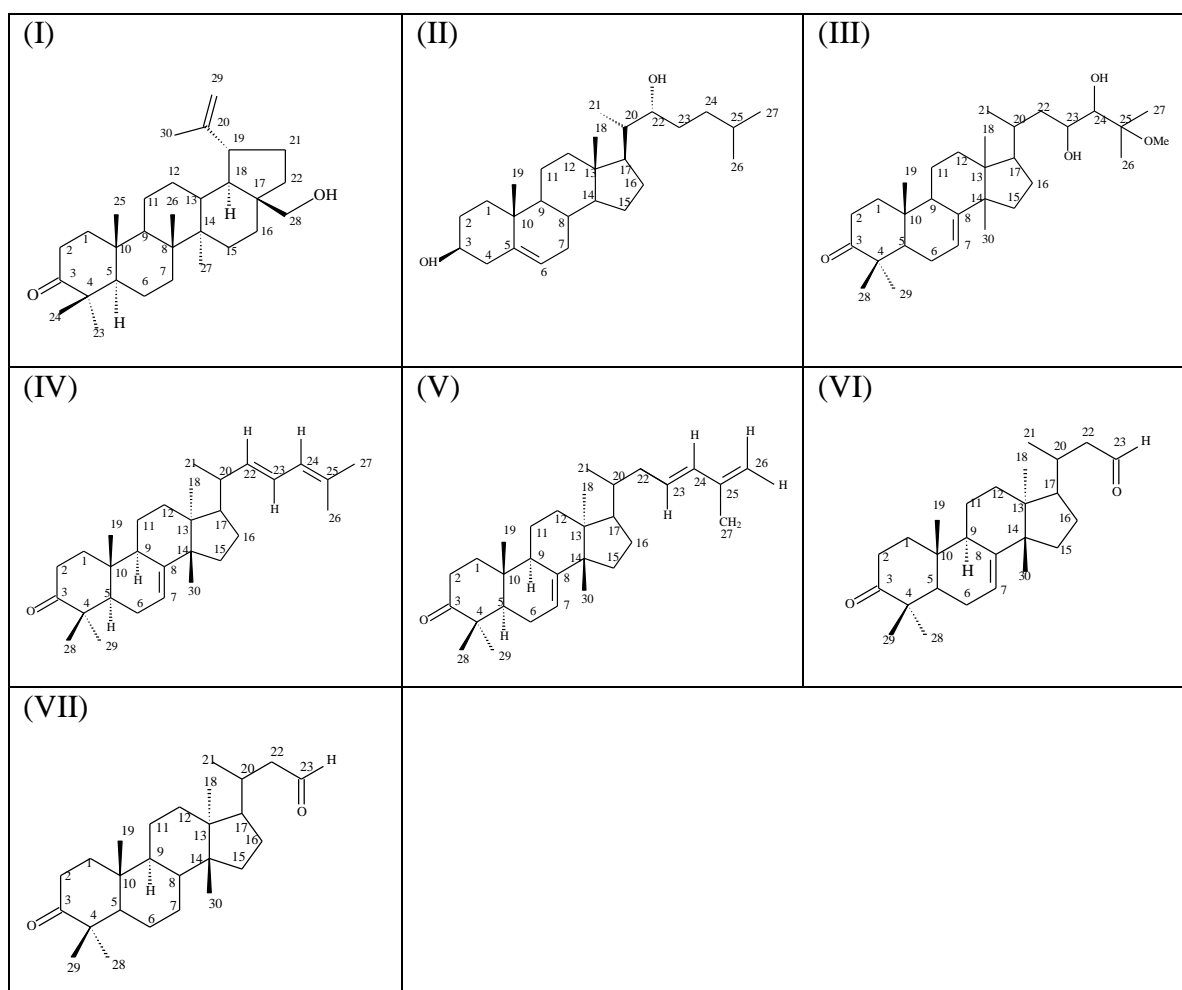


Figura 1. Compostos isolados de extrato metanólico de folhas de *Trichilia ramalhoi* a partir da partição diclometano; seis triterpenos [I-Betulona, III-Felochina, IV-Aliantusaltinina A em mistura com Tirucalano – 7,22,24 – trien – 3 – ona (V), VI-tetranoiraldeído bourjotilona C, VII-Piscidinol A] e um esteroide [II-Itesmol].

Os triterpenos III, IV, V, VI e VII são do tipo tirucalano e o triterpeno I do tipo pentacíclico e a substância II é um esteroide.

Todos os compostos isolados são conhecidos e foram identificados por comparação de seus dados espectroscópicos com a literatura: I (Ollenikov et al., 2017), I (Zanno et al., 1973), III (Zhang et al., 2019), IV e V (Zhou et al., 2011), VI (Mcchesney et al., 1997) e VII (Nunomora et al., 2012).

### 3.2. Ação inseticida

A sobrevivência das de *T. absoluta* foi significativamente afetada pelas diferentes concentrações do extrato de *T. ramalhoi* ( $F_{(3,12)} = 32,42$ ;  $P < 0,001$ ). As maiores mortalidades ocorreram nas concentrações 3 ( $65,0 \pm 2,04$ ) e 5% ( $57,5 \pm 2,50$ ) e a menor mortalidade ocorreu na concentração 1% ( $33,75 \pm 6,25$ ), sendo que essa não diferenciou do tratamento controle ( $20,0 \pm 2,04$ ) (Figura 2).

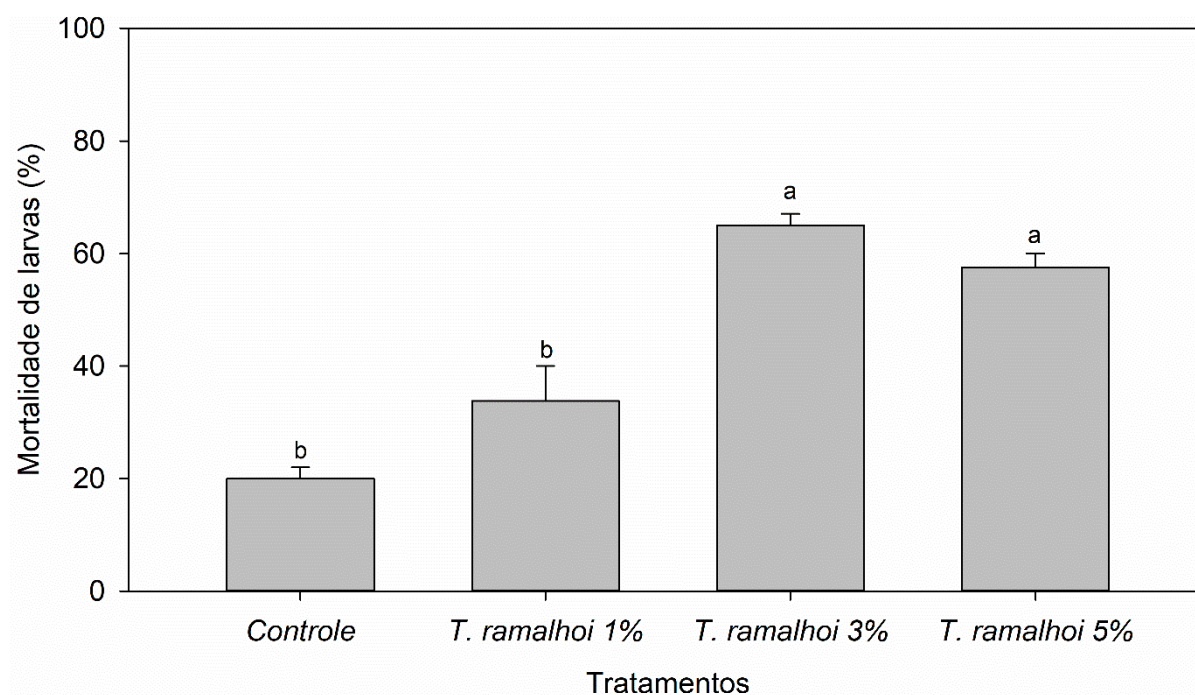


Figura 2. Mortalidade (média  $\pm$  EP) de larvas de *T. absoluta* submetidas a extratos de *T. ramalhoi* nas concentrações de 1, 3 e 5%. Médias seguidas por mesma letra são iguais entre si pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ).

A viabilidade de pupas foi afetada pelos extratos de *T. ramalhoi* ( $F_{(3,12)}= 3,60$ ;  $P=0,046$ ), a menor viabilidade ocorreu na concentração de 5% ( $74,37\pm 9,15$ ), já as concentrações de 1 ( $93,25\pm 4,17$ ) e 3% ( $96,42\pm 3,57$ ) não diferiram do tratamento controle ( $97,00\pm 3,00$ ) (Figura 3). A mortalidade total de imaturos de *T. absoluta* foi significativamente ( $F_{(3,12)}= 21,41$ ;  $P<0,001$ ) afetada pelas concentrações dos extratos de *T. ramalhoi*, a mortalidade variou de 37,50-68,75. A mortalidade aumentou em função das concentrações dos extratos, porém a mortalidade ocorrida na concentração 1% não diferiu do tratamento controle. Assim, a cada 100 lavas de *T. absoluta* que foi exposta aos extratos na concentração 3 e 5%, apenas 31,20 e 33,75 chegam a se transformarem em adultos, enquanto no tratamento controle esse percentual foi de 77,50% (Figura 4).

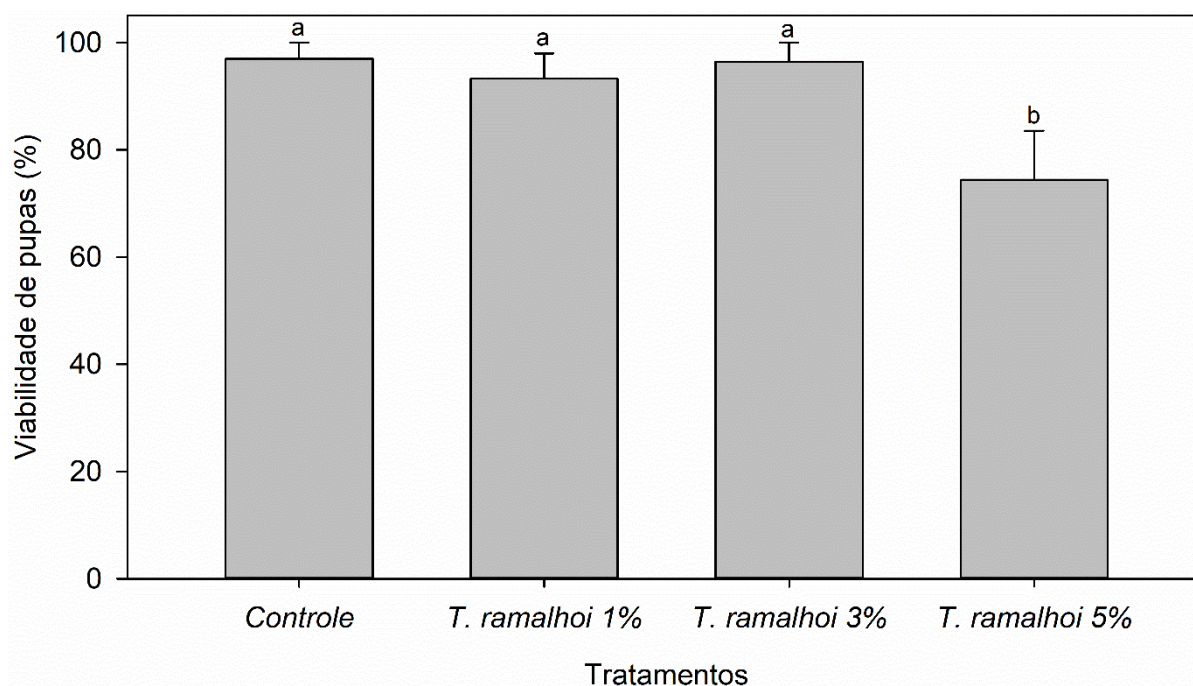


Figura 3. Viabilidade (média  $\pm$  EP) de pupas de *T. absoluta* originadas de larvas submetidas a extratos de *T. ramalhoi* nas concentrações de 1, 3 e 5%. Médias seguidas por mesma letra são iguais entre si pelo teste Tukey ( $P<0,05$ ).

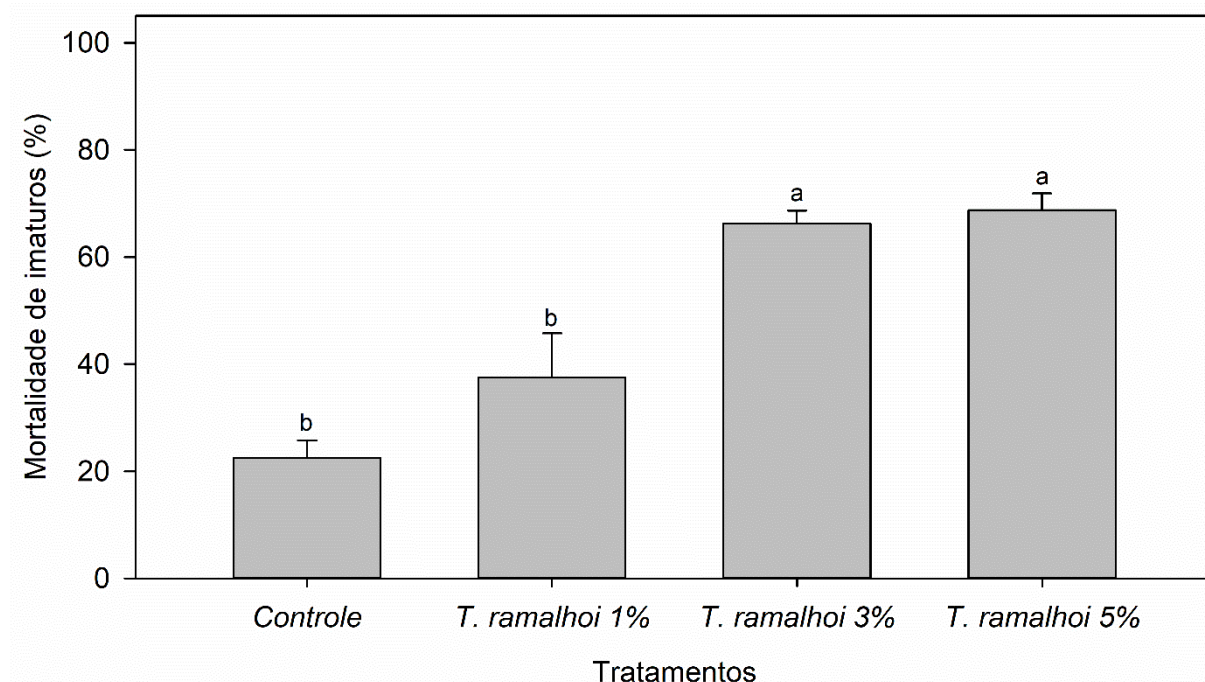


Figura 4. Mortalidade (média  $\pm$  EP) de imaturos (larva + pupa) de *T. absoluta* submetidas a extratos de *T. ramalhoi* nas concentrações de 1, 3 e 5%. Médias seguidas por mesma letra são iguais entre si pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ).

Os fatores de desenvolvimento de *T. absoluta* como período larval ( $F_{(3,136)} = 0,728$ ;  $P = 0,537$ ) e pupal ( $F_{(3,25)} = 1,31$ ;  $P = 0,294$ ), tempo de desenvolvimento de imaturos ( $F_{(3,136)} = 1,59$ ;  $P = 0,194$ ) e longevidade das fêmeas ( $F_{(3,136)} = 1,38$ ;  $P = 0,250$ ) não foram significativamente afetados pelas extratos de *T. ramalhoi* nas concentrações de 1, 3 e 5% (Tabela 1). O período larval foi uniforme, variou de 8,17-8,48 dias, o mesmo ocorreu com o período pupal (6,14-6,58 dias) e com o tempo de desenvolvimento de imaturos (14,40-15,00 dias), já a longevidade das fêmeas foi desuniforme com a menor longevidade para fêmeas expostas a *T. ramalhoi* na concentração de 1% (10,60 dias) e a maior longevidade na concentração de 5% (21,78 dias) (Tabela 1).

Tabela 1. Médias do período larval e pupal, tempo de desenvolvimento de imaturo e longevidade de fêmeas de *T. absoluta* expostas a extratos metanólico de *T. ramalhoi*

Tratamentos	Período larval (dias)	Período pupal (dias)	Tempo de desenvolvimento de imaturo (dias)	Longevidade de fêmeas (dias)
<i>Controle</i>	8,31±0,17	6,14±0,15	14,45±0,23	15,83±2,71
<i>T. ramalhoi</i> 1%	8,17±0,13	6,24±0,21	14,40±0,23	10,60±1,72
<i>T. ramalhoi</i> 3%	8,48±0,17	6,20±0,20	14,68±0,26	17,11±13,98
<i>T. ramalhoi</i> 5%	8,42±0,14	6,58±0,13	15,00±0,18	21,78±3,37

O peso das pupas ( $F_{(3,133)} = 1,90$ ;  $P = 0,132$ ) e o período de oviposição das fêmeas ( $F_{(3,25)} = 0,825$ ;  $P = 0,492$ ) de *T. absoluta* não foram afetadas pelos os extratos de *T. ramalhoi*. O peso das pupas variou de 2,86 a 3,25 mg, já o período de oviposição variou de 7,56 a 11,33 dias. No entanto, a fecundidade diária ( $F_{(3,25)} = 4,88$ ;  $P = 0,008$ ) e fecundidade total ( $F_{(3,25)} = 5,24$ ;  $P = 0,006$ ) foram afetadas pelos extratos de *T. ramalhoi*, a menor fecundidade diária e total ocorreu em adultos originados de larvas que desenvolveram em folhas tratadas por extratos nas concentrações 3 e 5%, já na concentração 1% as fecundidades não diferiram do tratamento controle (Tabela 2).

Tabela 2. Médias ( $\pm$ EP) do peso de pupas, período de oviposição e fecundidade de *T. absoluta* expostas a extratos alcoólicos de *T. ramalhoi*

Tratamentos	Peso de pupa (mg)	Período de oviposição (dias)	Fecundidade	
			Diária	Total
<i>Controle</i>	3,13 $\pm$ 0,09	10,39 $\pm$ 2,15	9,03 $\pm$ 2,96a	93,82 $\pm$ 13,60a
<i>T. ramalhoi</i> 1%	3,11 $\pm$ 0,08	8,80 $\pm$ 1,46	8,03 $\pm$ 2,12a	70,66 $\pm$ 14,69a
<i>T. ramalhoi</i> 3%	3,25 $\pm$ 0,16	7,56 $\pm$ 1,88	3,50 $\pm$ 0,92b	26,46 $\pm$ 12,58b
<i>T. ramalhoi</i> 5%	2,86 $\pm$ 0,10	11,33 $\pm$ 2,20	3,22 $\pm$ 0,82b	36,48 $\pm$ 11,55b

Médias seguidas por mesma letra são iguais entre si pelo teste Tukey ( $P < 0,05$ ).

Os menores valores da taxa reprodutiva líquida ( $R_0$ ) e da intrínseca de crescimento natural ( $r_m$ ) ocorreram em insetos expostos aos extratos nas concentrações 3% e 5%, de forma que houve uma redução nos valores de  $R_0$  na ordem de 7,17 e 6,13 e redução de 2,0 e 2,28 nos valores de  $r_m$ , em relação ao tratamento controle. O maior intervalo médio de geração ocorreu na concentração 5% (23,25 $\pm$ 0,41), porém não diferiu do tratamento controle. As menores taxas finitas de aumento populacional ( $\lambda$ ) ocorreram nas concentrações 3% (1,08) e 5% (1,07) (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros (média  $\pm$ EP) da tabela de vida biológica de *T. absoluta* expostas às concentrações 1, 3 e 5% de *T. ramalhoi*

Tratamento	$R_0$	IMG	$r_m$	TD	$\lambda$
<i>Controle</i>	32,15 $\pm$ 4,17a	21,00 $\pm$ 1,06ab	0,16 $\pm$ 0,01a	4,15 $\pm$ 0,32	1,18 $\pm$ 0,01a
<i>T. ramalhoi</i> 1%	18,56 $\pm$ 4,13a	20,02 $\pm$ 0,67b	0,14 $\pm$ 0,01a	4,67 $\pm$ 0,48	1,16 $\pm$ 0,02a
<i>T. ramalhoi</i> 3%	4,48 $\pm$ 2,07b	19,88 $\pm$ 0,26b	0,08 $\pm$ 0,03b	6,54 $\pm$ 4,91	1,08 $\pm$ 0,03b
<i>T. ramalhoi</i> 5%	5,24 $\pm$ 1,73b	23,25 $\pm$ 0,41a	0,07 $\pm$ 0,01b	8,87 $\pm$ 2,34	1,07 $\pm$ 0,02b

Para  $R_0$ , IMG,  $r_m$ , TD e  $\lambda$ ; médias seguidas por mesma letra são iguais entre si pelo teste t de Student ( $P < 0,05$ ).

#### 4. DISCUSSÃO

A espécie *Trichilia ramalhoi* foi estudada pela primeira vez por (Ambrozin et al., 2004). Neste trabalho, três substâncias foram isoladas dos galhos: mistura de  $\beta$ -sitosterol e estigmasterol (esteroides), lupeol e lupenona, estas duas últimas pertencentes à classe de triterpenos pentacíclicos. A substância lupeol apresentou atividade contra o *Tripanossoma cruzi*.

O trabalho mais recente envolvendo a espécie foi conduzido por Gomes et al. (2020). Neste trabalho, foram isoladas 7 substâncias de extratos metanólicos de caules e folhas, sendo elas: metil 5-O-cafeoilquinato, apocinina C, uma mistura de dois estereoisômeros de cinconains Ia e Ib e alguns compostos previamente identificados nesta espécie:  $\beta$ -sitosterol, estigmasterol e lupeol. Os extratos de *T. ramalhoi* foram submetidos a avaliação biológica e mostrou eficiente ação antioxidante, antinociceptivo e anti-inflamatória.

Neste presente trabalho foram isoladas seis triterpenos e um esteroide do extrato metanólico de folhas de *Trichilia ramalhoi* e esse extrato foi submetido a testes de atividade inseticida, realizado pela primeira vez com essa espécie. Todas foram encontradas pela primeira vez na espécie *T. ramalhoi* e a Felochina pela primeira no gênero *Trichilia*. As substâncias tirucalano-7,22,24-trien-3-ona (V) e tetranoraldeído bourjotilona c (VI), apesar de terem estrutura conhecida, só foram relatadas como derivados sintéticos na literatura. É a primeira vez que elas são isoladas como produto natural.

Esta é a primeira vez que um estudo descreve a redução da taxa de fertilidade da *Tuta absoluta* quando tratada com extrato metanólico da espécie *Trichilia ramalhoi*, que apresentou efeito de antibiose sobre a *Tuta absoluta*. Este efeito ocorre quando substâncias presentes na constituição química da planta hospedeira agem alterando o metabolismo do inseto predador causando mortalidade na fase juvenil ou durante a transformação para adulto, redução de tamanho, peso, longevidade e fecundidade dos insetos (Castiglioni, 2000).

Plantas da família Meliaceae (família da espécie *Trichilia ramalhoi*) são caracterizadas por produzirem limonoides, pertencente ao grupo dos triterpenos que tem demonstrado um alto potencial inseticida (Fang et. al 2011). Apesar desta característica, segundo levantamento feito por (Xie et. al 1994), extratos de madeira e casca da *Trichilia hirta* e *Trichilia glaba* foram inibidores eficientes de crescimento e de efeito antialimentar dos insetos *Peridroma saucia* e *Spodoptera litura* mesmo não havendo encontrado



limonoides nessas frações. Segundo o mesmo autor, a defesa química da planta depende de misturas de compostos. Os extratos vegetais brutos são frequentemente mais bioativos em relação a uma substância isolada e purificada. Este fenômeno é bem exemplificado pelos inseticidas do nim. Os inseticidas comerciais do nim são derivados das sementes desta árvore, da qual mais de 100 compostos triterpenoides foram isolados e caracterizados. (Isman et al., 1996). No presente trabalho, o estudo fitoquímico do extrato metanólico/diclorometano de folhas da espécie *Trichilia ramalhoi* identificou 7 substâncias, dentre elas 6 pertencentes ao grupo dos triterpenos e 1 ao grupo dos esteroides. Também não foi encontrado limonoides, mas o extrato metanólico de folhas de *Trichilia ramalhoi* na concentração de 3 e 5 % apresentaram diminuição significativa na taxa de fertilidade da *Tuta absoluta* quando comparada ao tratamento controle (tabela 2).

Além de diminuir a taxa de fertilidade, o uso do extrato metanólico de *Trichilia ramalhoi* nas concentrações a 3% e 5% aumentou a mortalidade de larvas e a mortalidade de imaturos de *Tuta absoluta* quando comparadas aos demais tratamentos (Figura 1 e 2). A viabilidade das pupas também diminuiu no tratamento que usou extrato metanólico de *Trichilia ramalhoi* nas maiores concentração (Figura 3). Esses resultados corroboram com estudos que investigam atividades inseticidas do gênero *Trichilia*. Gonçalves-Gervásio & Vendramim (2004) avaliaram o modo de ação dos extratos aquoso e clorofórmico da espécie *Trichilia pallida* sobre a *Tuta absoluta*. O extrato aquoso de *T. pallida* na concentração de 5% alongou o período larval da *T. absoluta* em relação ao controle (água), quando aplicado de forma sistêmica (no solo) e quando aplicado de forma translaminar, diminuindo a viabilidade das pupas. Cunha et al., 2005 selecionou entre extrato de folhas e ramos de *Trichilia pallida*, a primeira como a mais promissora para se trabalhar com atividade inseticida sobre *Tuta absoluta*. A fração diclorometano de folhas de *T. pallida*, foi particionada e as frações metanol e acetato a 0,15 % de concentração foram consideradas as mais promissoras como fonte de substância com atividade inseticida sobre a *Tuta absoluta*, causando mortalidade de lagartas. Já no trabalho de Cunha et al, 2008, o mesmo grupo de pesquisa isolaram substâncias a partir do extrato diclorometânico das folhas da *Trichilia pallida* e concluíram que o triterpeno 24-metilenocicloart-3 $\beta$ -ol, o esteroide 24-metilen-3,22-diidroxicolesterol e o limonoide geduina, este último isolado de frutos de *T. pallida*, quando aplicados na concentração 0,1% sobre a *Tuta absoluta*, alongaram a fase larval consequentemente reduzindo a sobrevivência das larvas, mas não afetaram a duração, a sobrevivência e o peso das pupas.

No trabalho de Baldin et al. 2020, plantas pertencentes a família Meliaceae e Asteraceae foram testadas quanto ao seu efeito inseticida e inibitório de seus extratos sobre a mosca-branca (*Bremisia tabasi*). Todos os extratos obtiveram resultados promissores: *T. casaretti*, *T. catigua*, *T. clausenii*, *T. elegans*, *M. glomerata*, *L. ericoides*, *L. granmongolense* e *L. salicifolia*, causando efeito de deterrência na ovoposição, com exceção do extrato etanólico de *T. pallida* e extrato hexânico de *M. azedarach*. Segundo Lucie et al. 2016 extratos de acetato de etila e hexânico de cascas da espécie *Trichilia gilgiana* apresentou resultados promissores quando testada contra o inseto *Sitophilus zeamais*. Através do método de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa, foi possível identificar 5 substâncias: ácido tiociânico, metanotioamida, N, N-dimetil. Ácido tiociânico e metanotioamida, N, N-dimetil fazem parte dos glucosinolatos e são conhecidos por seu envolvimento no sistema de defesa da fábrica contra agressões externas.

## 5. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados encontrados, evidencia-se a importância de estudos mais aprofundados de plantas pertencentes à família Meliaceae como potenciais plantas inseticidas. Neste estudo todas as substâncias que foram encontradas são inéditas para a espécie, de acordo com a literatura. A substância III além de inédita para a espécie *T. ramalhoi* é também inédita para o gênero *Trichilia*. E as substâncias V e VI foram isoladas pela primeira vez como produto natural. No experimento da atividade inseticida, a concentração de 5% do extrato metanólico de *T. ramalhoi* afetou a biologia da *Tuta absoluta*, aumentando a mortalidade de imaturos (larvas + pupas), diminuindo a fertilidade diária e total do inseto e a viabilidade das pupas.

## 6. REFERÊNCIAS

Ambrozin, A.R.P., Vieira, P.C., Fernandes, J.B., Fernandes Da Silva, M.F.D.G., De Albuquerque, S., 2004. Trypanocidal activity of Meliaceae and Rutaceae plant extracts. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 99, 227–231. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762004000200020>

APRD – Arthropod Pesticide Resistance Database. Michigan State University. <<http://www.pesticideresistance.org>>. Acesso em: 5 de janeiro de 2021.

Baldin, E.L.L., Schlick-Souza, E.C., Soares, M.C.E., Lopes, N.P., Lopes, J.L.C., Bogorni, P.C., Vendramim, J.D., 2020. Insecticidal and inhibitory effects of meliaceae and asteraceae extracts to silverleaf whitefly. Hort. Bras. 38, 280–287. <https://doi.org/10.1590/s0102-053620200307>

Biondi, A., Guedes, R.N.C., Wan, F.H., Desneux, N., 2018. Ecology, Worldwide Spread, and Management of the Invasive South American Tomato Pinworm, *Tuta absoluta*: Past, Present, and Future. Annu. Rev. Entomol. 63, 239–258. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-031616-034933>

Roditakis, E., Vasakis, E., Grispou, M., Stavrakaki, M., Nauen, R., Gravouil, M., Bassi, A., 2015. First report of *Tuta absoluta* resistance to diamide insecticides. J. Pest Sci. (2004). <https://doi.org/10.1007/s10340-015-0643-5>

Curcino Vieira, I.J., da Silva Terra, W., dos Santos Gonçalves, M., Braz-Filho, R., 2014. Secondary Metabolites of the Genus *Trichilia*: Contribution to the Chemistry of Meliaceae Family. Am. J. Anal. Chem. 05, 91–121. <https://doi.org/10.4236/ajac.2014.52014>

Cunha, U.S. da, Vendramim, J.D., Rocha, W.C., Vieira, P.C., 2005. Potencial de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) como fonte de substâncias com atividade inseticida sobre a traça-do-tomateiro, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Neotrop. Entomol. 34, 667–673. <https://doi.org/10.1590/s1519-566x2005000400018>

Cunha, U.S., Vendramim, J.D., Rocha, W.C., Vieira, P.C., 2008. Bioactivity of *Trichilia pallida* Swartz (meliaceae) derived molecules on *Tuta absoluta* (Meyrick) (lepidoptera: Gelechiidae). Neotrop. Entomol. 37, 709–715. <https://doi.org/10.1590/s1519-566x2008000600013>

Desneux, N., Luna, M.G., Guillemaud, T., Urbaneja, A., 2011. The invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, continues to spread in Afro-Eurasia and beyond: The new threat to tomato world production. J. Pest Sci. (2004). 84, 403–408. <https://doi.org/10.1007/s10340-011-0398-6>

Fang, X., Di, Y., Hao, X., 2011. The Advances in the limonoid chemistry of the Meliaceae family. Curr. Org. Chem. 15, 1363–1391.

Fumagali, E., Gonçalves, R.A.C., Machado, M.D.F.P.S., Vidoti, G.J., De Oliveira, A.J.B., 2008. Production of plant secondary metabolites in plant cell and tissue culture: The example of *Tabernaemontana* and *Aspidosperma* genera. Brazilian J. Pharmacogn. 18, 627–641. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2008000400022>

- Filho, M. M., Guimaraes, J.A., Moura, A.P. de, 2013. A traça-do-tomateiro no mundo. Embrapa hortaliças 31p.
- García-Gómez, A., Figueroa-Brito, R., Serrano, L.A.G., Jiménez-Pérez, A., 2018. *Trichilia* (Meliaceae) Plants: An important source of biomolecules with insecticidal properties. *Florida Entomol.* 101, 470–479. <https://doi.org/10.1653/024.101.0305>
- Gomes, A.F., Moreira, B.O., Yatsuda, R., de Souza, É.P., David, J.M., Alves, C.Q., Macedo, G.E. d. L., Correia, S. de J., de Paula, V.F., 2020. Chemical constituents, antioxidant, anti-inflammatory and, antinociceptive activities of *Trichilia ramalhoi*. *Nat. Prod. Res.* 0, 1–5. <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1723088>
- Gonçalves-Gervásio, R.C.R., Vendramim, J.D.V., 2004. Modo De Ação De Extratos De Meliáceas Sobre *Tuta* 215–220.
- Guedes, R.N.C., Roditakis, E., Campos, M.R., Haddi, K., Bielza, P., Siqueira, H.A.A., Tzagkarakou, A., Vontas, J., Nauen, R., 2019. Insecticide resistance in the tomato pinworm *Tuta absoluta*: patterns, spread, mechanisms, management and outlook. *J. Pest Sci.* (2004). 92, 1329–1342. <https://doi.org/10.1007/s10340-019-01086-9>
- Isman, M.B., Matsuura, H., Durst, T., Towers, G.H.N., Arnason, T., 1996. So Many Terpenoids , So Few Insecticides 155–156.
- Lucie, A.-T., Solange Patricia, W., Ephrem, K.-K., Salomon, N., Serge Florent, B.-O., Ponel-Béranger, L.D., Silla, S., Olga-Diane, Y., Jean-Laurent, S.-M., SECK, D., Mbacké, S., 2016. The Effective Insecticidal Activity of the two Extracts Ethyl Acetate and Hexan of *Trichilia gilgiana* against *Sitophilus zeamais*. *Int. J. Biol.* 8, 23. <https://doi.org/10.5539/ijb.v8n2p23>
- Liu, S.B., Chen, H.Q., Feng, G., Guo, Z.K., Cai, C. hong, Wang, J., Mei, W.L., Dai, H.F., 2018. A new insecticidal havanensin-type limonoid from the roots of *Trichilia sinensis* Benth. *Nat. Prod. Res.* 32, 2797–2802. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1380016>
- Luz Yolanda Toro Suarez, 2015. Recent Advances in Phytochemistry: Phytochemical Diversity and Redundancy in Ecological Interactions.
- Maia, A.D.H.N., Luiz, A.J.B., Campanhola, C., 2000. Statistical inference on associated fertility life table parameters using jackknife technique: Computational aspects. *J. Econ. Entomol.* 93, 511–518. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-93.2.511>
- McChesney, J.D., Dou, J., Sindelar, R.D., Goins, D.K., Walker, L.A., Rogers, R.D., 1997. Tirucallane-type triterpenoids: Nmr and X-ray diffraction analyses of 24-epi-piscidinol A and piscidinol A. *J. Chem. Crystallogr.* 27, 283–290. <https://doi.org/10.1007/BF02575975>
- Nogueira, L., Melville, C. C., 2020. Insetos e ácaros: resistência a pesticidas e estratégias de manejo. 11, 68–74.
- Nunomura, R.C.S, Pinto, A.C., Nunomura, S.M., Pohlit, A.M., Amaral, A.C.F., 2012. Constituintes químicos dos galhos de *simaba guianensis* subesp. *ecaudata* (cronquist). *Quim. Nova* 35, 2153–2158. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012001100009>

Oleennikov, D.N., Gornostai, T.G., Penzina, T.A., Borovskii, G.B., 2017. Lupane Triterpenoids and Sterols from *Inonotus rheades* Mycelium and their Anti-Glucosidase Activity. *Chem. Nat. Compd.* 53, 988–990. <https://doi.org/10.1007/s10600-017-2180-3>.

Pennington, T.D., 2015. Systematic treatment of American *Trichilia* (Meliaceae). *Phytotaxa* 259, 18–162. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.259.1.5>

Picanço, M.C., Bacci, L., Crespo, A.L.B., Miranda, M.M.M., Martins, J.C., 2007. Effect of integrated pest management practices on tomato production and conservation of natural enemies. *Agric. For. Entomol.* 9, 327–335. <https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2007.00346.x>.

Silva, G.A., Queiroz, E.A., Arcanjo, L.P., Lopes, M.C., Araújo, T.A., Galdino, T.S.V., Samuels, R.I., Rodrigues-Silva, N., Picanço, M.C., 2021. Biological performance and oviposition preference of tomato pinworm *Tuta absoluta* when offered a range of Solanaceous host plants. *Sci. Rep.* 11, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80434-7>

Srinivasulu, A., 2017. New record of invasive South American Tomato Leaf Miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) on Tomato in Andhra Pradesh. *Int. J. Pure Appl. Biosci.* 5, 654–656. <https://doi.org/10.18782/2320-7051.2940>

Simon J. Yu, 2008. *The toxicology and chemistry of insecticides.*

Southwood, T.R.E., Hendersen, P.A., 2015. *Ecological Methods, Third Edition.*

Vendramim, J. D., Castiglioni, E. (2000). Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. In *Bases e técnicas do manejo de insetos*. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS; Pallotti.

Xie, Y.S., Isman, M.B., Gunning, P., MacKinnon, S., Arnason, J.T., Taylor, D.R., Sanchez, P., Hasbun, C., Towers, G.H.N., 1994. Biological activity of extracts of *Trichilia* species and the limonoid hirtin against lepidopteran larvae. *Biochem. Syst. Ecol.* 22, 129–136. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(94\)90003-5](https://doi.org/10.1016/0305-1978(94)90003-5).

Zhang, L., Xia, J., Duan, Y., Wei, K., Gao, R., Li, D., Liu, X., Zhang, T., Qiu, M., 2021. Toonamicropavarin, a new tirucallane-type triterpenoid from *Toona ciliata*. *Nat. Prod. Res.* 35, 266–271. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1627351>

Zhou, X.J., Xu, M.N., Li, X.S., Wang, Y.H., Gao, Y., Cai, R., Cheng, Y.X., 2011. Triterpenoids and sterones from the stem bark of *Ailanthus altissima*. *Bull. Korean Chem. Soc.* 32, 127–130.

Anexo I. Descrição molecular das substâncias isoladas de extrato metanólico de folhas de *Trichilia ramalhoi* a partir da partição diclometano; seis triterpenos (betulona, felochina, aliantusaltinina A, tirucalano, tetranoiraldeído bourjotilona C, piscidinol A) e um esteroide (itesmol).

Betulona (I).  $C_{30}H_{48}O_2$ . Espectro  $^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ , ppm): 218,8 (C-30), 47,35 (C-4), 47,35 (C-4), 40,86 (C-8), 36,87 (C-10), 42,77 (C-14), 56,89 (C-17), 150,40 (C-20), 54,95 (C-5), 49,83 (C-9), 37,54 (C-13), 48,84 (C-18), 47,97 (C-19), 39,60 (C-1), 34,14 (C-2), 19,65 (C-6), 37,51 (C-7), 21,48 (C-11), 25,20 (C-12), 27,02 (C-15), 29,72 (C-16), 29,11 (C-21), 33,96 (C-22), 60,54 (C-28), 109,77 (C-29), 26,62 (C-23), 21,35 (C-24), 15,88 (C-25), 15,76 (C-26), 14,62 (C-27), 19,14 (C-30).

Felochina (III).  $C_{31}H_{52}O_4$ . Espectro  $^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ , ppm): 217,0 (C-3), 47,9 (C-4), 145,9 (C-8), 51,2 (C-13), 43,5 (C-14), 79,8 (C-25), 52,3 (C-5), 117,9 (C-7), 48,9 (C-9), 53,8 (C-17), 30,7 (C-20), 68,7 (C-23), 76,3 (C-24), 38,5 (C-1), 34,9 (C-2), 24,4 (C-26), 18,3 (C-11), 33,8 (C-12), 34,0 (C-15), 28,5 (C-16), 39,8 (C-22), 22,0 (C-18), 12,8 (C-19), 18,9 (C-21), 21,5 (C-26), 21,6 (C-27), 24,5 (C-28), 21,6 (C-29), 27,4 (C-30).

Aliantusaltinina A (IV).  $C_{30}H_{46}O$ . Espectro  $^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ , ppm): 217,04 (C-3), 47,89 (C-4), 145,94 (C-8), 37,49 (C-10), 43,0 (C-13), 51,61 (C-14), 142,21 (C-25), 52,54 (C-5), 118,43 (C-7), 48,51 (C-9), 53,10 (C-17), 36,69 (C-20), 130,06 (C-24), 38,54 (C-1), 34,94 (C-2), 24,37 (C-6), 18,23 (C-11), 33,48 (C-12), 34,08 (C-15), 28,21 (C-16), 39,51 (C-21), 114,07 (C-22), 22,04 (C-18), 12,83 (C-19), 20,9 (C-21), 18,75 (C-27), 24,5 (C-28), 21,7 (C-29), 27,41 (C-30).

Tirucalano – 7,22,24 – trien – 3 – ona (V).  $C_{30}H_{46}O$ . Espectro  $^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ , ppm): 217,03 (C-3), 47,89 (C-4), 145,94 (C-8), 37,49 (C-10), 43,0 (C-13), 47,89 (C-14), 132 (C-25), 52,54 (C-5), 118,43 (C-7), 48,51 (C-9), 53,10 (C-17), 40,54 (C-20), 138,55 (C-23), 124,39 (C-24), 38,54 (C-1), 34,94 (C-2), 24,37 (C-6), 18,26 (C-11), 33,48 (C-12), 34,08 (C-15), 28,48 (C-16), 22,23 (C-18), 12,83 (C-19), 19,28 (C-21), 18,59 (C-26), 26,17 (C-27), 24,5 (C-28), 21,7 (C-29), 27,41 (C-30).

Tetranoiraldeído bourjotilona C (VI).  $C_{26}H_{40}O_2$ . Espectro  $^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ , ppm): 216,74 (C-3), 47,86 (C-4), 145,57 (C-8), 35,02 (C-10), 43,88 (C-13), 51,28 (C-14), 52,27 (C-5), 118,03 (C-7), 47,85 (C-9), 52,80 (C-17), 32,35 (C-20), 203,51 (C-23), 38,53 (C-1), 34,90 (C-2), 24,22 (C-6), 18,22 (C-11), 33,50 (C-12), 34,98 (C-15), 28,38 (C-16), 50,92 (C-22), 22,07 (C-18), 12,64 (C-19), 19,71 (C-21), 24,86 (C-28), 21,27 (C-29), 27,47 (C-30).

Piscidinol A (VII).  $H_3OH_{50}O_4$ . Espectro  $^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ , ppm): 217,0 (C-3), 47,8 (C-4), 145,8 (C-8), 35,2 (C-10), 43,6 (C-13), 51,2 (C-14), 74,4 (C-25), 52,3 (C-5), 118,0 (C-

7), 48,4 (C-9), 53,8 (C-17), 33,7 (C-20), 69,7 (C-23), 74,9 (C-24), 38,5 (C-1), 34,9 (C-2), 24,5 (C-6), 18,3 (C-11), 33,8 (C-12), 34,0 (C-15), 28,4 (C-16), 40,5 (C-22), 22,0 (C-18), 12,8 (C-19), 18,9 (C-21), 26,2 (C-26), 27,4 (C-27), 24,5 (C-28), 21,6 (C-29), 27,5 (C-30).

Itesmól (II).  $C_{25}H_{42}O_2$ . Espectro  $^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ ,  $\delta$ , ppm): 140,8 (C-5), 36,5 (C-10), 42,3 (C-13), 71,8 (C-3), 121,6 (C-6), 31,9 (C-8), 50,1 (C-9), 56,3 (C-14), 53,0 (C-17), 42,5 (C-20), 71,3 (C-22), 41,4 (C-24), 28,7 (C-25), 37,3 (C-1), 31,9 (C-2), 42,3 (C-4), 31,6 (C-7), 21,1 (C-11), 39,7 (C-12), 24,4 (C-15), 27,5 (C-16), 29,9 (C-23), 11,9 (C-18), 19,4 (C-19), 17,6 (C-21), 11,8 (C-26), 20,5 (C-27), 12,3 (C-28).