UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

HENRIQUE CATIVO DOS SANTOS

FITOQUÍMICA E PROSPECÇÃO DE PRINCÍPIOS ATIVOS EM RESÍDUOS MADEIREIROS DE *Swietenia macrophylla* King

MANAUS
2023

HENRIQUE CATIVO DOS SANTOS

FITOQUÍMICA E PROSPECÇÃO DE PRINCÍPIOS ATIVOS EM RESÍDUOS MADEIREIROS DE *Swietenia macrophylla* King

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Amazonas, como requisito parcial para obtenção do título de doutor em química, área de concentração química orgânica.

Orientadora: Dra. Maria da Paz Lima (COTI/INPA)

MANAUS
2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Santos, Henrique Cativo dos

S237f Fitoquímica e prospecção de princípios ativos em resíduos madeireiros de Swietenia macrophylla king / Henrique Cativo dos Santos . 2023

203 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Maria da Paz Lima

Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Meliaceae. 2. fitoquímica. 3. rmn. 4. atividade inseticida. 5. atividade fungicida. I. Lima, Maria da Paz. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

Fitoquímica e Prospecção de Princípios Ativos em Resíduos Madeireiros de *Swietenia macrophylla* King

HENRIQUE CATIVO DOS SANTOS

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal do Amazonas como requisito parcial para a obtenção do Grau de Doutor (a) em Química.

Aprovada em, 21 de março de 2023.

MARIA DA PAZ LIMA (PPGQ/UFAM)
Presidente/Orientador

SERGIO MASSAYOSHI NUNOMURA (PPGQ/UFAM)
Membro Interno

ADRIAN MARTIN POHLIT (PPGQ/UFAM)
Membro Interno

GEONE MAIA CORREA (ICET/UFAM)
Membro Externo

TIAGO BARBOSA PEREIRA (UEA)
Membro Externo

Universidade Federal do Amazonas
Manaus, 21 de março de 2023.

A Deus pelo seu infinito amor

OFEREÇO

Aos meus avós,
Agenor e Maria (in memoriam) e
Leônidas (in memoriam) e Raimunda (in memoriam);

A meu pai Leônidas (In memoriam) e a meu filho
Nicolas Miguel (In memoriam);

E a toda minha família pelo amor, companheirismo e compreensão,

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, “porque dELE, e por meio dELE, e para Ele são todas as coisas. A ele, pois, a glória eternamente. Amém!”

À minha orientadora, Profª. Drª. Maria Da Paz Lima, à qual sou imensamente grato pela excelente orientação, pela confiança depositada em mim e por toda sua dedicação e entusiasmo com nosso grupo de pesquisa. Além, de ser um exemplo de profissional, ela teve um papel fundamental na minha formação acadêmica. Muito obrigado por tudo, mãe da Paz!

A todos os professores do programa de pós-graduação da UFAM/INPA, que através dos seus ensinamentos e contribuições, permitiram que eu pudesse hoje estar concluindo este trabalho.

A minha mãe Ivaneide Cativo e a todos meus irmãos, que mesmo distantes, se mantiveram tão perto com suas manifestações de apoio e carinho. A vocês o meu amor e gratidão eterna, de todo meu coração!

Aos amigos do Laboratório de Produtos Naturais (LQPN) Paulo Alan, Jennifer Lima, Priscila Brasil, Davi Santos e Helena Garcia, pelo companheirismo e auxílio durante a realização deste trabalho.

À Ana Cortez e Marcelo Victor, pelo suporte nos ensaios antifúngicos e inseticidas.

Aos técnicos Sabrina e Magno da central analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais (CA-LTQPN) do INPA, pelo suporte na obtenção dos espectros de RMN e EM.

Ao INPA pelo uso de suas instalações!

Por fim, agradeço a CAPES pelo auxílio financeiro.

Ninguém vence sozinho... OBRIGADO

A TODOS!!!!

RESUMO

Apesar do aparecimento dos materiais sintéticos, a madeira continua sendo amplamente utilizada por diversos setores industriais, que em contrapartida, acabam gerando grandes volumes de resíduos madeireiros. Resíduos que, habitualmente não são apreciados durante o seu processamento e na maioria das vezes são de espécies sem conhecimento químico relatado na literatura, devido à escassez. Nesse contexto, buscando agregar valor aos resíduos descartados após o processamento mecânico das atividades madeireiras, o presente trabalho traz estudos voltados para a investigação química dos resíduos de *Swietenia macrophylla* King (Mogno). Vale ressaltar que, a oportunidade de realizar estudos químico com espécie nativa, não endêmica no brasil, surgiu da doação de uma moldura da janela de mogno pertencente a um prédio abandonado com mais de 30 anos, uma vez que, esta espécie encontra-se em ecossistema ameaçado. Após, os estudos tecnológicos e da manufatura de pequenos objetos com a espécie, alguns pedaços foram doados para o Laboratório de Química de Produtos Naturais, onde foram triturados, moídos e submetidos à extração a frio com hexano e metanol para obtenção dos extratos brutos. Foi utilizado cromatografia de coluna com diferentes fases estacionárias (celulose, florisil®, sephadex LH-20 e sílica gel de 70-230 e 230-400 mesh) para fracionamentos dos extratos e obtenção dos metabólitos secundários. Os estudos fitoquímicos com *S. macrophylla,* revelaram três novos limonóides com esqueleto phragmalina (11-acetoxi-1"*α*-hidroxi-swietenitina K, 11-acetoxi-1"*β*-hidroxi-swietenitina K e 11-acetoxi-swietenitina K). Em adição, foram isolados também 16 substâncias conhecidas pertencente a classe dos triterpenos (cicloeucalenol, cicloeucalenona, cicloartenol, 24-methileno-cicloartan-3β-ol; cicloart-23-en-3β-25-diol, cicloeucalenol éster, α e β-amirinas), esteroides (β-sitosterol, estigmasterol, *β*-sitosterol éster e sitosterol 3-*O*-*β*-D-glucopyranoside), derivados do benzaldeído (2,4-diidroxibenzaldeído, 3,4-diidroxibenzaldeído e 3,4-diidroxiacetofenona) e uma cumarina (escoporona). As substâncias tiveram suas estruturas propostas a partir de análises de ressonância magnética nuclear (RMN) 1D e 2D, espectro de massas de alta e baixa resolução e por comparação com dados da literatura. Considerando o potencial biológico das classes das substâncias isoladas, foram realizados bioensaios frente às ninfas de *Bemesia tabaci* (inseticida) e frente às linhagens de *Candida albicans, Candida krusei* e *Cryptococcus gattii* (fungicida). Destes ensaios, os limonóides fragmalina destacaram-se com 54 e 52 % de mortalidade entre as substâncias testadas no ensaio inseticida. Já no ensaio antifúngico, o composto mais ativo foi o 3-*O*-*β*-D-glucopyranoside com CIM de 40 µg/mL para *Candida albicans* e 160 µg/mL para *Candida krusei* e *Cryptococcus gattii.*

Palavras-chave: Meliaceae; fitoquímica; RMN; atividade inseticida; atividade fungicida

ABSTRACT

Despite the emergence of synthetic materials, wood continues to be widely used by various industrial sectors, which, on the other hand, end up generating large volumes of wood waste. Residues that are usually not appreciated during processing and most often are from species without chemical knowledge reported in the literature, due to scarcity. In this context, seeking to add value to the residues discarded after the mechanical processing of logging activities, the present work presents studies focused on the chemical investigation of the residues of *Swietenia macrophylla* King (mahogany). It is worth mentioning that the opportunity to carry out chemical studies with a native species, not endemic in Brazil, arose from the donation of a mahogany window frame belonging to an abandoned building that is more than 30 years old, since it is located in an ecosystem threatened. After the technological studies and the manufacture of small objects with the species, some pieces were donated to the Natural Products Chemistry Laboratory, where they were crushed, ground and submitted to cold extraction with hexane and methanol to obtain the crude extracts. Column chromatography with different stationary phases (cellulose, florisil®, sephadex LH-20 and 70-230 and 230-400 mesh silica gel) was used to fractionate the extracts and obtain the secondary metabolites. Phytochemical studies with *S. macrophylla* revealed three new limonoids with a phragmalin skeleton (11-acetoxy-1”α-hydroxy-swietenitin K, 11-acetoxy-1”β-hydroxy-swietenitin K and 11-acetoxy-swietenitin K). In addition, 16 known substances belonging to the triterpene class were also isolated (cycloeucalenol, cycloeucalenone, cycloartenol, 24-methylene-cycloartan-3β-ol; cycloart-23-en-3β-25-diol, cycloeucalenol ester, α and β- amyrins), steroids (β-sitosterol, stigmasterol, β-sitosterol ester and sitosterol 3-O-β-D-glucopyranoside), benzaldehyde derivatives (2,4-dihydroxybenzaldehyde, 3,4-dihydroxybenzaldehyde and 3,4-dihydroxyacetophenone) and a coumarin (scoporone). The structures of the substances were proposed based on 1D and 2D nuclear magnetic resonance (NMR) analyses, high and low resolution mass spectra and comparison with literature data. Considering the biological potential of the classes of isolated substances, bioassays were carried out against the nymphs of *Bemesia tabaci* (insecticide) and against the strains of *Candida albicans*, *Candida krusei* and *Cryptococcus gattii* (fungicide). From these tests, the phragmalin limonoids stood out with 54 and 52% of mortality among the substances tested in the insecticide test. In the antifungal assay, the most active compound was 3-O-β-D-glucopyranoside with a MIC of 40 µg/mL for *Candida albicans* and 160 µg/mL for *Candida krusei* and *Cryptococcus gattii*.

Keywords: Meliaceae; phytochemistry; NMR; insecticidal activity; fungicidal activity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição da família Meliaceae 7
Figura 2. Limonóide de *Azadirachta indica* com atividade inseticida 8
Figura 3. Biossíntese de limonoides (DEWICK, 2004). 9
Figura 4. Principais esqueletos de limonóides em Meliaceae (TAN *et al.,* 2011) 10
Figura 5. Parte aérea de *Swietenia macrophylla* King (mogno). 12
Figura 6. Limonóides de *S. macrophylla* com atividade anti-inflamatória 17
Figura 7. Limonóides de *S. macrophylla* com atividade antifágico 18
Figura 8. Poliacetilenos de *S. macrophylla* com atividade anticancerígena 19
Figura 9. Ninfas e adultos de *Bemisia tabaci* 23
Figura 10. Identificação botânica das espécies 29
Figura 11. Técnica de microdiluição em caldo 53
Figura 12.Torre de Potter Burkard scientific® 55
Figura 13. CCD da fração com SMH-9.11. 56
Figura 14. Triterpenos **5** e **6** identificados em mistura na fração SMH-9.11 57
Figura 15. Espectro de RMN ^{13}C de SMH-9.11 (75 MHz, $CDCl_3$) 58
Figura 16. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-9.11 (300 MHz, $CDCl_3$) 59
Figura 17. Amplificação do RMN de ^{1}H dos sinais vinílicos na região de 5,25 -5,10 de **5** e **6**. 60
Figura 18. CCD da fração com SMH-15. 61
Figura 19. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-15 (300 MHz, $CDCl_3$) 62
Figura 20. Expansão dos H-metilênicos nas regiões de δ_H 0,16 a 0,39 63
Figura 21. Expansão de ^{1}H-RMN na região de δ_H 33,1-3,33 e δ_H 4,65 e 4,75 63
Figura 22. Ampliação do HSQC na região δ_H 0,16-0,39 e δc 25-30 de **1**. 64
Figura 23. Mapa de HSQC (300/75 MHz, $CDCl_3$) de **1.** 65
Figura 24. Ampliação HMBC na região δ_H 2,05-2,35 e δc 20-165 de **1.** 66
Figura 25. Ampliação HMBC na região δ_H 0,1-0,5 e δc 20-55 de **1**. 66
Figura 26. Ampliação do HMBC na região δ_H 1,14-1,28 e δc 14-78 de **1**. 67
Figura 27. Estrutura do cicloeucalenol (**1**) 68
Figura 28. Espectro de RMN ^{13}C de SMH-15 (75 MHz, $CDCl_3$) 69
Figura 29. Espectro de RMN ^{13}C de SMH-15 (75 MHz, $CDCl_3$) 70
Figura 30. Espectro de massas da substância **1** (APCI/MS, modo positivo) 72
Figura 31. CCD da fração com SMH-6.7.P4. 73
Figura 32. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-6.7.P4 (300 MHz, $CDCl_3$) 74
Figura 33. Expansão dos sinais ciclopropânicos em δ_H 0,41 a 0,63. 75
Figura 34. Expansão dos sinais vinílicos na região de δ_H 4,68 e 4,73 75
Figura 35. Amplificação do HMBC na região $\delta_{H\text{-}25}$ (2,24) e δc 20-160 de **4** 76
Figura 36. Amplificação do HMBC na região de $\delta_{H\text{-}19}$ (0,41-0,63) e δc (20-50) de **4**. 77
Figura 37. Amplificação do HMBC na região de $\delta_{H\text{-}4}$ (2,24) e δc (10-200) de **4** 77
Figura 38. Estrutura da cicloeucalenona (**4**) 78
Figura 39. Espectro de RMN ^{13}C de SMH-6.7.P4 (75 MHz, $CDCl_3$) 79
Figura 40. Espectro de HSQC de SMH-6.7.P4 (300/75 MHz, $CDCl_3$) 80
Figura 41. Espectro de massas do composto **4** (APCI/MS, modo positivo) 82
Figura 42. Placa cromatográfica da fração com SMH-1.8.6. 83
Figura 43. Ampliação do HMBC na região δ_H (2,26) e δc (20-160) de **11**. 85
Figura 44. Ampliação do HMBC na região δ_H 1,69 e δc 10-160 de **12**. 86
Figura 45. Ampliação do HMBC na região δ_H 0,56-0,35 e δc 20-56 de **11** e **12** 86
Figura 46. Triterpenos **11** e **12** identificados em mistura na fração SMH-1.8.6. 87

Figura 47. Espectro de RMN ^{1}H de SMM-1.8.6 (300 MHz, $CDCl_3$) 88
Figura 48. Expansão da região de δ_H 0,56-0,35 de **11** e **12**..... 89
Figura 49. Expansão da região de sinais olefínicos em δ_H 5,13-4,67 de **11** e **12**. 89
Figura 50. Espectro de RMN ^{13}C de SMM-1.8.6 (75 MHz, $CDCl_3$)..... 90
Figura 51. Mapa de contorno de HSQC (300/75 MHz, $CDCl_3$) de **11** e **12**..... 91
Figura 52. Ampliação do HSQC, região δ_H (0,56-0,35) de **11** e **12**..... 91
Figura 53. Mapa de contorno de HMBC (300/75 MHz, $CDCl_3$) de **11** e **12**..... 92
Figura 54. Espectro de massas de **11** e **12** (APCI/MS, modo positivo)..... 95
Figura 55. CCD da fração SMM-1.8.10. 96
Figura 56. Ampliação do HMBC na região δ_H 0,34-0,62 e δc 18-54 de **13**. 97
Figura 57. Ampliação do HMBC na região δ_H 1,27 e δc 20-160 de **13**..... 98
Figura 58. Ampliação do HMBC na região δ_H 0,95-0,81 e δc 57-88 de **13**. 98
Figura 59. Estrutura do cicloart-23-eno-3,25-diol (**13**)..... 99
Figura 60. Espectro de RMN ^{1}H de SMM-1.8.10 (300 MHz, CD_3OD) 100
Figura 61. Expansão de 1H-RMN na região δ_H 0,65-0,30 de **13**..... 101
Figura 62. Expansão na região de carbinólicos δ_H 3,25-3,19 de **13**..... 101
Figura 63. Espectro de RMN ^{13}C de SMM-1.8.10 (75 MHz, CD_3OD)..... 102
Figura 64. Espectro de DEPT-135 de SMM-1.8.10 (75 MHz, CD_3OD) 103
Figura 65. Mapa de HSQC (300/75 MHz, CD_3OD) de **13**..... 104
Figura 66. Ampliação do HSQC na região δ_H 0,30-0,65 e δc 27,7-30,5 de **13**. .. 104
Figura 67. CCD da fração com SMH-18.3..... 106
Figura 68. Esteroides 7 e 8 identificados em mistura na fração SMH-18.3..... 107
Figura 69. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-18.3 (300 MHz, $CDCl_3$) 108
Figura 70. Amplificação (5.6-3.4) de RMN ^{1}H de SMH-18.3 (300 MHz, $CDCl_3$). 109
Figura 71. CCD da fração com SMM-13.P1. 110
Figura 72. Ampliação do HMBC na região δ_H 3,9-5,5 e δc 64-104 de **19**. 111
Figura 73. 3-*O*-*β*-glucopiranosil-*β*-sitosterol (**19**) na fração SMM-13.P2 112
Figura 74. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-13.P2 (300 MHz, C_5D_5N)..... 114
Figura 75. Espectro de RMN ^{13}C de SMM-13.P2 (75 MHz, C_5D_5N)..... 115
Figura 76. Mapa de contorno de HSQC (300/75 MHz, C_5D_5N) de **19**. 116
Figura 77. Mapa de contorno de HMBC (300/75 MHz, C_5D_5N) de **19**. 117
Figura 78. CCD da fração com SMH-6.7.P1. 118
Figura 79. Ampliação do HMBC na região δ_H 4,53-0,89 e δc 10-180 de **2**..... 119
Figura 80. Cicloeucalenol éster (**2**) na fração SMH-6.7.P1. 120
Figura 81. Ampliação do HMBC na região δ_H 4,60-0,89 e δc 10-180 de **3.**..... 121
Figura 82. Sitosterol éster (**3**) na fração SMH-6.7.P1..... 121
Figura 83. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-6.7.P1 (300 MHz, $CDCl_3$) 122
Figura 84. Espectro de RMN ^{13}C de SMH-6.7.P1 (75 MHz, $CDCl_3$)..... 123
Figura 85. Mapa de contorno HSQC (300/75 MHz, $CDCl_3$) de **2** e **3**..... 124
Figura 86. Mapa de HMBC (300/75 MHz, $CDCl_3$) de **2** e **3** (SMH-6.7.P1)..... 125
Figura 87. CCD da fração com SMH-22.5.P1. 128
Figura 88. Amplificação do HMBC na região de δ_H 6,04-6,15 e δc 10-190 de **9**. 129
Figura 89. Amplificação do HMBC na região de δ_H 3,09-3,45 da substância **9**.. 130
Figura 90. Amplificação do HMBC na região em torno de δ_H 5,30 da substância **9**. 131
Figura 91. Amplificação do HMBC em torno do sinal em δ_H 4,91 de **9**..... 132
Figura 92. Amplificação do HMBC com destaque para os sinais dos grupos ortoacetato (δ_H 1,90; 1,73 e 1,00) 132
Figura 93. Amplificação do HMBC no sinal em torno de δ_H 4,81 de **9**. 133

Figura 94. Amplificação do HMBC do grupo tigloiloxi (δ_H 7,38; 1,85 e 1,90) de **9**. 134
Figura 95. Amplificação do HMBC em torno do sinal em δ_H 2,85 de **9**. 135
Figura 96. Amplificação do HMBC em torno do sinal em δ_H 0,94 da substância **9**. 136
Figura 97. Amplificação do HMBC em torno do sinal em δ_H 2,5- 2,6 de **9**. 136
Figura 98. Estrutura do composto 11-acetoxi-1"*α*-hidroxi-swietenitina K (**9**) 137
Figura 99, Ampliação do HSQC na região em torno de δ_H 5,02 e δc 68-92 de **10**. 138
Figura 100. Amplificação do HMBC no sinal em torno de δH 5,02 da substância **10**. 139
Figura 101. Amplificação do HMBC no sinal em δ_H 7,22 do grupo tigloiloxi de **10**. 139
Figura 102. Amplificação do HMBC no sinal em δc 122,67 da substância **10**. .. 140
Figura 103. Estrutura do 11-acetoxi-1"*β*-hidroxi-swietenitina K (**10**)..... 142
Figura 104. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-22.5.P1 (300 MHz, acetona-d_6)..... 143
Figura 105. Espectro de RMN ^{13}C de SMH-22.5.P1 (75 MHz, acetona-d_6) 144
Figura 106. Espectro de DEPT-135 de SMH-22.5.P1 (75 MHz, acetona-d_6) 145
Figura 107. Mapa de HSQC de SMH-22.5.P1 (300/75 MHz, acetona-d_6)..... 146
Figura 108. Mapa de HMBC de SMH-22.5.P1 (300/75 MHz, acetona-d_6)..... 147
Figura 109. Espectro de COSY de SMH-22.5.P1 (300 MHz, acetona-d_6)..... 147
Figura 110. Espectro de massas de **9** e **10** (APCI/MS, modo negativo) 149
Figura 111. CCD da fração com SMM-3.1.14.3P. 150
Figura 112. Amplificação do HMBC no sinal metóxi em δ_H 3,16 da substância **15**. 151
Figura 113. Estrutura da 11-acetoxi-swietenitina K (**15**)..... 152
Figura 114. Mapa de contorno de HMBC de SMH-3.1.14.3P (300/75 MHz, $CDCl_3$) 152
Figura 115. Mapa de contorno de HSQC (300/75 MHz, $CDCl_3$) de **15**..... 153
Figura 116. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-3.1.14.3P (300 MHz, $CDCl_3$) 155
Figura 117. Espectro de RMN ^{13}C de SMH-3.1.14.3P (75 MHz, $CDCl_3$)..... 156
Figura 118. Espectro de DEPT-135 de SMH-3.1.14.3P (75 MHz, $CDCl_3$) 157
Figura 119. Espectro de massas de **15** (APCI/MS, modo negativo) 158
Figura 120. CCD da fração com SMM-4.5.7.3. 159
Figura 121. Amplificação do HMBC na região de δ_H 6,36 e δc 105-130 de **16**. . 160
Figura 122. Amplificação do HMBC no sinal em δ_H 9,76 da substância **16**..... 161
Figura 123. Amplificação do HMBC na região de δ_H 7,61 e δc 160-200 de **16**.. 161
Figura 124. Estrutura do 2,4-dihidroxibenzaldeído (**16**) 162
Figura 125. Espectro de RMN ^{1}H de SMM-4.5.7.3 (300 MHz, acetona-d_6)..... 163
Figura 126. Espectro de RMN ^{13}C de SMM-4.5.7.3 (75 MHz, acetona-d_6) 164
Figura 127. Mapa de HSQC (300/75 MHz, acetona-d_6) de **16**. 165
Figura 128. Mapa de HMBC (300/75 MHz, acetona-d_6) de **16**. 165
Figura 129. Projeção de RMN de ^{13}C a partir do mapa HMBC de SMM-4.5.7.3 (**16**) 166
Figura 130. Espectro de massas da substância **16** (ESI, modo negativo) 167
Figura 131. CCD da fração com SMM-4.5.7.9. 168
Figura 132. Amplificação do HMBC na região de δ_H 7,47 e δc 20-200 de **17**. ... 170
Figura 133. Amplificação do HMBC na região de δ_H 2,46 e δc 20-205 de **17**. ... 170
Figura 134. Estrutura do 3,4-dihidroxiacetofenona (**17**) 171
Figura 135. Espectro de RMN ^{1}H de SMM-4.5.7.9 (300 MHz, acetona-d_6)..... 172

Figura 136. Amplificação de RMN ^{1}H na região de δ 7,47-6,88 (300 MHz, acetona-d_6)..... 173
Figura 137. Espectro de RMN 13C de SMM-4.5.7.9 (75 MHz, Acetona-d_6)..... 174
Figura 138. Mapa de HSQC (300/75 MHz, acetona-d_6) de **17** e **18**. 175
Figura 139. Mapa de HMBC (300/75 MHz, acetona-d_6) de **17** e **18**. 176
Figura 140. Espectro de massas da substância **17** (ESI, modo negativo). 177
Figura 141. Amplificação do HSQC na região de δ_H 9,78 e δc 20-210 de **18**. ... 179
Figura 142. Amplificação do HMBC na região de δ_H 7,36 e δc 110-200 de **18**. . 180
Figura 143. Amplificação do HMBC na região de δ_H 9,78 e δc 110-135 de **18**. . 180
Figura 144. Estrutura do 3,4-dihidroxibenzaldeído (**18**) 181
Figura 145. Espectro de massas da substância **18** (ESI, modo negativo) 182
Figura 146. CCD da fração com SMM- 3.1.10. 183
Figura 147. Espectro de HMBC (300/75 MHz, $CDCl_3$) da substância **14**. 184
Figura 148. Estrutura da escoporona (**14**)..... 185
Figura 149. Espectro de RMN ^{1}H de SMM-3.1.10 (300 MHz, $CDCl_3$) 186
Figura 150. Espectro de RMN ^{13}C de SMM-3.1.10 (75 MHz $CDCl_3$)..... 187
Figura 151.Mapa de HSQC (300/75 MHz, $CDCl_3$) de **14**..... 188
Figura 152. Estruturas das substâncias utilizadas no ensaio fungicida..... 190
Figura 153. Estruturas dos compostos utilizados no ensaio inseticida..... 191

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação dos limonóides (FANG *et al.,* 2011) 11
Tabela 2. Limonóides isoladas em *Swietenia macrophylla* King 14
Tabela 3. Outras substâncias identificadas em *Swietenia macrophylla* 19
Tabela 4. Suporte para cromatografia em coluna 26
Tabela 5. Massa obtida dos extratos hexano e metanol 31
Tabela 6. Reunião das frações obtidas de SMH 33
Tabela 7. Reunião das frações obtidas de SMH-6 34
Tabela 8. Frações obtidas da CCDP de SMH-6.7 35
Tabela 9. Reunião das frações obtidas de SMH-9 36
Tabela 10. Reunião das frações obtidas de SMH-18 37
Tabela 11. Reunião das frações obtidas de SMH-22 39
Tabela 12. Frações obtidas da CCDP de SMH-22.5 40
Tabela 13. Reunião das frações obtidas de SMM 42
Tabela 14. Reunião das frações obtidas de SMM-1 43
Tabela 15. Reunião das frações obtidas de SMM-1.8 44
Tabela 16. Reunião das frações obtidas de SMM-3 45
Tabela 17.Reunião das frações obtidas de SMM-3.1 47
Tabela 18. Reunião das frações obtidas de SMM-4 48
Tabela 19. Reunião das frações obtidas de SMM-4.5 50
Tabela 20. Reunião das frações obtidas de SMM-4.5.7 51
Tabela 21. Espécies de fungos utilizadas nos ensaios 52
Tabela 22. Dados dos hidrogênios olefínicos e carbinólicos de **5** e **6**. 60
Tabela 23. Dados dos carbonos olefínicos e carbinólicos de **5** e **6**. 60
Tabela 24. Dados de RMN da substância **1** (cicloeucalenol) 71
Tabela 25. Dados de RMN da substância **4** (cicloeucalenona) 81
Tabela 26. Dados de RMN da substância **11** extraída dos espectros de SMM-1.8.6 93
Tabela 27. Dados de RMN da substância **12** extraída dos espectros de SMM-1.8.6 94
Tabela 28. Dados de RMN da substância **13** (cicloart-23-eno-3,25-diol) 105
Tabela 29. Dados dos hidrogênios olefínicos e carbinólicos de **7** e **8** 107
Tabela 30. Dados de RMN da substância **19** (3-*O*-*β*-glucopiranosil-*β*-sitosterol)113
Tabela 31. Dados de **2** extraídos dos espectros de RMN da mistura SMH-6.7.P1. 126
Tabela 32. Dados de **3** extraídos dos espectros de RMN da mistura SMH-6.7.P1. 127
Tabela 33. Dados de RMN da orientação dos substituintes do grupo ortoacetato de **9** e **10**. 141
Tabela 34. RMN de ^{1}H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) das substâncias **9** e **10** em acetona-d_6 148
Tabela 35. Dados espectrais de RMN para as substâncias **15**, **9** e **10** 154
Tabela 36. Dados de RMN da substância **16** (2,4-dihidroxibenzaldeido) 162
Tabela 37. Dados de RMN da substância **17** (3,4-diidroxiacetofenona) 171
Tabela 38. Dados de RMN da substância **18** (3,4-dihidroxibenzaldeído) 181
Tabela 39. Dados de RMN da substância **14** (escoporona) 185
Tabela 40. CIM das substâncias frente às cepas de fungos 189
Tabela 41. Mortalidade obtidos nos testes de sensibilidade 192

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Obtenção dos resíduos madeireiros..... 28
Esquema 2. Preparação dos extratos brutos de *Swietenia macrophylla.*..... 30
Esquema 3. Fracionamento cromatográfico de SMH..... 32
Esquema 4. Fracionamento cromatográfico de SMH-6..... 34
Esquema 5. CCDP da fração SMH-6.7 35
Esquema 6. Fracionamento cromatográfico de SMH-9..... 36
Esquema 7. Fracionamento cromatográfico de SMH-18..... 37
Esquema 8. Fracionamento cromatográfico de SMH-22..... 38
Esquema 9. CCDP da fração SMH-22.5 39
Esquema 10. Fracionamento cromatográfico do extrato de SMM..... 41
Esquema 11. Fracionamento cromatográfico do extrato de SMM-1 43
Esquema 12. Fracionamento cromatográfico do extrato de SMM-1.8 44
Esquema 13. Fracionamento cromatográfico de SMM-3 45
Esquema 14. Fracionamento cromatográfico de SMM-3.1 46
Esquema 15. CCDP da fração SMM-3.1.14..... 47
Esquema 16. Fracionamento cromatográfico de SMM-4 48
Esquema 17 Fracionamento cromatográfico de SMM-4.5 49
Esquema 18. Fracionamento cromatográfico de SMM-4.5.7 50
Esquema 19. CCDP da fração SMM-3.1.14..... 51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt – Acetato de etila
APCI – Atmospheric Pressure Chemical Ionization
CC – Cromatografia em Coluna
CCD – Cromatografia em Camada Delgada
$CDCl_3$ – Clorofórmio deuterado
COSY – Correlated Spectroscopy
d – dubleto
dd – duplo dubleto
DCM – Diclorometano
DEPT 135º –Distortionless Enhancement by Polarization Transfer – ângulo 135º
DMSO – Dimetilsulfóxido
EM – Espectrometria de massas
h – altura
Hz – Hertz
Hex – Hexano
HMBC – Heteronuclear Multiple-Bond Correlation
HPLC – High performance liquid chromatography
HSQC – Heteronuclear Single-Quantum Correlation
J – Constante de acoplamento
LMCSAS – Laboratório de Micologia da Coordenação de Sociedade, Ambiente e Saúde
LTM – Laboratório de Tecnologia da Madeira
LQPN – Laboratório de Química de Produtos Naturais
MOBOT – Missouri Botanical Garden
m –multipleto
MeOH – Metanol
MeOD – Metanol deuterado
m/z –Relação massa/carga
NP-PEG – Natural product – polietileno glycol
RMN de ^{1}H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN de ^{13}C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
s – singleto
t – tripleto
UV – Ultravioleta
µg/ml– micrograma por mililitros
δ – Deslocamento químico em parte por milhão
Φ – Diâmetro
1D – unidimensional
2D – bidimensional

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 1
2 OBJETIVOS 3
2.1 Geral 3
2.2 Específicos 3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 4
3.1 Estudos fitoquímicos com resíduos madeireiros 4
3.2 Aspectos botânicos e químicos de Meliaceae 7
3.2.1 Biossíntese dos Limonóides em Meliaceae 8
3.2.2 Classificação dos limonóides em Meliaceae 11
3.2.3 A espécie *Swietenia macrophylla* King 12
3.3 Estudos biológicos 21
3.3.1 Fungos de interesse médico (gêneros *Candida* e *Criptococcus*) 21
3.3.2 Inseticida (*Bemisia tabaci*) 23
4 MATERIAIS E METODOLOGIA UTILIZADA 26
4.1 Métodos cromatográficos 26
4.2 Solventes 26
4.3 Equipamentos e acessórios 27
4.4 Obtenção dos resíduos e identificação botânica das espécies 28
4.5 Identificação botânica da espécie 29
4.6 Procedimento para obtenção dos extratos 30
4.7 Estudos preliminares dos extratos de *Swietenia macrophylla* (Mogno) 31
4.8 Fracionamento do extrato hexânico de *S. macrophylla* (SMH) 31
4.9 Fracionamento do extrato metanólico de *S. macrophylla* (SMM) 31
5 Ensaios Biológicos 40
5.1 Ensaio antifúngico 52
5.1.1 Preparação dos inóculos fúngicos 52
5.1.2 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) 52
5.2 Ensaio Inseticida 54
5.2.1 Criação estoque de *Bemisia tabaci* (mosca branca) 54
5.2.2 Teste de mortalidade 54
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO 56
6.1 Determinação estrutural dos triterpenos isolados em *S.macrophylla* 56
6.1.1 Identificação do composto 5 e 6 (SMH-9.11) 56
6.1.2 Identificação do composto 1 (SMH-15) 61
6.1.3 Identificação da substância 4 (SMH-6.7.P4) 73
6.1.4 . Identificação da substância 11 e 12 (SMM-1.8.6) 83
6.1.5 Identificação do composto 13 (SMM-1.8.10) 96
6.2 Esteróides em Swietenia macrophylla 106
6.2.1 Identificação do composto 7 e 8 (SMH-18.3) 106
6.2.2 Identificação da substância 19 (SMM-13.P2) 110
6.3 Determinação em mistura de triterpeno e esteroide esterificados 118

6.3.1 Identificação dos compostos 2 e 3 (SMH-6.7.P1) 118
6.4 Determinação estrutural de Limonóides em *Swietenia macrophylla* 128
6.4.1 Elucidação da substância 9 e 10 (SMM-22.5.P1) 128
6.4.2 Elucidação estrutural da substância 15 (SMM-3.1.14.3P) 150
6.5 Determinação estrutural de Derivados do benzaldeido em *S. macrophylla* 159
6.5.1 Identificação da substância 16 (SMM-4.5.7.3) 159
6.5.2 Identificação da substância 17 e 18 (SMM-4.5.7.9) 168
6.6 Determinação estrutural de cumarina de *Swietenia macrophylla* 183
6.6.1 Identificação da substância 14 (SMM-3.1.10) 183
6.7 Resultados dos Bioensaios 189
6.7.1 Atividade antifúngica 189
6.7.2 Atividade inseticida sobre as ninfas de *Bemisia tabaci* 191
7 CONCLUSÃO 194
8 REFERÊNCIAS 195

1 INTRODUÇÃO

A região amazônica é detentora de uma enorme extensão florestal que estimula o interesse da comunidade científica pelo grande potencial químico e biológico presente nas plantas e também pelas indústrias madeireiras que utilizam o extrativismo de madeira para impulsionar a economia da região. As atividades extrativas acabam gerando grandes volumes de resíduos madeireiros e muitos são pertencentes a espécies de alto valor comercial e a maioria sem conhecimento químico relatado. Geralmente, esses resíduos do setor madeireiro são descartados de forma inadequada por conta da carência de conhecimento ou gerenciamento desses rejeitos que sobram durante o processamento da madeira.

Em meio a essas observações de descarte, surgiu à oportunidade de seguir uma linha de pesquisa voltada para o aproveitamento químico e busca de princípios ativos desses resíduos madeireiros, visando um emprego mais nobre do mesmo, através de colaborações científicas, como por exemplo, na obtenção de compostos químicos biologicamente ativos. Esse estudo também fornece importantes contribuições tecnológica, socioeconômica e ecológica para o uso desses rejeitos.

As principais espécies madeireiras da região amazônica que são fornecedoras de resíduos pertecem às famílias Anacardiaceae, Bignoniaceae, Burseraceae, Fabaceae, Lauraceae, Lecythidaceae, Meliaceae e Moraceae e podem proporcionar diversificadas classes de metabólitos secundários promissores de potencial farmacológico e/ou biológico.

Dessa forma, buscando agregar valor aos resíduos gerados durante o processamento mecânico de madeira, o presente trabalho teve como objetivo

investigar a composição química dos resíduos de *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae), através de técnicas cromatográficas, principalmente por cromatografia de coluna aberta (sílica gel, sephadex LH-20, celulose microcristalina, poliamida, florisil e outros suportes cromatográficos). As substâncias obtidas após processamento cromatográfico, tiveram sua determinação estrutural baseada em técnicas espectrométricas. A proposta de aliar as investigações fitoquímicas com as atividades biológicas antimicrobiana de interesse clínico e inseticida de importância agrícola, é devido ao interesse por substâncias ativas, visto que, cada vez mais vem crescendo os problemas relacionados à resistência dos microrganismos e insetos aos produtos comerciais disponíveis.

Nos resultados e discussão, estão identificadas todas as substâncias, incluindo todas as caracterizações estruturais e os testes biológicos inseticidas e fungicida, com as substâncias obtidas de *Swietenia Macrophylla.*

Para Phillipson (2001) o êxito da pesquisa na química de produtos naturais, depende muito do grau de interação de um grupo de pesquisa multidisciplinar, nos quais, fitoquímicos, botânicos, farmacologista, bioquímicos, médicos e microbiologistas, corroboram experiências para validar plantas medicinais, propiciando o conhecimento real da diversidade química, visando à obtenção de moléculas farmacologicamente ativas, seja pela investigação dos extratos, frações ou substâncias isoladas.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Agregar importância aos resíduos madeireiros descartados, através de estudo químico dos resíduos de *Swietenia macrophylla* (Meliaceae) buscando atividade antimicrobiana e inseticida com as substâncias isoladas.

2.2 Específicos

- ✓ Realizar os fracionamentos cromatográficos dos extratos orgânicos para isolamento dos constituintes químicos;
- ✓ Identificar e/ou elucidar as estruturas químicas das substâncias isoladas por meio de técnicas espectroscópicas;
- ✓ Realizar ensaio antimicrobiano por técnica de microdiluição em caldo com as substâncias isoladas;
- ✓ Realizar ensaio inseticida com as substâncias frente a ninfas de *Bemisia tabaci*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Estudos fitoquímicos com resíduos madeireiros

Regiões da Amazônia que usam as atividades extrativas de madeira como fontes de renda enfrentam sérios problemas com relação ao aproveitamento de resíduos florestais e madeireiros (BARBOSA *et al.,* 2001). Como alternativas de aproveitamento citadas na literatura para minimizar esta problemática ambiental, encontra-se a fabricação de carvão (COUTO, 2009), produção de adubos orgânicos (CAMPOS e ANDRADE, 2011), geração de energia (SALES *et al.,* 2000; MOUTINHO *et al.,* 2016) e produção de pequenos objetos de madeira (NASCIMENTO, 2007).

Por outro lado, na busca por agregar valor ao material descartado, através de conhecimentos científicos, o Laboratório de Química dos Produtos Naturais (LQPN) do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA), realizou os primeiros estudos com resíduos madeireiros utilizando as partes do cerne e alburno de madeira. A exemplo, Hayasida *et al*. (2008) mostraram excelentes rendimentos de metabólitos secundários isolados a partir de resíduos *Brosimum rubescens* (pau-rainha), do qual obtiveram alto teor de xantiletina (2,35%), uma cumarina reportada por apresentar grande potencial biológico como, atividades antiplaquetária, antifúngica e herbicida (TENG *et al*., 1992; ANAYA *et al.,* 2005; GODOY *et al.,* 2005). Nesse estudo, ficou evidenciado que alburno não produziu xantiletina. Foi identificado apenas o triterpeno 3β-acetoxi-olean-12-eno-28-al e o esteroide *β*-sitosterol (HAYASIDA *et al.,* 2011), sugerindo que a resistência do cerne aos fungos e insetos xilófagos está relacionada com a presença desta cumarina.

Nos estudos fitoquímicos de Garcia *et al.* (2018) com rejeitos de madeira de três espécies de Fabaceae (*Andira parviflora, Dipteryx odorata* e *Swartzia laevicarpa*), resultou no isolamento de um pterocarpano (3′-hidroxi-7,8,4′,5′-tetrametoxipterocarpan) de *Swartzia laevicarpa*, quatro isoflavonas de *Dipteryx odorata* (8-*O*-metilretusina; cladrastina; 7,3′-di-hidroxi-8,4′-dimetoxiisoflavona e 7,3′-di-hidroxi-5,6,4′-trimetoxiisoflavona) e em resíduos de *Andira parviflora* foram identificadas à genisteína, a biochanina A e o 7,5′,6′-trihidroxi-4′-metoxiisoflavano. Segundo os autores, esses compostos explicam a resistência natural dessas três espécies de madeira para fungos xilófagos.

No trabalho de Melo e colaboradores (2020) com serragem da espécie *Handroanthus serratifolius* (Bignoniaceae), também conhecida no Brasil como “ipê-amarelo, utilizando diferentes técnicas cromatográficas isolou as naftoquinonas desidro-*α*-lapachona, desidro-iso-*α*-lapachona e *α*-lapachona, juntamente com as lignanas paulownina e cicloolivil. As três naftoquinonas foram submetidas a ensaio antiplasmódico contra o *Plasmodium falciparum*, onde a desidro-iso-*α*-lapachona foi a mais ativa (IC_{50} de 7,53 µg/mL).

Em outro trabalho, Melo *et al.* (2019) realizaram estudos com resíduos madeireiros de duas espécies de Fabaceae (*Acacia mangium* e *Dipteryx polyphylla*), a qual, conseguiram resultados promissores. O estudo fitoquímico de *D. polyphylla* levou ao isolamento de isoflavanos (3',7-dihidroxi-4'-metoxi-isoflavano; 2',8-dihidroxi-4',7-dimetoxi-isoflavano; 2',7-dihidroxi-4'-metoxiisoflavano e 3',8-dihidroxi-4',7-dimetoxiisoflavano) e de resíduos de *A. mangium* foram isolados três fenóis monocíclicos (ácido ferúlico; metilparabeno; 4-hidroxibenzaldeído); um flavonol (melatoxetina) e ésteres de ácidos graxos de espinasterol. Os autores do trabalho agregam valor para resíduos sólidos e

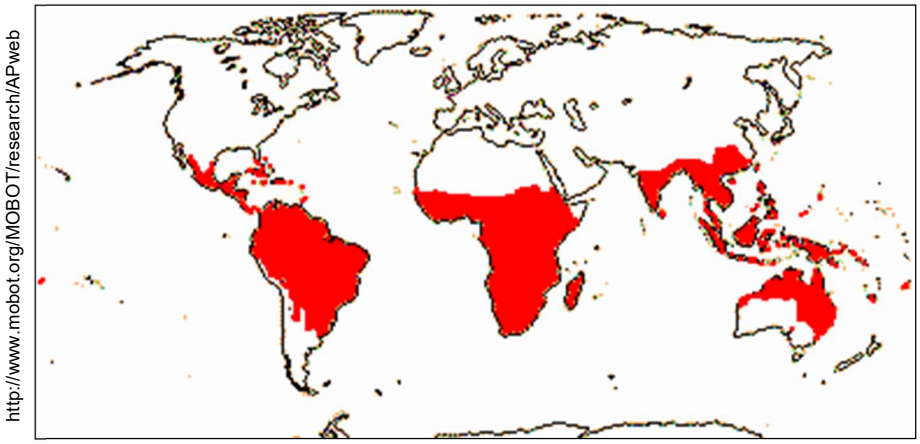
espécies de plantio recomendadas para reflorestamento, pois, os compostos fenólicos isolados e identificados no trabalho contribuem tanto para o conhecimento, quanto à resistência natural de suas madeiras.

Mais recentemente, Rodrigues *et al.* (2022) fizeram investigação dos resíduos de *Roupala montana* (Proteaceae) e os estudos mostram a predominância de metabólitos derivados do 5-alquilresorcinol (resorcinol bilabol; etildehidrogravipano; 5-[14”-1',3'-diidroxifenil)-cis-tetradec-8'-eno-1il] resorcinol; dehidrogravipano e bis-norstriatol). Destes, o composto etildehidrogravipano mostrou atividade potente contra os fungos *Cryptococcus neoformans* e *C. gattii* com CIM de 5 e 10 µg/mL, respectivamente, e também inibiram a forma promastigota de *Leishmania amazonensis* (IC_{50} = 47,0 µg/mL).

Estudos nessa mesma linha de pesquisa são frequentemente encontrados por pesquisadores do Laboratório de Química dos Produtos Naturais (LQPN), a exemplo, são os trabalhos com as espécies de Fabaceae (GOMES, 2015; SOUZA, 2018; LIMA *et al.,* 2022), Meliaceae (HAYASIDA, 2015; NOGUEIRA, 2018) Moraceae e Lecythidaceae (HAYASIDA, 2015), Burseraceae (SILVA, 2015; SANTOS *et al*., 2021). Para o presente trabalho, foram estudados os resíduos madeireiros de *Swietenia macrophylla* King, pertencente à família Meliaceae, que segundo a classificação do APG (2022), pertencem a ordem Sapindales, juntamente com outras 8 famílias.

3.2 Aspectos botânicos e químicos de Meliaceae

A família Meliaceae ocorre em regiões Pantropicais (Figura 1), é pertencente à ordem Sapindales = Rutales, formada por 50 gêneros e aproximadamente 705 espécies entre árvores e arbustos (APG, 2022). No Brasil, 6 gêneros ocorrem naturalmente*: Cabralea, Carapa, Cedrela*, *Guarea, Trichilia* e *Swietenia* (PENNINGTON *et al.*, 1981).



Fonte: Mobot, 2022

Figura 1. Distribuição da família Meliaceae

Do ponto de vista econômico é uma das famílias mais importantes de plantas por apresentarem madeiras de boa qualidade, com destaque para o cedro-branco (*Cedrela fissilis*), Carapa (*Carapa guianensis) e* mogno (*Swietenia macrophylla* King).

Do ponto de vista químico, as plantas da família Meliaceae são caracterizadas pela predominância de limonóides, que são triterpenos altamente oxigenados e também conhecidos na literatura como tetranorterpenoides (TAYLOR, 1984; ROY e SARAF, 2006). Embora, centenas de limonóides tenham sido isolados de várias plantas, sua ocorrência no reino vegetal está restrita a algumas famílias da ordem Sapindales (=Rutales) com predominância em famílias

de Meliaceae e Rutaceae, e menos frequente em Cneoraceae e Simaroubaceae (ROY e SARAF, 2006).

Os limonóides são conhecidos pelo alto potencial biológico, especialmente a atividade inseticida, entre outras, como antifúngica, bactericida e antiviral (CHAMPAGNE *et al.* 1992). Dentre esses, o limonóide azadiractina (Figura 2), extraída do neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) é o mais investigado devido ao enorme potencial ativo e a eficiência em baixas concentrações. Geralmente, os produtos derivados do neem, como (*Azamax*®), feito à base do limonóide azadiractina, apresentam ação inseticida/acaricida e baixíssima toxicidade aos mamíferos nas doses empregadas no controle dos mesmos (BEARD, 1989; SCHMUTTERER, 1990). A azadiractina é tóxica a insetos, tem efeito de repelência e inibe a alimentação e crescimento destes (MORDUE e BLACKELL, 1993).

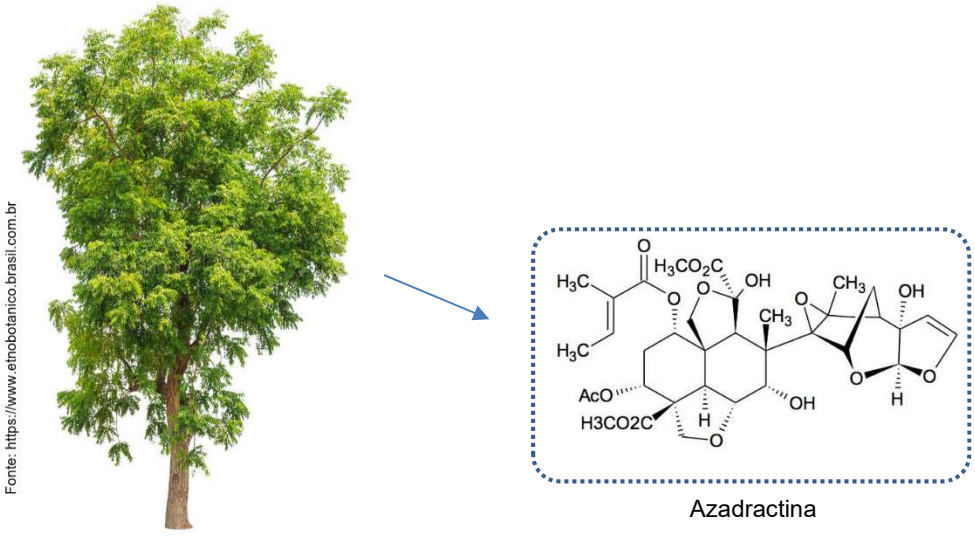


Figura 2. Limonóide de *Azadirachta indica* com atividade inseticida

3.2.1 Biossíntese dos limonóides em Meliaceae

A rota biossintética dos limonóides prevê os triterpenos tetracíclicos eufol e tirucalol, como precursores biossintéticos (Figura 3). Resumidamente, após a epoxidação do butirospermol, a abertura do sistema 7,8 epóxido, permite a

migração do grupo metil (C-14) para a posição 8, criando desta forma, uma insaturação na posição 14 com um grupo hidroxila em C-7. A degradação oxidativa na cadeia lateral C-17, caracterizada pela perda de quatro átomos de carbono, resulta em um anel furano β-substituído, formando um tetranortriterpenoide (esqueleto básico), visto na maioria dos limonoides.

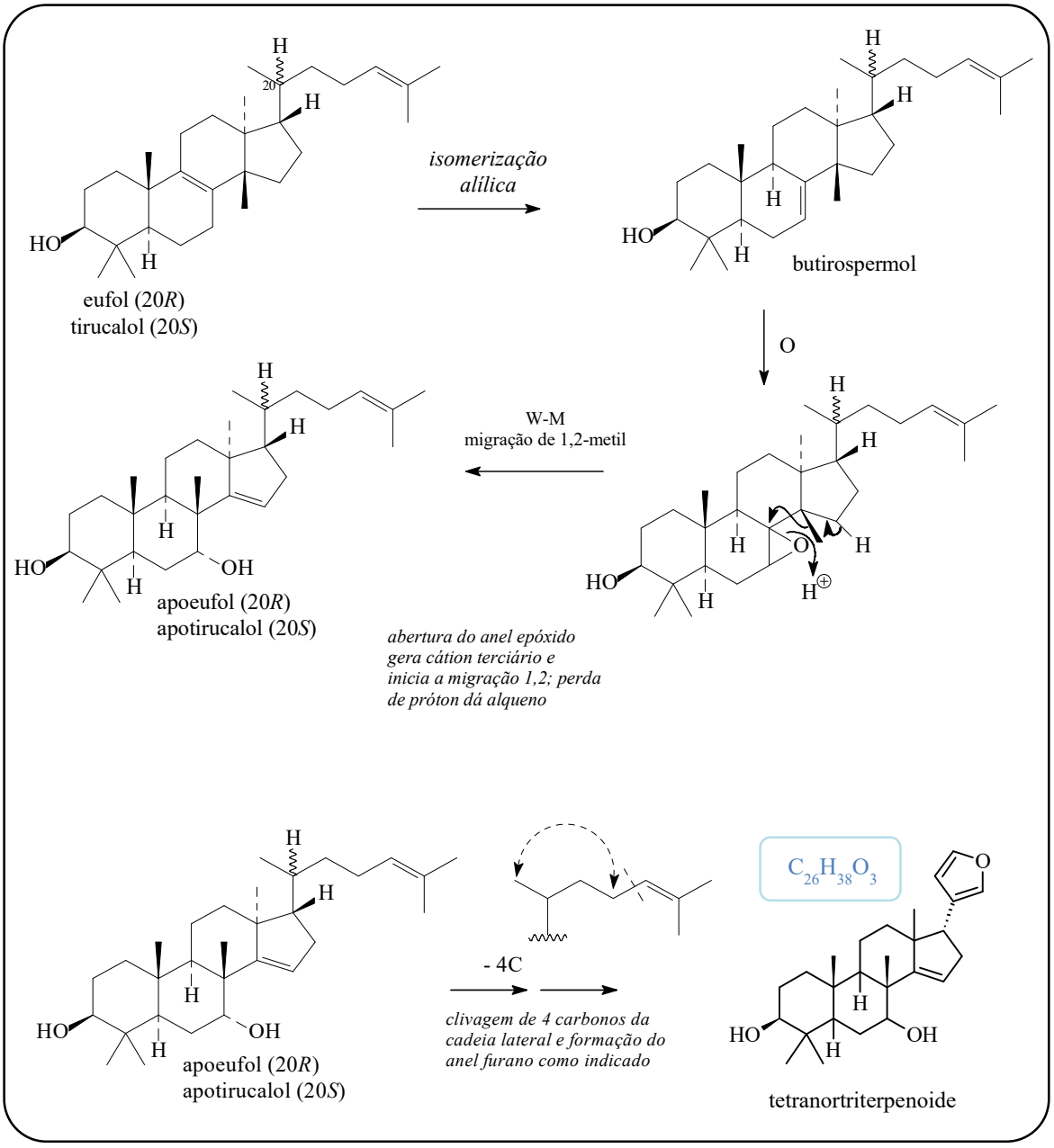


Figura 3. Biossíntese de limonoides (DEWICK, 2004).

A partir dessa estrutura base, outras oxidações e rearranjos esqueléticos em um ou mais dos quatro anéis, que são designados como A, B, C e D, dão origem

a diferentes grupos de limonóides encontrados na família meliaceae (Figura 4). Vale ressaltar que, os limonoides C-seco são restritos em apenas dois gêneros (*Azadirachta* e *Melia*) da família meliaceae (TAN *et al.,* 2011).

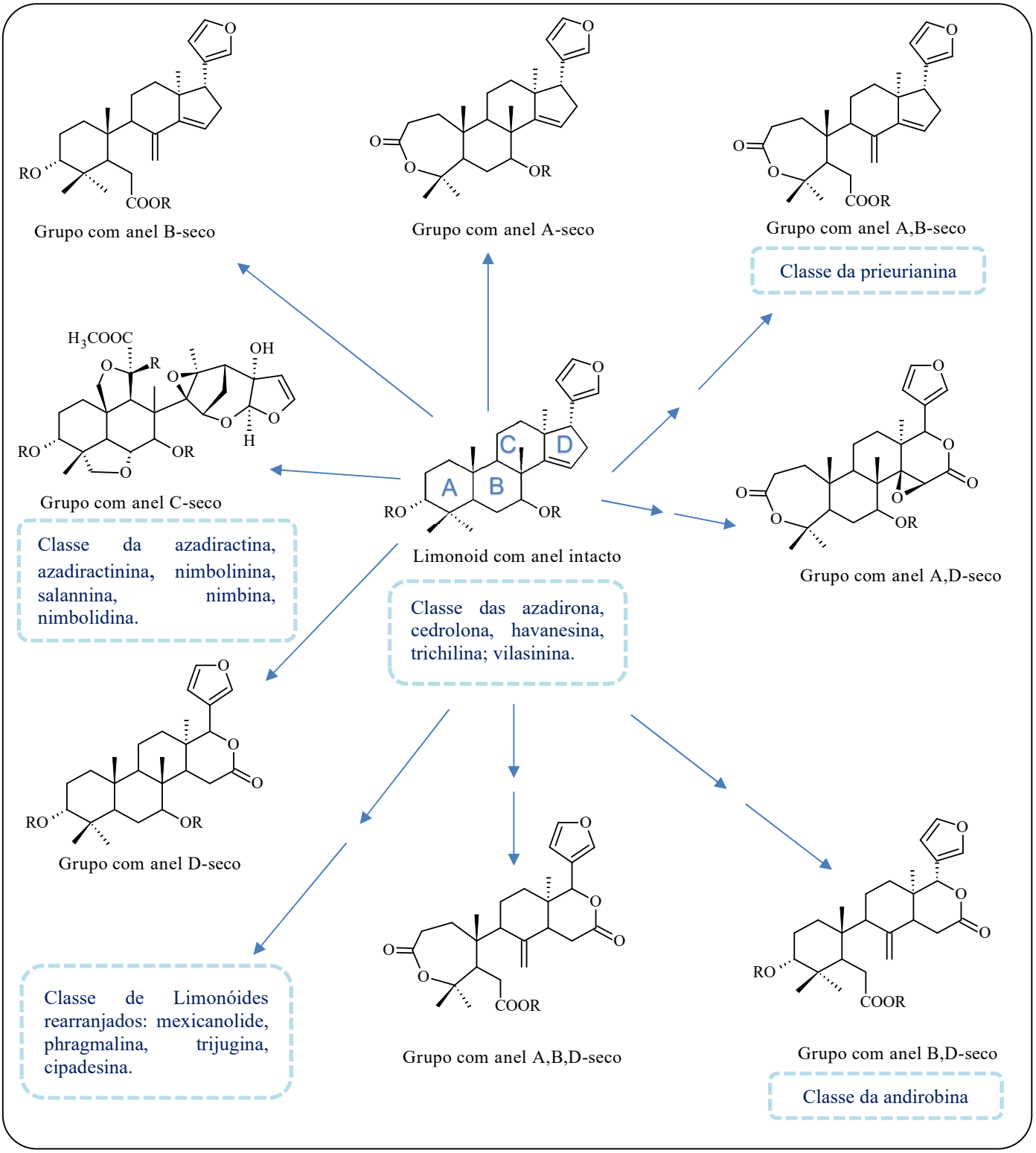


Figura 4. Principais esqueletos de limonóides em Meliaceae (TAN *et al.,* 2011)

3.2.2 Classificação dos limonóides em Meliaceae

No passado, TAYLOR (1984), classificava os limonóides encontrados nas espécies de Meliaceae em 11 grupos, nas quais eram baseados nos diferentes tipos de anéis ou padrão de esqueleto carbônico. Mas, com o avanço da pesquisa, várias estruturas novas de limonóides continuam sendo encontradas. Pensando nisso, Fang e colaboradores (2011) forneceram revisões necessárias para incorporar os progressos na química de limonóides da família Meliaceae. Concentrando-se, principalmente na identificação de novos esqueletos e sistema de anéis de limonóides, de acordo com sua categoria e relação biossintética, os resultados são evidenciados na tabela 1.

Tabela 1. Classificação dos limonóides (FANG *et al.,* 2011)

Classificação	Tipo	Anel A	Anel B	Anel C	Anel D	Cadeia lateral
Ia	Havanensina	Intacto	Intacto	Intacto	Intacto	Furano
Ib	Delevoyina	Intacto	Intacto	Expandido	Intacto	Lactona
II	Gedunina	Intacto	Intacto	Intacto	Lactona	Furano
IIIa	Secomahoganina	Intacto	Aberto	Intacto	Lactona	Furano
IIIb	Andirobina	Intacto	Aberto	Intacto	Lactona	Furano
IIIc	Cipadonoide	Modificado	Aberto	Intacto	Lactona	Furano
IIId	Cipadesina	Intacto	Aberto	Modificado	Lactona	Furano
IIIe	Trijugina	Intacto	Aberto	Contraído	Lactona	Furano
IIIf	30-Nortrijugin	Modificado	Aberto	Contraído	Lactona	Furano
IIIg	Mexicanolídeo	Intacto	Reciclizado	Intacto	Lactona	Furano
IIIh	Fragmalina	Modificado	Reciclizado	Intacto	Lactona	Furano
IIIi	Ecuadorina	Intacto	Reaberto	Intacto	Lactona	Furano
IIIj	Dukunolideo	Modificado	Reciclizado	Intacto	Lactona	Furano
IIIk	Entilina	Modificado	Reaberto	Intacto	Modificado	Furano
IIIℓ	1(2→30) Abeo phragmalina	Expandido	Contraído	Intacto	Lactona	Furano
IIIm	Khayalactona	Contraído	Expandido	Intacto	Lactona	Furano
IIIn	8, 30-Seco khayalactona	Contraído	Reaberto	Intacto	Lactona	Furano
IIIo	30(8→9) Abeo ecuadorina	Intacto	Reaberto	Intacto	Lactona	Furano
IVa	Evodulona	Lactone	Intacto	Intacto	Intacto	Furano
IVb	Neotecleanina	Reciclizado	Intacto	Intacto	Intacto	Furano
IVc	Carapaspirolactona	Contraído	Intacto	Intacto	Intacto	Furano
Va	Obacunol	Lactone	Intacto	Intacto	Lactona	Furano
Vb	16,17-Seco carapaspirolactona	Contraído	Intacto	Intacto	Lactona	Furano
VIa	Carapolideo	Contraído	Aberto	Intacto	Lactona	Furano

VIb	Ivorensato de Metila	Lactona	Aberto	Intacto	Lactona	Furano
VIc	4,5-Seco-7-nortrijugina	Modificado	Aberto	Intacto	Lactona	Furano
VII	Toonafolina	Intacto	Aberto	Intacto	Intacto	Furano
VIII	Prieurianina	Aberto	Aberto	Intacto	Lactone	Furano
IXa	Nimbina	Intacto	Intacto	Aberto	Intacto	Furano
IXb	Vokensina	Intacto	Intacto	Reciclizado	Intacto	Furano
IXc	Walsogyne	Intacto	Intacto	Aberto	Intacto	Lactona
X	Xylogranatina	Intacto	Aberto	Aberto	Lactone	Furano
XI	Guyanina	Aberto	Reciclizado	Contraído	Lactone	Furano

I Limonoides com anel intacto; **II** Limonoides com anel D-seco; **III** limonoides com anéis B,D-seco; **IV** Limonoides com anel A-seco; **V** Limonoides com anéis A,D-seco; **VI** Limonoides com anéis A,B,D-seco; **VII** Limonoides com anel B-seco; **VIII** Limonoides com anéis A,B-seco; **IX** Limonoides com aneis C-seco; **X** limonoides com anéis B,C,D-seco; **XI** limonoides com anéis A,B,C,D-seco.

3.2.3 A espécie *Swietenia macrophylla* King

A *Swietenia macrophylla* (King) apresenta uma rica sinonímia botânica, derivada da sua variabilidade morfológica: *S. belizensis* Lundell, *S. candollei* Pittier, *S. krukovii* Gleason, *S. macrophylla var. marabaensis* Ledoux & Lobato e *S. tessmannii* Harms (TROPICOS, 2022). No Brasil essa espécie é popularmente conhecida como mogno, aguano ou mogno-brasileiro (Figura 5).



Fonte: Trópicos (2022)

Figura 5. Parte aérea de *Swietenia macrophylla* King (mogno).

Uma árvore robusta que domina o dossel da floresta, as maiores árvores atingem dimensões próximas de 70 metros, seu tronco pode atingir 3,5 metros de

diâmetro e a copa chega de 40 a 50 metros de largura (GROGAN *et al.,* 2002; CARVALHO, 2007). A área de ocorrência natural do mogno estende-se desde Yucatán no México passando pela costa atlântica da América Central, Colômbia e Venezuela até as zonas de baixa altitude da Amazônia Ocidental do Equador, Peru, Brasil e Bolívia (PENNINGTON *et al.,*1981; LAMPRECHT, 1990).

A madeira desta espécie é valorizada por sua cor atrativa, durabilidade, estabilidade dimensional e pelo fácil manuseio, que lhe confere a fama no mercado internacional e a cobiça pelo setor madeireiro, para a produção de mobiliários de luxo, instrumentos musicais, painéis, objetos de adorno, laminados, embarcações leves (CARVALHO, 2007) e na construção civil.

Por essas características, essa espécie durante anos passou por intensas explorações de suas reservas naturais, contribuindo para o desenvolvimento de um mercado altamente rentável no passado, tornando-se uma das espécies madeireiras mais preciosas do mundo. A comercialização do mogno começou há quase cinco séculos com *Swetenia mahagoni*, no Caribe, que após a extinção comercial deste recurso, o comércio passou a centrar-se nas populações de mogno na América do Sul e Central com *S. macrophylla* (RODAN *et al*., 1992; SNOOK, 1992; VERISSIMO *et al.,* 1995). Segundo informações do Instituto do Homem e Meio Ambiente da Amazônia – IMAZON (2022), no ano de 2001, um metro cúbico de mogno serrado de qualidade superior era vendido por cerca de US$ 1.200 (preço FOB). Somente entre 1971 e 2001, o Brasil exportou aproximadamente 4 milhões de metros cúbicos de mogno serrado para o mercado internacional (SNOOK, 1992; IMAZON, 2022). A incapacidade de controlar esse comércio lucrativo acabou deixando a espécie de mogno em risco de extinção, forçando desta forma, os órgãos competentes a decretar a Lei de número 3.559,

de 14 de agosto de 2000, que suspende na Região Amazônica a exploração de *S. macrophylla* (DOU, 2000). Diante disso, grupos ambientais preocupados com a extinção desta espécie fornecem estudos para a sua inserção em programas de reflorestamento nos trópicos (CHIMELI e BOYD, 2010). A exemplo, são os estudos de silvicultura que têm sido bastante referenciados na literatura para assegurar o bom emprego das técnicas e métodos de plantio e manejo, que visam garantir a conservação e o uso sustentado dessa espécie (GROGAN *et al.,* 2002; COSTA *et al*., 2013).

Do ponto de vista químico, os limonóides são os constituintes predominantes, principalmente nas sementes desta espécie, mas são isolados também de galhos, raízes, frutos e folhas, conforme mostra a tabela 2. Entre, os limonóides mais promissores das sementes com potencial biológico, os compostos swietemacrophina, 3-*O*-tigloilswietenolideo, swietemahonina E e swietenina (Figura 6) mostraram potente atividade anti-inflamatória (CHEN *et al.,* 2015). Outros limonóides ativos identificados na espécie são swietenolideo; 6-*O*-cetylswietenolideo; 3,6-*O,O*-diacetilswietinolideo e swietemahonina F (Figura 7) com atividade antifágico em larvas de *Spodoptera frugiperda* (MOOTOO *et al*., 1999).

Tabela 2. Limonóides isoladas em *Swietenia macrophylla* King

SUBSTÂNCIAS [PARTE VEGETATIVA]	**REFERÊNCIAS**
swietenina [S][1], [Ft][2]	Connolly *et al.,* (1965)[1]; Connolly e Labbé (1980)[1]; Solomon *et al.,* (2003)[1]; Ma *et al*., (2017)[1] Duan *et al.,* (2021)[2]
swietenolideo [S][1], [Ft][2]	
swietenina acetato [S][1]	Ma *et al*., (2017)[1] Taylor (1983)[1]
swietenolideo tiglate [S][1]	Taylor (1983)[1]
swietenolideo di-acetato [S][1]	
8,30-epoxi swietenina acetato [S][1]	

metil 3β-tigloiloxi-2,6-dihidroxi-1-oxo-meliac-8(30)-enato [S][1]	Kojima *et al.,* (1998)[1]
metil 3β-tigloiloxi-2-hidroxi-1-oxo-meliac-8(30)-enato [S][1]	
metil 3β-tigloiloxi-2-hidroxi-8α,30α-epoxi-1-oxo-meliacate [S][1]	
metil 3β-acetoxi-2,6-dihidroxi-8α,30α-epoxi-1-oxo-meliacato [S][1]	
metil3β-isobutiriloxi-2, 6-dihidroxi-8α, 30α-epoxi-1-oxo-meliacato[S][1]	
augustineolideo [S][1]	Mootoo *et al.,* (1999)[1]
3 β,6-dihidroxidihidrocarapina [S][1]	
3,6-*O,O*-diacetilswietenolideo [S][1], [Ft][2]	Fowles *et al.,* (2007)[1]
	Duan et al., (2021)[2]
	Ma *et al*., (2017)[1]
6-*O*-acetilswietephragmina E [F] [3]	Silva *et al.,* (2008)[3]
3β-*O*-destigloil-3β-*O*-benzoil- 6-*O*-acetilswietephragmina E [F][3]	
12α-acetoxiswietephragmina C [F] [3] [R][5]	Silva *et al.,* (2008)[3] Mi *et al*., (2018)[5]
3β-*O*-destigloil-3β-O-benzoil-12α-acetoxiswietephragmina C [F][3]	Silva *et al.,* (2008)[3]
12α-acetoxiswietephragmina D [F][3]	
3β-*O*-destigloil-3β-*O*-benzoyl-12α-acetoxiswietephragmina D [F][3]	
swietenolideo monohidrato [F][3]	Tan *et al.,* (2008)[3]
swietenitina A [G][4]	Lin *et al.,* (2009) [4]
swietenitina B [G] [4]	
swietenitina C [G] [4]	
swietenitina D [G] [4]	
swietenitina E [G] [4]	
swietenitina F [G] [4]	
swietenitina G [G] [4]	
swietenitina H [G] [4]	
swietenitina I [G] [4]	
swietenitina J [G] [4]	
swietenitina K [G] [4]	
swietenitina L [G] [4]	
swietenitina M [G] [4]	
2-acetoxiswietenialideo D [G] [4]	
2,11-disacetoxiswietenialideo D [G] [4]	
11-desoxiswietenialideo D [G] [4]	
swietephragmin H [F][3]	Tan *et al.,* (2009)[3]
swietephragmin I [F][3]	
swietephragmin J [F][3]	
swietemacrophine [F][3]	
6-*O*-acetil-3′-dimetilswietephragmina E [S][1]	Chen *et al.,* (2010)[1] Ma *et al*., (2017)[1] Duan *et al.,* (2021)[2]
3-*O*-tigloylswietenolideo [S][1], [Ft][2]	
khayasina T [S][1], [Ft][2]	
6-*O*-acetilswietemahonina G [S][1]	
3-*O*-tigloil-6-*O*-acetilswietenolideo [S][1]	
6-*O*-acetilswietenolideo [S][1]	Goh *et al.,* (2010)[1]
swietenolideo diacetato [S][1]	
swietenina J [F][3]	Liu *et al.,* (2012)[3]

metil-6-β-hidroxiangolensato [F][3]	
1-*O*-acetilkhayanolideo A [F][3]	
khayanolideo E [F][3]	
khayalactona [F][3]	
khayanona [F][3]	
1-*O*-acetilkhayanolideo B [F][3]	
1-*O*-desacetilkhayanolideo E [F][3]	
khayanolido A e B [F] [3]	
Swielimonoides A [S][1]	Cheng *et al.,* (2014)[1] Duan *et al*., (2021)[2] Ma *et al*., (2018)[2] Ma *et al*., (2017)[1]
swielimonoid B [S][1] , [Ft][2]	
swielimonoid C [S][1]	
swielimonoid D [S][1] ,[Ft][2]	
swielimonoid E [S][1]	
swielimonoid F [S][1]	
swietemahonina E [S][1]	
swietemahonina F [S][1]	
swietemahonina G [S][1]	
andirobina [S][1], [Ft][2]	
7-desacetoxi-7-α-hidroxigedunina [S][1], [Ft][2]	
metil angolensato [S][1], [Ft][2]	
proceranolideo [S][1]	
swietemacrofina [S][1]	Chen *et al.,* (2015)[1]
3-O-Propionylproceranolide [S][1]	Ma *et al*., (2017)[1]
6-O-Acetylswietenin B [S][1]	
6-Deoxyswietemahonin A [S][1]	
granatumin H [S][1]	
swietemahonin B [S][1]	
2-dehydroxyl-swietephragmina C [R][5]	Mi *et al*., (2018)[5]
6-deoxijacareubin [R][5]	
swietephragmin C [R][5]	
swietemacrolides A [Ft][2]	Ma *et al*., (2017)[1] Ma *et al*., (2018)[2]
swietemacrolides B [Ft][2]	
swietemacrolides C [Ft][2]	
swietemacrolides D [Ft][2]	
swieteliacate D [Ft][2]	
Mahagonina [Ft][2]	
7-desacetylgedunina [Ft][2]	
6α-acetoxepoxazadiradiona [Ft][2]	
metil ango-lensate [Ft][2]	
chisocheton A [Ft][2]	
Secomahoganina [Ft][2], [S][1]	Ma *et al.,* (2018)[2] Ma *et al*., (2017)[1] Duan *et al.,* (2021)[2]
6-deoxiswietenina [Ft][2], [S][1]	
7-deacetoxi-7-oxogedunina [Ft][2]	
fissinolideo [Ft][2], [S][1]	
proceranolideo [Ft][2], [S][1]	

[S][1]=Sementes; [Ft][2]=Frutos; [F][3]= Folhas; [G][4]=Galhos; [R][5]=Raiz

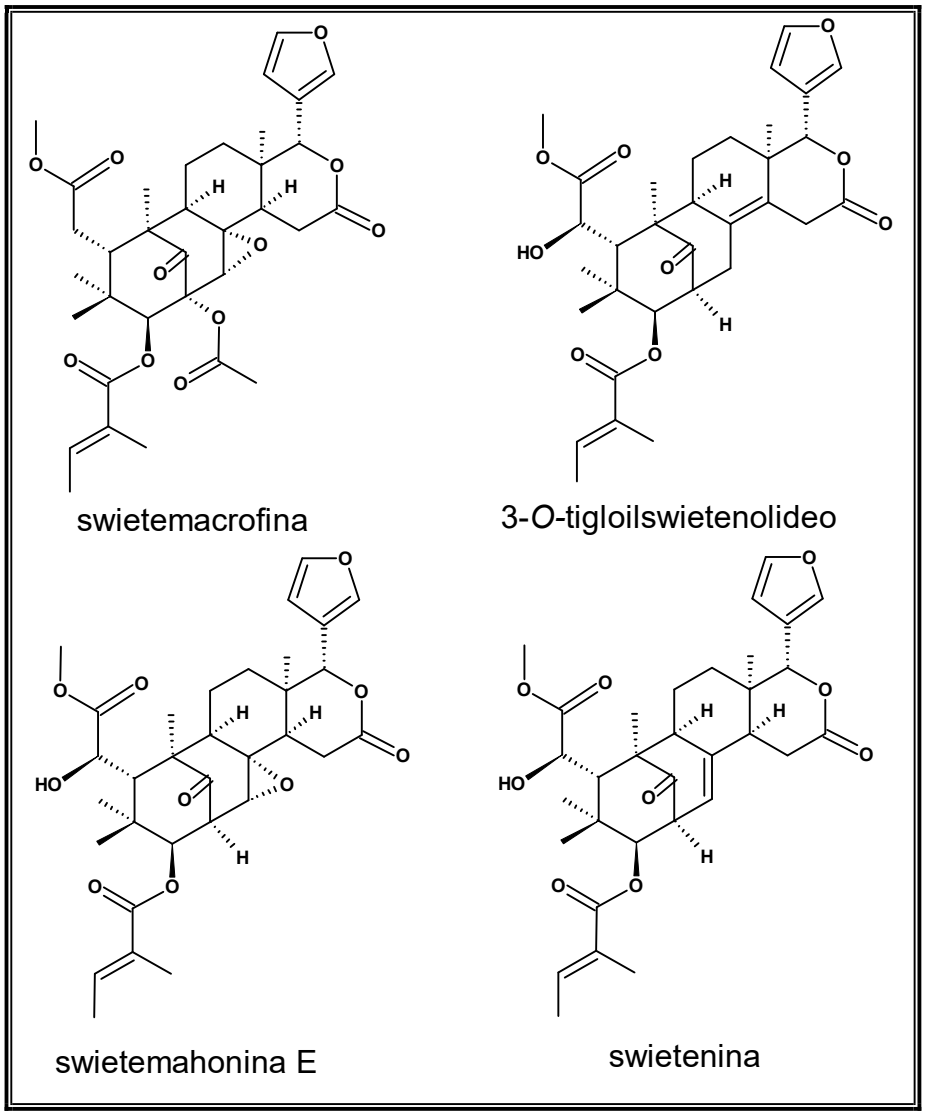


Figura 6. Limonóides de *S. macrophylla* com atividade anti-inflamatória

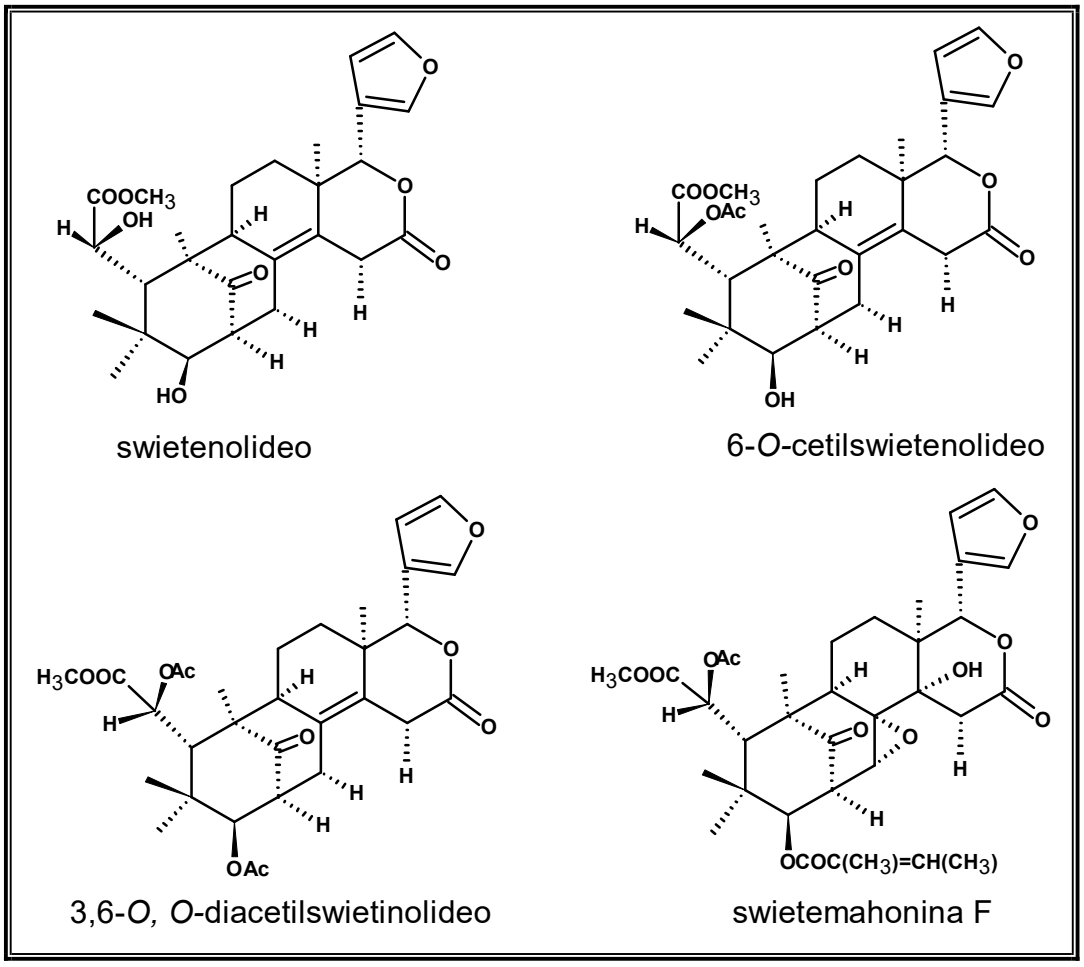


Figura 7. Limonóides de *S. macrophylla* com atividade antifágico

Outras substâncias relatadas em *Swietenia macrophylla* são cumarinas, esteróides e éster de ácido graxo em semente, flavonoides em casca e poliacetilenos em raiz (Tabela 3). No estudo de Mi *et al.* (2019), os sete poliacetilenos isolados (Figura 8), apresentaram atividade de citotoxicidade contra as linhagens celulares de carcinoma hepatocelular humano (BEL-7402), leucemia mielóide humana (K562) e carcinoma gástrico humano (SGC-7901).

Tabela 3. Outras substâncias identificadas em *Swietenia macrophylla*

CLASSE	SUBSTÂNCIA	PARTE VEGETATIVA	REFERÊNCIAS
Cumarina	escopoletina	Semente	Chen *et al.,* (2010)
Esteróides	β-sitostenona	Semente	Chen *et al.,* (2010)
	3β-hidroxiestigmast-5-en-7-ona		
	β-sitosterol		
	estigmasterol		
Éster de ácido graxo	éster metílico de ácido esteárico	Semente	Chen *et al.,* (2010)
Flavonóides	swietemacrophilanina	Casca	Falah *et al.,* (2008)
	catequina		
	epicatequina		
Poliacetilenos	Heptadeca-9-eno-4,6-dieno-3,11-diol	Raiz	Mi *et al.,* 2019
	(E)-Heptadeca-8-eno-4,6-dieno-3,10,11-triol		
	10-Metoxiheptadeca-4,6-dieno-3,9-diol		
	Tetradeca-1,3-dieno-6,7,8-triol		
	6,7,8,9-Tetraacetoxitetradeca-1,3-dieno		

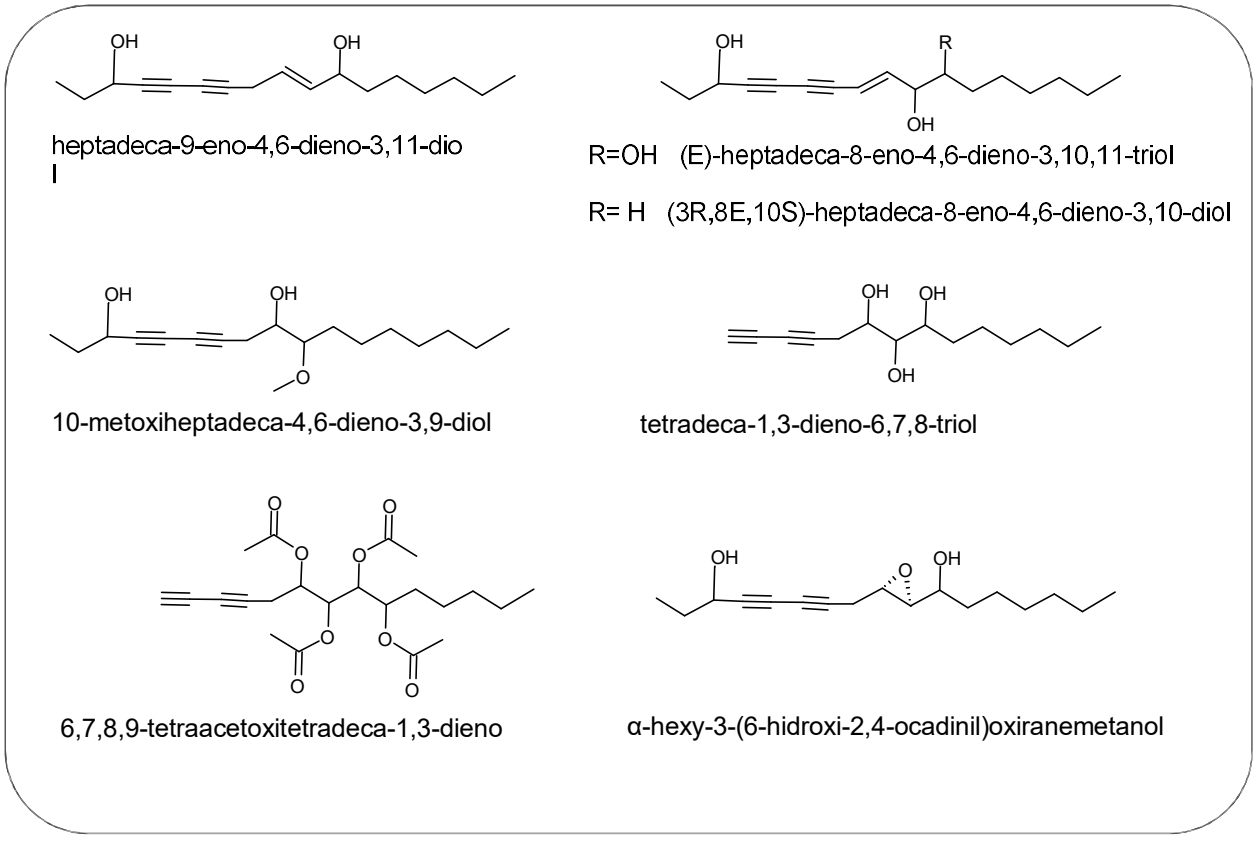


Figura 8. Poliacetilenos de *S. macrophylla* com atividade anticancerígena

Pamplona *et al.* (2015) identificaram por CL-IES-EM/EM no extrato aquoso de folhas de *S. macrophylla*, 27 compostos fenólicos sendo 9 ácidos fenólicos e 18 flavonóides, particulamente do tipo 3-*O*-flavonol. O chá da folha da espécie mostrou atividade antioxidante em ensaio com animais de laboratório.

Outros relatos de atividade biológica com *S. macrophylla* foram efetuados utilizando extratos de diferentes partes vegetativas. Atividade citotóxica foi verificada no extrato etanólico da semente e mostrou atividade em carcinoma de cólon (GOH *e* KADIR, 2011). Os extratos metanólicos de folhas e cascas apresentaram atividade em bactérias Gram-positivas (DEWANJEE *et al.,* 2007; TAN *et al.,* 2009). Em teste com extrato metanólico de sementes ao efeito antidiabético em animais de laboratório ficou evidenciado os efeitos hipoglicêmico e hipolipidêmico (MAITI *et al.,* 2008).

Mais recentemente foi detectada a atividade acaricida em *Varroa destructor* (praga de abelhas *Apis mellifera* e *Apis ceranan*) nos extratos etanólicos de folhas e casca (ZALABANI *et al.,* 2012).

Apesar de vários estudos apresentarem resultados expressivos no isolamento de vários metabolitos secundários, usando diferentes partes vegetativas de *S. macrophylla*. Os estudos com descrição do perfil químico da madeira são raros na literatura devido à falta de material vegetal disponível, visto que, essa espécie é pertencente a ecossistema ameaçado e protegida por grupos ambientais, porém, são estudos extremamente importantes para a compreensão química e biológica. A oportunidade de realizar estudos fitoquímicos com madeira de mogno, proveniente da reforma de um prédio abandonado com mais de 30 anos, juntamente com a realização de ensaios antifúngicos e inseticida, são descritos nesse trabalho.

3.3 Estudos biológicos

3.3.1 Fungos de interesse médico (gêneros *Candida* e *Criptococcus*)

Os fungos são seres eucariontes pertencentes ao reino Fungi e apresentam-se como micro-organismos uni ou multicelulares. Esse reino apresenta uma grande biodiversidade de espécies e várias delas são encontradas em diferentes tipos de ambientes, contudo a grande maioria vive de forma saprofítica, podendo viver também como simbiontes ou parasitas (PEREIRA e BARROS, 2012; TAKAHASHI *et al*., 2017).

As espécies de *Cryptococcus* e *Candida* são os principais agentes causadores de micoses superficial, cutânea, subcutânea e sistêmica. Uma das infecções mais frequentes é a criptococose causada pelo gênero *Cryptococcus*, uma doença fúngica e oportunista que pode infectar tanto humanos, quanto animais (KAMAL e AL-HADAD, 2023). A criptococose é considerada uma das micoses que mais infecta indivíduos imunocomprometidos e os principais agentes causadores são *Cryptococcus gattii e C. neoformans* encontrados em fezes de pombos e outras aves. A doença atinge diferentes tipos de indivíduos, porém seu principal mecanismo de infecção é a supressão imunológica, isto é, indivíduos que possuem diabetes, HIV, doença hepática crônica, entre outros, são os mais suscetíveis ao desenvolvimento da doença (KAMAL e AL-HADAD, 2023; SOUZA, 2020). Segundo Park e colaboradores (2009) a incidência de criptococose no mundo é de aproximadamente 1 milhão de pessoas e causa cerca de 600 mil mortes por ano, sendo que o maior número de relatos de óbitos é de pacientes portadores do vírus HIV que desenvolveram meningite criptocócica (LEIMANN e KOIFMAN, 2008).

Já as espécies de *Candida,* principalmente a *C. albicans*, são agentes causadores de aproximadamente 63-70% de todas as infecções fúngicas

hospitalares, representando assim uma grande dificuldade em diagnósticos e tratamentos terapêuticos para diferentes casos clínicos. No entanto, dados apontam que cerca de 30% das infecções hospitalares se devem a outras espécies e não a *C. albicans*, como a *Pichia kudriavzevii* (nomeada antes de *C. krusei*)*, C. parapsilosis, C. guilliermondii e C. kefyr* (SAMARANAYAKE, 1994; GÓMEZ-GAVIRIA *et al*., 2023). As infecções por *Candida* podem ser categorizadas em superficiais e invasivas, isto é, as superficiais podem ocorrer em pacientes saudáveis que desenvolvem infecções de pele e mucosas, porém há poucas alterações no local infectado, como por exemplo a *Candida* na vagina. Já as doenças invasivas podem comprometer as vísceras por invasão sistêmica de órgãos e tecidos com disseminação sanguínea (KRETZER, 2015; COLOMBO e GUIMARÃES, 2003). A importância de identificar os principais agentes consiste na escolha do melhor tratamento terapêutico, pois a *C. albicans* é naturalmente sensível a todas as drogas antifúngicas, porém a *C. krusei* é completamente resistente a fluconazol e necessita de doses maiores de anfotericina B (KRETZER, 2015; GÓMEZ-GAVIRIA *et al*., 2023).

Considerando os problemas de infecções por espécies de *Cryptococcus* e *Candida* reportados acima e a resistência desses microrganismos aos fungicidas atuais, um dos focos deste trabalho foi investigar a atividade fungicida das substâncias oriundas de resíduos madeireiros.

3.3.2 Inseticida (*Bemisia tabaci*)

Em estudo de Gatehouse *et al.* (1992) as perdas na produção da agricultura em todo o mundo são devido aos ataques de pragas e doenças que causam severos prejuízos, na qual destes, 13% são causados apenas por insetos. Em razão disso, um enorme volume de inseticidas é destinado anualmente na agricultura, tornando cada vez mais cara a produção, além de trazer riscos de contaminação ao ambiente por produtos tóxicos, problemas de saúde aos agricultores e consumidores (ROBBS e BITTENCOURT*.,* 1996; GALLO *et al.,* 2002).

Entre os insetos, a *Bemisia tabaci* (mosca branca) que foi relatada pela primeira vez na Grécia em 1889 e no Brasil em 1923 (BONDAR, 1928) é considerado de grande importância agrícola mundialmente. Esta espécie apresenta ovos no formato de pêra e são depositados na parte abaxial das folhas, que ao eclodir, as ninfas, translúcidas e amarelo-palha, são capazes de se locomover (Figura 9). Geralmente, os insetos adultos apresentam porte pequeno e medem de 1 a 2 mm de comprimento e 0,36 a 0,51 mm de largura. Vale ressaltar que, a fêmea é maior que o macho, possuindo ambos o dorso amarelo-pálido e as asas brancas (GILL, 1990; MARTIN *et al.,* 2000).



Fonte: https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/

Figura 9. Ninfas e adultos de *Bemisia tabaci*

Este inseto tem intensa adaptação em diversas culturas de plantas que servem como hospedeiro. Causa danos severos, pois na primeira ecdise, se fixam nas folhas para succionar a seiva da planta até que se tornem adultos, uma vez que este apresenta um tipo de aparelho digestivo diferenciado nomeado de "câmara-filtro", ou seja, um mecanismo de sucção, na qual é aproveitado somente o suco concentrado e permite que o excesso do alimento sugado seja excretado em forma de gotículas adocicadas chamadas de *honeydew* (GALLO *et al*., 2002; CAMARGO, 2011) .

No Brasil, nas lavouras no Mato Grosso, os produtores têm enfrentado agressivos aumentos da população de mosca branca no final da safra de soja (EMBRAPA, 2014). Em plantas como a soja, o perigo do inseto está na transmissão do vírus da "necrose-da-haste" do grupo dos carlavírus, no qual conforme os sintomas vão evoluindo, causam doenças severas que pode levar a planta à morte (OLIVEIRA *et al.,* 2000). Mas, além da soja, as infestações de moscas brancas têm sido cada vez mais frequentes em diversas culturas de arroz, aveia, cana-de-açúcar, feijão, olerícolas e trigo. Além dos danos causados pela mosca branca de forma direta e indiretamente nas plantas hospedeiras, a mesma ainda possui uma elevada taxa reprodutiva, fácil dispersão, polifagia, adaptações de condições climáticas diversas e desenvolvimento de resistência aos inseticidas, o que contribui para a disseminação das doenças, causando enormes perdas nas produções e grandes prejuízos econômicos (FARIA *et al.,* 1996; GALLO *et al*., 2002; HAJI *et al.,* 2004).

Desta forma, o interesse por novos compostos químicos com atividades inseticidas vem crescendo consideravelmente devido ao uso irracional das drogas e da resistência dos microrganismos aos inseticidas convencionais. No meio de

diversas classes químicas relatadas na literatura, os limonóides são reconhecidos pela ampla atividade biológica contra insetos, a exemplo temos os relatos da azadiractina que afeta os insetos na redução da fertilidade dos ovos, além desta fazer alteração na ecdise que reduz o consumo alimentar e retarda o desenvolvimento do inseto (CIOCIOLA JUNIOR e MARTINEZ, 2002; AZEVEDO *et al.,* 2005).

A busca de métodos alternativos para o controle mais efetivo, barato e que apresentem menores riscos de contaminação ao ambiente, impulsionam cada vez mais pesquisas em diversos campos de estudo no mundo e a utilização de produtos de origem naturais já mostraram potencial biológicos inseticidas bastante eficazes (LARA, 1991; FERREIRA *et al.,* 2001).

4 MATERIAIS E METODOLOGIA UTILIZADA

4.1 Métodos cromatográficos

Na cromatografia em camada delgada (CCD) foram utilizadas cromatofolhas de alumínio de sílica gel C18 (merck), celulose (Avicel) e principalmente sílica gel 60, F_{254} com 0,2 mm de espessura como fase estacionária (suporte). A visualização das substâncias em camada delgada foi feita por irradiação de luz UV (λ= 254 e 365 nm) e alguns reveladores químicos como, vanilina sulfúrica, anisaldeído sulfúrico, vapores de iodo e cloreto férrico. No isolamento e purificação das substâncias por cromatografias em camada delgada preparativa CCDP (Merck), foram utilizadas placas de alumínio de 20 x 20 com os mesmos padrões adotados em CCD.

Na cromatografia em coluna (CC) foram utilizadas colunas de vidro com extensões que variavam entre Ø = 0,5-3,5 cm e altura = 10-100 cm. A escolha do tamanho da coluna dependia da quantidade da amostra a ser fracionada. E a fase estacionária ou suporte (Tabela 4) a ser utilizado nos fracionamentos basearam-se nas análises preliminares em CCD, pigmentação da amostra, entre outros fatores.

Tabela 4. Suporte para cromatografia em coluna

SUPORTE	MECANISMO	MARCA
Sílica gel 60 (70-230 e 230-400 mesh)	adsorção	Merck
Celulose microcristalina	partição	Merck
Sephadex LH-20	exclusão	Sigma-Aldrich

4.2 Solventes

Os solventes comerciais (hexano, diclorometano, acetato de etila, acetona e metanol) foram utilizados como eluentes nos métodos cromatográficos,

sendo estes destilados no LQPN/INPA. Solventes deuterados (metanol-d4, acetona-d6, DMSO-d6, clorofórmio-d e piridina-d5) da marca Sigma Aldrich foram utilizados para obtenção dos espectros de RMN 1D e 2D. Para a análise de espectrometria de massas, foram utilizados os solventes que possuíam grau de pureza CLAE (acetonitrila, metanol e isopropanol).

4.3 Equipamentos e acessórios

Balança analítica –Shimadzu, com capacidade até 220g.

Chapa de aquecimento – Fisatom, modelo 753A.

Camara UV (ultravioleta)- comprimento de onda 254 e 365 nm

CLAE/EM – Os espectros de massas de alta resolução foram obtidos em um espectrômetro MicroTOF-QII (*Bruker Daltonics*), fonte de ionização ESI e o cromatógrafo utilizado foi o Prominence UFLC (*Shimadzu*) equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) SPDM-20A e injetor automático SIL-20A, com coluna Shim-pack XR-ODS (2 µm x 50 µm) da Central Analítica do Laboratório Temático de Química de Produtos Naturais (CA-LTQPN) do INPA.

Destilador de água– Pilsen, modelo 0341-25

Evaporador rotativo – Buchi, modelo Rotavapor R-3, acoplado a um banho ultratermostatizado Marconi, modelo MA-184

Ultrassom- Ultronique®, modelo Q3.8/40

Espectrômetro de ressonância magnética nuclear – Os espectros de RMN foram obtidos em espectrômetros da Bruker, Fourier-300 (300 MHz - 1H e 75 MHz - 13C) da CA-LTQPN do INPA.

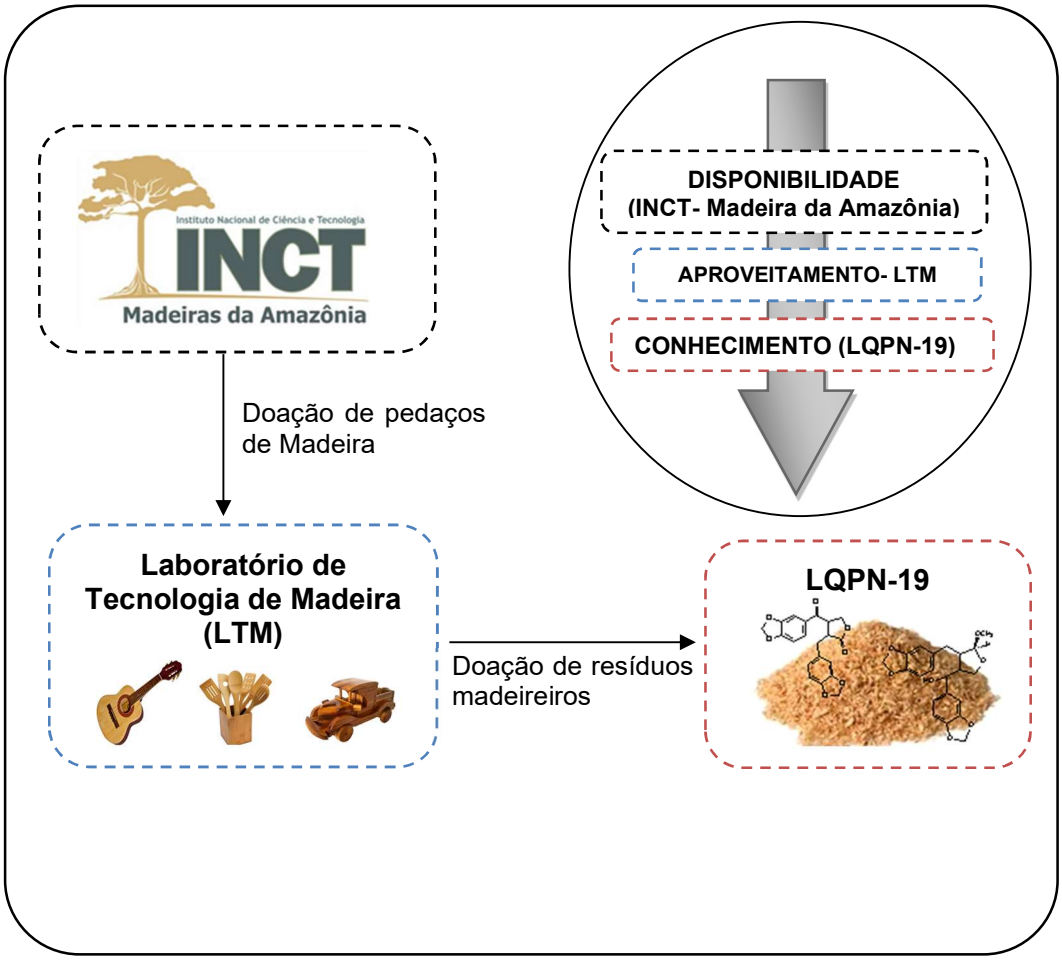
Estufa –Ethik Technology com temperatura regulável de ambiente +15°C a 100°C

Moinho – Marconi, macro moinho tipo Willey modelo MA-340.

Ponto de fusão – Fisatom, modelo 430D.

4.4 Obtenção dos resíduos e identificação botânica das espécies

Os resíduos madeireiros de mogno (*Swietenia macrophylla)* foram fornecidos pelo Laboratório de Tecnologia da Madeira – LTM, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, no âmbito do projeto INCT-Madeiras da Amazônia como mostra o esquema 1.



Esquema 1. Obtenção dos resíduos madeireiros

4.5 Identificação botânica da espécie

A madeira de *Swietenia macrophylla* (Mogno) foi obtida na cidade de Manaus-AM. Sua origem, provém da janela de um prédio público abandonado com mais de 30 anos, que foi doada para o Laboratório de Tecnologia de Madeira, do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA) para estudos tecnológicos. Amostras testemunhas dessa madeira foi identificada (figura 10) por análises das características sensoriais, anatômicas macroscópica e por comparação (confronto) com espécies disponíveis na Xiloteca do Laboratório de Tecnologia da Madeira (COTEI-INPA). Os exemplares, estão registrados no laudo Nº 05/2019. Os anatomistas de madeira Jorge Alves de Freitas e Francisco Ailton Gomes da Silva, foram os responsáveis pela identificação.

N°01– Família: MELIACEAE
Nome científico: ***Swietenia macrophylla***
Nome vulgar: Aguano; Mogno

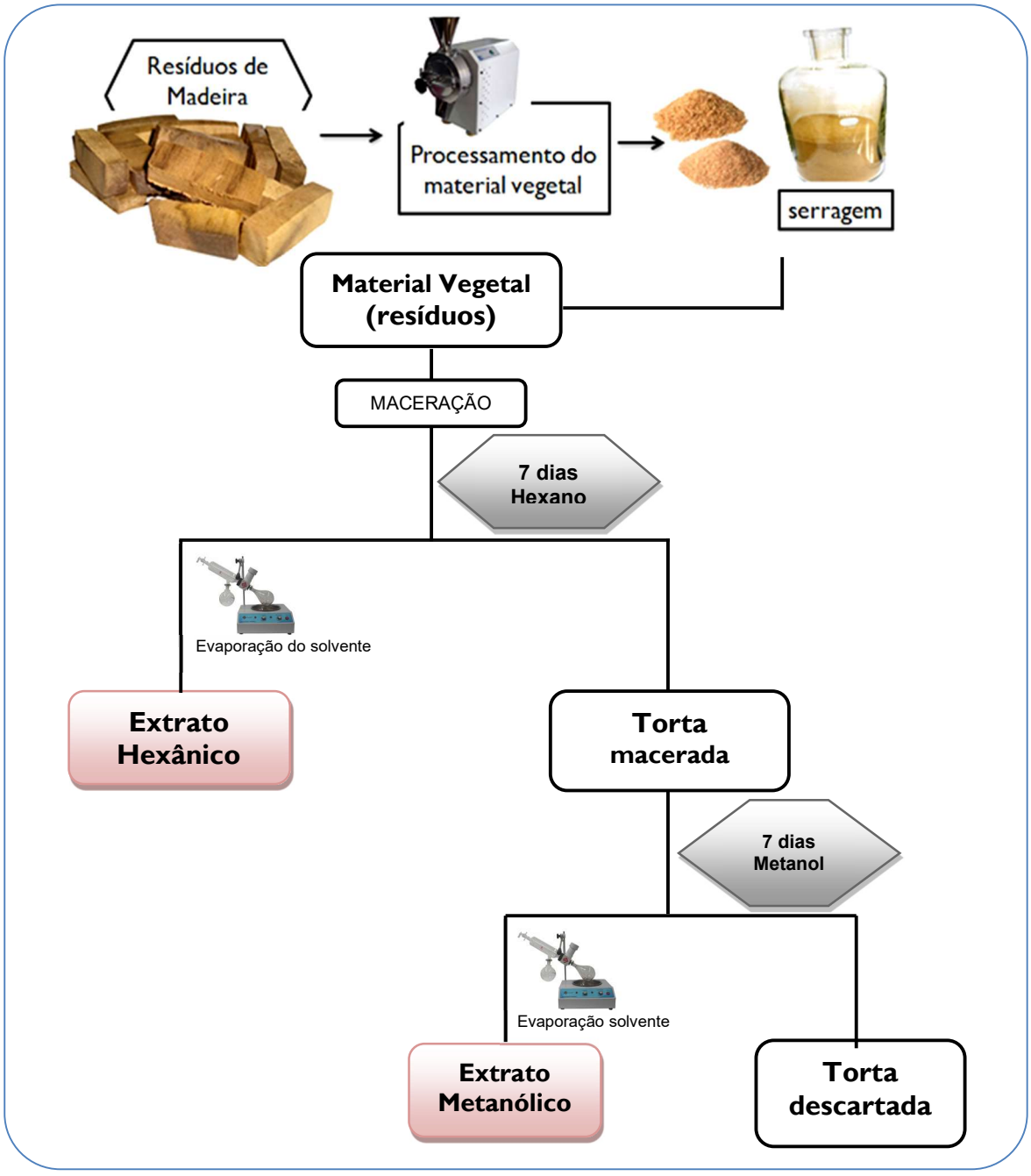


Plano transversal 10X

Figura 10. Identificação botânica das espécies

4.6 Procedimento para obtenção dos extratos

Os resíduos de *S. macrophylla* foram moídos para posterior extração a frio, primeiramente em hexano e depois com metanol, dando origem aos extratos hexânico e metanólico, respectivamente, como descrito no esquema 2. Após a remoção do solvente por evaporação com pressão reduzida, foi possível calcular o teor de rendimento dos mesmos (Tabela 5).



Esquema 2. Preparação dos extratos brutos de *Swietenia macrophylla.*

Tabela 5. Massa obtida dos extratos hexano e metanol

Espécie	Massa do Resíduo (g)	Extratos		Rendimentos (%)
		Código	Massa (g)	
Swietenia macrophylla	863,84	SMH	5,47	0,63
		SMM	13,05	1,51

Códigos finalizados com H → extrato hexânico; Códigos finalizados com M → extrato metanólico

4.7 Estudos preliminares dos extratos de *Swietenia macrophylla* (mogno)

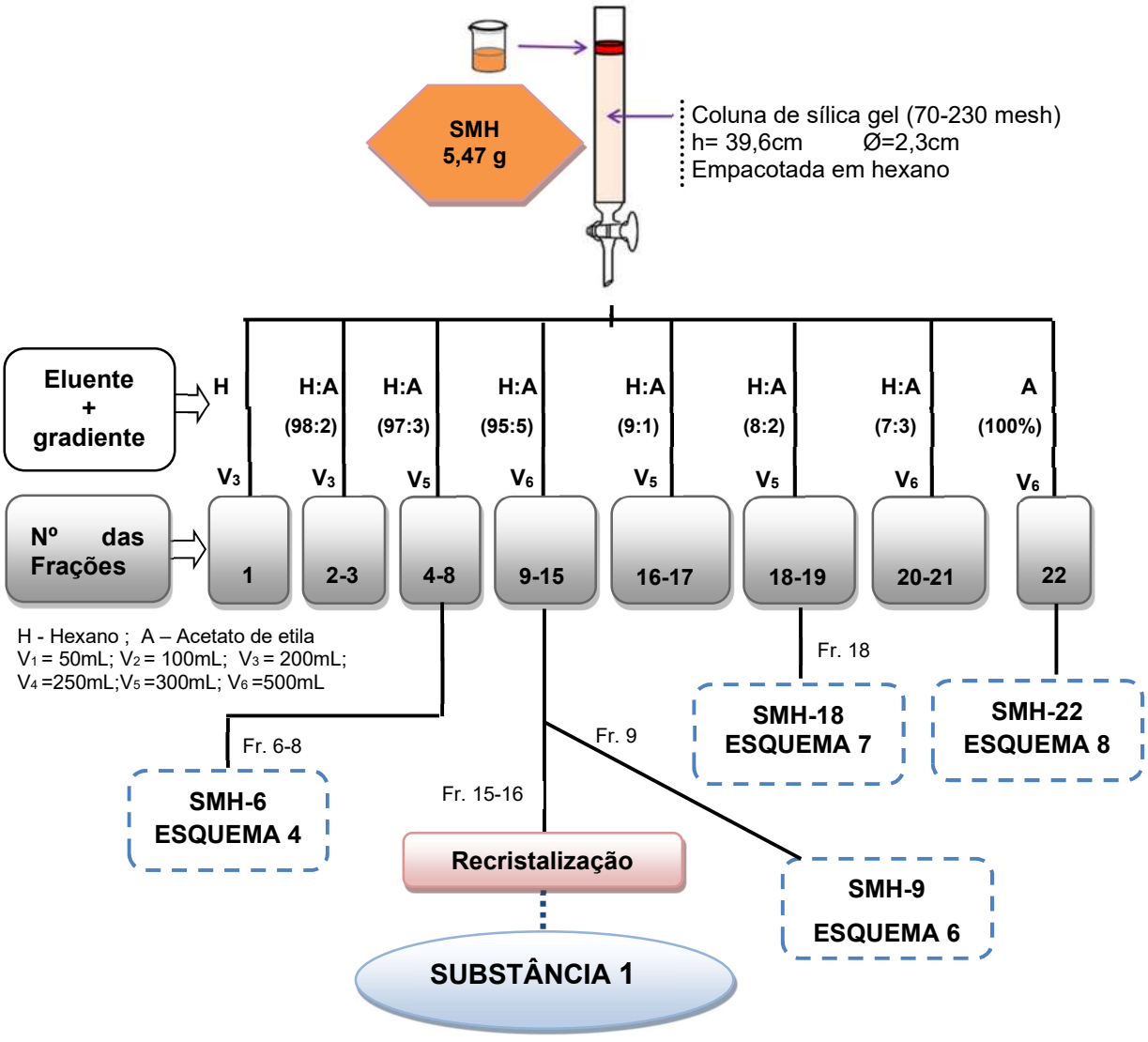
Os extratos brutos oriundos dos resíduos madeireiros de mogno foram submetidos para avaliações preliminares em CCD, nas quais o extrato hexânico (SMH) apesar de conter bastante material graxo, foi inicialmente considerado o mais promissor para iniciar os fracionamentos cromatográficos, pois, além da massa significativa, apresentou também menor quantidade de pigmentos e maior similaridade com os padrões (sitosterol, amirina e lupeol), utilizados em placa.

Vale ressaltar que, nos processos de isolamento a seguir, algumas frações não foram trabalhadas, pois em CCD mostraram similaridade com frações já trabalhadas anteriormente e também pela predominância de material graxo nas frações, justificando assim, o seu não fracionamento.

4.8 Fracionamento do extrato hexânico de *S. macrophylla* (SMH)

O extrato hexânico SMH (5,4713 g) foi submetido a fracionamento por cromatografia em coluna com gel de sílica 60 (70- 230 *mesh*) para filtração do material (Esquema 3). O sistema de eluição empregado foi por gradiente crescente

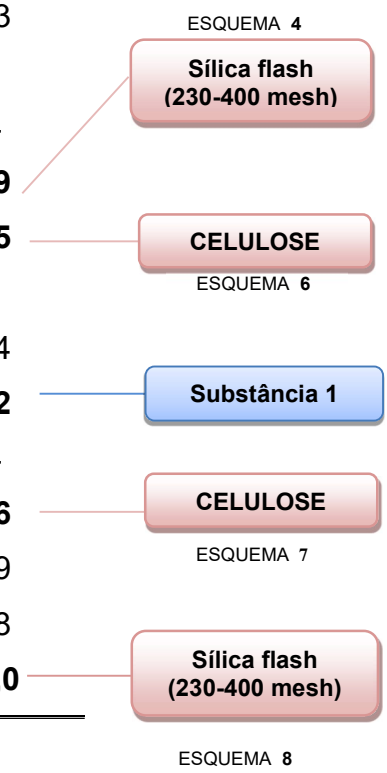
de polaridade com hexano, hexano:AcOEt (98:2 → 7:3 e finalizando a coluna em AcOEt), originando 22 frações, que foram reunidas por similaridade através de cromatografia em camada delgada (CCD) em 14 novas frações (Tabela 6). A subfração SMH-15, passou por recristalização em metanol com gotas de acetona (a frio), resultando na substância **1**.



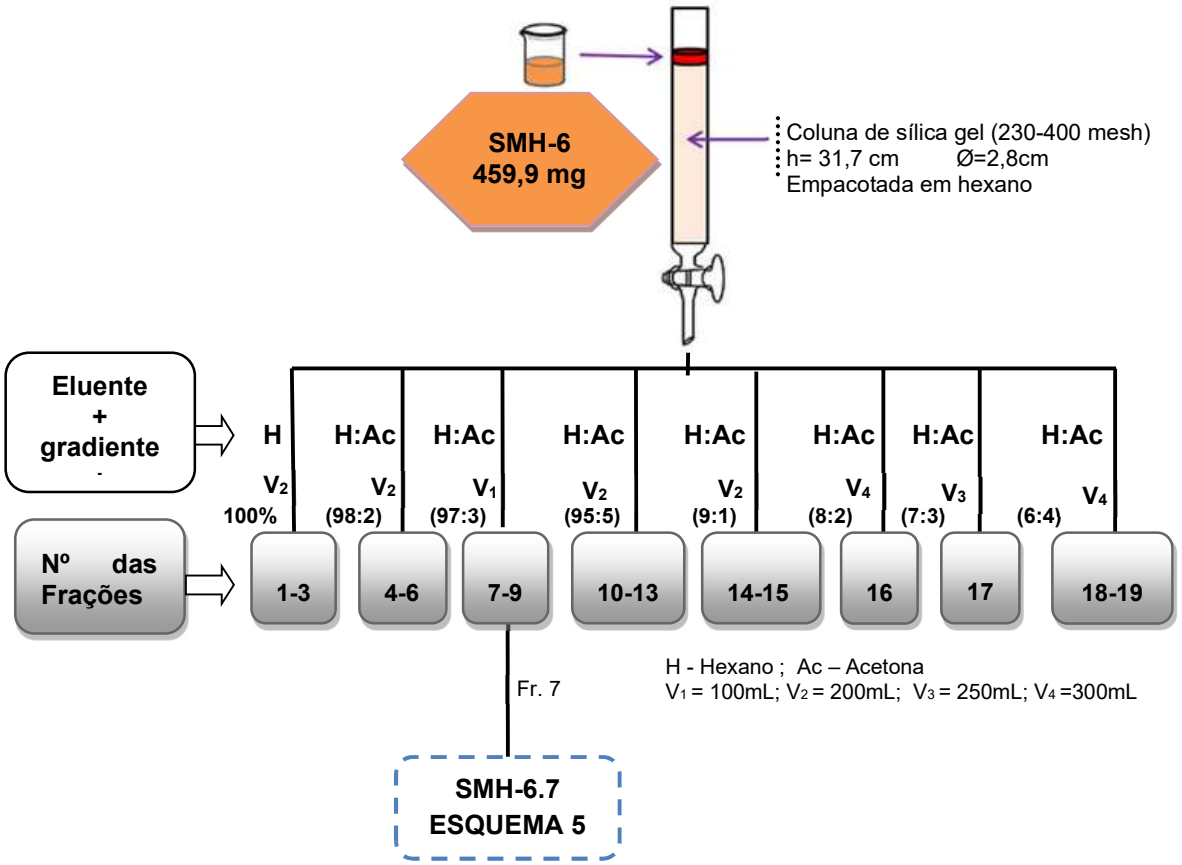
Esquema 3. Fracionamento cromatográfico de SMH

Tabela 6. Reunião das frações obtidas de SMH

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1	SMH-1	1,8
2	SMH-2	325,3
3	SMH-3	72
4-5	SMH-4	11,4
6-8	**SMH-6**	**459,9**
9-10	**SMH-9**	**270,5**
11-12	SMH-11	104
13-14	SMH-13	198,4
15-16	**SMH-15**	**448,2**
17	SMH-17	61,4
18	**SMH-18**	**152,6**
19	SMH-19	249,9
20-21	SMH-20	428,8
22	**SMH-22**	**1607,0**



A fração **SMH-6** (459,9 mg) foi submetida a um novo fracionamento (Esquema 4) por apresentar massa significativa e por exibir intensa absorção na luz UV (254 e 365 nm), além de expor também uma mistura complexa de manchas roxa e amarela com diferentes Rf, quando revelada em vanilina sulfúrica. O fracionamento foi feito em coluna de sílica gel (230-400 mesh), eluida com Hexano, Hex:Acetona (98:2 → 6:4), dando origem a 19 frações que foram analisadas em CCD, reunidas e codificadas (Tabela 7).



Esquema 4. Fracionamento cromatográfico de SMH-6

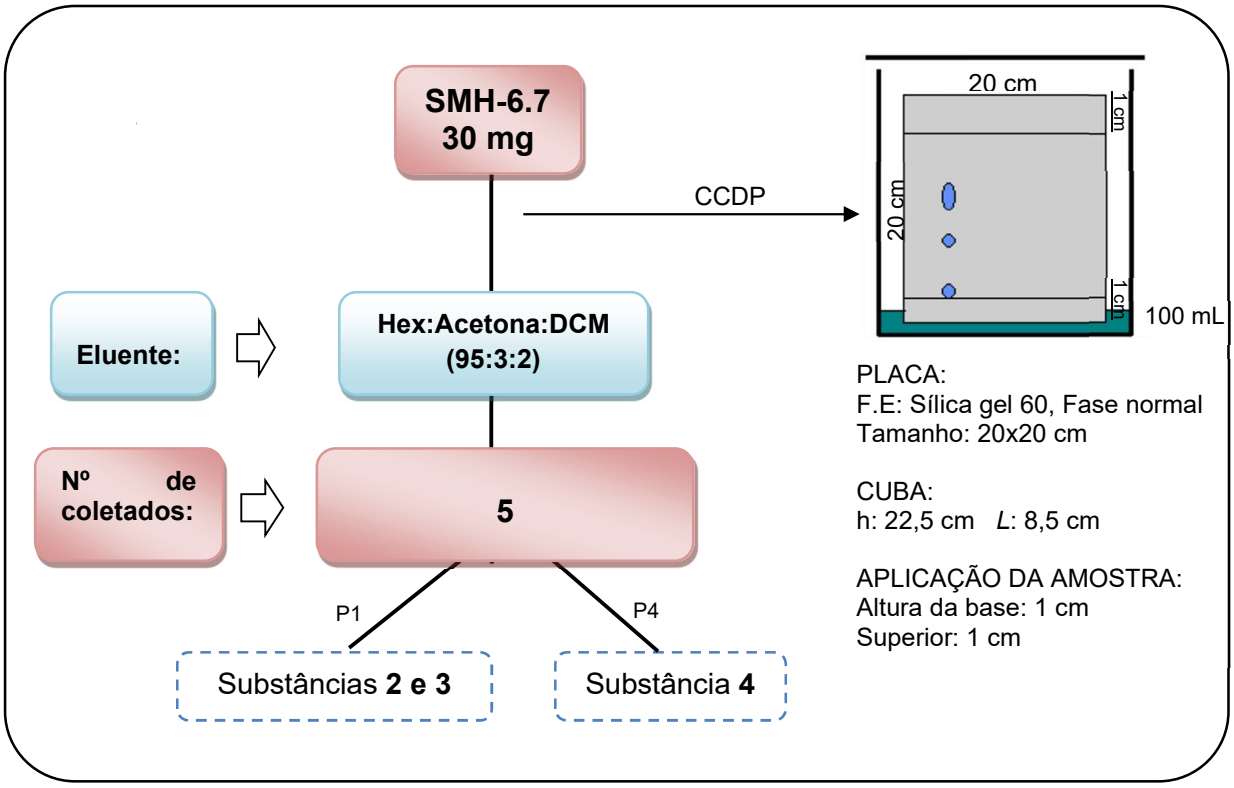
Tabela 7. Reunião das frações obtidas de SMH-6

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1	SMH-6.1	1,8
2-6	SMH-6.2	5
7	**SMH-6.7**	**293,2**
8	SMH-6.8	11,3
9-10	SMH-6.9	45,9
11	SMH-6.11	15,5
12	SMH-6.12	23,8
13-15	SMH-6.13	55,9
16-18	SMH-6.16	126,5
19	SMH-6.19	-

30 mg → **Preparativa CCDP** ESQUEMA **5**

A fração **SMH-6.7** (293,2 mg) apresentou-se como sólido amorfo, a qual passou por limpeza em acetona a frio. Em CCD, mostrou absorções no UV (λ= 254

e 365 nm) e misturas de substâncias com diferentes fatores de retenção (Rf) quando revelada em vanilina sulfúrica. Desta, foram retirados 30 miligramas para a preparação de uma CCDP (Esquema 5; Tabela 8), a qual forneceu o isolado **4** e as substâncias **2** e **3** em mistura.



Esquema 5. CCDP da fração SMH-6.7

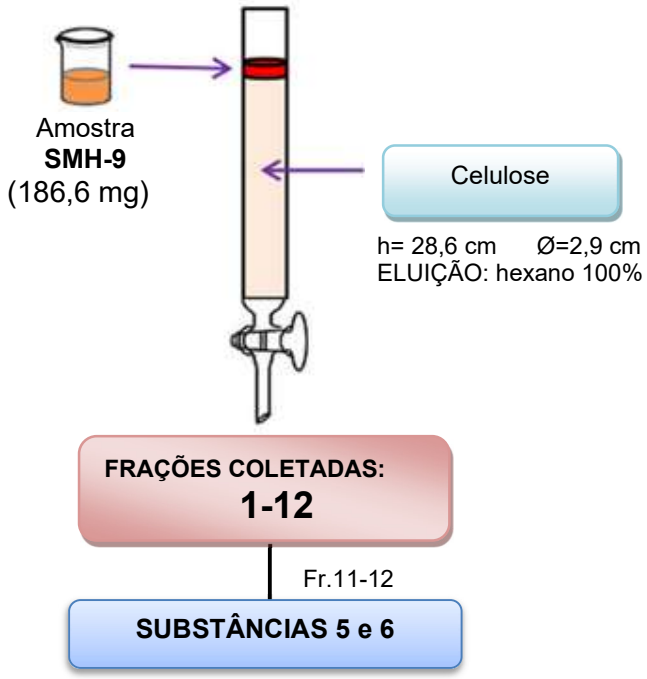
Tabela 8. Frações obtidas da CCDP de SMH-6.7

Código	Massa (mg)	
SMH-6.7.P1	**15**	**Substâncias 2 e 3**
*SMH-6.7.P2	2,3	
SMH-6.7.P3	0,5	
SMH-6.7.P4	**2,6**	**Substância 4**
SMH-6.7.P5	1	

*Substâncias em processo de análise

A fração **SMH-9** (270,5 mg) apresentou-se como sólido amorfo e 186, 6 mg foi submetida a um novo fracionamento em celulose microcristalina (Esquema

6) para remover a pigmentação presente na fração. Em placa de CCD, a fração não exibiu absorção na luz UV (254 e 365 nm), mas quando revelada em vanilina sulfúrica, apresentou uma mistura complexa de manchas roxas com diferentes Rfs. Na eluição da coluna, utilizou-se sistema isocrática em hexano para fornecer 12 frações (Tabela 9). Na fração SMH-9.11, foi obtido em mistura os compostos **5** e **6**.



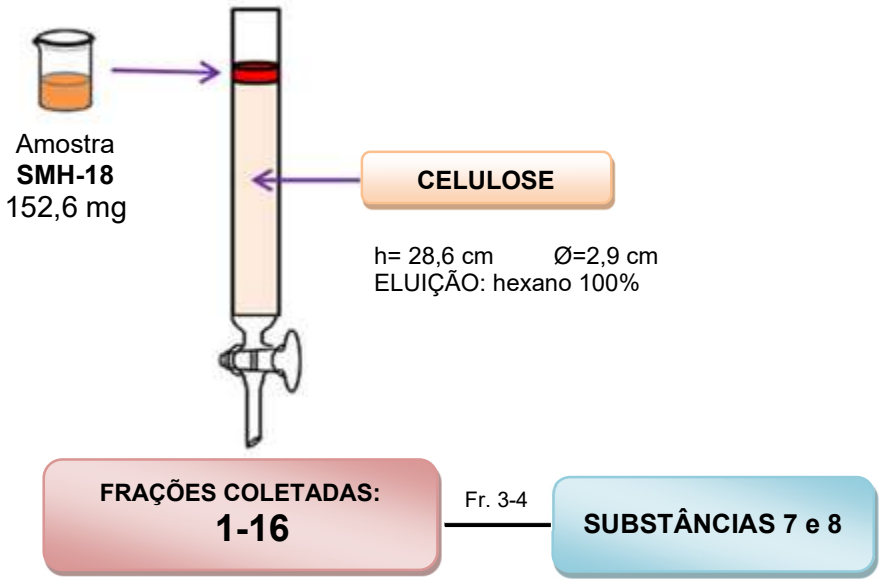
Esquema 6. Fracionamento cromatográfico de SMH-9

Tabela 9. Reunião das frações obtidas de SMH-9

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1	SMH-9.1	-
2	SMH-9.2	37,9
3	SMH-9.3	25,1
4	SMH-9.4	100,8
5	SMH-9.5	4,7
6-8	SMH-9.6	0,7
9	SMH-9.9	1,9
10	SMH-9.10	5,3
11-12	**SMH-9.11**	**8,8**

Substâncias 5 e 6

A fração **SMH-18** (152,6 mg) foi submetida a um novo fracionamento (Esquema 7) por apresentar massa significativa e por exibir intensa absorção na luz UV (254 e 365 nm), além de expor também uma mistura complexa de manchas roxa e amarela com diferentes Rf, quando revelada em vanilina sulfúrica. O fracionamento foi feito em coluna de celulose microcristalina e eluida em sistema isocrático com Hexano 100%, dando origem a 16 frações (Tabela 10), entra elas a fração 11, forneceu as substâncias **7** e **8**.



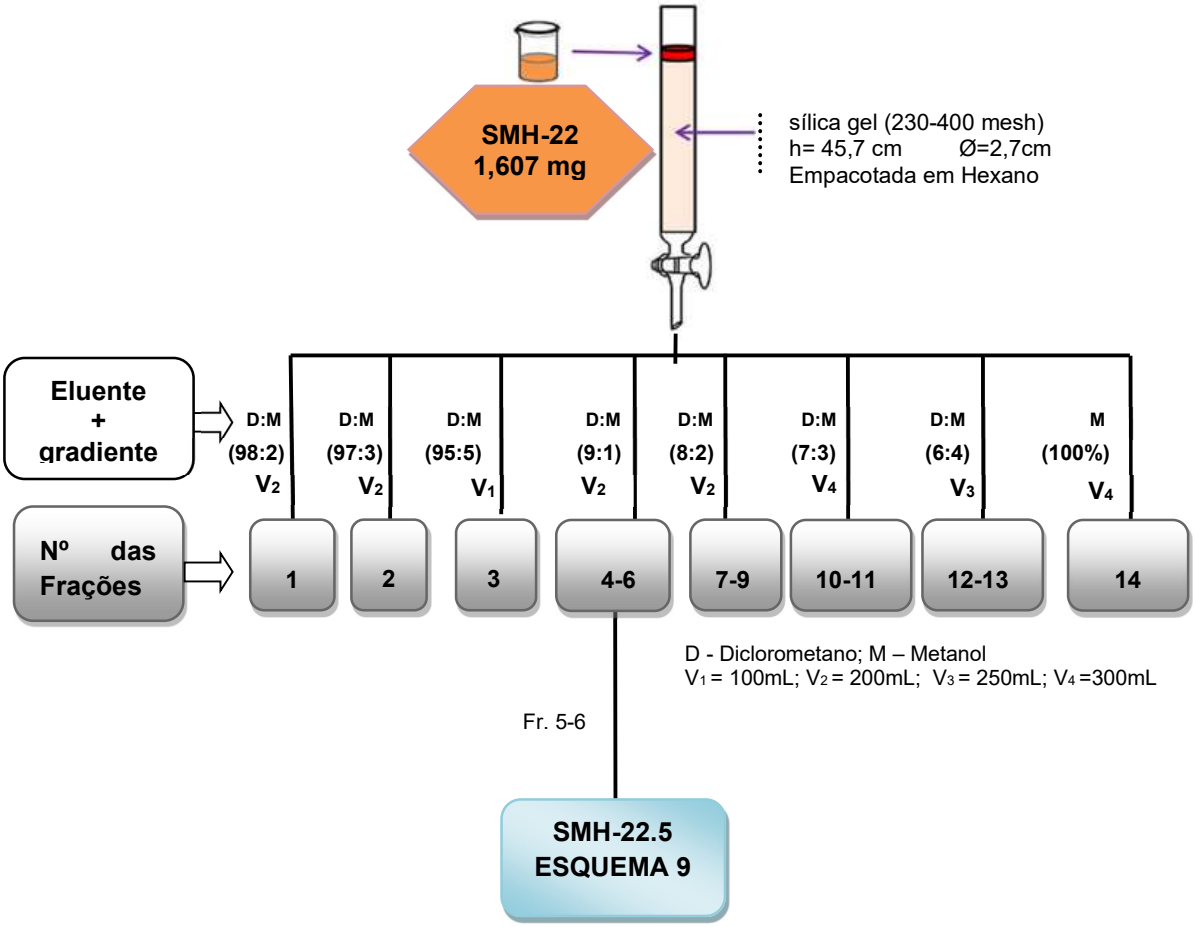
Esquema 7. Fracionamento cromatográfico de SMH-18

Tabela 10. Reunião das frações obtidas de SMH-18

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1	SMH-18.1	0,7
2	SMH-18.2	7,8
3-4	**SMH-18.3**	**15,5**
5	SMH-18.5	30,2
6	SMH-18.6	42,5
7	SMH-18.7	8,7
8-11	SMH-18.8	16,8
12	SMH-18.12	5,3
13	SMH-18.13	8,8
14	SMH-18.14	5,6
15-16	SMH-18.15	7

Substâncias 7 e 8

A fração **SMH-22** (1,607 mg) foi submetida a um novo fracionamento (Esquema 8) por apresentar massa significativa e por exibir intensa absorção na luz UV (254 e 365 nm), além de expor também uma mistura complexa de manchas roxas, amarelas e vermelha com diferentes Rf, quando revelada em vanilina sulfúrica. O fracionamento foi feito em coluna de sílica gel (230-400 mesh), eluida com DCM:AcOEt (98:2 → 6:4) e MeOH (100%), dando origem a 14 frações que foram analisadas em CCD, reunidas e codificadas (Tabela 11).



Esquema 8. Fracionamento cromatográfico de SMH-22

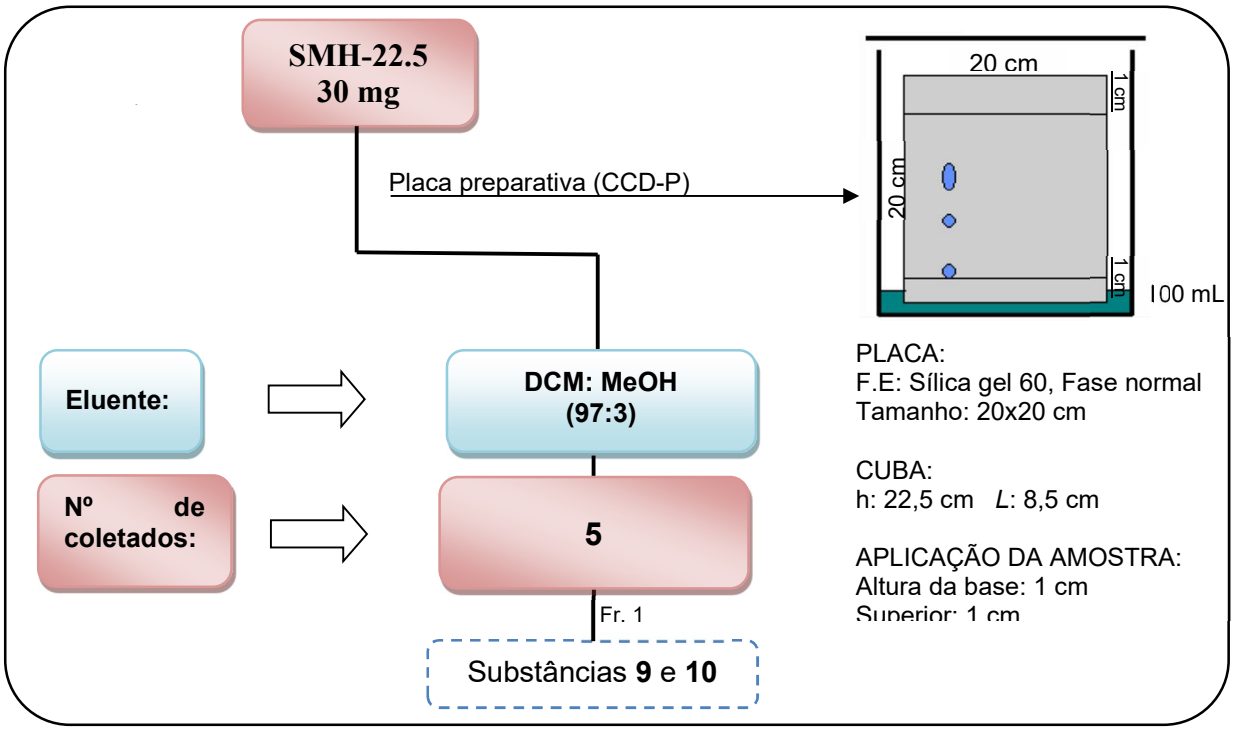
Tabela 11. Reunião das frações obtidas de SMH-22

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1	SMH-22.1	1,9
2	SMH-22.2	3
3	SMH-22.3	9
4	SMH-22.4	17,5
5-6	**SMH-22.5**	**1,224**
7	SMH-22.7	102,3
8-10	SMH-22.8	36
11	SMH-22.11	29,8
12	SMH-2212	50,5
13	SMH-22.13	60,1
14	SMH-22.14	73,5

30 mg → **Preparativa CCDP**

ESQUEMA **9**

A fração SMH-22.5 (1,224 mg) apresentou-se como sólido amorfo e foi tratada com hexano/MeOH a frio. Em CCD, mostrou absorções no UV (λ= 254 e 365 nm) e um rastro amarelo quando revelado em vanilina sulfúrica. Foram retirados 30 miligramas dessa amostra para a preparação de uma CCDP (Esquema 9; Tabela 12), usando um sistema de eluição de DCM:MeOH (97:3), eluida 1 vezes. As substâncias **9** e **10,** resultaram desse procedimento.



Esquema 9. CCDP da fração SMH-22.5

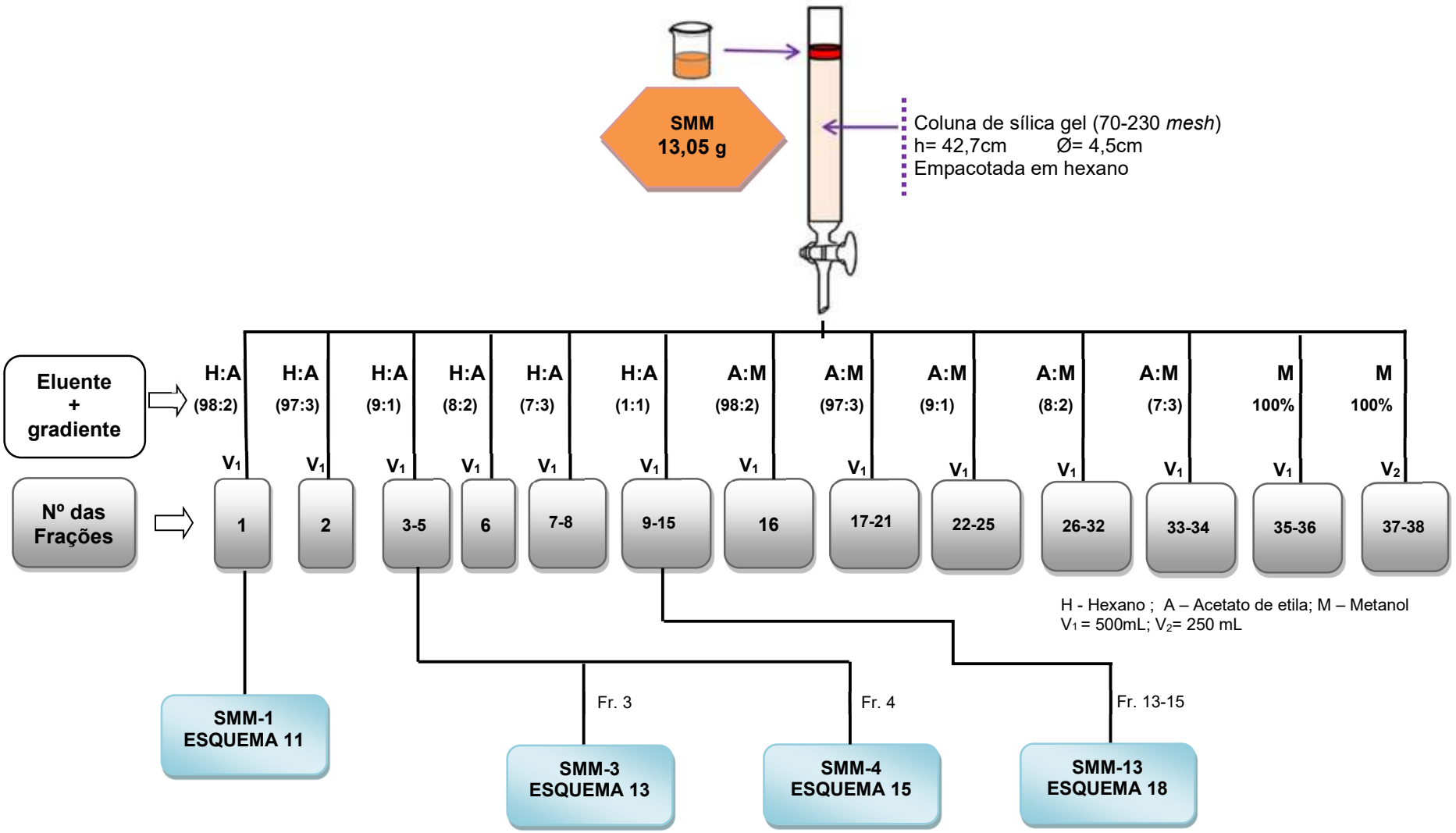
Tabela 12. Frações obtidas da CCDP de SMH-22.5

Código	Massa (mg)
SMH-22.5.P1	**16,5**
SMH-22.5.P2	4,2
SMH-22.5.P3	3,1
SMH-22.5.P4	0,6
SMH-22.5.P5	1

Substâncias 10 e 11

4.9 Fracionamento do extrato metanólico de *S. macrophylla* (SMM)

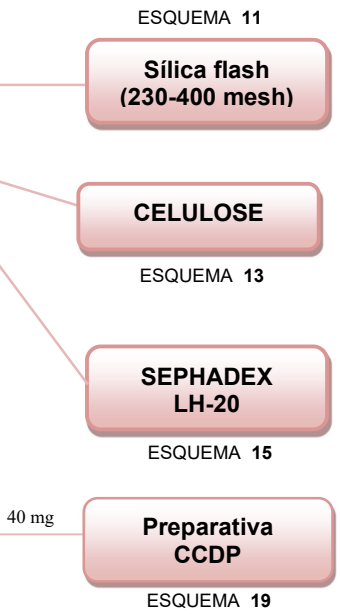
O extrato metanólico (13,05 g) foi inicialmente filtrado em coluna de sílica gel (70-230 mesh), eluida com gradientes crescente de polaridade de Hex:AcOEt (98:2 → 1:1), AcOEt:MeOH (98:2 → 7:3) e finalizada em MeOH, originou 38 frações (Esquema 10) que foram reunidas por similaridade através de CCD em 10 novas frações (Tabela 13). As demais frações (16-38) apresentaram dificuldades de solubilidade com os solventes convencionais e foram apenas pesadas e codificadas.



Esquema 10. Fracionamento cromatográfico do extrato de SMM

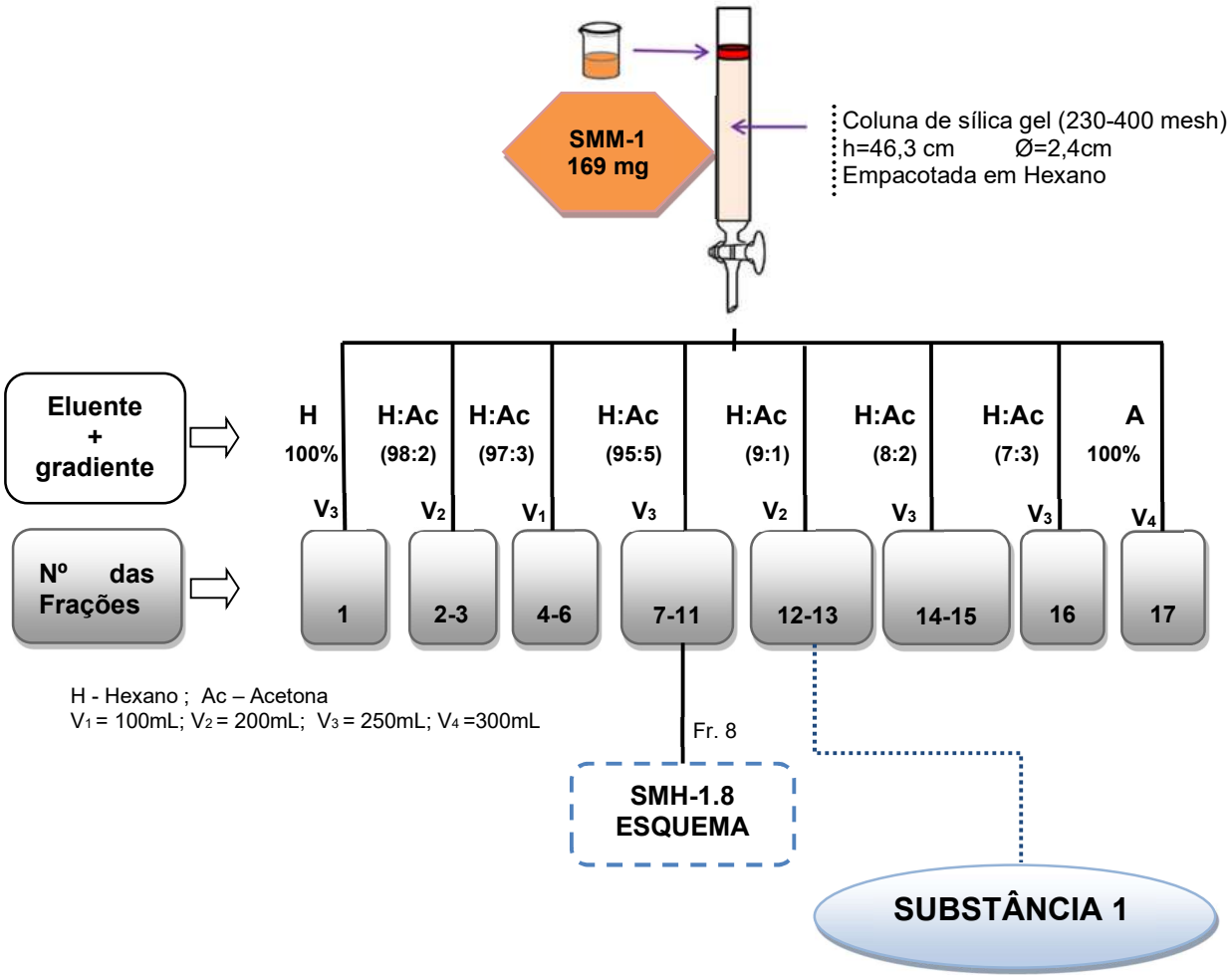
Tabela 13. Reunião das frações obtidas de SMM

Frações reunidas	Códigos	Massa
1	**SMM-1**	**169,9**
2	SMM-2	2,280
3	**SMM-3**	**2.200,9**
4	**SMM-4**	**1.033,5**
5-6	SMM-5	601,3
7	SMM-7	797,7
8	SMM-8	969,3
9	SMM-9	324
10-12	SMM-10	56,7
13-15	**SMM-13**	**73,1**
*16-38		



*Não observadas em CCD por motivo de solubilidade

A fração **SMM-1** (169,9 mg) foi inicialmente submetida a fracionamento com sílica flash (230-400 mesh), utilizando como sistema de eluição de hexano puro, gradientes de Hex:AcOEt (98:2 → 7:3) e finalizada em AcOEt, resultando em 17 subfrações (Esquema 11, tabela 14), sendo que a subfração 11, forneceu novamente a substância **1**. A subfração **8**, também resultante deste fracionamento, foi codificada como **SMM-1.8** (19,5 mg) e apresentou sólido pigmentado, além de intensas absorções no UV (λ= 254 e 365 nm) em CCD, logo passou por limpeza com MeOH (a quente) e foi novamente fracionada, empregando-se sílica gel (230-400 mesh) e sistema isocrático de Hex:AcOEt:Acetona (8:1:1), como fase móvel (Esquema 12). O fracionamento resultou em 13 subfrações que foram reunidas após análise por CCD, conforme a Tabela 15. O fracionamento resultou nas substâncias **11**, **12**, e **13**



Esquema 11. Fracionamento cromatográfico do extrato de SMM-1

Tabela 14. Reunião das frações obtidas de SMM-1

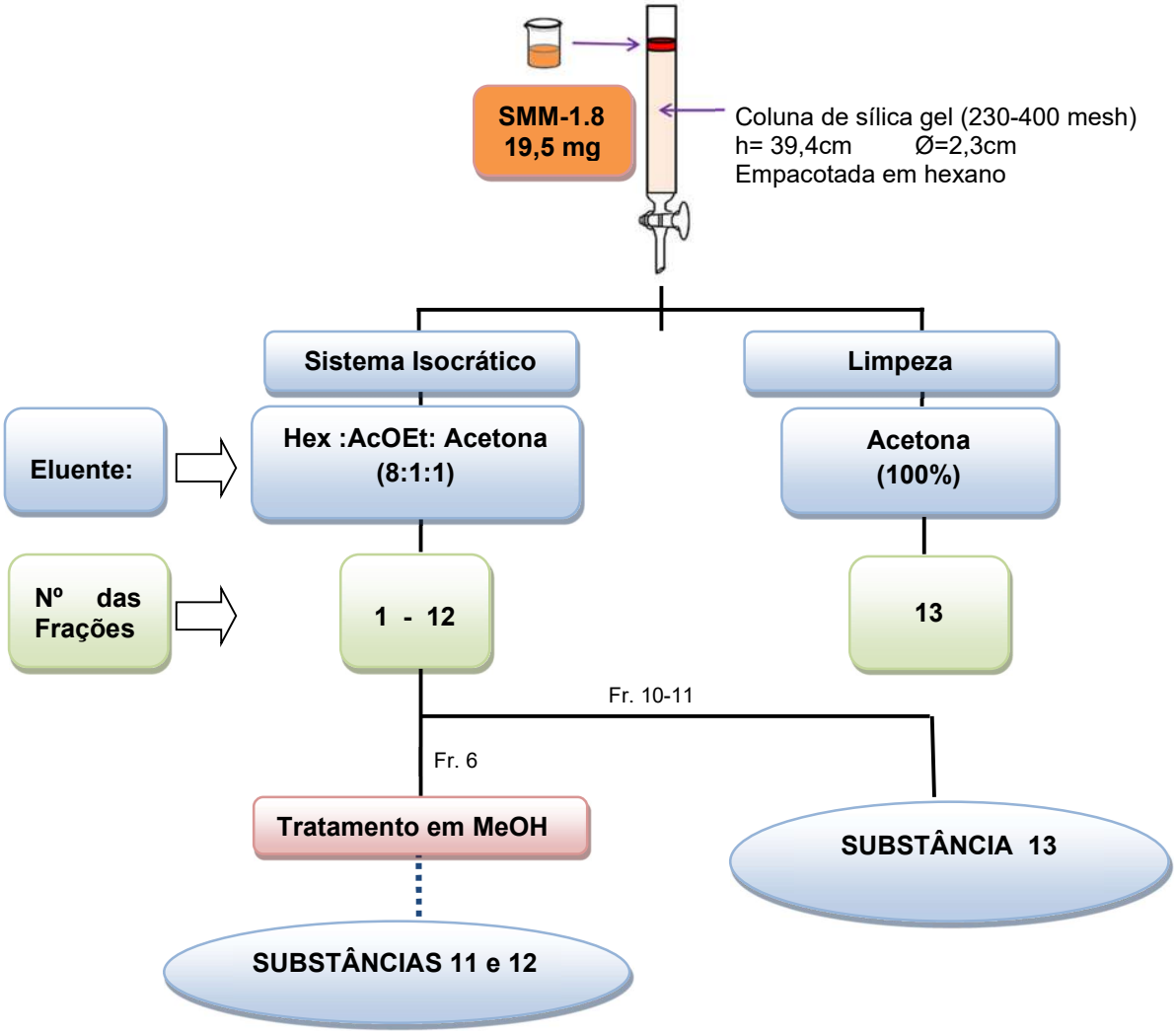
Frações reunidas	Código	Massa
1	SMM-1.1	9,8
2	SMM-1.2	1,3
3	SMM-1.3	-
4	SMM-1.4	1,2
5-6	SMM-1.5	26,6
7	SMM-1.7	9,1
8	**SMM-1.8**	**19,5**
9-10	SMM-1.9	4
11-12	**SMM-1.11**	**51,9**
13	SMM-1.13	16,3
14-15	SMM-1.14	17,5
16	SMM-1.16	3,1
17	SMM-1.17	1,2

*Composto isolado anteriormente

ESQUEMA 12

Sílica flash (230-400 mesh)

Substância 1



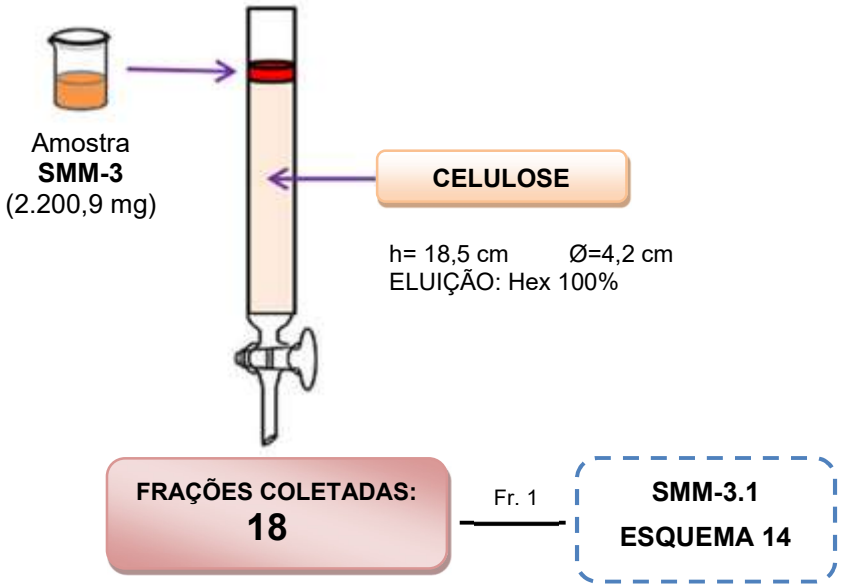
Esquema 12. Fracionamento cromatográfico da fração de SMM-1.8

Tabela 15. Reunião das frações obtidas de SMM-1.8

Frações reunidas	Código	Massa	
1-4	SMM-1.8.1	2,6	
5	SMM-1.8.5	7,8	
6	**SMM-1.8.6**	**9,3**	Substâncias **11 e 12**
7-9	SMM-1.8.7	2,9	
10-11	**SMM-1.8.10**	**1,1**	Substância 13
12-13	SMM-1.8.12	1,2	

No fracionamento da fração **SMM-3** (2.200,9) optou-se por uma coluna de celulose microcristalina (Esquema 13), com sistema isocrático em hexano 100%,

devido à predominância de pigmentação amarela com aspecto de gordura. Em CCD, exibiu intensa absorção na luz UV (254 e 365 nm), além de expor também uma mistura complexa de manchas amarela e roxo com diferentes Rf, quando revelada em vanilina sulfúrica. A coluna resultou em 18 frações que foram analisadas em CCD, reunidas e codificadas (Tabela 15).



Esquema 13. Fracionamento cromatográfico de SMM-3

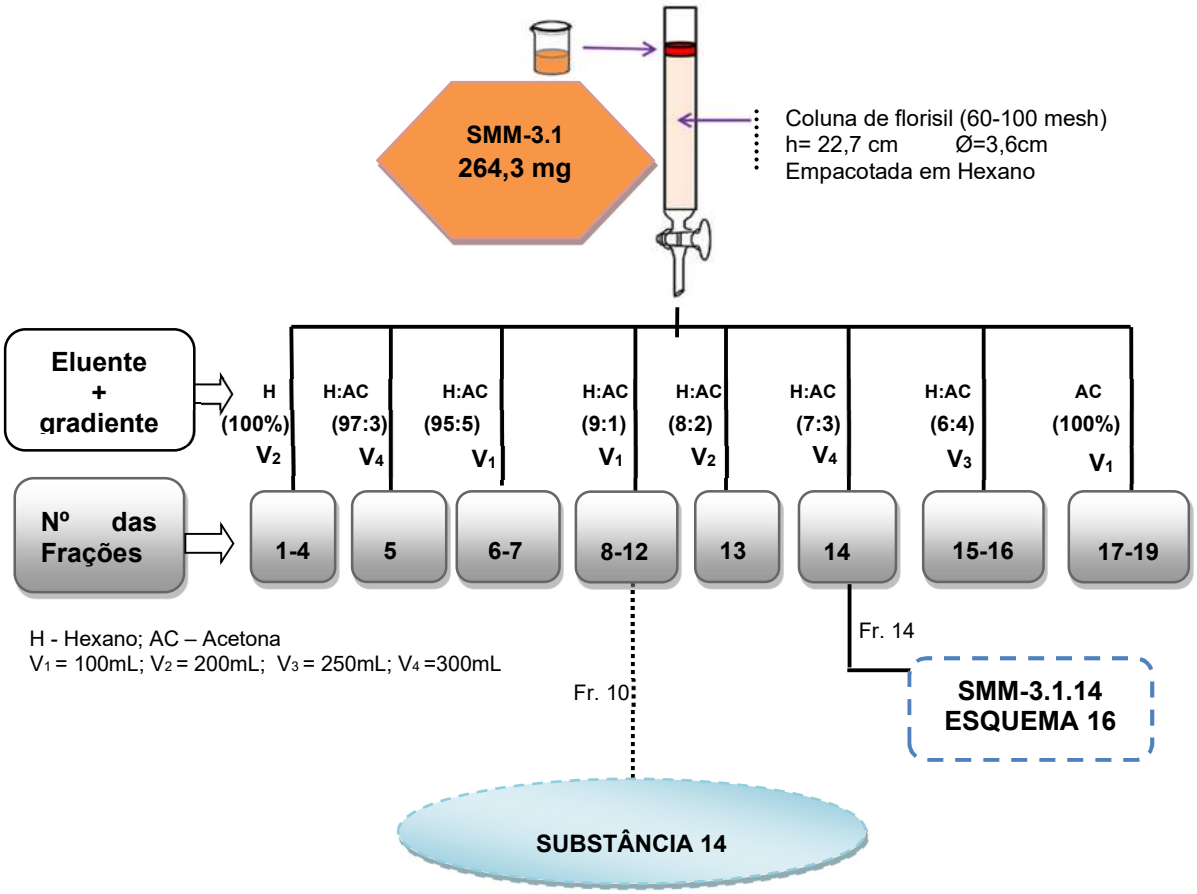
Tabela 16. Reunião das frações obtidas de SMM-3

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1	**SMM-3.1**	**549,4**
2-3	SMM-3.2	300,1
4	SMM-3.4	189
5-8	SMM-3.5	70,2
9-10	SMM-3.9	427,5
11	SMM-3.11	118,7
12	SMM-3.12	45,8
13-18	SMM-3.13	125,6
18	SMM-3.18	28,3

Florisil
ESQUEMA 14

A fração **SMM-3.1** (549,4 mg) apresentou materiais imiscíveis (aspecto de material graxo) com diferentes densidades e foi utilizado um funil de separação para

a remoção destes. Após separação, 264,3 mg do material mais limpo foi submetido a um novo fracionamento em coluna de florisil (Esquema 14) por exibir intensa absorção na luz UV (365 nm), além de expor também uma mistura complexa de manchas roxas e amarelas com diferentes Rf, quando revelada em vanilina sulfúrica. O fracionamento em coluna de florísil (60-100 mesh) foi eluída inicialmente em hexano, seguido por gradiente de Hex:Acetona (98:2 → 8:2), dando origem a 19 frações que foram analisadas em CCD, reunidas e codificadas (Tabela 17). Esse procedimento cromatográfico resultou no isolado **14** (4,3 mg).

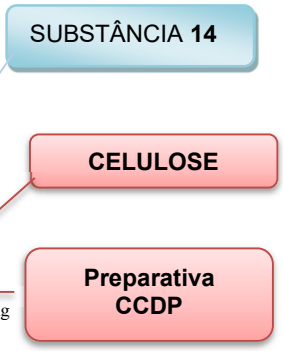


Esquema 14. Fracionamento cromatográfico de SMM-3.1

Tabela 17.Reunião das frações obtidas de SMM-3.1

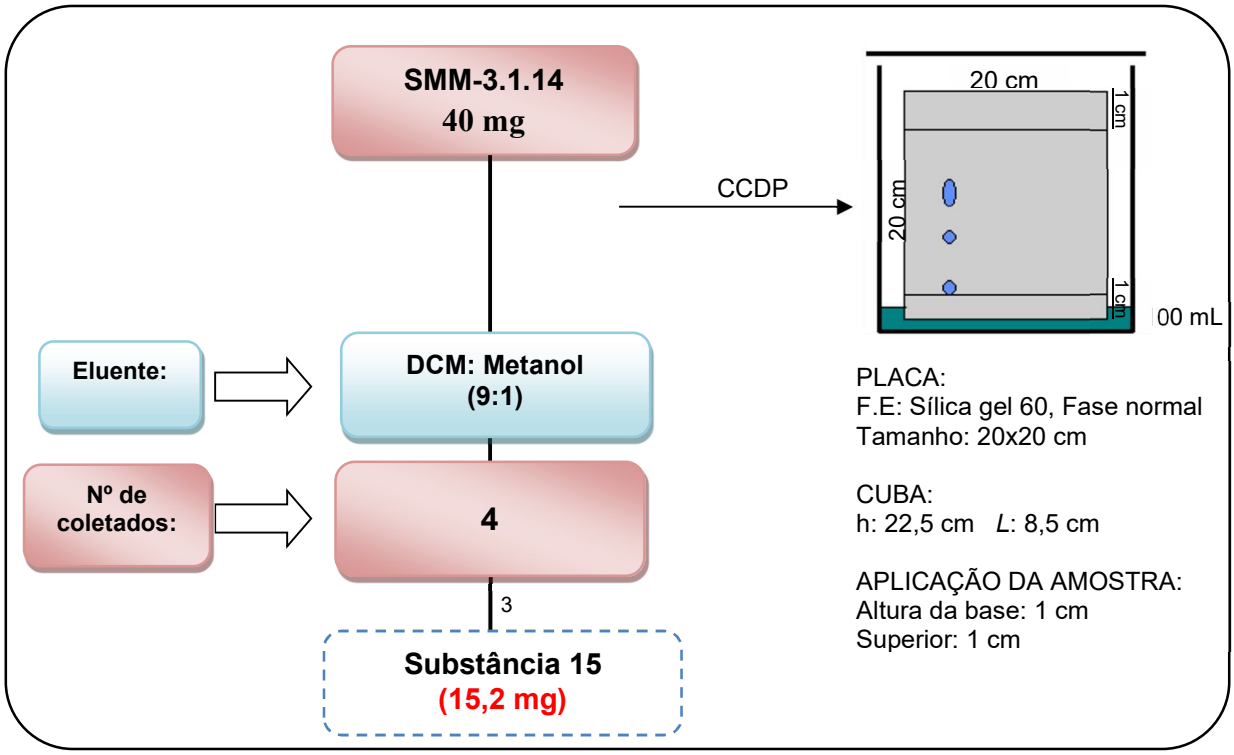
Frações reunidas	Código	Massa
1	SMM-3.1.1	13,3
2	SMM-3.1.2	15,1
3-6	SMM-3.1.3	10,5
7	SMM-3.1.7	3,0
8-9	SMM-3.1.8	5,9
10	**SMM-3.1.10**	**4,3**
11	SMM-3.1.11	19,4
12-13	SMM-3.1.12	23,6
14-15	**SMM-3.1.14**	**138,7**
*16-19	SMM-3.1.16	10,1

*Não observadas em CCD por motivo de insolubilidade



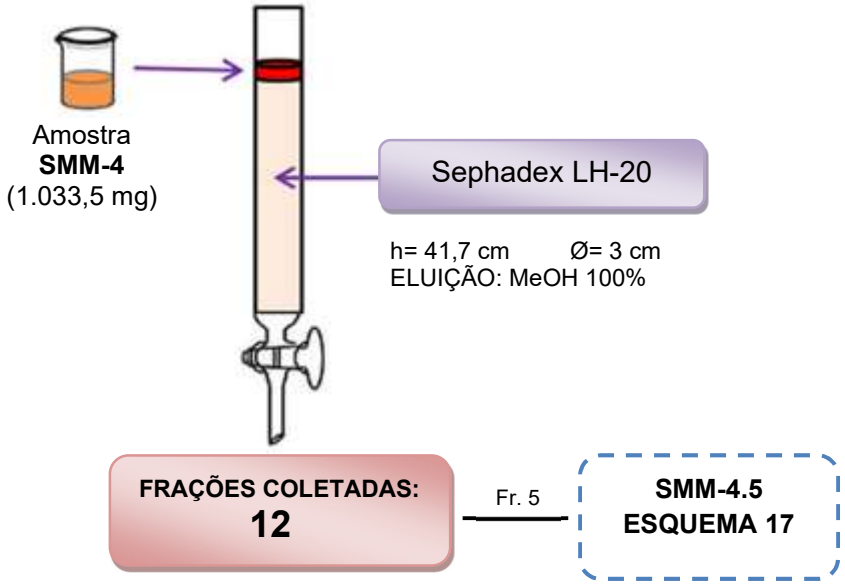
ESQUEMA 16

A subfração **SMM-3.1.14** (40 mg) passou por placa preparativa de sílica gel 60 PF_{254} em alumínio (esquema 15), usando um sistema de eluição (2x) de DCM:MeOH (97:3), resultando em quatro faixas distintas e na substância **14** (15.2 mg). O restante da massa da Fr. 14, foi submetido em coluna de celulose (h x Ø = 18.5 x 4.2 cm), fornecendo os compostos **9** e **10** (64 mg), já isolados anteriormente no esquema 9.



Esquema 15. CCDP da fração SMM-3.1.14

No fracionamento da fração **SMM-4** (1.033,5 mg) optou-se por uma coluna de Sephadex LH-20 (Esquema 16), com sistema isocrático em MeOH 100%, devido à predominância de pigmentação amarela e vermelha. Em CCD exibiu intensa absorção na luz UV (254 e 365 nm), além de expor também uma mistura complexa de manchas vermelhas, roxas e laranja com diferentes Rf, quando revelada em vanilina sulfúrica. A coluna resultou em 12 frações que foram analisadas em CCD, reunidas e codificadas (Tabela 18).



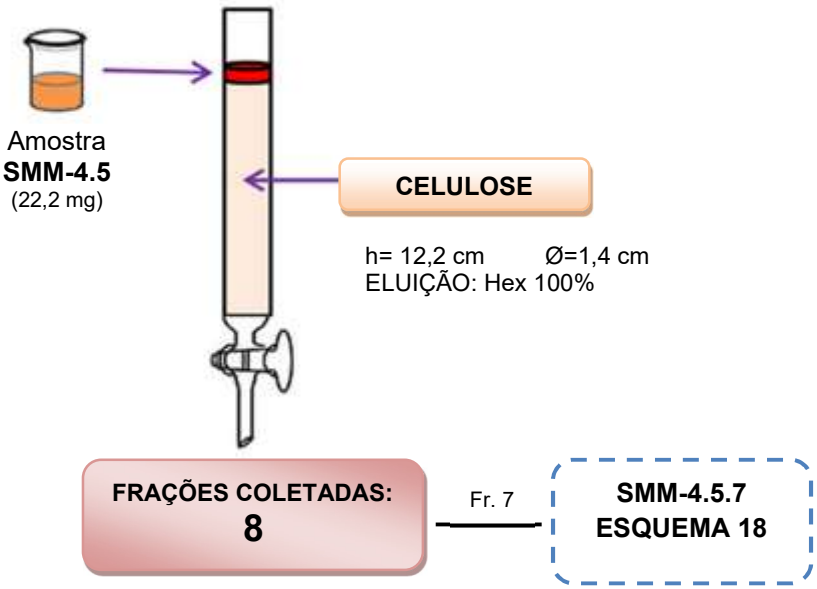
Esquema 16. Fracionamento cromatográfico de SMM-4

Tabela 18. Reunião das frações obtidas de SMM-4

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1	SMM-4.1	37,6
2	SMM-4.2	600
3	SMM-4.3	196,1
4	SMM-4.4	40,2
5-6	**SMM-4.5**	**22,2**
7	SMM-4.7	7,9
8	SMM-4.8	6,3
9	SMM-4.9	5,5
10-12	SMM-4.10	19,2

CELULOSE
ESQUEMA **17**

A fração **SMM-4.5** (22,2 mg) foi refracionada em coluna de celulose microcristalina (Esquema 17), com sistema de eluição isocrático em hexano 100%. O fracionamento resultou em 8 frações que foram analisadas por CCD e reunidas conforme similaridade em 6 novas frações (Tabela 19). A fração 7 codificada como **SMM-4.5.7** (14,8 mg), apresentou-se como sólido pigmentado da cor vinho e mostrou intensas absorções no UV (λ= 254 nm) em CCD, logo passou por limpeza com Hex (a quente) e foi novamente refracionada, empregando-se sílica gel (230-400 mesh) como fase estacionária e gradiente de DCM:MeOH (98:2 →97:3) como fase móvel (Esquema 18). O fracionamento resultou em 11 subfrações que foram reunidas após análise por CCD, conforme a Tabela 20. Deste procedimento a fração codificada em SMM-4.5.7.3 e SMM-4.5.7.9 que forneceram as substâncias **16**, **17** e **18**.



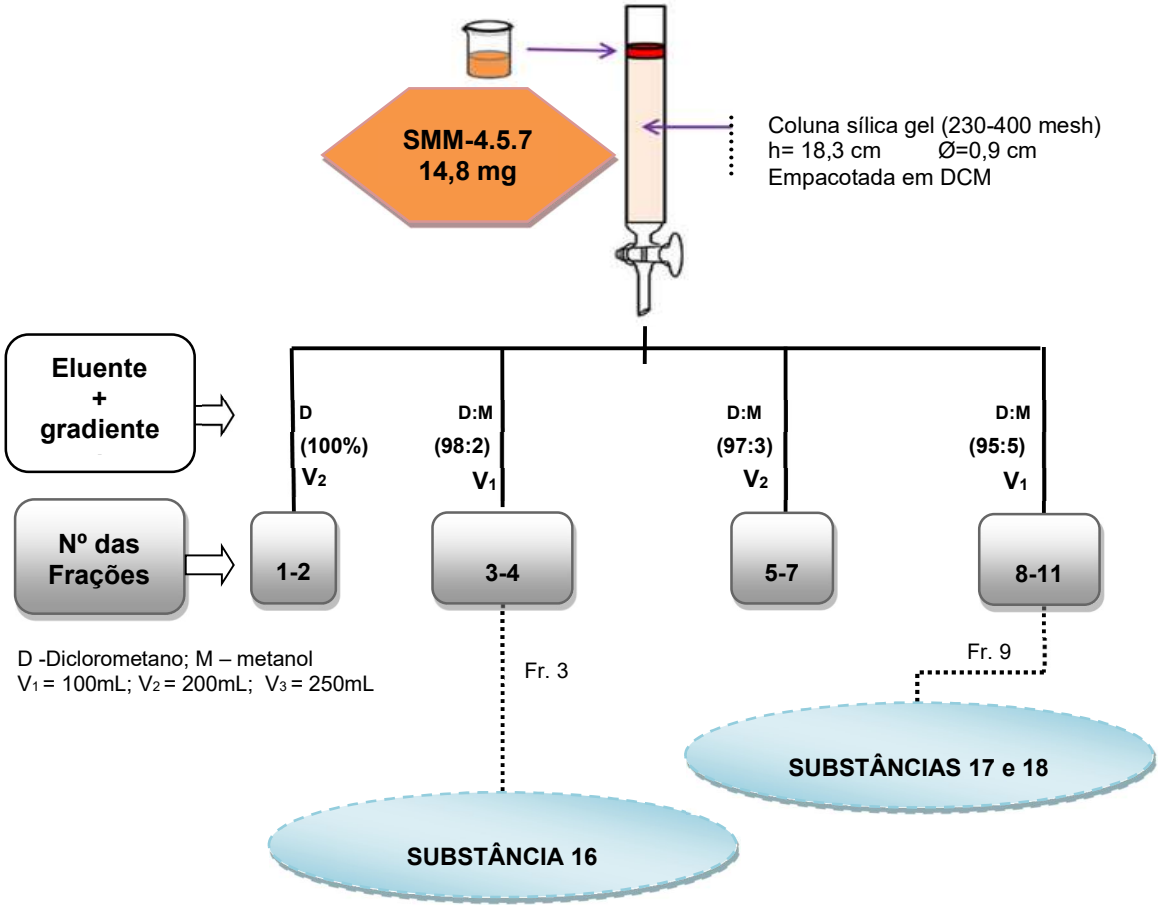
Esquema 17 Fracionamento cromatográfico de SMM-4.5

Tabela 19. Reunião das frações obtidas de SMM-4.5

Frações reunidas	Código	Massa (mg)
1	SMM-4.5.1	1
2-4	SMM-4.5.2	2,6
5	SMM-4.5.5	0,5
6	SMM-4.5.6	0,3
7	**SMM-4.5.7**	**14,8**
8	SMM-4.5.8	1,4

ESQUEMA 18

SILICA GEL (230-400 mesh)

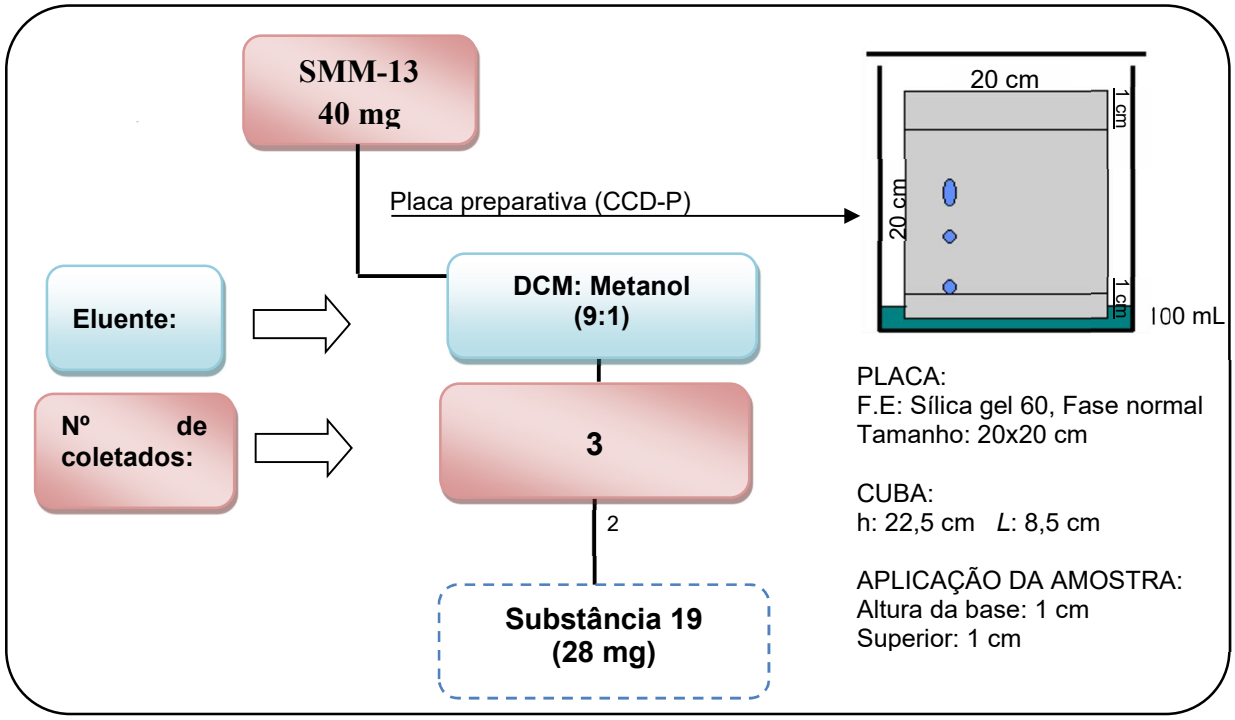


Esquema 18. Fracionamento cromatográfico de SMM-4.5.7

Tabela 20. Reunião das frações obtidas de SMM-4.5.7

Frações reunidas	Código	Massa	
1-2	SMM-4.5.7.1	1,0	
3	**SMM-4.5.7.3**	**2,6**	SUBSTÂNCIA **16**
4	SMM-4.5.7.4	0,8	
5	SMM-4.5.7.5	1,5	
6	SMM-4.5.7.6	0,6	
7	SMM-4.5.7.7	0,2	
8	SMM-4.5.7.8	2,8	
9-11	**SMM-4.5.7.9**	**3,7**	SUBSTÂNCIAS **17 e 18**

A fração **SMM-13** (73,1 mg) após tratada com MeOH a quente, foi filtrada e o material de interesse apresentou-se como sólido branco. Em CCD, mostrou absorções no UV (λ= 254 e 365 nm) e um rastro roxo na parte superior da placa, quando revelado em vanilina sulfúrica. Foram retirados 40 miligramas dessa amostra para a preparação de uma CCDP (Esquema 19), usando um sistema de eluição de DCM:MeOH (9:1), eluida 2 vezes. O procedimento forneceu 3 frações, sendo uma o isolado **19**.



Esquema 19. CCDP da fração SMM-13

5 ENSAIOS BIOLÓGICOS

5.1 Ensaio antifúngico

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Micologia Médica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). As cepas fúngicas utilizadas nos ensaios (Tabela 21) foram provenientes de criação estoque pertencente a Coleção de Microrganismos de Interesse Médico do INPA.

Tabela 21. Espécies de fungos utilizadas nos ensaios

ESPÉCIES	CEPAS
Candida albicans	ATCC 60193
Candida Krusei	ATCC 34135
Cryptococcus gattii	CFP55

5.1.1 Preparação dos inóculos fúngicos

A preparação dos inóculos fúngicos seguiu as recomendações do protocolo M27-A3 da Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI (2008). Em resumo, as leveduras foram submetidas em 5 mL de solução salina esterilizada a 0,85% e agitado em vórtex por 15 segundos. E 10 µL dessa solução foram utilizados para a contagem das células, usando uma câmara de Neubauer e leitura microscópica (3 campos foram considerados nas contagens). Em seguida, foram realizadas diluições da levedura com meio líquido RPMI 1640, para obter uma concentração final de 2,5 x 10^3 células/mL.

5.1.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A avaliação da atividade antifúngica *in vitro* dos compostos (**1-3**; **9-12** e **19)** em fungos apresentados na Tabela 21**,** foi realizada pela técnica de microdiluição em

caldo em microplaca de 96 poços, conforme as recomendações descritas pelo CLSI nos documentos M27-A3 (2008), como ilustrado na figura 11.

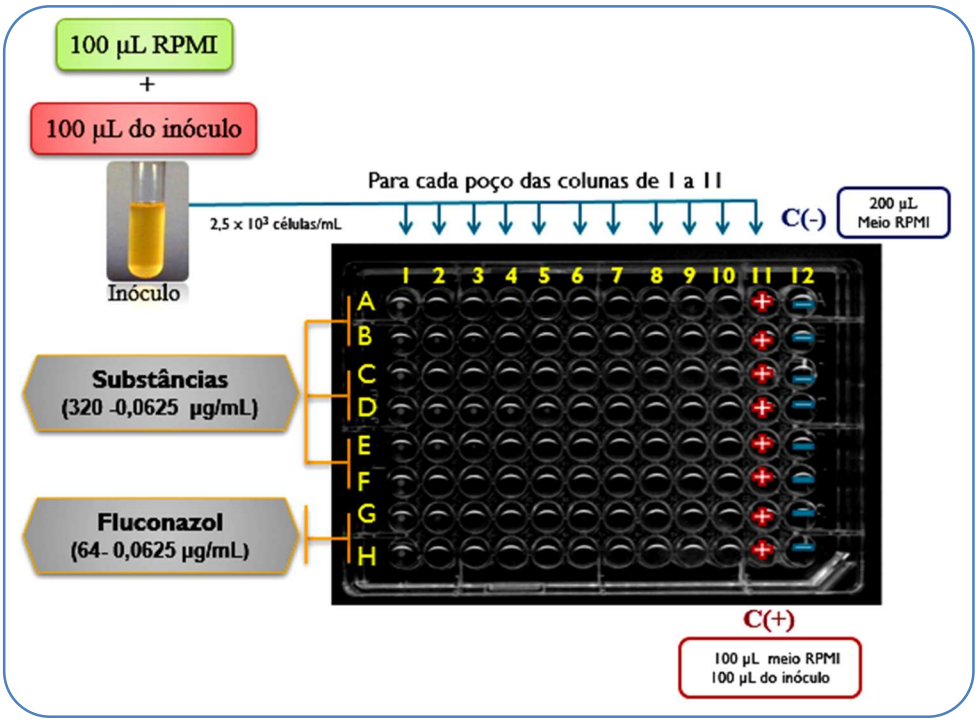


Figura 11. Técnica de microdiluição em caldo

Resumidamente, cada substância isolada foi dissolvida em 1% de dimetil-sulfóxido (DMSO) a 1,28 mg/mL (solução estoque). Desta, 100 µL foram diluídos em séries em caldo RPMI 1640 antes da inoculação e, por conseguinte, foram adicionadas na microplaca de 96 poços, resultando em concentrações finais que variaram de 320 a 0,0625 µg/mL (substâncias testadas) e de 64 a 0,0625 µg/mL (Fluconazol, antibiótico de referência). Posteriormente, 100 µL de inóculo contendo 2,5 × 10^3 células/mL do microrganismo testado foi adicionado nas colunas de 1-10 da microplaca. Na coluna 11 (100 µL do inóculo + 100 µL do meio RPMI) e 12 (200 µL do meio RPMI) foram usados como controle positivo e negativo, respectivamente. As placas foram tampadas e incubadas a 35°C por 24 horas (*Candida* spp.) e 48h (*Cryptococcus* sp). Os ensaios foram realizados em duplicatas e os valores do CIM

foram definidos através de leitura macroscópica da placa, onde foi analisado a menor concentração do composto que foi capaz de inibir o crescimento fúngico.

5.2 Ensaio inseticida

Os experimentos inseticidas foram realizados no Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola (LEA) e a criação estoque do inseto *Bemisia tabaci* (mosca branca) foi conduzida na casa de vegetação da Faculdade de Ciências Agrárias (FCA). Os dois laboratórios são pertencentes à Universidade Federal do Amazonas-UFAM, campus Manaus/AM.

5.2.1 Criação estoque de *Bemisia tabaci* (mosca branca)

Os insetos utilizados nos ensaios, foram provenientes de criação estoque por processo de "infestação induzida", onde plantas sadias de couve-de-folhas, que anteriormente foram preparadas em tubetes de 4 cm de diâmetro (55 cm^3) com substrato comercial Tropstrato HT Hortaliças®, foram infestadas por mudas contendo o inseto adulto de *Bemisia tabaci*. Uma gaiola revestida com microtela (0,8 x 0,8 x 1,5 m), foi usada para impedir ataques de outras pragas. Após sete dias de infestação, foram selecionadas três folhas de cada muda infestada, contendo 50 ninfas entre os estádios de ninfa II e ninfa III, para aplicação das substâncias.

5.2.2 Teste de mortalidade

Na avaliação da atividade inseticida dos compostos (**1**; **9-10** e **19**), uma Torre de Potter Burkard scientific®, calibrado a 5 lbf/ pol^2 (Figura 12), foi usada para aplicação de 1 mg/mL de substância/folha de forma homogênea. As substâncias contendo 6 mg, foram dissolvidas em acetona (6 mL) e o produto comercial Evidence

WG700®, foi utilizado como controle positivo. Todos os ensaios foram realizados em seis repetições sendo que, cada folha equivale a uma repetição. Logo após a pulverização das substâncias, as unidades experimentais foram realocadas para a casa de vegetação, em condição de semi-campo. Ao passar 7 dias, foram realizadas as avaliações de mortalidade causada por cada substância (baseou-se na contagem de ninfas mortas. A mortalidade natural corrigida foi calculada para cada tratamento pela fórmula de Abbott (1925): Mc (%) = (%Mo - %Mt / 100 - %Mt) x 100, (onde: Mc = 64 Mortalidade corrigida; Mo = Mortalidade observada; Mt = Mortalidade na testemunha). Nas análises estatísticas, os percentuais de mortalidade foram transformados em arcsen[{(x+0.5)/100})0.5], submetidos à ANOVA e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p<0.05$).



Fonte: Marcelo Zanelato

Figura 12.Torre de Potter Burkard scientific®

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Determinação estrutural dos triterpenos isolados em *S.macrophylla*

6.1.1 Identificação das substâncias em mistura de 5 e 6 (SMH-9.11)

A fração SMH-9.11 (8,8 mg) apresentou-se como sólido branco, com solubilidade em DCM e em placa de CCD de fase normal, mostrou o mesmo (Rf=0,54) de um amostra padrão de amirina, utlizando-se Hex/AcOEt (9:1) como sistema de eluição (Figura 13). Os procedimentos de isolamento estão descritos no esquema 6.

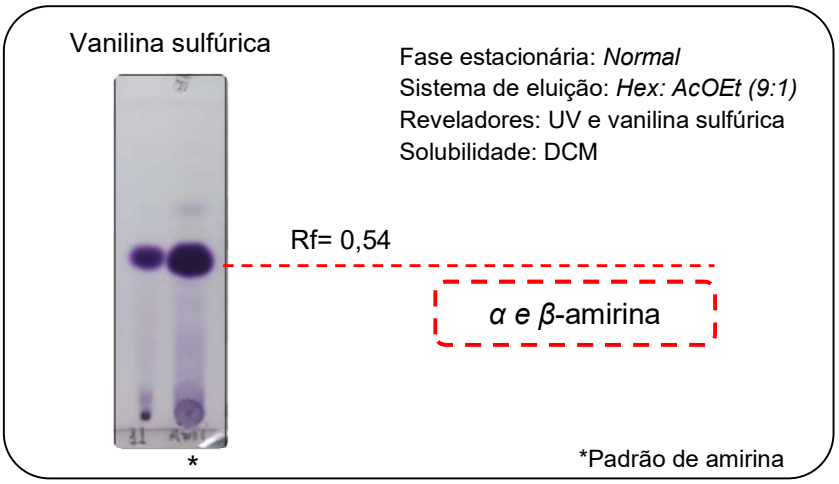
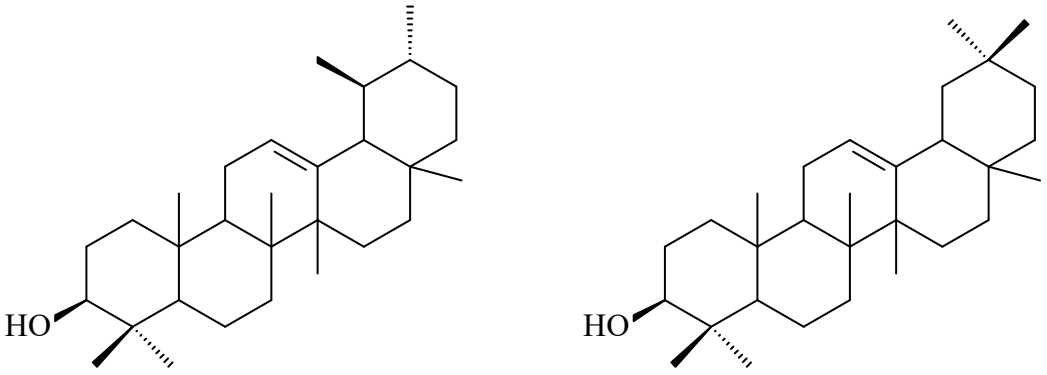


Figura 13. CCD da fração com SMH-9.11.

O espectro de ^{1}H-RMN (Tabela 22, Figura 16) da fração SMH-9.11, mostrou sinais característicos de triterpenos ursano (*α*-amirina) e olenano (*β*-amirina), como sugerido em plaquinha de CCD. Por exemplo, as análises do espectro ampliado (Figura 17) mostraram a presença de dois tripletos em δ_H 5,13 *t* (*J* = 3,57 *Hz*) e 5,19 *t* (*J* = 3,51 *Hz*) referentes ao H-12 das substâncias **5** (*α*-amirina) e **6** (*β*-amirina), respectivamente. Pelas integrais dos respectivos sinais de H-12, trata-se de uma mistura de 2:1 de *α*- para *β*-amirina. O deslocamento químico correspondente aos hidrogênios carbinólicos da posição H-3, comum aos dois triterpenos foram

observados em δ_H 3,22 *dd* (*J*=10,41 e 5,04*Hz*). A constante maior indica que H-3 está em axial e acopla com H-2 com *J*-diaxial.

A análise do espectro de ^{13}C-RMN (Tabela 23, Figura 15) confirma a ocorrência dos dois triterpenos (Figura 14) devido à presença de sinais característicos dessas substâncias. Os deslocamentos químicos de carbonos olefínicos mais intensos foram atribuídos à α-amirina (**5**) em δc 124,40 (C-12) e 139,57 (C-13), enquanto que para *β*-amirina (**6**) os sinais menores foram evidenciados em δc 121,70 (C-12) e 145, 20 (C-13). O carbono carbinólico foi observado em δc 79,06 e 79,04 referentes à posição C-3 da mistura do composto **5** e **6**, respectivamente. Os dados unidimensionais (^{1}H e ^{13}C) estão em conformidade com os apresentados por Lima (2004). Vale ressaltar que triterpenos *α*-amirina (esqueleto ursano) e *β*-amirina (esqueleto oleanano), apesar de serem bastante comuns em espécies vegetais, esse é o primeiro registro dos triterpenos na madeira de *Swietenia macrophylla*.



(**5**) *α*-amirina (**6**) *β*-amirina

Figura 14. Triterpenos **5** e **6** identificados em mistura na fração SMH-9.11

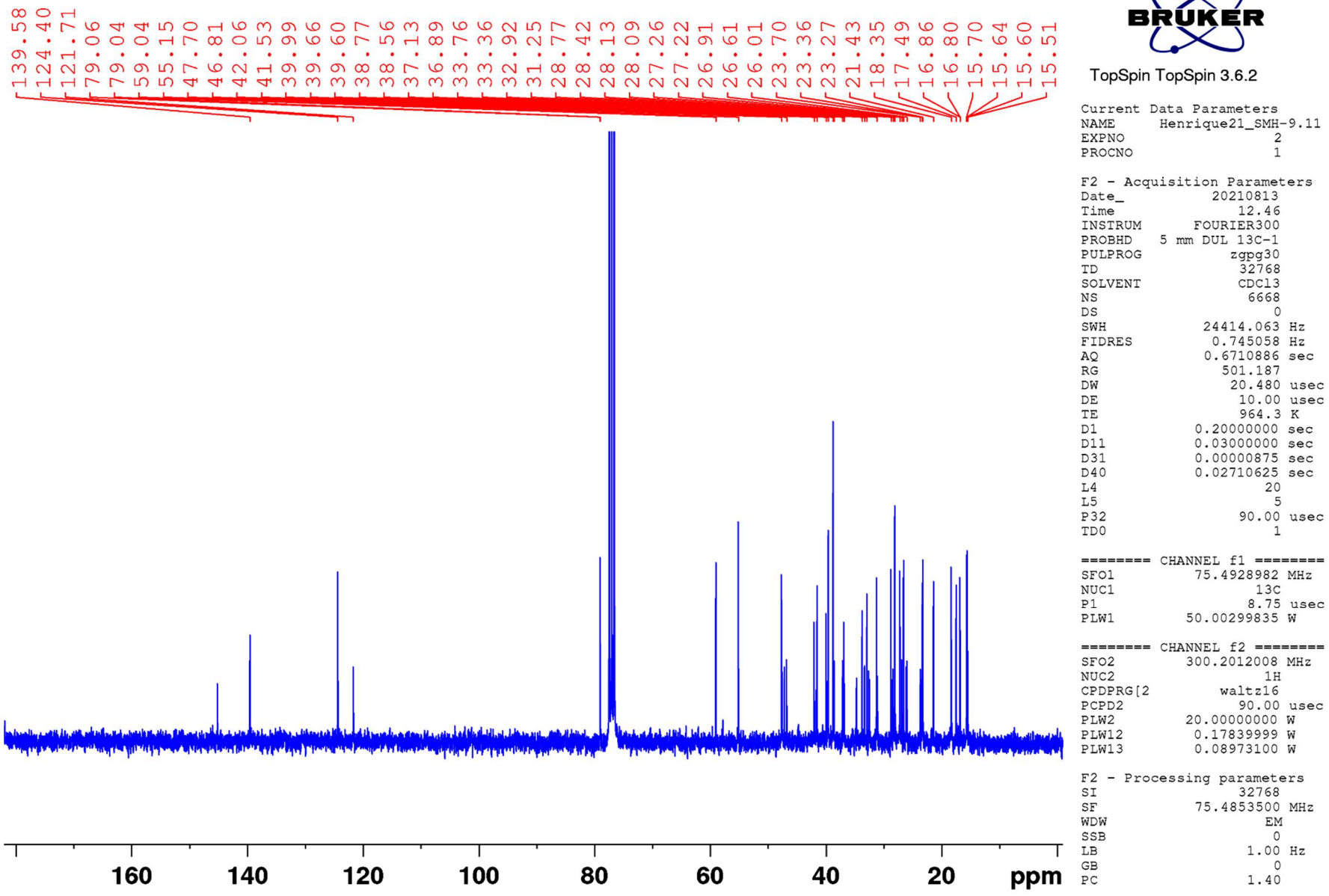


Figura 15. Espectro de RMN ^{13}C de SMH-9.11 (75 MHz, $CDCl_3$)

BRUKER

TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME      Henrique21_SMH-9.11
EXPNO                      2
PROCNO                     1

F2 - Acquisition Parameters
Date_              20210813
Time                 12.46
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG            zgpg30
TD                   32768
SOLVENT              CDCl3
NS                    6668
DS                       0
SWH             24414.063 Hz
FIDRES           0.745058 Hz
AQ               0.6710886 sec
RG                 501.187
DW                  20.480 usec
DE                  10.00 usec
TE                  964.3 K
D1             0.20000000 sec
D11            0.03000000 sec
D31            0.00000875 sec
D40            0.02710625 sec
L4                      20
L5                       5
P32                  90.00 usec
TD0                      1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1           75.4928982 MHz
NUC1                  13C
P1                   8.75 usec
PLW1          50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2          300.2012008 MHz
NUC2                  1H
CPDPRG[2          waltz16
PCPD2                90.00 usec
PLW2          20.00000000 W
PLW12          0.17839999 W
PLW13          0.08973100 W

F2 - Processing parameters
SI                   32768
SF             75.4853500 MHz
WDW                     EM
SSB                      0
LB                    1.00 Hz
GB                       0
PC                    1.40
```

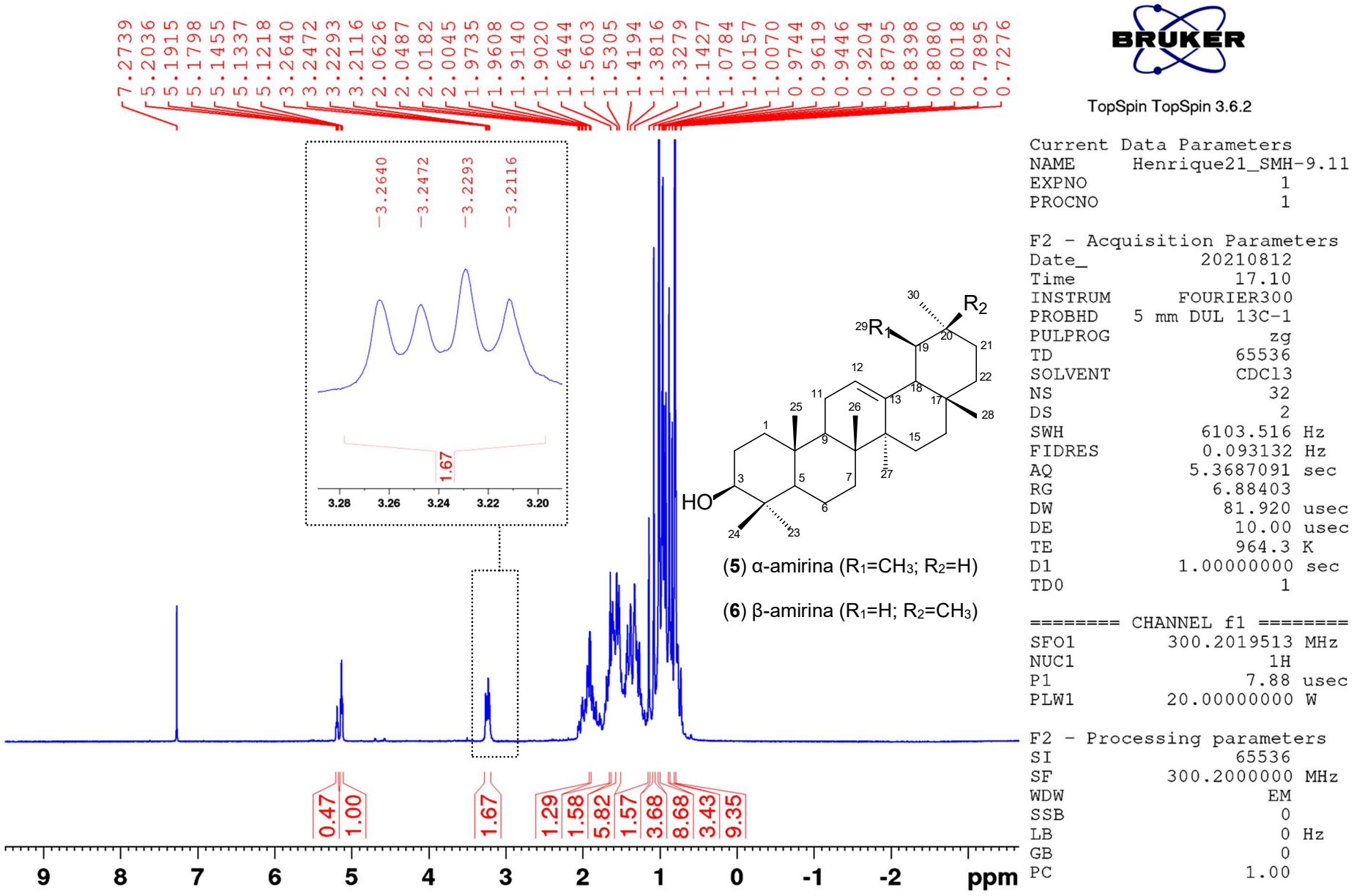
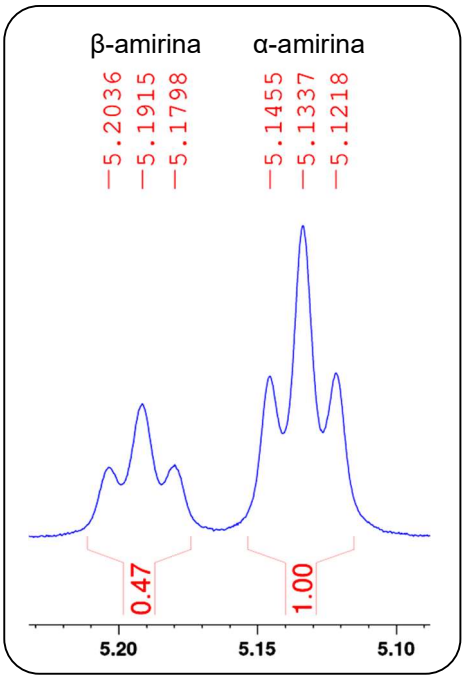
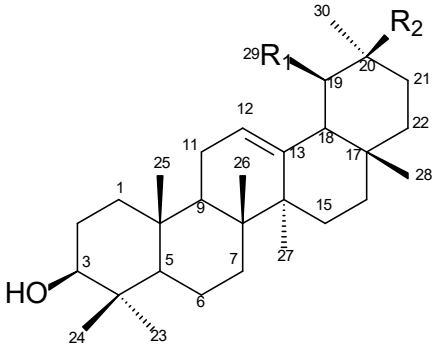


Figura 16. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-9.11 (300 MHz, $CDCl_3$)





(**5**) α-amirina (R_1=CH_3; R_2=H)

(**6**) β-amirina (R_1=H; R_2=CH_3)

Figura 17. Amplificação do RMN de ^{1}H dos sinais vinílicos na região de 5,25 -5,10 de **5** e **6**.

Tabela 22. Dados dos hidrogênios olefínicos e carbinólicos de **5** e **6**.

Nº	^{1}H-RMN δ_H: multi; *J* (Hz)(1)		^{1}H-RMN δ_H: multi; *J* (Hz)(Literatura 2)	
	α-amirina (**5**)	β-amirina (**6**)	α-amirina **	β-amirina **
3	3,22 dd (J=10,4 e 5,0)	3,22 dd (J=10,4 e 5,0)	3,22 dd (10,7 e 5,1)	3,22 dd (10,7 e 5,1)
12	δ_H 5,13 *t* (J = 3,57)	5,19 *t* (J = 3,51)	5,12 t (3,6)	5,18 t (3,2)

(1) ($CDCl_3$, 300 MHz) (2) ($CDCl_3$, 400 MHz) **(LIMA *et al.* 2004)

Tabela 23. Dados dos carbonos olefínicos e carbinólicos de **5** e **6**.

Nº	^{13}C-RMN (1)		^{13}C-RMN (2)	
	α-amirina (5)	β-amirina (6)	α-amirina**	β-amirina**
3	79,06	79,04	79,06	79,06
12	124,40	121,70	123,69	121,78
13	139,57	145,20	145,70	145,70

(1) ($CDCl_3$, 75MHz)(2) ($CDCl_3$, 400 MHz)**(LIMA *et al.* 2004)

6.1.2 Identificação da substância 1 (SMH-15)

A substância **1**, codificada na fração **SMH-15** com 680,4 mg foi isolada na forma de um sólido branco, conforme os procedimentos cromatográficos descritos nos Esquema 3 e 11. Em CCD de fase normal mostrou absorção intensa no UV em 365 nm, depois de revelada em vanilina sulfúrica exibiu mancha roxa, com Rf=0,26 ao utilizar Hex:AcOEt (9:1) como sistema de eluição (Figura 18).

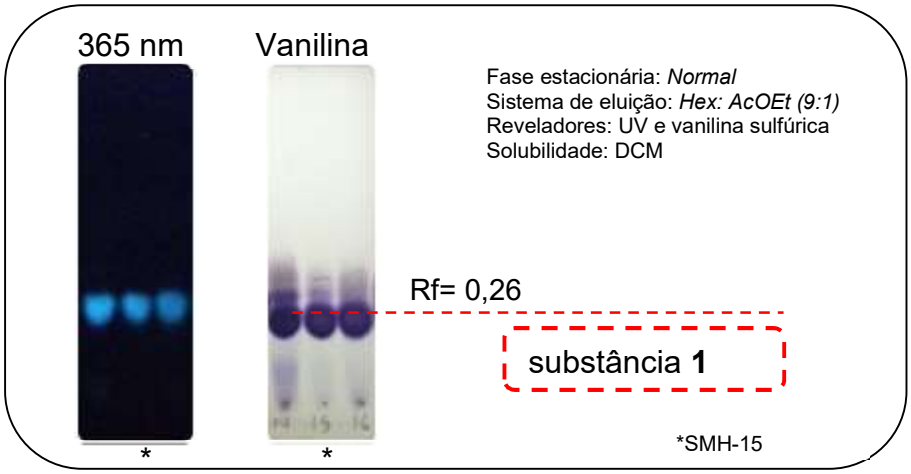
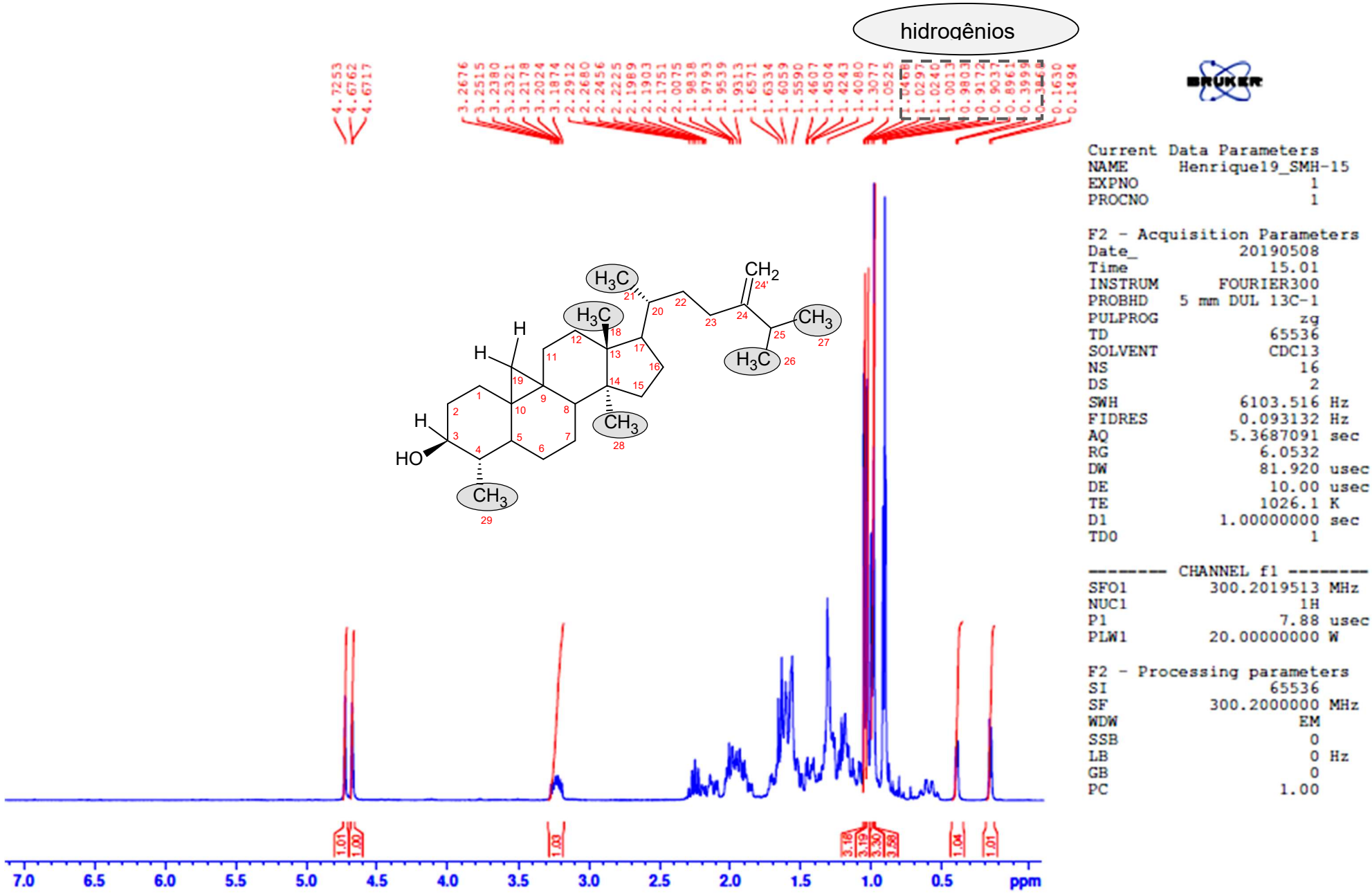


Figura 18. CCD da fração com SMH-15.

No espectro de ^{1}H-RMN (Tabela 24, Figura 19) foi possível observar a presença de um anel ciclopropano na região de campo alto em δ_H 0,16 *d* e 0,39 *d* com constante de acoplamento de *J*=4,0 Hz cada, as quais foram atribuídos aos hidrogênios H-19 (Figura 20), muito comum em triterpeno do tipo cicloartânico. A existência de uma dupla ligação terminal foi evidenciada através dos hidrogênios vinilícos em δ_H 4,67 *d* e 4,72 *sl* (Figura 21). Além disso, o espectro de ^{1}H-RMN revelou ainda a existência de seis sinais característicos de hidrogênios metílicos, sendo dois sinais em singleto (δ_H 0,90 e 0,98) e quatro em dubletos (δ_H 0,9; 1,00; 1,04; 1,05). Já o deslocamento químico em δ_H 3,23 *m*, foi atribuído ao hidrogênio carbinólico da posição H-3 (Figura 21).




```
Current Data Parameters
NAME      Henrique19_SMH-15
EXPNO                    1
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_              20190508
Time                 15.01
INSTRUM         FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG                 zg
TD                   65536
SOLVENT              CDC13
NS                      16
DS                       2
SWH               6103.516 Hz
FIDRES            0.093132 Hz
AQ                5.3687091 sec
RG                   6.0532
DW                  81.920 usec
DE                  10.00 usec
TE                  1026.1 K
D1               1.00000000 sec
TD0                      1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1            300.2019513 MHz
NUC1                    1H
P1                   7.88 usec
PLW1            20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                   65536
SF              300.2000000 MHz
WDW                     EM
SSB                      0
LB                       0 Hz
GB                       0
PC                    1.00
```

Figura 19. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-15 (300 MHz, $CDCl_3$)

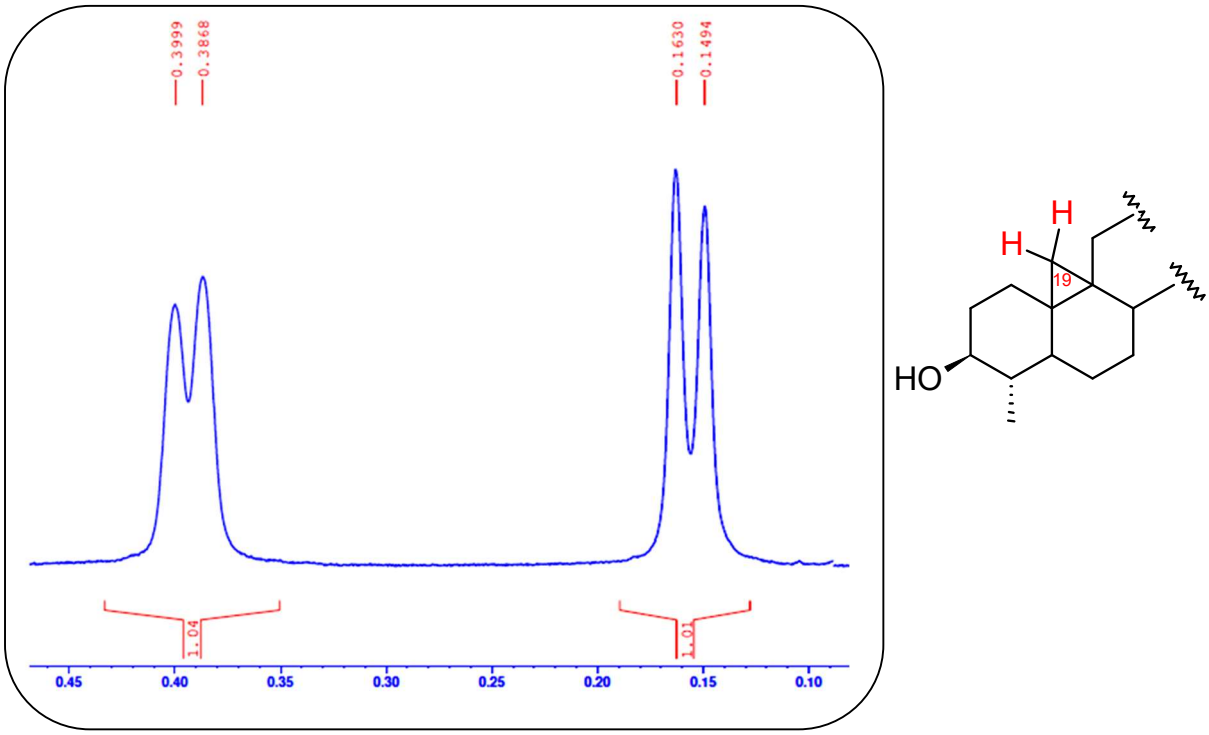


Figura 20. Expansão dos H-metilênicos nas regiões de δ_H 0,16 a 0,39

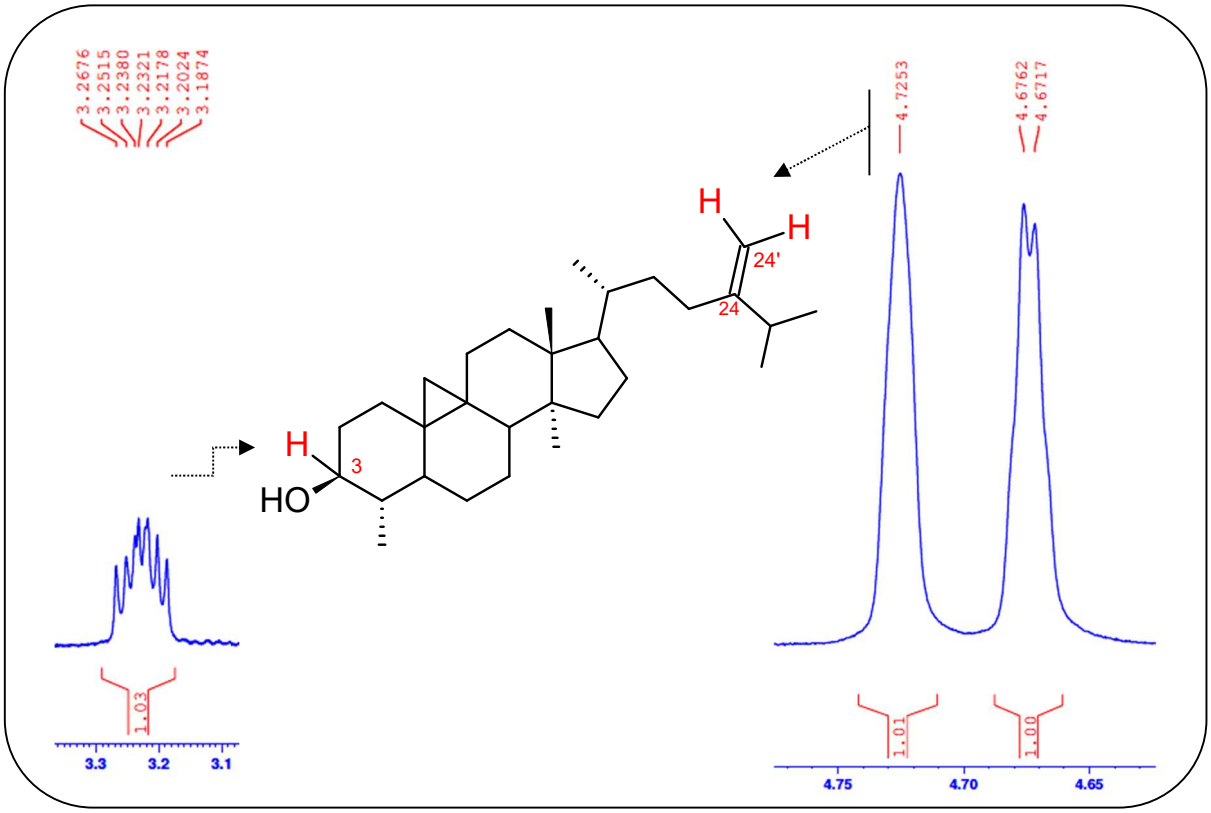


Figura 21. Expansão de ^{1}H-RMN na região de δ_H 33,1-3,33 e δ_H 4,65 e 4,75

Em análises paralelas aos espectros de RMN ^{13}C (Tabela 24, Figura 28) e DEPT-135 (Figura 29) foi possível confirmar a ocorrência de um único triterpeno na fração SMH-15, onde foram observados apenas 30 sinais, sendo, 6 carbonos metílicos (CH_3), 12 carbonos metilênicos (CH_2), 7 carbonos metínicos (CH) e 5 carbonos quaternários (ausentes no espectro de DEPT-135). O sinal de carbono metilênico do anel ciclopropano foi confirmado pelas correlações heteronucleares $_1JCH$ entre δ_C 27,27 (C-19) com dois dubletos em δ_H 0,16 e 0,39, apresentadas no espectro de HSQC expandido (Figuras 22). Da mesma forma, no mapa de HSQC (Figura 23) o carbono vinílico de dupla terminal em δ_C 105,9 (C-24') fez correlação direta com os hidrogênios em δ_H 4,67 e 4,72, juntamente com a presença de um sinal característico em δ_C 76,56 (C-3) ligado diretamente ao hidrogênio em δ_H 3,22 (H-3), pôde-se chegar à estrutura de um triterpeno cicloartânico para SMH-15, com a presença de grupo hidroxila ligado ao átomo de carbono C-3.

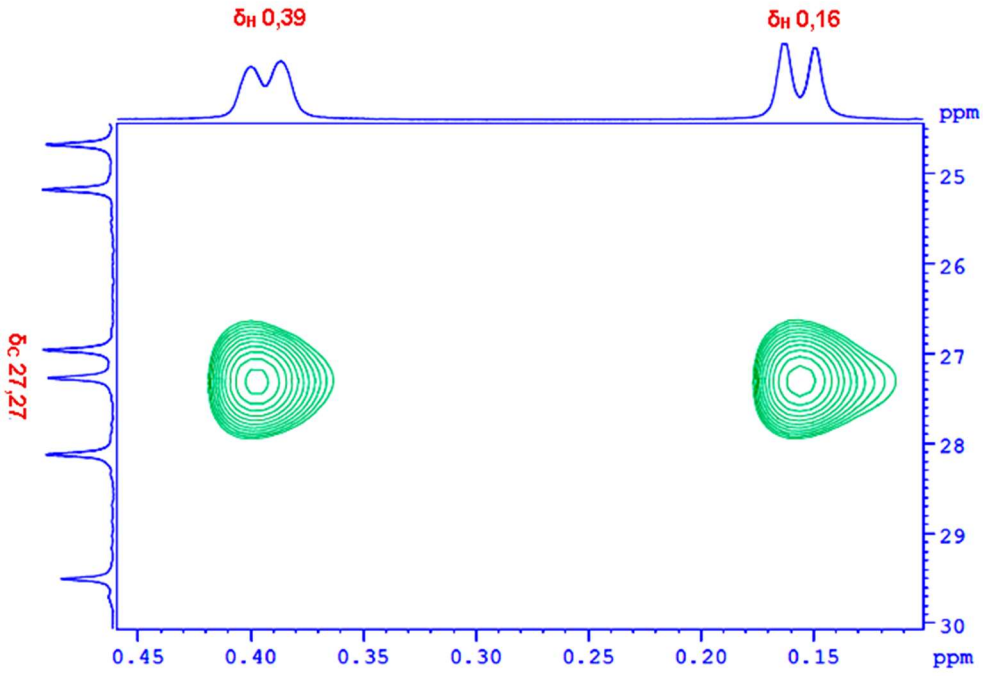


Figura 22. Ampliação do HSQC na região δ_H 0,16-0,39 e δc 25-30 de **1**.

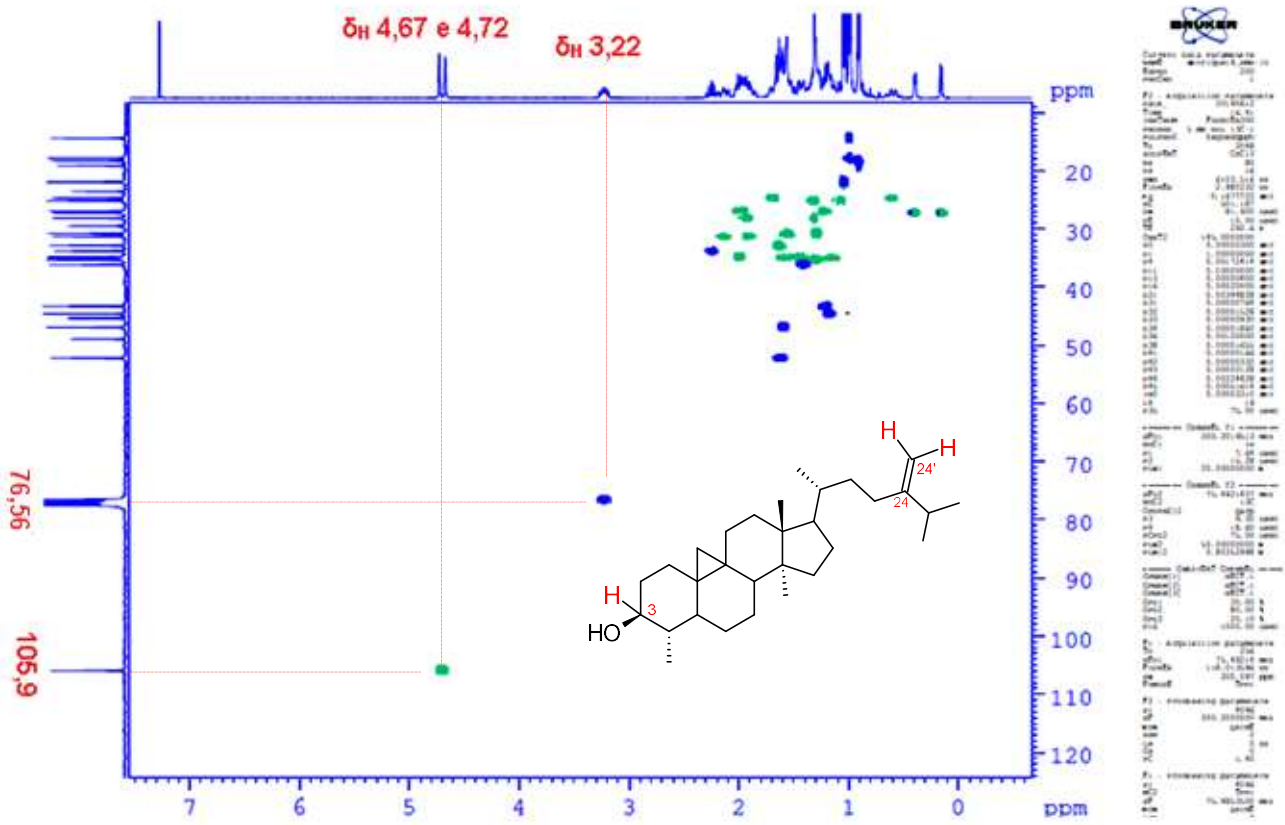


Figura 23. Mapa de HSQC (300/75 MHz, $CDCl_3$) de **1.**

No mapa de contorno de HMBC expandido (Figura 24, Tabela 24) foi possível confirmar o posicionamento da dupla terminal na cadeia lateral, pela correlação a longa distância do hidrogênio em δ_H 2,24 (H-25) com os carbonos δ_C 22,0 (C-26); 31,3 (C-23); 105,9 (C-24') e 156,9 (C-24). Da mesma forma, que o anel ciclopropânico foi posicionado no anel "B"**,** devido a correlação dos hidrogênios em δ_H 0,16 e 0,39 (H-19) com os carbonos em δ_C 23,5 (C-9); 27,2 (C-19); 29,50 (C-10); 43,3 (C-5) e 46,8 (C-8) (Figura 25). Já o hidrogênio metínico em δ_H1,18 (H-4) → δ_C 14,41 (C-29); 43,3 (C-5) e 79,5 (C-3), posicionando assim, a metila e o carbono carbinólico do anel A (Figura 26).

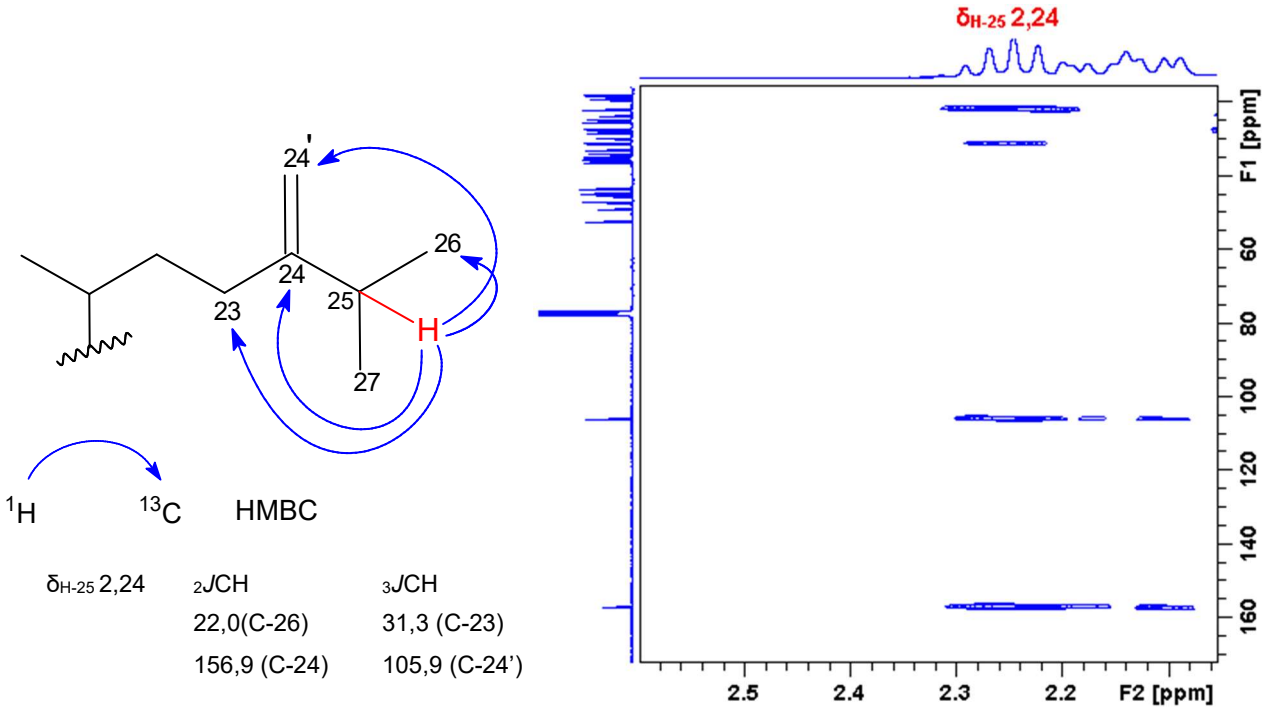


Figura 24. Ampliação HMBC na região δ_H 2,05-2,35 e δc 20-165 de **1.**

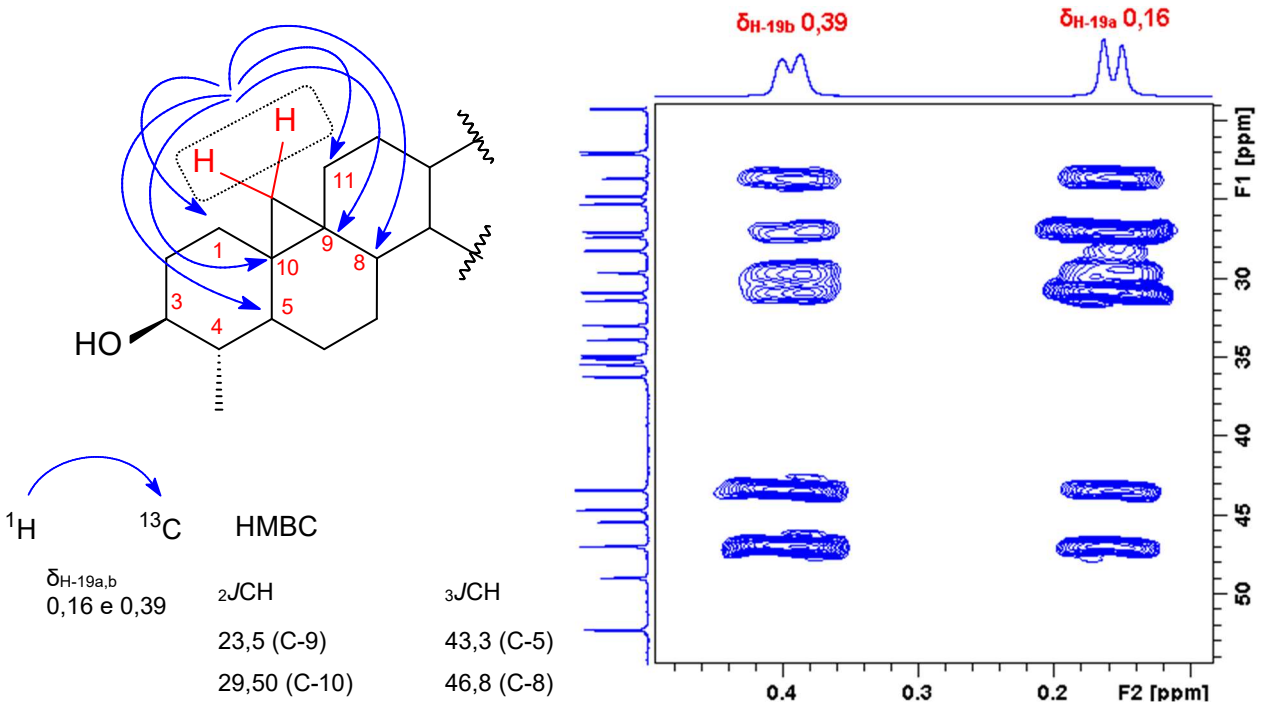


Figura 25. Ampliação HMBC na região δ_H 0,1-0,5 e δc 20-55 de **1**.

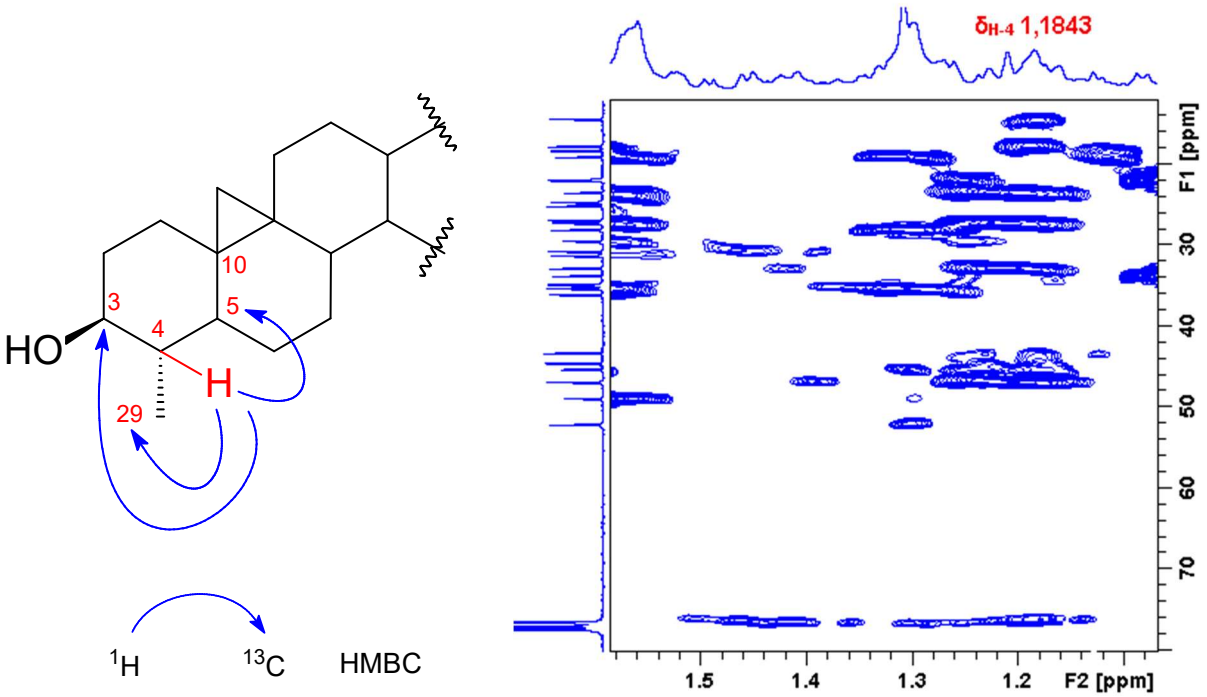


Figura 26. Ampliação do HMBC na região δ_H 1,14-1,28 e δc 14-78 de **1**.

A confirmação estrutural para o triterpeno cicloartânico de SMH-15 foi também corroborada pelo espectro de APCI/MS de baixa resolução (modo positivo) (Figura 30, pag. 72) mostrando um sinal em *m/z* 427,50 correspondente ao pico $[M+H]^+$, que acompanhado com os dados espectrais de RMN, foi possível propor a fórmula molecular $C_{30}H_{50}O$ para o triterpeno. O conjunto dessas análises, associadas com os dados encontrados na literatura (KIKUCHI *et al*., 1986), foi possível identificar a substância **1**, como cicloeucalenol (Figura 27).

O cicloeucalenol apresentou-se como composto majoritário dos resíduos de *S. macrophylla*, indicando um dos responsáveis pela resistência da madeira. Segundo estudos realizados por Ekhuemelo *et al*. (2019) essa substância possui atividade antifúngica de inibição eficaz nas concentrações que variam de 100 a 200 µg/mL contra fungos da madeira (*Aspergillus fumigatus, Coniophora puteana, Fibroporia vaillantii, Phaeolus schweinitzii* e *Rhizopus* sp.). No trabalho de Silva e colaboradores (1999) também mostraram resultados excelentes da mesma substância contra

Spodoptera frugiperda, com concentração eficaz para 50% de inibição do crescimento (EC_{50}) de 7,7 ppm.

Além disso, vale ressaltar que, esse é o primeiro registro do triterpeno cicloeucalenol na espécie *Swietenia macrophylla*.

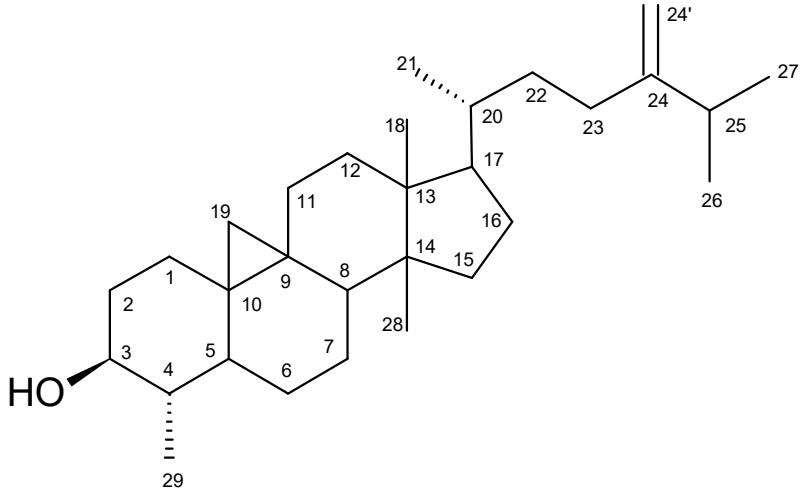


Figura 27. Estrutura do cicloeucalenol (**1**)

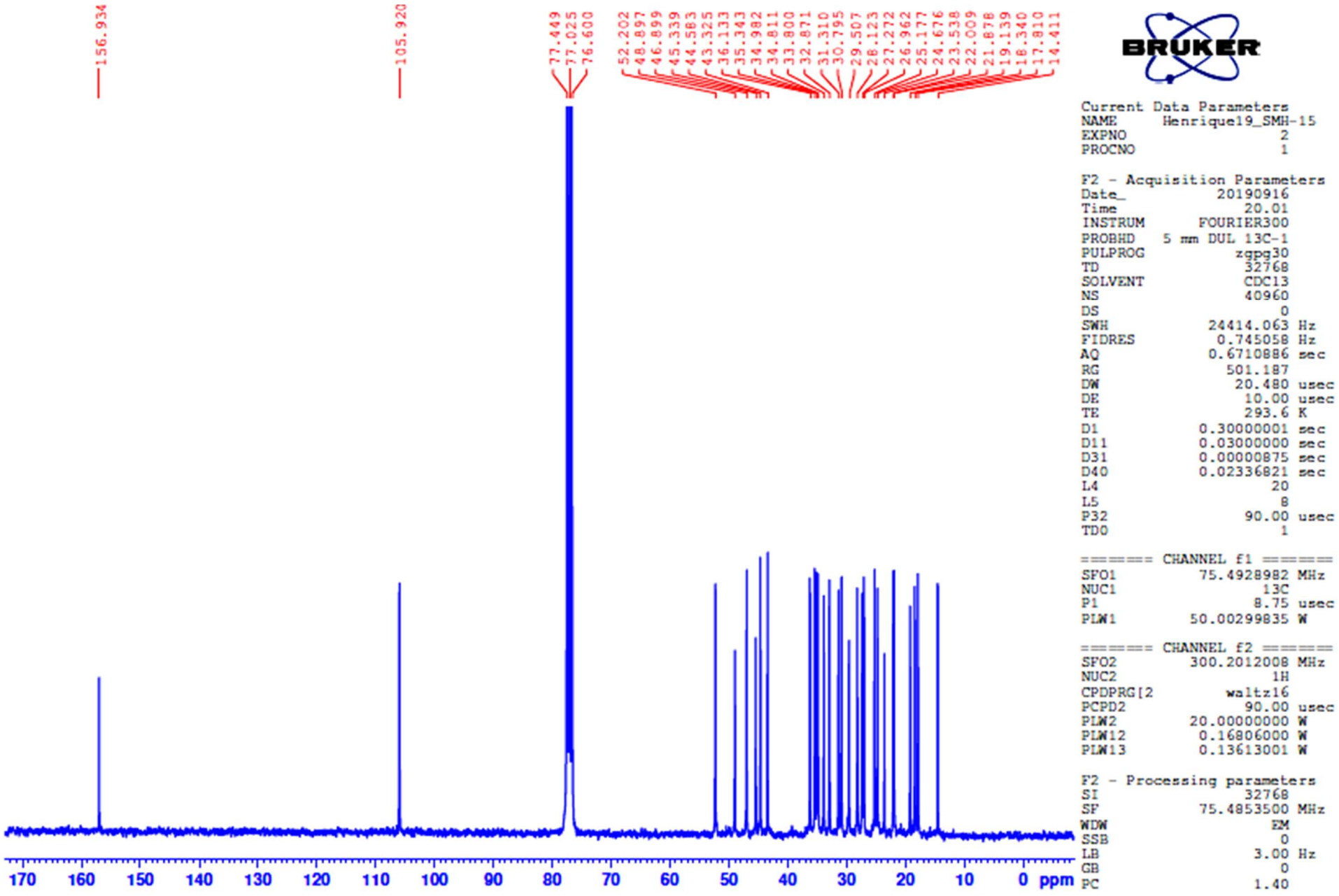


Figura 28. Espectro de RMN ^{13}C de SMH-15 (75 MHz, $CDCl_3$)

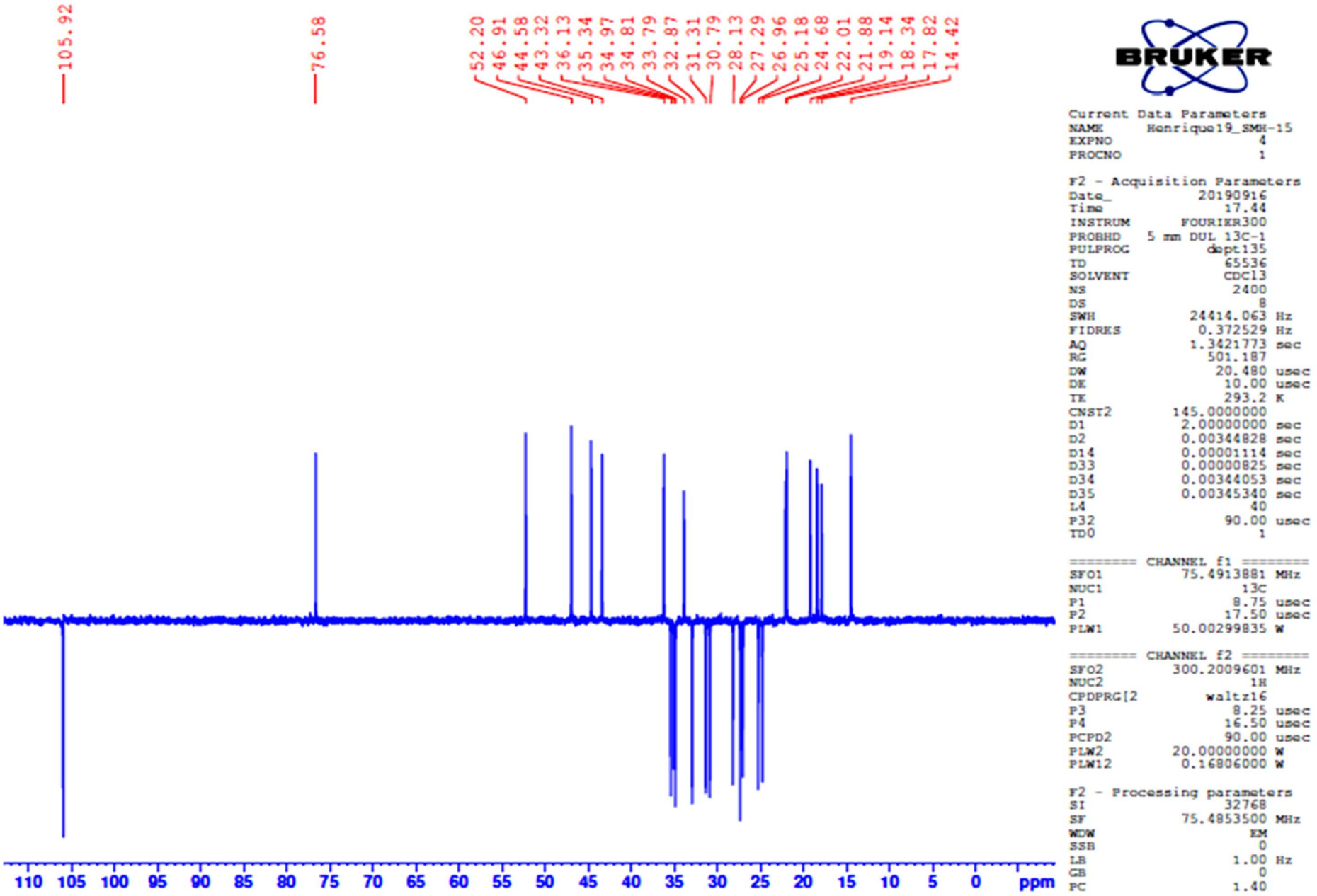


Figura 29. Espectro de RMN ^{13}C de SMH-15 (75 MHz, $CDCl_3$)

Tabela 24. Dados de RMN da substância **1** (cicloeucalenol)

Nº	cicloeucaleno (**1**)			LITERATURA*	
	δ_C	δ_H multi; *J* (Hz)[1]	HMBC	δ_C	δ_H multi; *J* (Hz)[2]
1	30,79			30,88	
2	34,81			34,90	
3	76,59	3,2265 *m*	C-29; C-5; C-3	76,64	3,213 *ddd* (*J*= 10,5; 9; 4,5)
4	44,58	1,1843		44,69	
5	43,32			43,43	
6	24,67			24,73	
7	25,17			25,22	
8	46,89			46,90	
9	23,53			23,64	
10	29,50			29,65	
11	26,96			27,08	
12	32,87	1,6344 *t* (*J*=7,11)		32,99	
13	45,33			45,45	
14	48,89			49,00	
15	34,98			35,42	
16	28,12			28,18	
17	52,20			52,31	
Me-18	17,80	0,9803 *s*		17,84	0,970 *s*
19	27,27	0,1630 *d* (*J*=4,0)	C-9; C-19; C-1; C-5; C-8	27,28	0,143 *d* (*J*=4,0)
		0,3999 *d* (*J*=4,0)	C-9; C-19; C-10; C-1; C-8		0,387 *d* (*J*=4,0)
20	36,13			36,21	
Me-21	18,33	0,9172 *d* (*J*=6,3)	C-22; C-20 e C-17	18,42	0,898 *d* (*J*= 6,5)
22	35,34			35,13	
23	31,30			31,41	
24	156,93			156,89	
24'	105,91	4,7257 *sl*	C-23; C-25	106,05	4,714
		4,6752 *d* (*J*=1,3)	C-23; C-25		4,662 *d* (*J*= 1,3)
25	33,79	2,2456 sept	C-26; C-23; C-24'; C-24	33,90	2,233 sept
Me-26	22,00	1,0525 *d* (*J*=6,84 Hz)	C-24; C-27 e C-25	22,06	1,026 d (*J*= 7,0 Hz)
Me-27	21,87	1,0429 *d* (*J*=6,84 Hz)	C-24; C-26 e C-25	21,94	1,031 d (*J*= 6,7Hz)
Me-28	19,13	0,9037 *s*	C-15; C-14, C-13 e C-8	19,21	0,893 *s*
Me-29	14,41	1,0115 *d* (*J*=6,3 Hz)	C-5; C-3	14,46	0,980 *d* (*J*= 7,0Hz)

[1] ($CDCl_3$, 300 MHz); [2] ($CDCl_3$, 400 MHz); ** (KIKUCHI *et al*., 1986)

Generic Display Report

Analysis Info

		Acquisition Date	11/25/2021 11:36:54 AM
Analysis Name	D:\Data\2021\DaPaz\Data\Henrique\MS\25-11-2021\ID_APCI+_SMH1_5.d		
Method	ID_APCI+_50-1000.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ID_APCI+_SMH1_5	Instrument	amaZon speed
Comment	A amostra foi dissolvida em i-PrOH grau LC-MS resultando numa solucao estoque de 1 mg/mL. Dessa solucao foram retirados 15 uL, os quais foram diluidos em 985 uL de solvente.		

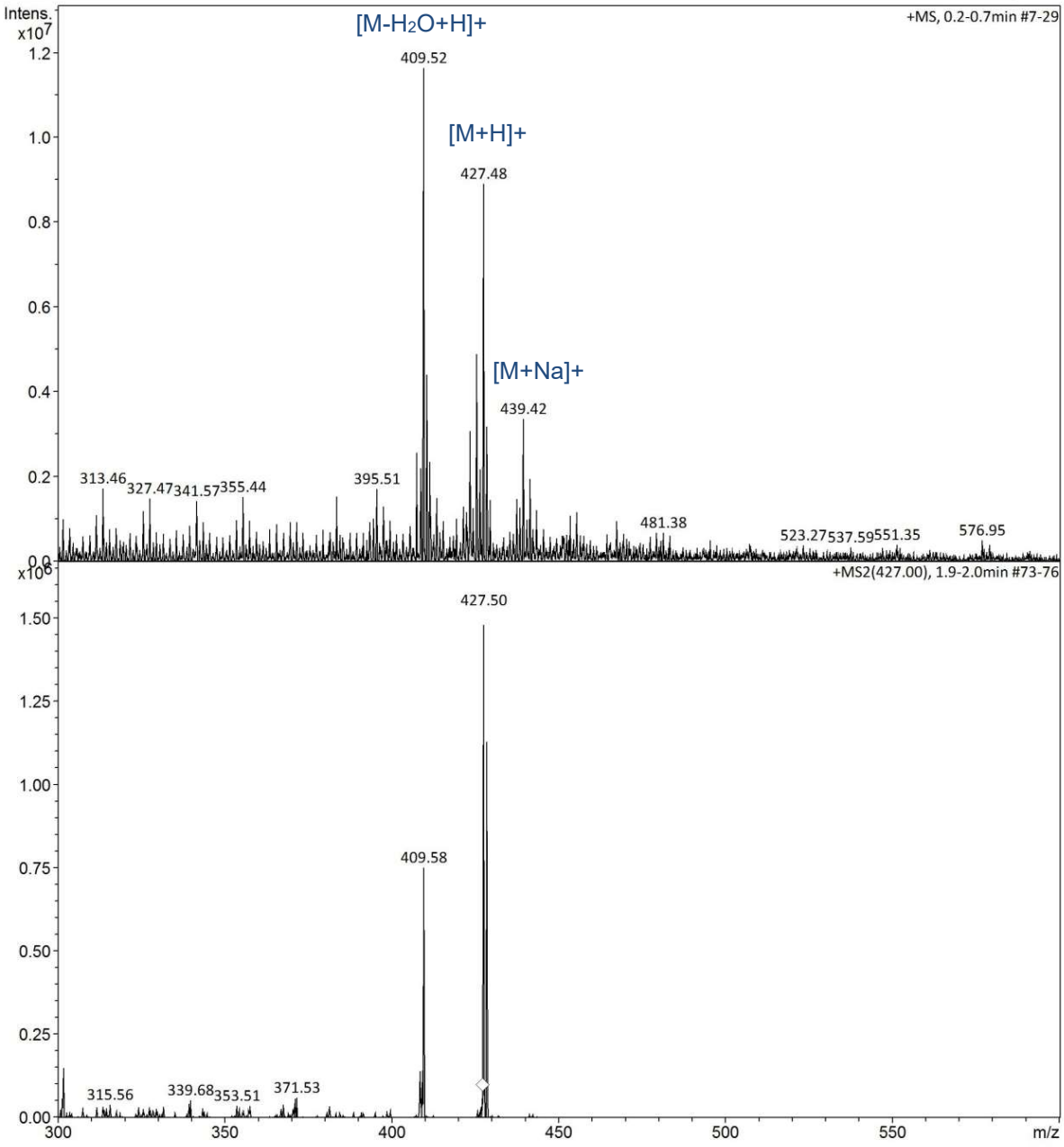


Figura 30. Espectro de massas da substância **1** (APCI/MS, modo positivo)

6.1.3 Identificação da substância 4 (SMH-6.7.P4)

A substância **4**, codificada na fração **SMH-6.7.P4** (2,6 mg) foi isolada na forma de um sólido branco, conforme os procedimentos cromatográficos descrito no Esquema 5. Em CCD de fase normal, mostrou absorção leve no UV em 254 nm, depois de revelada em vanilina sulfúrica exibiu mancha roxa, com Rf=0,32 ao utilizar Hex:AcOEt (9:1) como sistema de eluição (Figura 31).

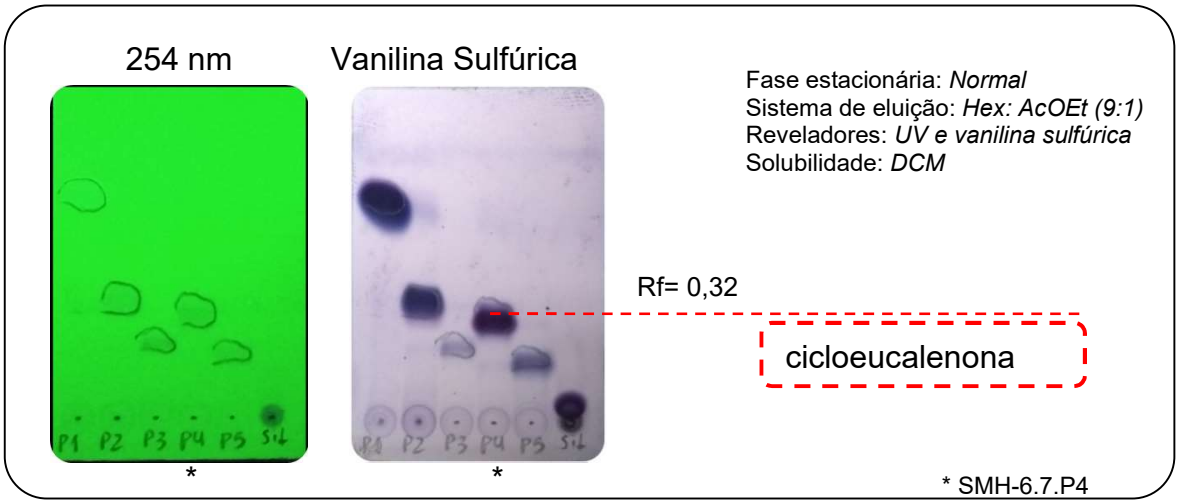


Figura 31. CCD da fração com SMH-6.7.P4.

Nas análises do espectro de ^{1}H-RMN (Tabela 25, Figura 32) foi possível observar claramente a semelhança de sinais com a substância **1**, logo, os dois dubletos em campo alto (δ_H 0,63 e 0,41), ambos com constante de acoplamento de *J*=4,0 Hz, confirmaram a presença do anel ciclopropano da substância (Figura 33). A existência da ligação dupla terminal foi evidenciada em δ_H 4,73 *sl* e 4,68 *d* (Figura 34). O espectro também mostrou as mesmas características para os hidrogênios metílicos do composto **1**, ou seja, dois sinais em singleto (δ_H 0,9215 e 1,0159) e quatro sinais em dubleto (δ_H 0,9279; 1,0114; 1,0502 e 1,0561). Vale ressaltar, que não foi observado sinal de hidrogênio carbinólico.

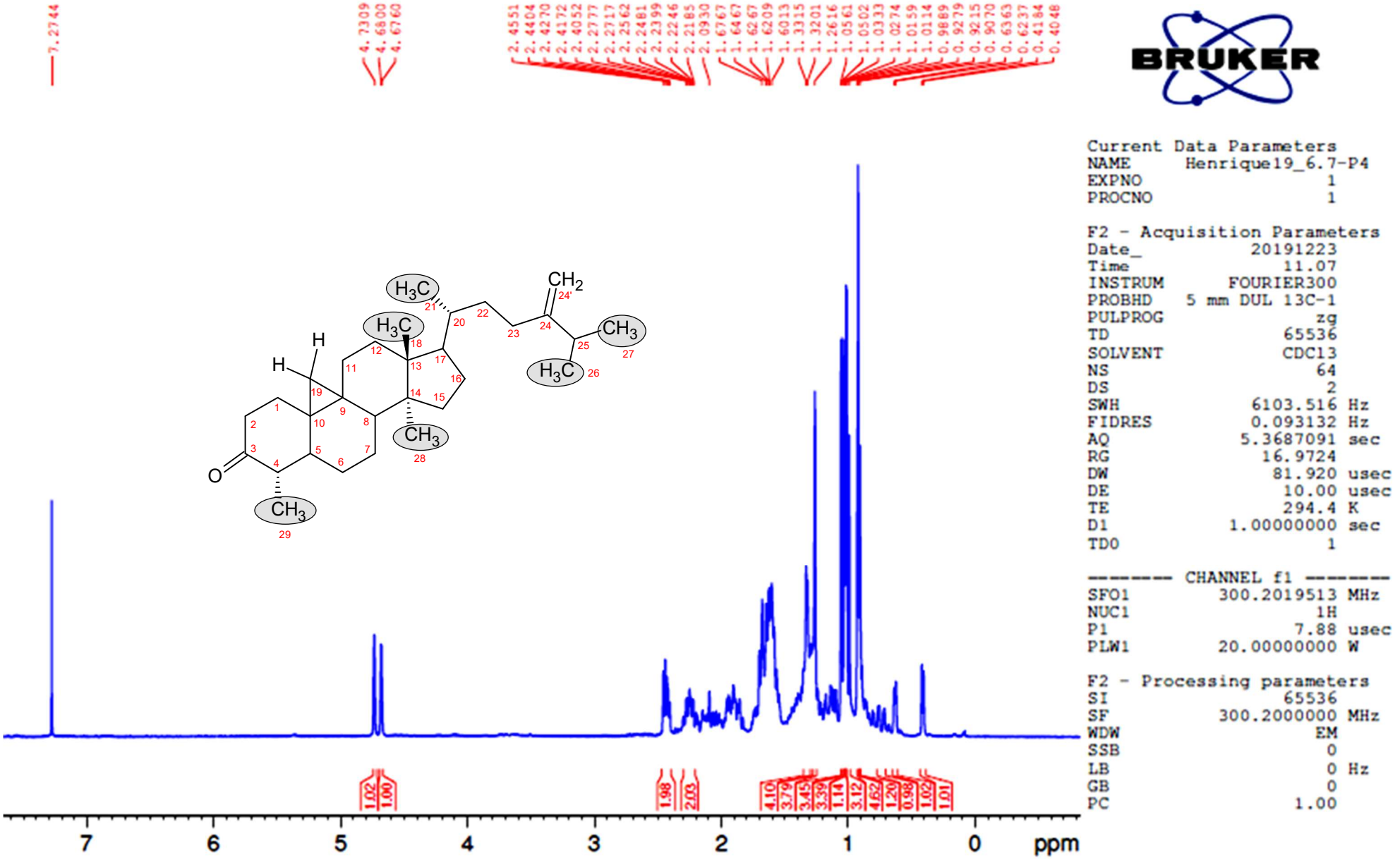


Figura 32. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-6.7.P4 (300 MHz, $CDCl_3$)

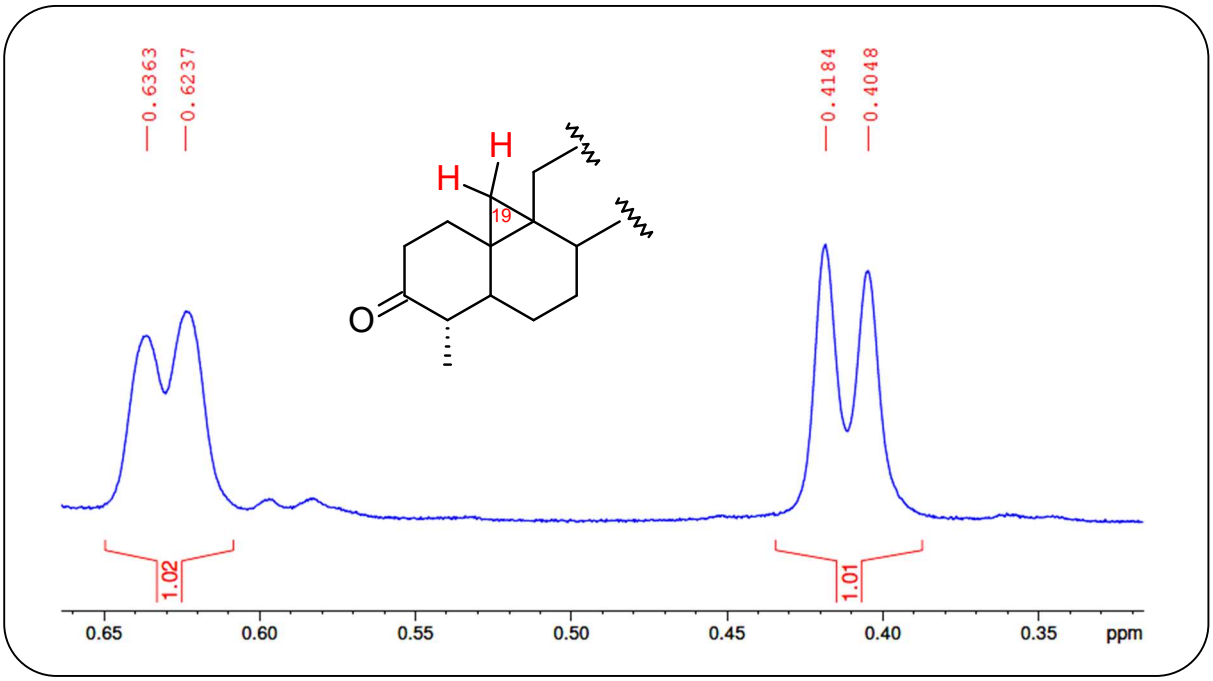


Figura 33. Expansão dos sinais ciclopropânicos em δ_H 0,41 a 0,63.

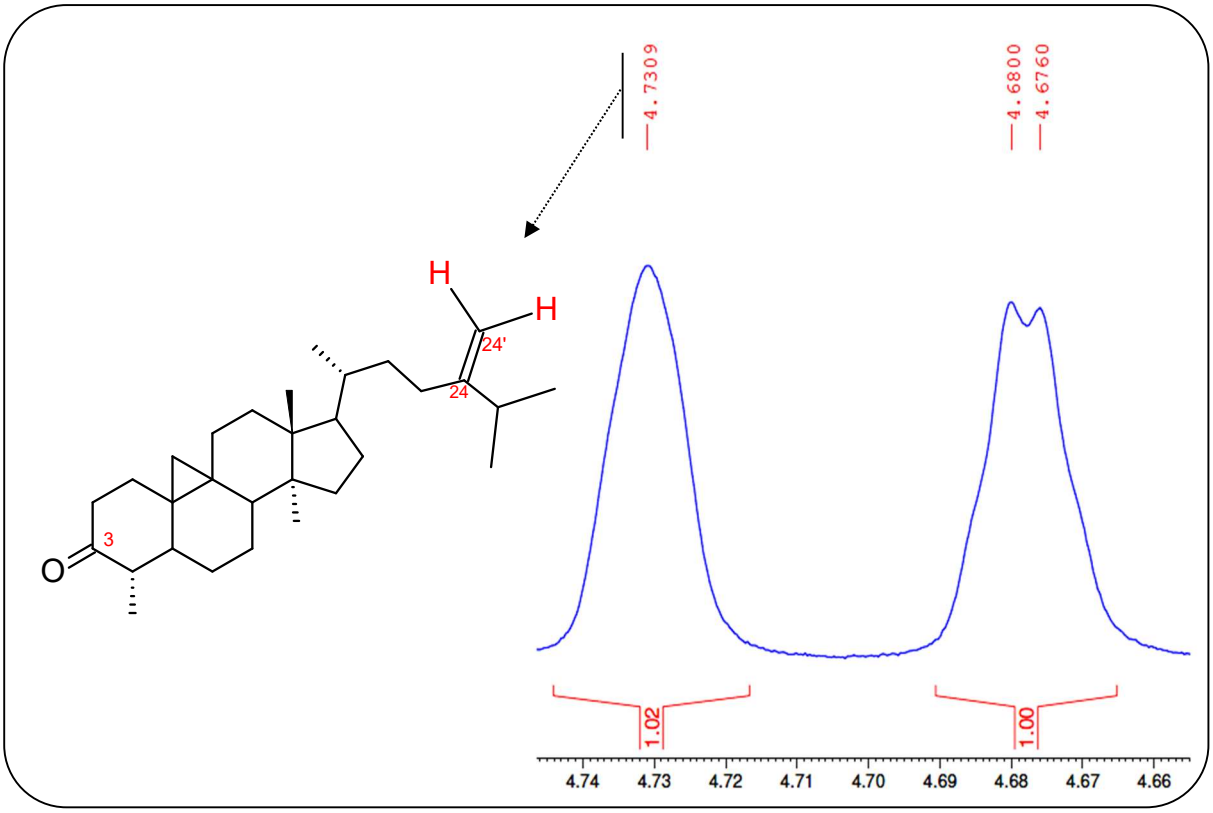


Figura 34. Expansão dos sinais vinílicos na região de δ_H 4,68 e 4,73

O espectro de ^{13}C-RMN (Tabela 25, Figura 39) também demonstra a existência de uma ligação dupla terminal ao apresentar um carbono quaternário em δ_C 156,9 e vinílico em δ_C 105,9, que se correlaciona a $^1J_{CH}$ com os sinais de hidrogênio em δ_H 4,73 *sl* e 4,68 *d* (*J*=1,2 Hz) no espectro de HSQC (Figuras 42, pag. 85). O sinal de carbono metilênico do anel ciclopropano foi observado em δ_C 27,00 (C-19) que corrobora com correlações direta a $^1J_{CH}$ com dois dubletos em δ_H 0,63 e 0,41, apresentadas no espectro de HSQC (Figuras 40). O sinal em δ_C 213,5 confirmou a existência de um grupo carbonilo ligado ao átomo de carbono C-3.

No espectro expandido de HSQC (Figura 40), foi possível verificar que o sinal em δ_H 2,24 apresentava duplicidade de sinal com os carbonos em δc 33,8 (C-25) e 50,0 (C-4). Este mesmo sinal de hidrogênio foi de grande importância para posicionar a dupla terminal e as duas metilas da cadeia lateral, devido às correlações heteronucleares a longa distância do hidrogênio em $\delta_{H\text{-}25}$ (2,24) com os carbonos δ_C 21,8 (C-27); 22,0 (C-26); 105,9 (C-24') e 156,9 (C-24) como demonstrado no HMBC (Figura 35).

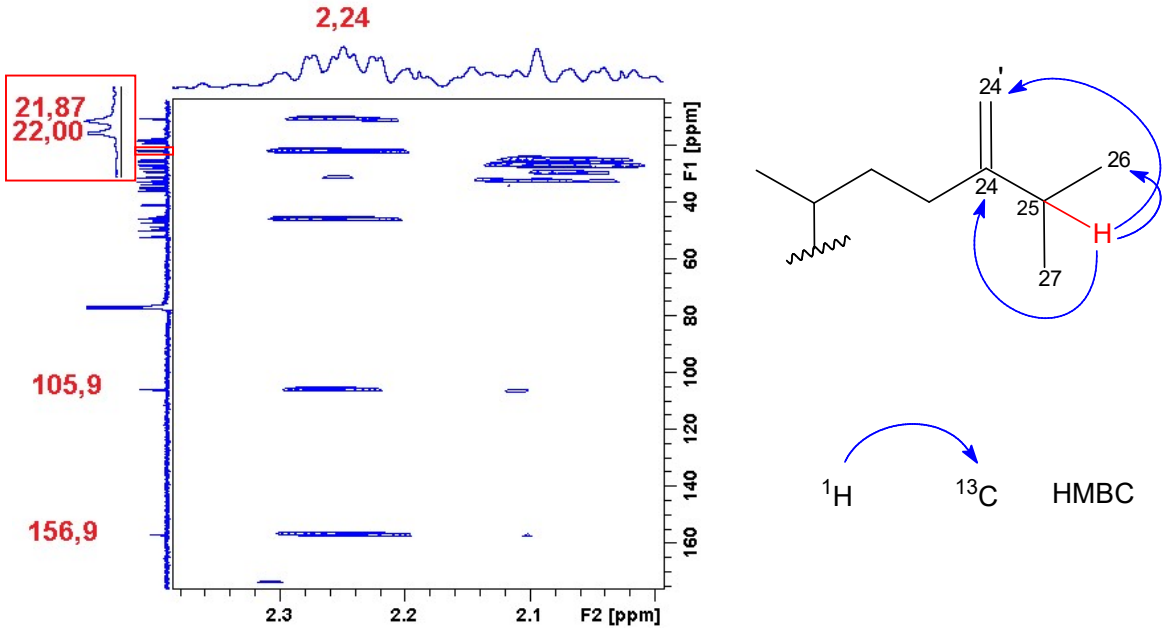


Figura 35. Amplificação do HMBC na região $\delta_{H\text{-}25}$ (2,24) e δc 20-160 de **4**.

Da mesma forma, o anel ciclopropânico foi posicionado no anel “B”, através da correlação dos hidrogênios em δ_H 0,63 e 0,41 com os carbonos em δ_C 24,9 (C-9); 32,8 (C-1); 46,0 (C-5) e 47,1 (C-8), as correlações estão apresentadas no HMBC expandido (Figura 36). Já o hidrogênio metínico em $\delta_{H\text{-}4}$ 2,24 fez correlação com a metila em δ_C 10,7 (C-4), com carbonila em 213,5 (C-3) e com um carbono em 46,0 (C-5), posicionando assim, a metila e a carbonila do anel A (Figura 37). Outras correlações essenciais de HSQC e HMBC são apresentadas na Tabela 25.

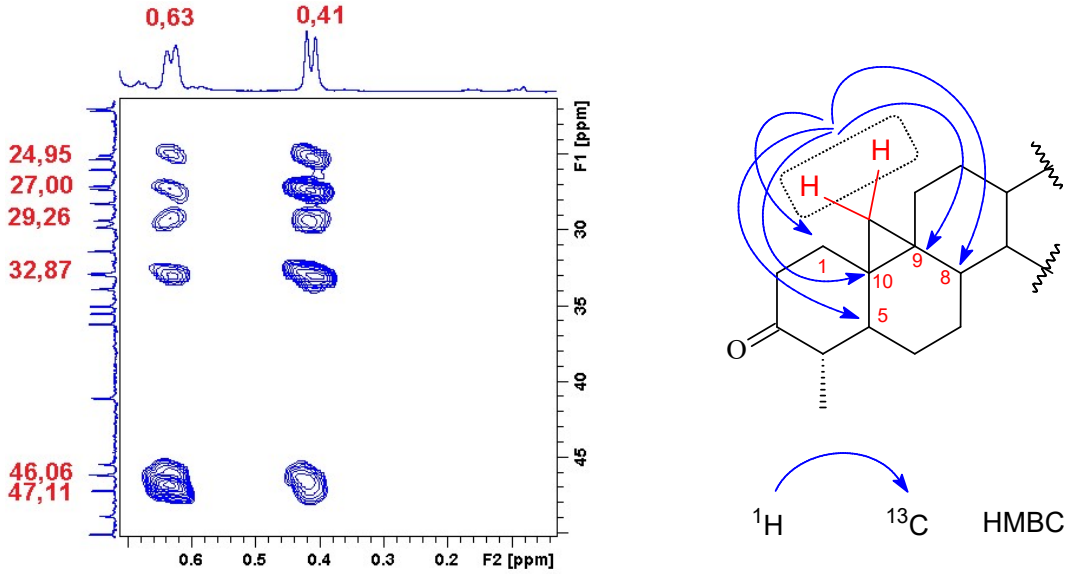


Figura 36. Amplificação do HMBC na região de $\delta_{H\text{-}19}$ (0,41-0,63) e δc (20-50) de **4**.

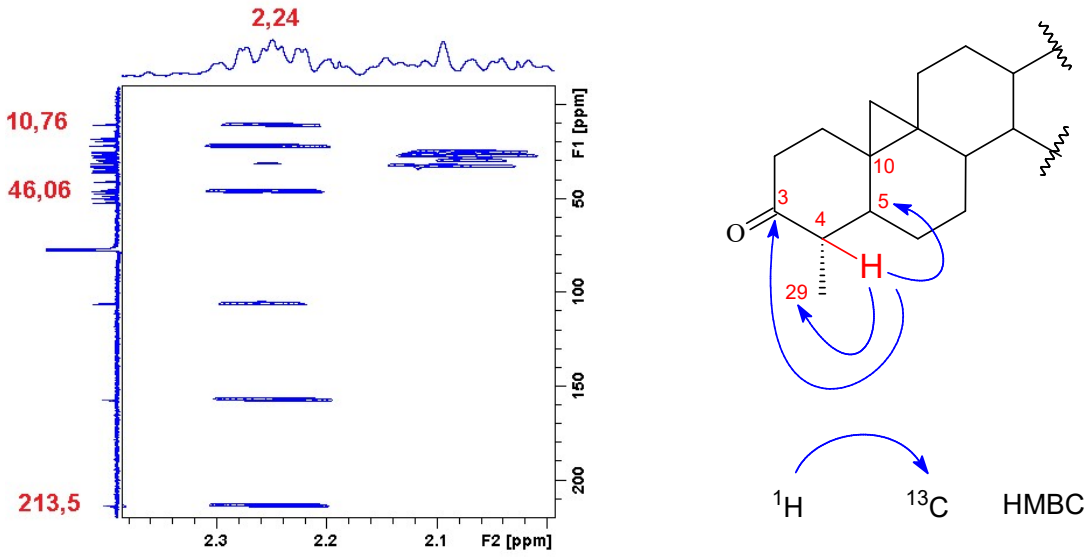


Figura 37. Amplificação do HMBC na região de $\delta_{H\text{-}4}$ (2,24) e δc (10-200) de **4**.

O Espectro de APCI/MS (Figura 41) de SMH-6.7.P4 apresentou pico em m/z 425,43, correspondente ao pico $[M+H]^+$, que acompanhado com os dados espectrais de RMN, foi possível propor a fórmula molecular $C_{30}H_{48}O$ para o triterpeno. O conjunto dessas análises, associados com os dados encontrados na literatura (KHUONG-HUU*,* 1975; AKIHISA*,* 1997), foi possível identificar a substância **4**, como cicloeucalenona (Figura 38). Os dados de RMN bidimensionais (Tabela 25) permitiram corrigir os valores dos deslocamentos químicos (δ) trocados para os átomos de carbono C-12 e C-15 da literatura consultada.

A cicloeucalenona teve seus primeiros relatos fitoquímicos em casca de frutas de *Musasapientum* L. (Musaceae), conhecida popularmente por “bananeira” (AKIHISA, 1997), foi também isolada em extratos de um fungo não identificado colhido em New Jersey (ONDEYKA *et al.,* 2005) e em caule de *Tinospora crispa*, da família Menispermaceae (KONGKATHI *et al.,* 2002). Vale ressaltar que, esse é o primeiro registro do triterpeno cicloeucalenona em *Swietenia macrophylla*.

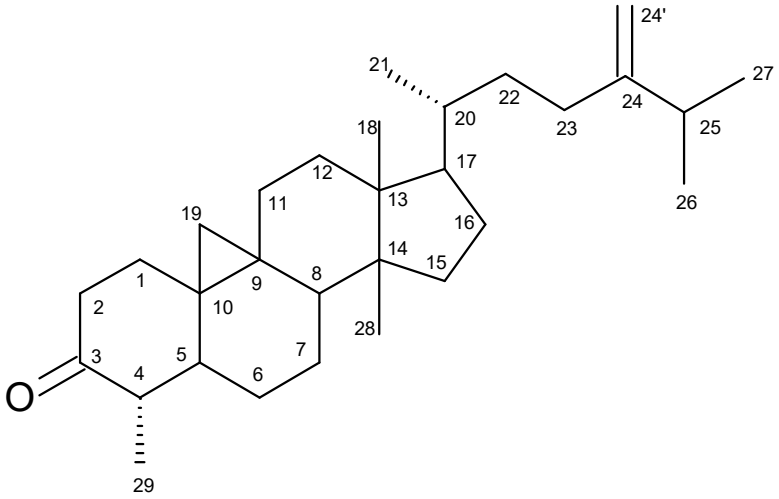


Figura 38. Estrutura da cicloeucalenona (**4**)

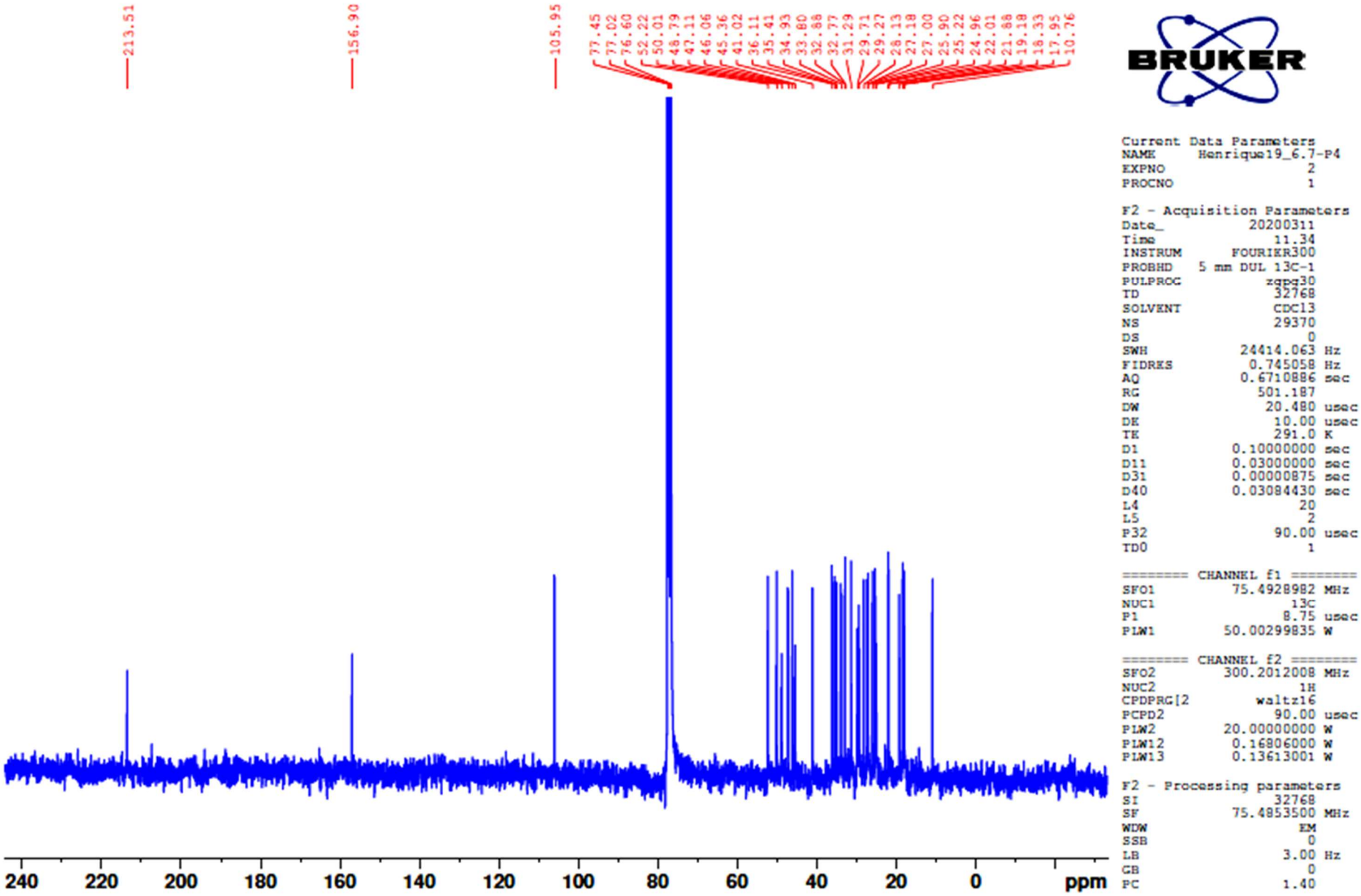


Figura 39. Espectro de RMN ^{13}C de SMH-6.7.P4 (75 MHz, $CDCl_3$)

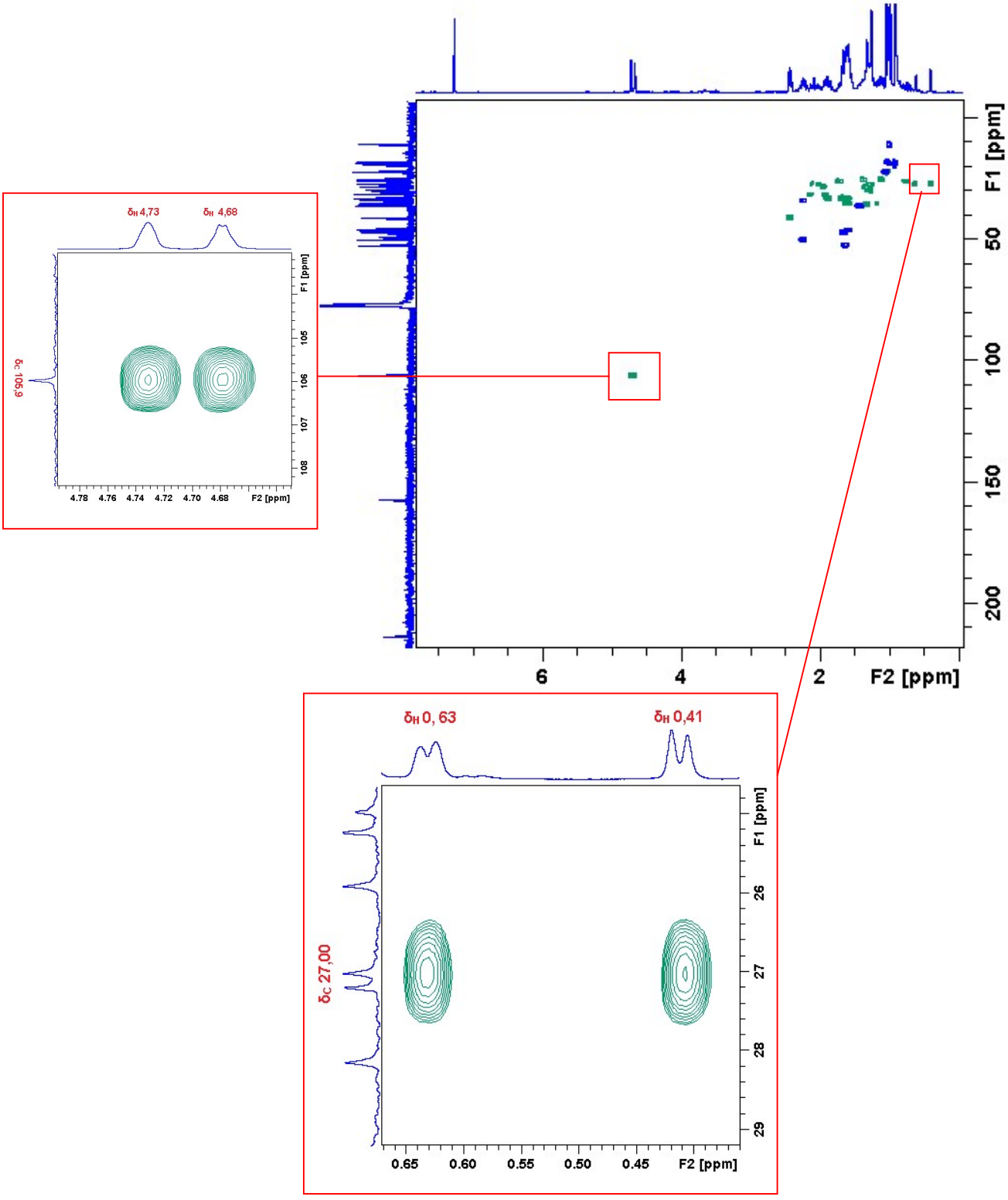


Figura 40. Espectro de HSQC de SMH-6.7.P4 (300/75 MHz, $CDCl_3$)

Tabela 25. Dados de RMN da substância **4** (cicloeucalenona)

	cicloeucalenona **(4)**			**LITERATURA***
	δ_C	**δ_H multi; *J* (Hz)[(1)]**	**HMBC**	**δ_C**
1	32,87			32,8
2	41,01			40,8
3	213,5			212,2
4	50,00	2,2494 *sept.*	Me-29; C-5 e C-3	49,8
5	46,06			45,9
6	25,21			25,1
7	28,12			28,0
8	47,11			46,9
9	24,95			24,9
10	29,26			29,3
11	25,89			25,8
12	32,77			35,3
13	45,36			45,2
14	48,79			48,7
15	35,40			32,8
16	27,18			26,9
17	52,21	1,6528	Me-18; Me-21 e C-13	52,1
Me-18	17,94	1,0159 *s*	C-12; C-13; C-14 e C-17	17,9
19	27,00	0,6363 *d* (*J*=4,0 Hz)	C-5 e C-8	27,1
		0,4184 *d* (*J*=4,0 Hz)	C-9; C-19; C-1 e C-8	
20	36,13			36,0
Me-21	18,32	0,9279 *d* (*J*=6,2)	C-22; C-20; e C-17	18,3
22	34,93			35,0
23	31,29			31,3
24	156,9			156,1
24’	105,9	4,7257 *sl*	C-23; C-25 e C-24	105,6
		4,6752 *d* (*J*=1,3 Hz)	C-23; C-25 e C-24	
25	33,80	2,2494 *sept.*	Me-27; Me-26; C-23; C-24’ e C-24	33,7
Me-26	22,01	1,0561 *d* (*J*=6,84)	Me-26 e C-25	21,8
Me-27	21,87	1,050 *d* (*J*=6,84)	Me-27 eC-25	21,8
Me-28	19,17	0,9215 *s*	C-13; C-8; C-14 e C-17	19,1
Me-29	10,76	1,0114 *d* (*J*=6,75)	C-5; C-4 e C-3	10,7

[(1)]($CDCl_3$, 300 MHz);[(2)] ($CDCl_3$, 400 MHz); ** (KHUONG-HUU, 1975)

Generic Display Report

Analysis Info			
		Acquisition Date	11/25/2021 11:17:57 AM
Analysis Name	D:\Data\2021\DaPaz\Data\Henrique\MS\25-11-2021\ID_APCI+_SMH6_7_P4.d		
Method	ID_APCI+_50-1000.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ID_APCI+_SMH6_7_P4	Instrument	amaZon speed
Comment	A amostra foi dissolvida em i-PrOH grau LC-MS resultando numa solucao estoque de 1 mg/mL. Dessa solucao foram retirados 15 uL, os quais foram diluidos em 985 uL de solvente.		

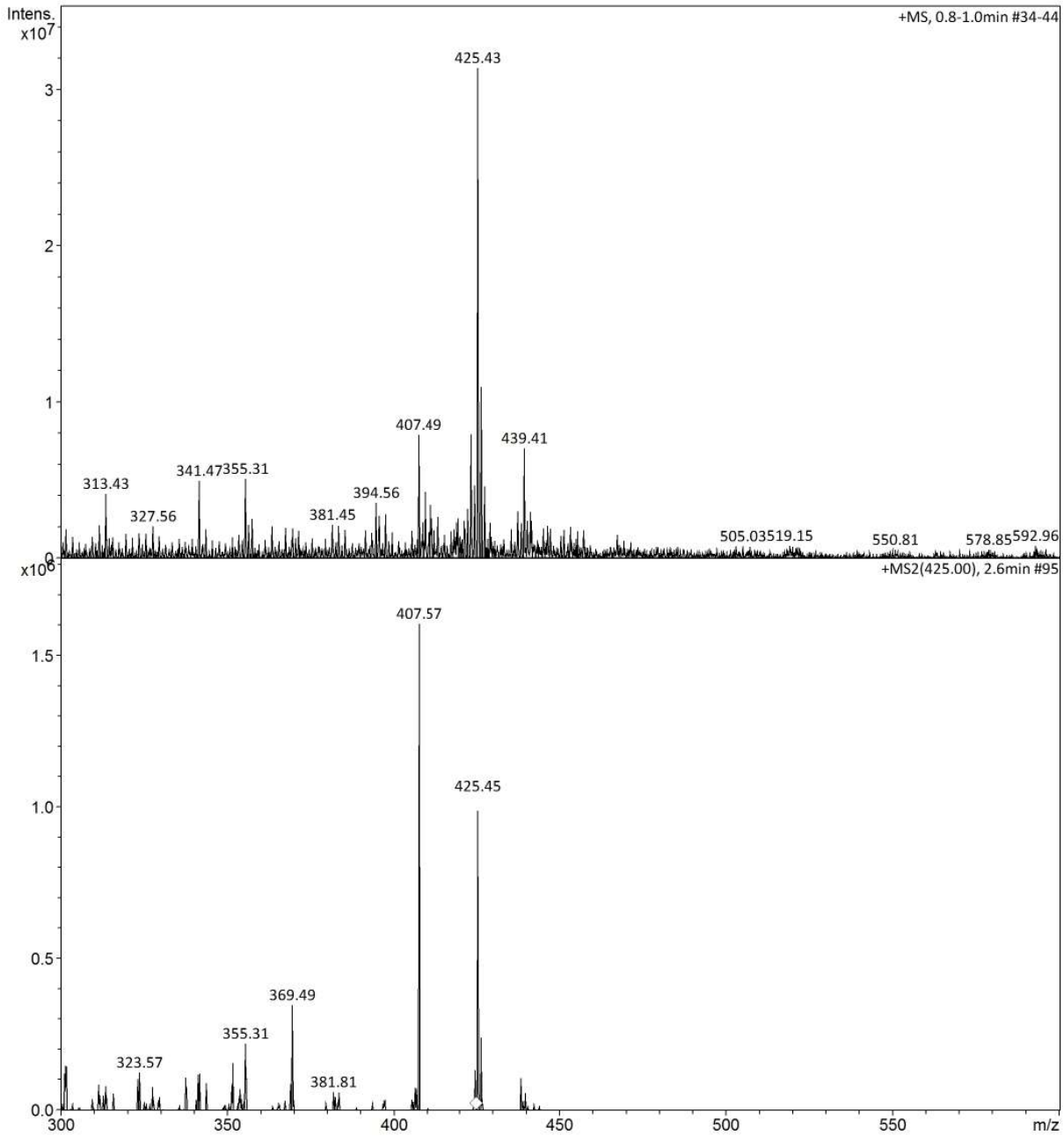


Figura 41. Espectro de massas do composto **4** (APCI/MS, modo positivo)

6.1.4 . Identificação das substâncias 11 e 12 (SMM-1.8.6)

A fração **SMM-1.8.6** (8,6 mg) apresentou-se como sólido branco e seus constituintes foram isolados seguindo os procedimentos cromatográficos descrito no Esquema 12. Em placa de CCD de fase normal, não mostrou absorção nos reveladores físicos (ultravioleta), mas quando revelado em vanilina sulfúrica exibiu mancha roxa, utlizando-se hex/AcOEt (7:3), como sistema de eluição (Figura 42).

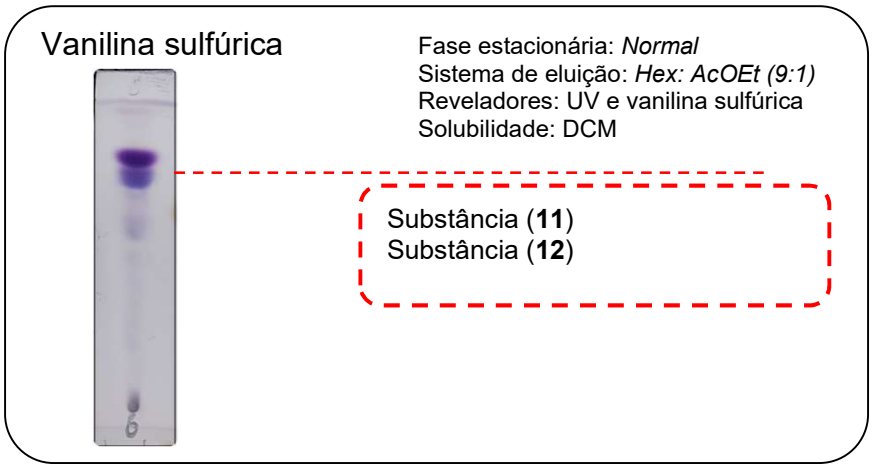


Figura 42. Placa cromatográfica da fração com SMH-1.8.6.

No espectro de RMN de ^{1}H (Figura 47) foram observados sinais característicos de triterpenos devido à presença de vários sinais de hidrogênios metílicos na região entre δ_H 0,97 - 1,05. No espectro ^{1}H-RMN expandido (Figura 49) da substância **11** foi evidenciada a existência de uma ligação dupla terminal em δ_H 4,72 *sl* e 4,67 *d* (*J*=1,14 *Hz)* que se correlacionam a $^{1}J_{CH}$ com o sinal de carbono em δ_C 105,9 (C-24'), no espectro de HSQC (Figura 51). Enquanto que, na substância **12**, uma dupla olefínica foi constatada em δ_H 5,11(*t*, *J*= 6,39*Hz*), correlacionando diretamente com o sinal de carbono em δ_C 125,2 (C-24), no HSQC (Figura 51). Pelas integrais dos respectivos sinais de dupla ligação foi possível confirmar a presença de uma mistura na proporção 2:1 para **11** e **12**.

Na substância **11**, dois grupos metílicos da cadeia lateral (H-26 e H-27) ligados a C-25 foram evidenciados como dois dubletos em δ 1,05 (d, *J* = 6,87 Hz) e 1,02 (d, *J* = 6,87 Hz). Já na substância **12**, os grupos metílicos (H-26 e H-27) ligados a C-25 foram encontrados como dois singletos em δ_H 0,97 e 1,69. O deslocamento químico correspondente aos hidrogênios carbinólicos da posição H-3, comum aos dois triterpenos foram observados no ^{1}H-NMR em δ_H 3,32 (*dd*, *J*=10,74 e 4,29 Hz), indicativo de hidroxila em equatorial. A presença de dois dubletos na região de δ_H 0,35 (*J*=4 Hz) e 0,56 (*J*=4 Hz) foram indicativos para uma mistura de dois terpenóides do tipo cicloartano (Figura 48).

A análise de ^{13}C-RMN (Figura 50) confirma a ocorrência dos dois triterpenos cicloartanos, devido à presença de sinais característicos dessas substâncias e também da observação de 39 picos no espectro (com variações de sinais duplicados). O carbono metilênico do anel ciclopropano de **11** e **12,** foram atribuídos ao sinal em δ_C 29,91 (C-19) que corrobora com as correlações direta a $^1J_{CH}$ com os sinais de dubletos em δ_H 0,56 e 0,35, apresentadas no espectro de HSQC expandido (Figura 52, pag. 115). O sinal de carbonos carbinólicos C-3, correspondentes aos dois triterpenos, foi evidenciado em δ_C 79,59, no qual fez correlação direta como o hidrogênio em δ_H 3,32, no espectro de HSQC (Figuras 51).

No mapa de contorno HMBC (Figura 53) foi possível confirmar o posicionamento da dupla terminal e das metilas do grupo isopropílico da cadeia lateral, pela correlação a longa distância do sinal do hidrogênio metínico em $\delta_{H\text{-}25}$ 2,26 com os carbonos δ_C 21,8 (Me-26); 22,0 (Me-27); 31,3 (C-23); 105,9 (C-24') e 156,9 (C-24), para a substância **11** (Figura 43).

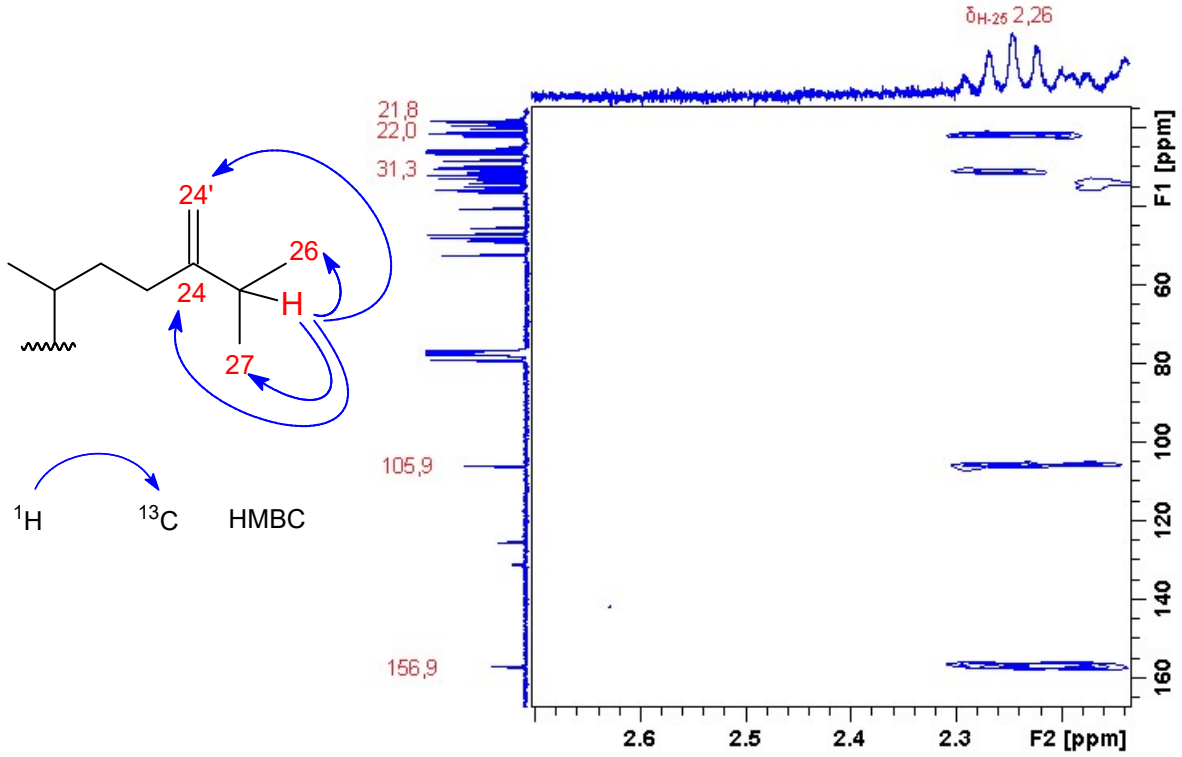


Figura 43. Ampliação do HMBC na região δ_H (2,26) e δ_C (20-160) de **11**.

Já o posicionamento da dupla olefínica e das metilas da cadeia lateral para a substância **12** foi evidenciada no HMBC expandido (Figura 44) pelo hidrogênio metílico δ_{H-26} 1,69 com os carbonos 17,6 (Me-27); 125,2 (C-24) e 130,9 (25). Em ambas as substâncias **11** e **12**, o carbono metilênico em δc 29, 91 (C-19) forma um anel ciclopropano com os carbonos δ 19,9 (C-9) e 26,4 (C-10) do anel B, as correlações no HMBC (Figura 45) são vistas através dos sinais de hidrogênios metilênicos δ_H 0,56 e 0,35. As demais correlações de HSQC e HMBC para a identificação das substâncias **11** e **12**, são apresentadas na Tabela 26 e 27, respectivamente.

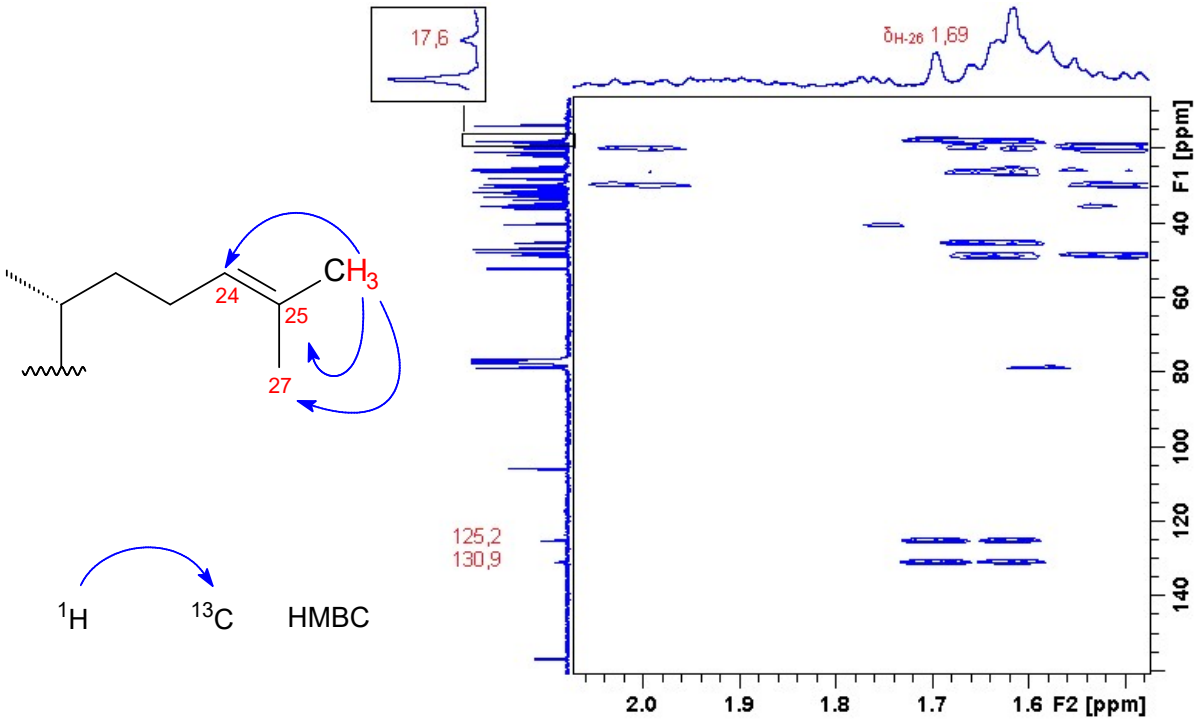


Figura 44. Ampliação do HMBC na região δ_H 1,69 e δ_C 10-160 de **12**.

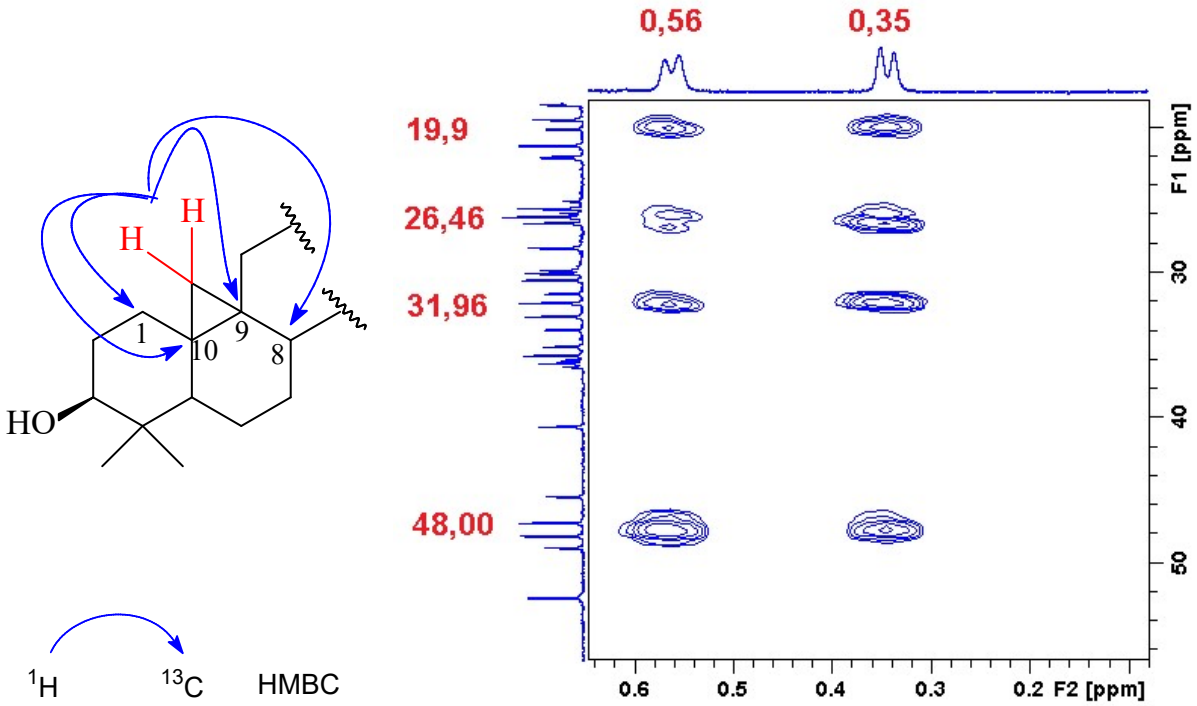
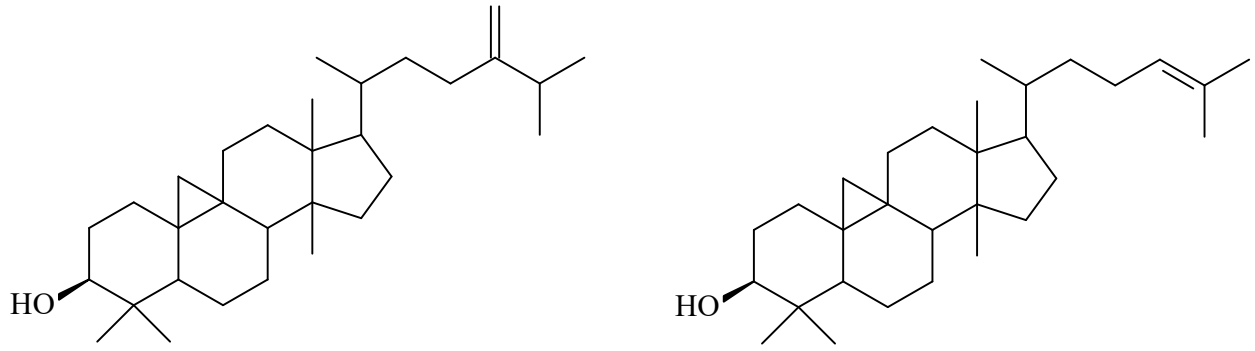


Figura 45. Ampliação do HMBC na região δ_H 0,56-0,35 e δ_C 20-56 de **11** e **12**

Todos os dados de RMN fornecidos e comparados com dados da literatura sugerem sobre a identidade da substância majoritária (**11)** como *24*-metileno-cicloartan-*3β-ol* e cicloartenol para a minoritária (**12**) (Figura 46). Os dados de RMN associados com os picos de APCI/MS de baixa resolução (modo positivo de ionização), apresentado na figura 54, onde foi fornecido sinais em *m/z* 441,44 correspondente ao pico $[M+H]^+$ para a substância majoritária (**11**) e m/z 427,37 para o minoritário (**12**). Na literatura as duas substâncias em mistura são relatadas por exercerem atividade antidiabética, a exemplo, um estudo recente feito por Nair *et al*. (2020) que conclui em seu trabalho que os compostos protegem as células betas da glicotoxicidade associada a diabete, aumentando a população e normalizando a liberação de insulina das células beta pancreáticas. Vale ressaltar que, esse é o primeiro relato de isolamento e identificação dessas substâncias em *Swietenia macrophylla*.



(**11**)*24*-metileno-cicloartan-*3β-ol* (**12**) cicloartenol

Figura 46. Triterpenos **11** e **12** identificados em mistura na fração SMH-1.8.6.

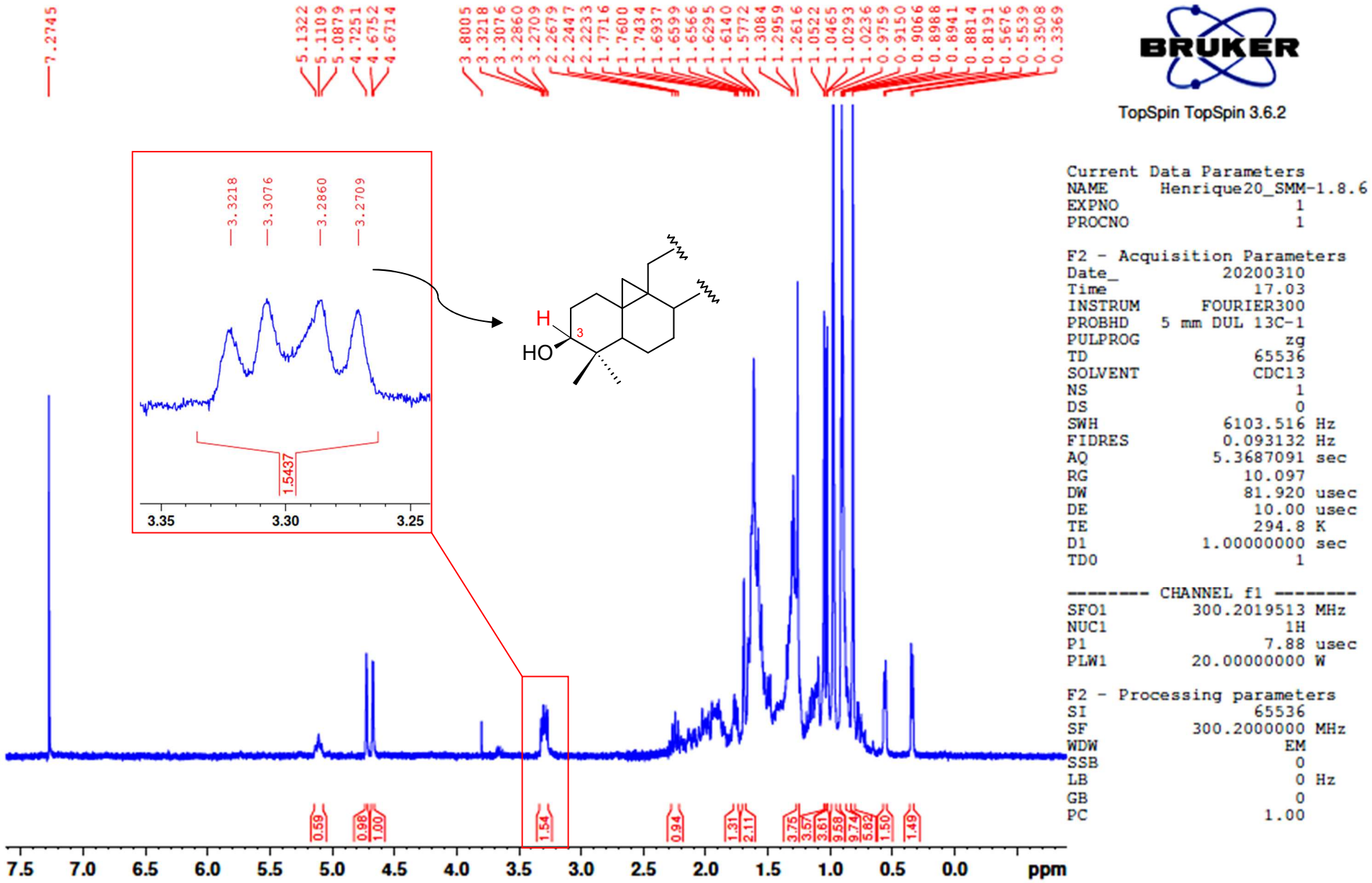


Figura 47. Espectro de RMN ^{1}H de SMM-1.8.6 (300 MHz, $CDCl_3$)

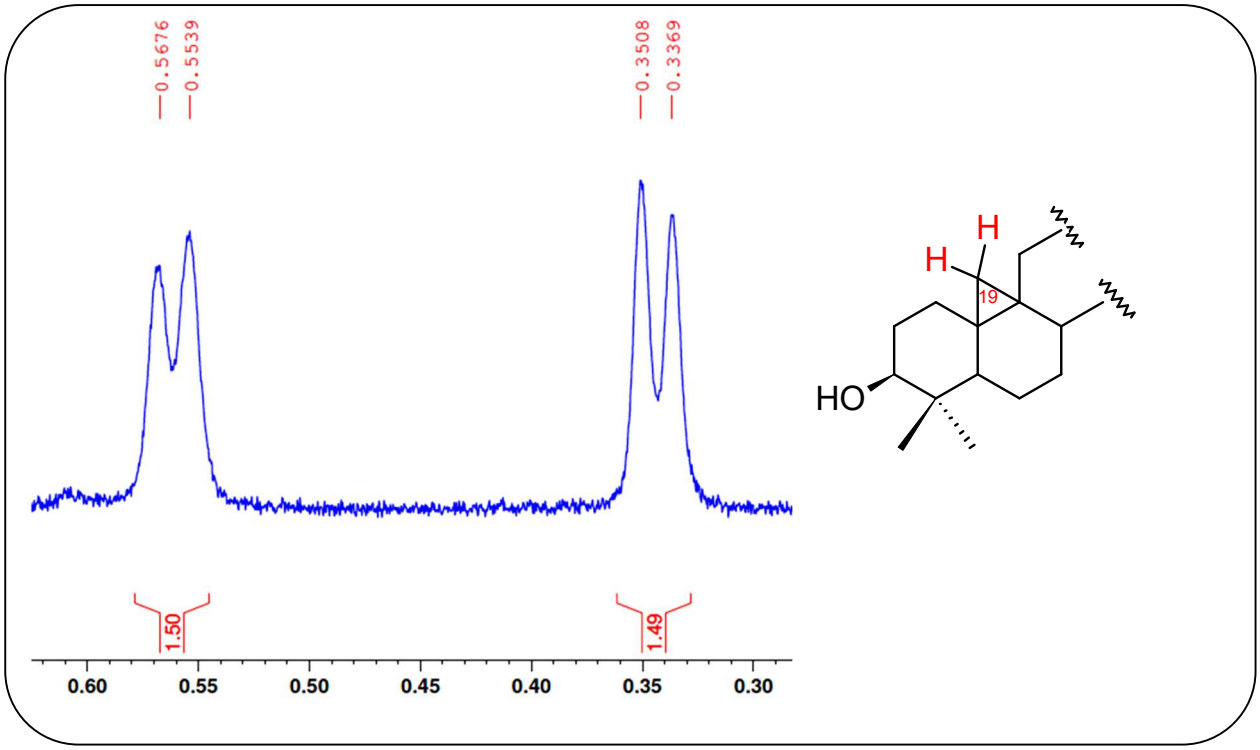


Figura 48. Expansão da região de δ_H 0,56-0,35 de **11** e **12**.

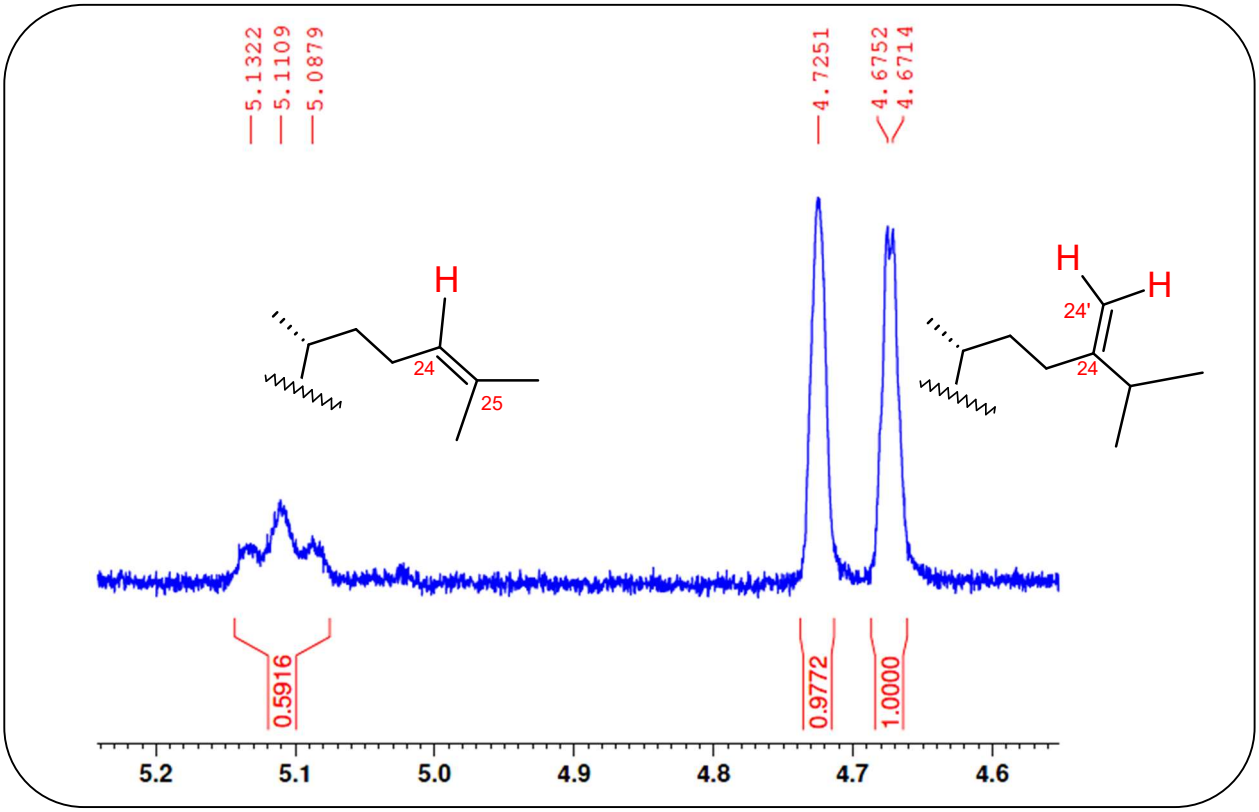


Figura 49. Expansão da região de sinais olefínicos em δ_H 5,13-4,67 de **11** e **12**.

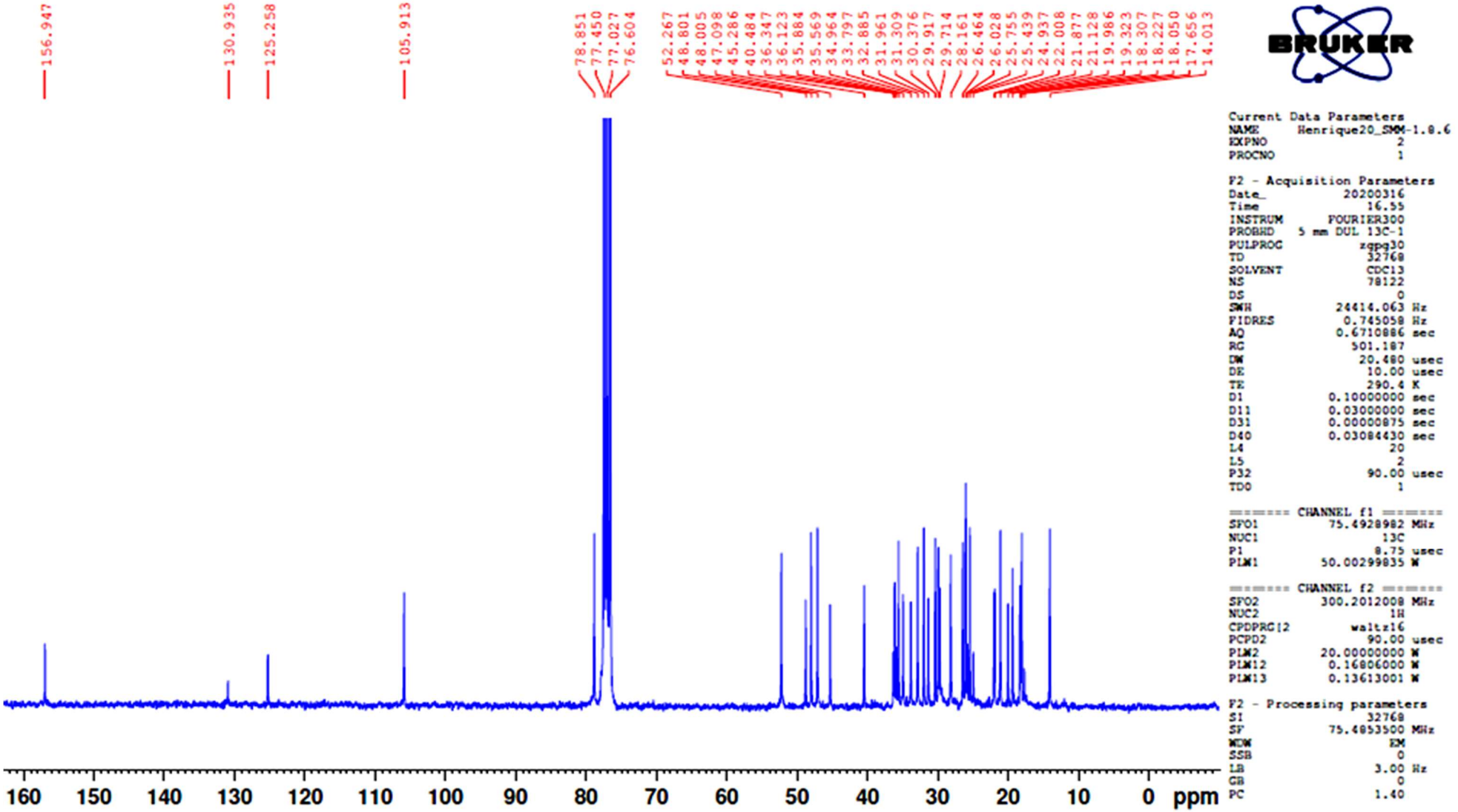


Figura 50. Espectro de RMN ^{13}C de SMM-1.8.6 (75 MHz, $CDCl_3$)

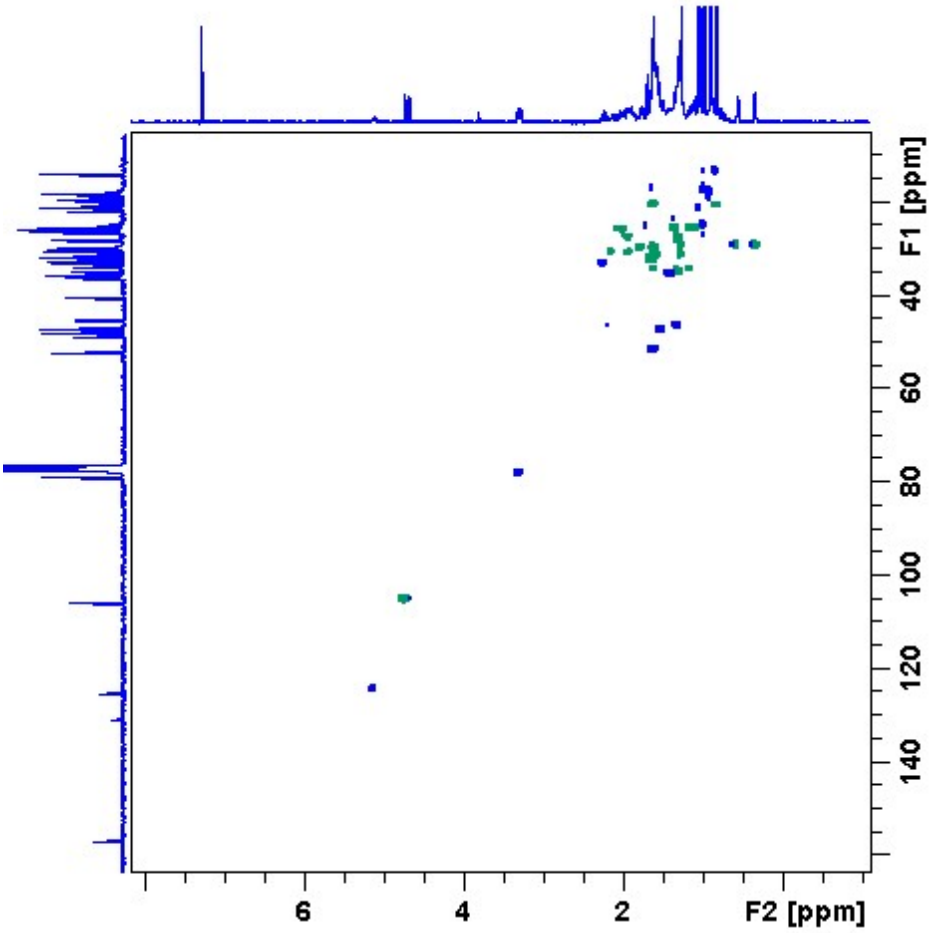


Figura 51. Mapa de contorno de HSQC (300/75 MHz, $CDCl_3$) de **11** e **12**.

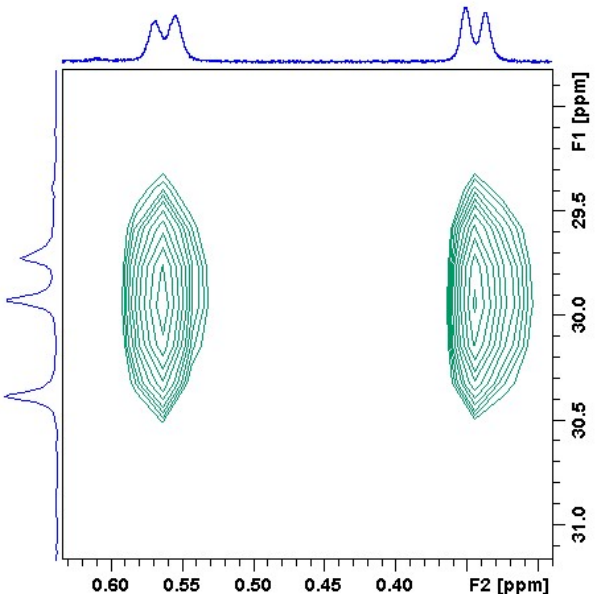


Figura 52. Ampliação do HSQC, região δ_H (0,56-0,35) de **11** e **12**.

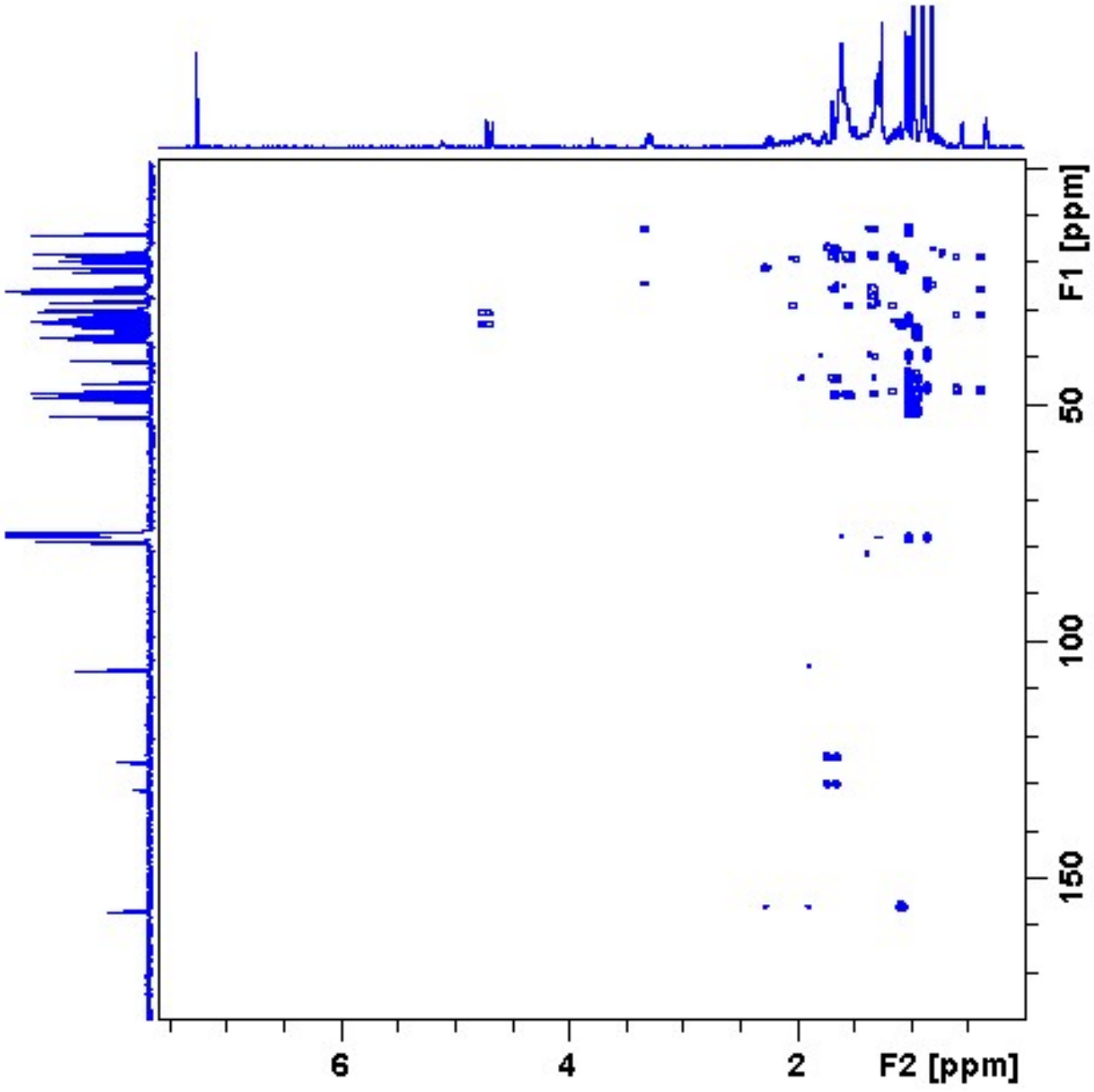


Figura 53. Mapa de contorno de HMBC (300/75 MHz, $CDCl_3$) de **11** e **12**.

Tabela 26. Dados de RMN da substância **11** extraída dos espectros de SMM-1.8.6

	24-metileno-cicloartan-*3β*-ol **(11)**			**LITERATURA***	
	δ_C	**δ_H** **multi; *J* (Hz)[1]**	**HMBC**	**δ_C**	**δ_H** **multi; *J* (Hz)[2]**
1	31,96			32,90	
2	30,37			31,32	
3	78,85	3,32 *dd* (10,74 e 4,29)	Me-30; Me-29 e C-4	78,86	3.29 m
4	40,48			40,49	
5	47, 09			47,71	
6	21,12			21,89	
7	26,02			26,03	
8	48,00			48,01	
9	19,98			20,00	
10	26,46			26,48	
11	26,02			26,48	
12	32,88			33,81	
13	45,28			45,30	
14	48,80			48,81	
15	34,96			35,89	
16	28,16			28,17	
17	52,26			52,29	
Me-18	18,05	0,97 s	C-13; C-14; C-17 e C-12	18,05	0,81 *s*
19	29,91	0,35 d (4,1 Hz)	C-9; C-1 e C-8	29,92	0,33 *d* (3,2 Hz)
		0,56 d (4,1 Hz)	C-9; C-10; C-1 e C-8		0,55 *d* (3,2 Hz)
20	36,12			36,13	
Me-21	18,30	0,90[c]	C-13; C-14 e C-17	18,31	0,89 *d* (6,2 Hz)
22	35,56			35,58	
23	31,30			31,97	
24	156,9			156,9	
24’	105,91	4,67 d (1,14 Hz)	C-23 e C-25	105,93	4,67 *sl*
		4,72 sl	C-23 e C-25		4,71d (J = 1Hz)
25	33,79	2,26 t	Me-26; Me-27; C-23; C-24’ e C-24	34,98	2,24 sep
Me-26	21,87	1,05 d (6,87 Hz)	Me-27 e C-25	21,14	1,04 d (2,3 Hz)
Me-27	22,00	1,02 d (6,87 Hz)	Me-26 e C-25	22,02	1,02 d (2,3Hz)
Me-28	19,32	0,89[c]	C-15; C-8 e C-14	19,64	0.87 *s*
Me-29	14,01	0,81 *s*	Me-30; C-4; C-5 e C-3	14,0	0.81 *s*
Me-30	25,43	0,97*s*	Me-29; C-5 e C-3	24,95	0,97 *s*

[c] região congestionada; [1] ($CDCl_3$, 300 MHz);[2] ($CDCl_3$, 400 MHz); ** (Nair *et al*. (2020)

Tabela 27. Dados de RMN da substância **12** extraída dos espectros de SMM-1.8.6

Nº	cicloartenol **(12)**			**LITERATURA***	
	δ_C	**δ_H** multi; ***J*** **(Hz)**[1]	**HMBC**	**δ_C**	**δ_H** multi; ***J*** **(Hz)**[2]
1	31,96			32,90	
2	30,37			31,32	
3	78,85	3,32 *dd* (10,74 e 4,29)	Me-30; Me-29 e C-4	78,86	3.29 m
4	40,48			40,49	
5	47, 09			47,71	
6	21,12			21,89	
7	26,02			26,03	
8	48,00			48,01	
9	19,98			20,00	
10	26,46			26,48	
11	26,02			26,48	
12	32,88			33,81	
13	45,28			45,30	
14	48,80			48,81	
15	34,96			35,89	
16	28,16			28,17	
17	52,26			52,29	
Me-18	18,05	0,97 s	C-13; C-14; C-17 e c-12	18,05	0.81 *s*
19	29,91	0,35 d (4,1 Hz)	C-9; C-1 e C-8	29,92	0,33 *d* (3,2 Hz)
		0,56 d (4,1 Hz)	C-9; C-10; C-1 e C-8		0,55 *d* (3,2 Hz)
20	35,88			36,13	
Me-21	18,30	0,90[c]	C-13; C-14 e C-17	18,31	0,89 *d* (6,2 Hz)
22	36,34			36,36	
23	24,93			25,42	
24	125,2	5,11 t (6,6 Hz)		125,2	5,10 t (5,6 Hz)
25	130,9	-		130,6	-
Me-26	17,65	1,61 s	Me-27; C-24 e C-25	17,67	1,61 s
Me-27	25,75	1,69 s	Me-26; C-24 e C-25	25,75	1,69s
Me-28	19,32	0,89 [c]	C-15; C-8 e C-14	19,64	0.87 s
Me-29	14,01	0,81 s	Me-30; C-4; C-5 e C-3	14,0	0.81 s
Me-30	25,43	0,97 *s*	Me-29; C-5 e C-3	26,03	0,97 s

[c] região congestionada; [1] ($CDCl_3$, 300 MHz);[2] ($CDCl_3$, 400 MHz); ** (Nair *et al*., (2020)

Generic Display Report

Analysis Info

Acquisition Date	11/25/2021 11:26:13 AM		
Analysis Name	D:\Data\2021\DaPaz\Data\Henrique\MS\25-11-2021\ID_APCI+_SMM1_8_6.d		
Method	ID_APCI+_50-1000.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ID_APCI+_SMM1_8_6	Instrument	amaZon speed
Comment	A amostra foi dissolvida em i-PrOH grau LC-MS resultando numa solucao estoque de 1 mg/mL. Dessa solucao foram retirados 15 uL, os quais foram diluidos em 985 uL de solvente.		

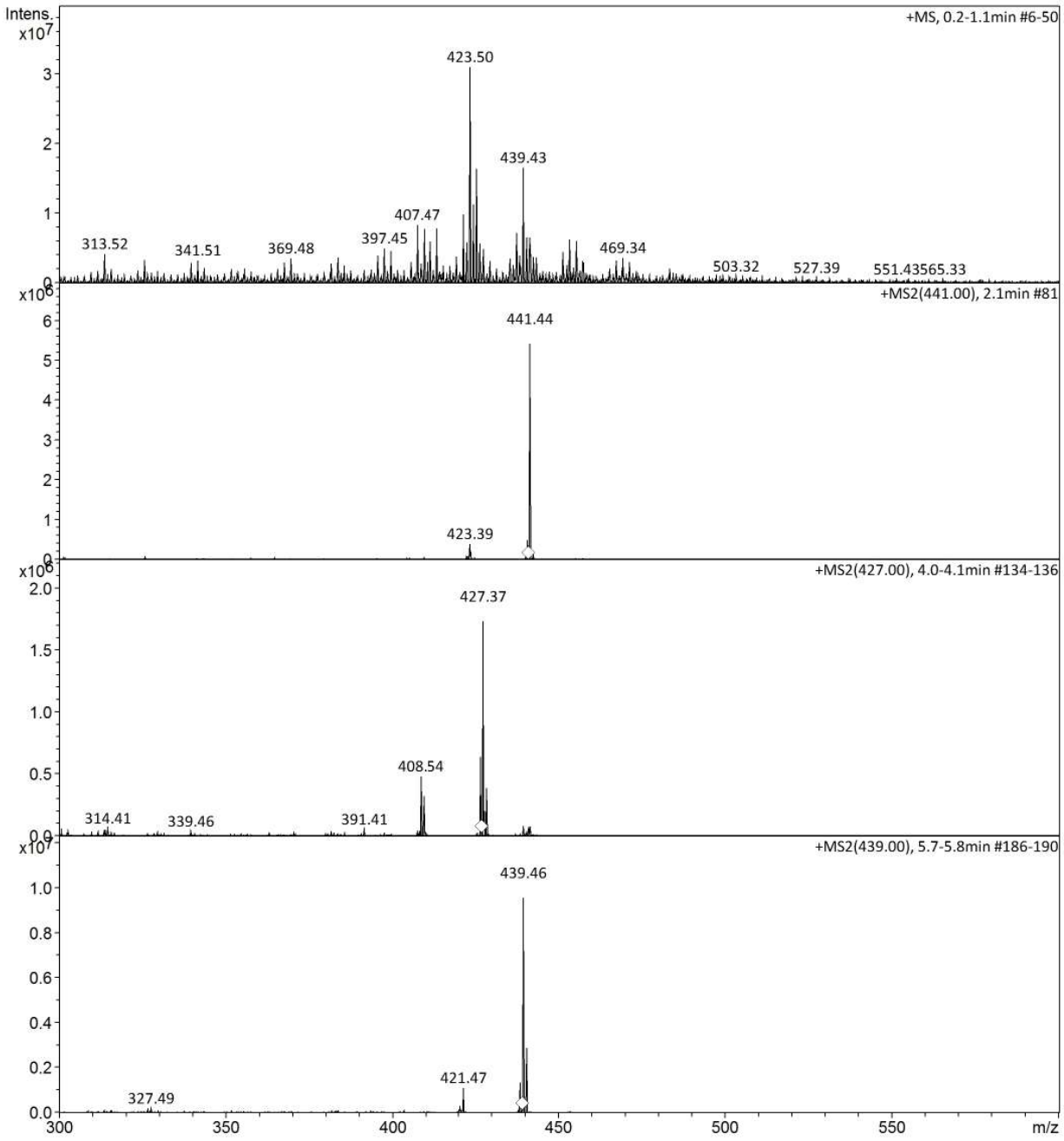


Figura 54. Espectro de massas de **11** e **12** (APCI/MS, modo positivo)

6.1.5 Identificação do composto 13 (SMM-1.8.10)

A substância **13,** codificada na fração **SMM-1.8.10** (1,1mg), foi isolada na forma de um sólido branco, conforme o procedimento cromatográfico descrito no Esquema 12. Em CCD de fase normal não mostrou nenhuma absorção no UV, mas depois de revelada em vanilina sulfúrica exibiu mancha violeta, com Rf=0,73 ao utilizar Hex:AcOEt (9:1) como sistema de eluição (Figura 55).

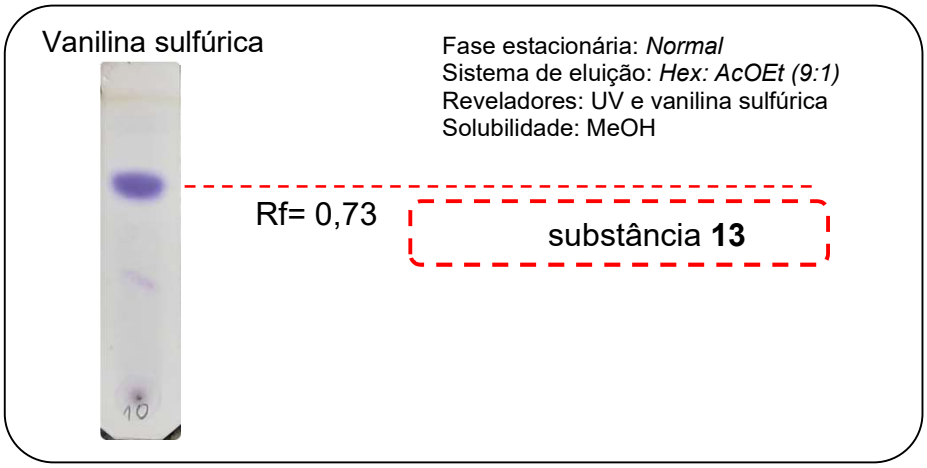


Figura 55. CCD da fração SMM-1.8.10.

A fração SMM-1.8.10 (1,1 mg) foi submetida à experimentos uni e bidimensionais de RMN (^{1}H, ^{13}C, DEPT-135, HSQC e HMBC) e EM. O espectro de ^{1}H-RMN (Tabela 28, Figura 60) mostrou similaridade estrutural com os triterpenos já identificados anteriormente (substâncias **1**, **4**, **11** e **12**), por exemplo, um multipleto evidenciado em δ_H 3,23 atribuído ao hidrogênio carbinólico H-3 (Figura 62), juntamente coma presença de um anel ciclopropano observado como dois dubletos a campo particularmente alto em δ_H 0,37 (*J*=3,7 Hz) e 0,58 (*J*=3,7 Hz) dos hidrogênios H-19 (Figura 61) formam o sistema estrutural cicloartan-3*β*-ol. A existência de uma dupla olefínica foi evidenciada através do deslocamento químico em δ_H 5,59 *m* (2H, H-23 e H-24) que acoplou diretamente com os carbonos 124,60 (C-23) e 139,27 (C-

24) no HSQC (Figura 65). Além disso, o espectro de ^{1}H-RMN revelou ainda, a existência de seis singletos em δ_H 0,81; 0,94; 0,95; 1,02; 1,27 e 1,27 e um em dubleto em δ_H 0,91 (J=6,3 Hz), característicos de hidrogênios metílicos.

Em análises paralelas aos espectros de ^{13}C-RMN (Tabela 28, Figura 63), DEPT-135 (Figura 64) e bidimensionais foi possível confirmar a ocorrência de um único triterpeno na fração **SMM-1.8.10**, onde foram observados apenas 30 sinais de deslocamento químicos. O sinal de carbono metilênico do anel ciclopropano foi confirmado pelas correlações diretas a $^{1}J_{CH}$ entre δ_C 29,50 (C-19) com os dois dubletos em δ_H 0,37 e 0,58 no espectro de HSQC expandido (Figuras 66). Esses mesmos hidrogênios metilênicos (δ_H 0,37 e 0,58) foram fundamentais para posicionar o anel ciclopropano com os carbonos δ 19,71 (C-9) e 25,97 (C-10), no anel B, as correlações são vistas no HMBC (Figura 56).

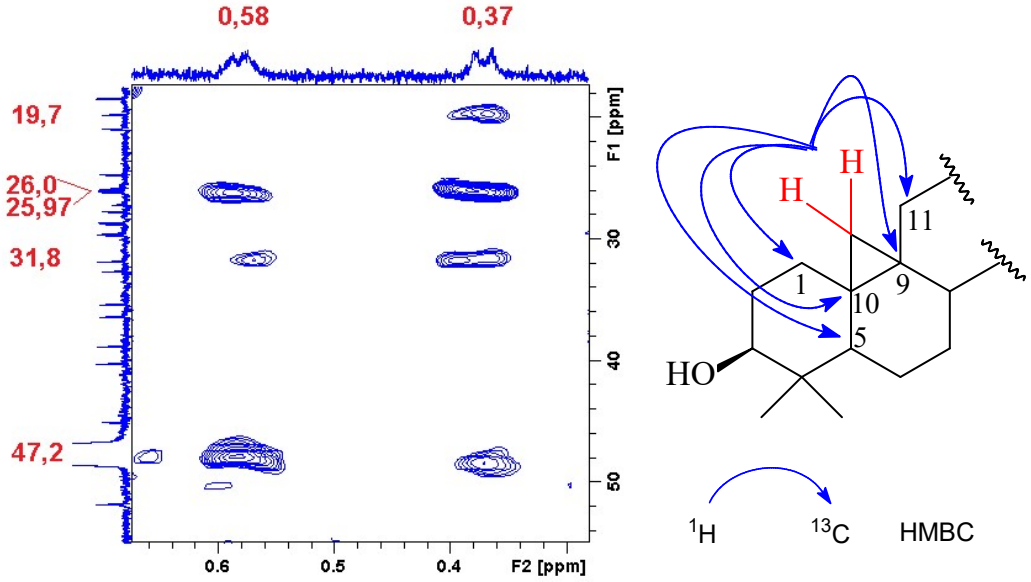


Figura 56. Ampliação do HMBC na região δ_H 0,34-0,62 e δc 18-54 de **13**.

O espectro de ^{13}C-RMN revelou ainda a presença de um carbono carbinólico adicional em δc 69,78 (ausente no DEPT-135), que sugere a presença de um grupo hidroxila (OH) na cadeia lateral próximo de uma ligação dupla, devido à conectividade

no HMBC (Figura 57) entre o sinal de hidrogênio metílico em δ_H 1,27 (H-27) com o carbono carbinólico a $^2J_{CH}$ em δ_C 69,78 (C-25) e olefínico em δ_C 139,27 (C-24), além de uma correlação com uma metila em δ_C 28,70 (Me-26).

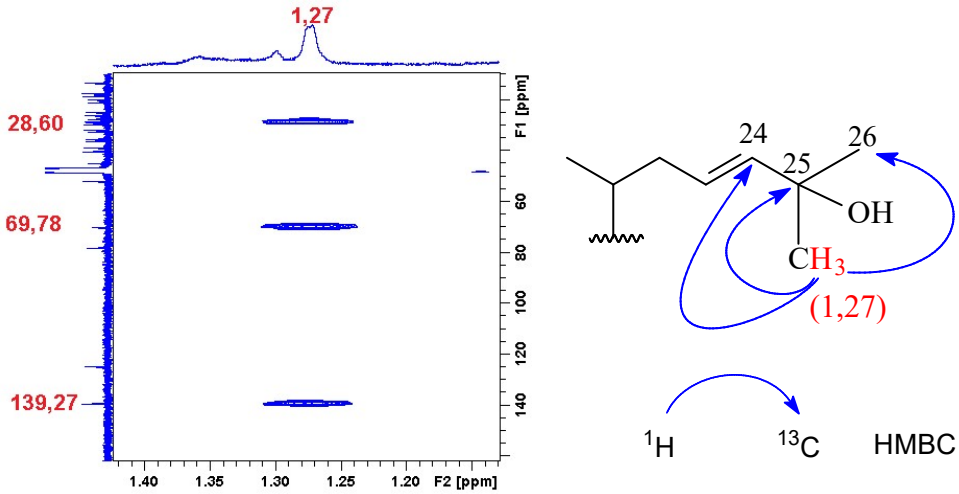


Figura 57. Ampliação do HMBC na região δ_H 1,27 e δc 20-160 de **13**.

O grupo hidroxila (OH) ligado ao átomo de carbono C-3, foi confirmado pelas correlações heteronucleares a longa distância $^3J_{CH}$ entre o átomo de carbono 78,06 (C-3) com os dois grupos metila em δ_H 0,95 (Me-30) e 0,81 (Me-29), no espectro de HMBC (Figura 58).

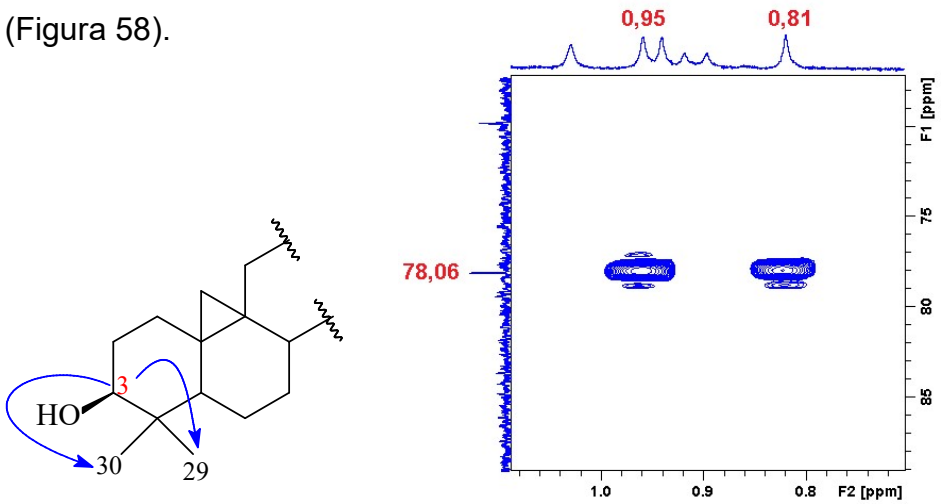


Figura 58. Ampliação do HMBC na região δ_H 0,95-0,81 e δc 57-88 de **13**.

A partir dos dados discutidos acima e pela comparação com os dados relatados na literatura de ABDEL *et al*. (2008), a substância **13** foi identificada como cicloart-23-eno-3,25-diol (Figura 59). Esta substância teve seus primeiros relatos fitoquímicos na família Asteraceae, na espécie de *Tricholepis glaberrima* (CHAWLA *et al.,* 1978). Já foi encontrada também na família Meliaceae em *Guarea trichilioides* (FURLAN *et al.,* 1993) e *Guarea macrophylla* (LAGO, 2009). Vale ressaltar, que esse é o primeiro registro do triterpeno cicloart-23-eno-3,25-diol em *Swietenia macrophylla*.

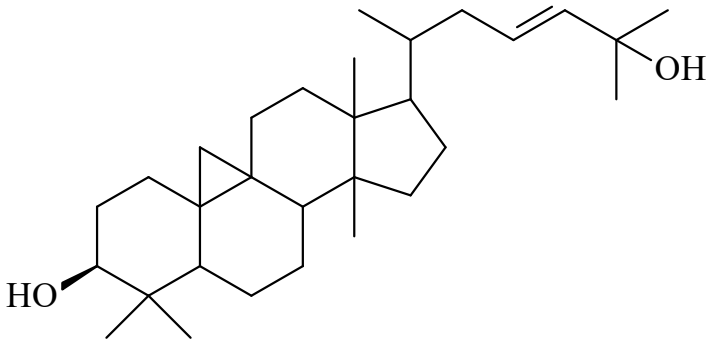


Figura 59. Estrutura do cicloart-23-eno-3,25-diol (**13**)

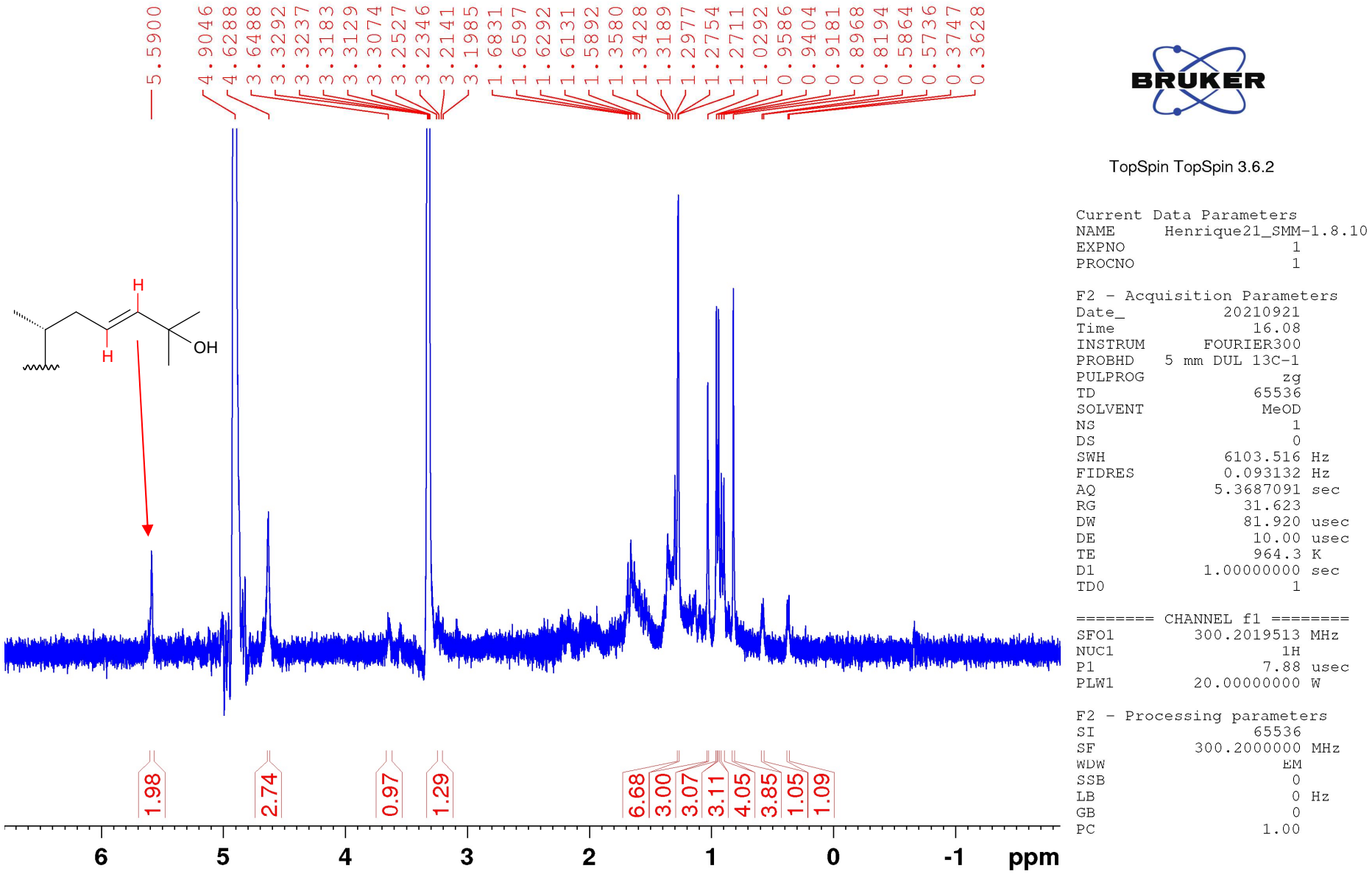


Figura 60. Espectro de RMN ^{1}H de SMM-1.8.10 (300 MHz, CD_3OD)

TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME      Henrique21_SMM-1.8.10
EXPNO                        1
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_              20210921
Time                 16.08
INSTRUM         FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG                 zg
TD                   65536
SOLVENT               MeOD
NS                       1
DS                       0
SWH               6103.516 Hz
FIDRES           0.093132 Hz
AQ               5.3687091 sec
RG                  31.623
DW                  81.920 usec
DE                  10.00 usec
TE                  964.3 K
D1              1.00000000 sec
TD0                      1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1           300.2019513 MHz
NUC1                   1H
P1                   7.88 usec
PLW1          20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                   65536
SF            300.2000000 MHz
WDW                    EM
SSB                     0
LB                      0 Hz
GB                      0
PC                   1.00
```

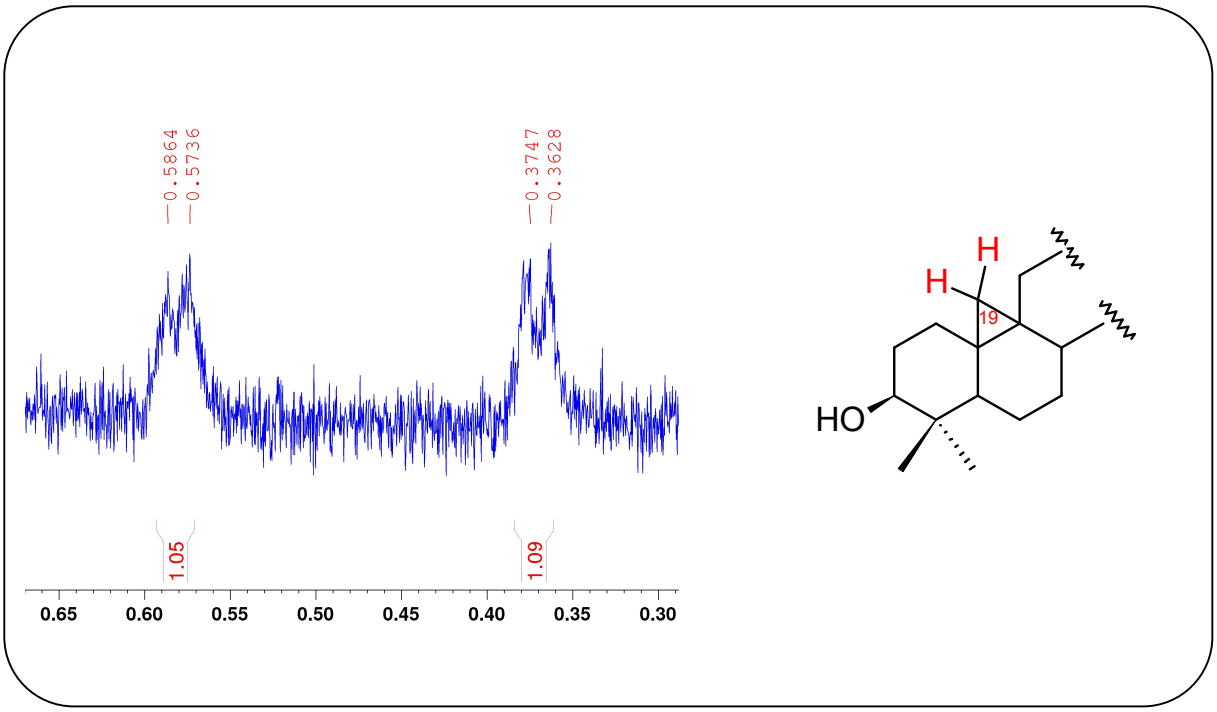


Figura 61. Expansão de 1H-RMN na região δ_H 0,65-0,30 de **13**.

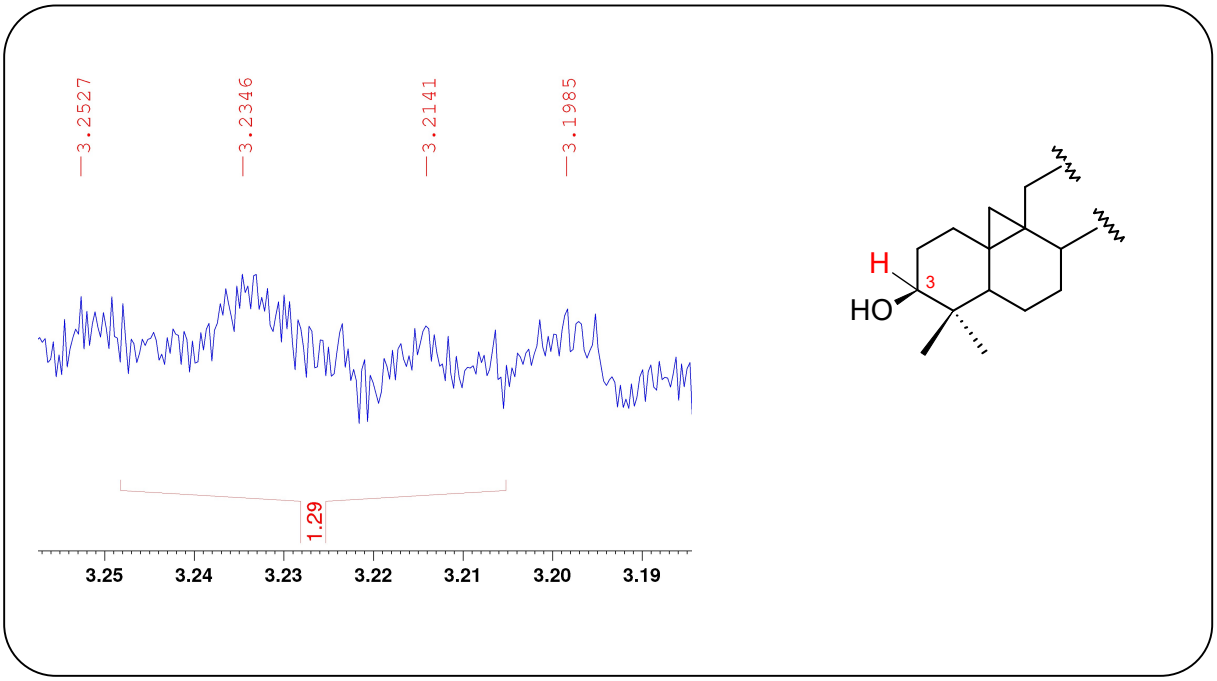


Figura 62. Expansão na região de carbinólicos δ_H 3,25-3,19 de **13**.

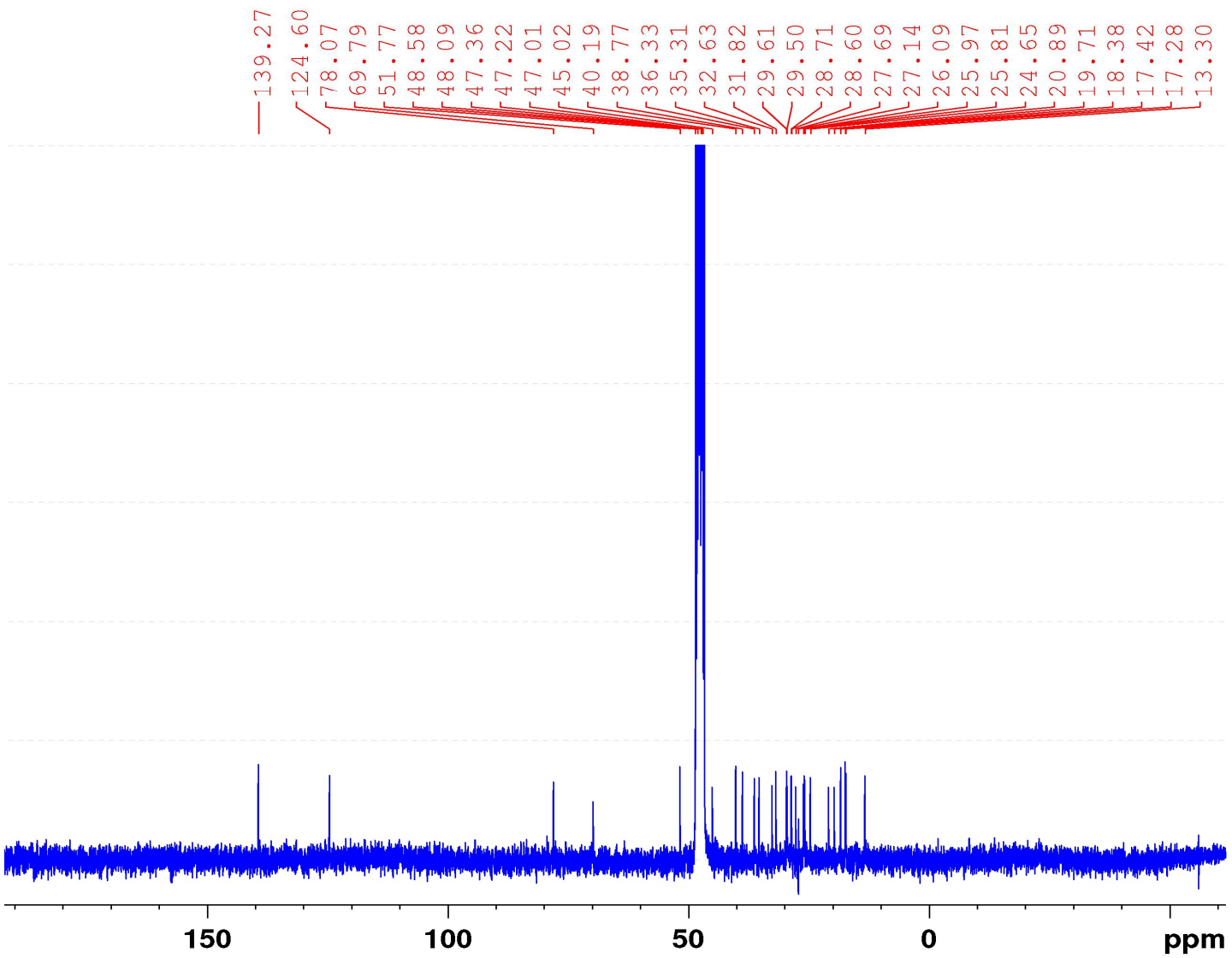


Figura 63. Espectro de RMN ^{13}C de SMM-1.8.10 (75 MHz, CD_3OD)

TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME  Henrique21_SMM-1.8.10
EXPNO                    2
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20210918
Time              23.52
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG           zgpg30
TD                32768
SOLVENT             MeOD
NS                143360
DS                     0
SWH           24414.063 Hz
FIDRES         0.745058 Hz
AQ            0.6710886 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               964.3 K
D1            0.30000001 sec
D11           0.03000000 sec
D31           0.00000875 sec
D40           0.02336821 sec
L4                    20
L5                     8
P32               90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928982 MHz
NUC1                 13C
P1                8.75 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
PCPD2             90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.17839999 W
PLW13         0.08973100 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB                   0
LB                 1.00 Hz
GB                    0
PC                 1.40
```

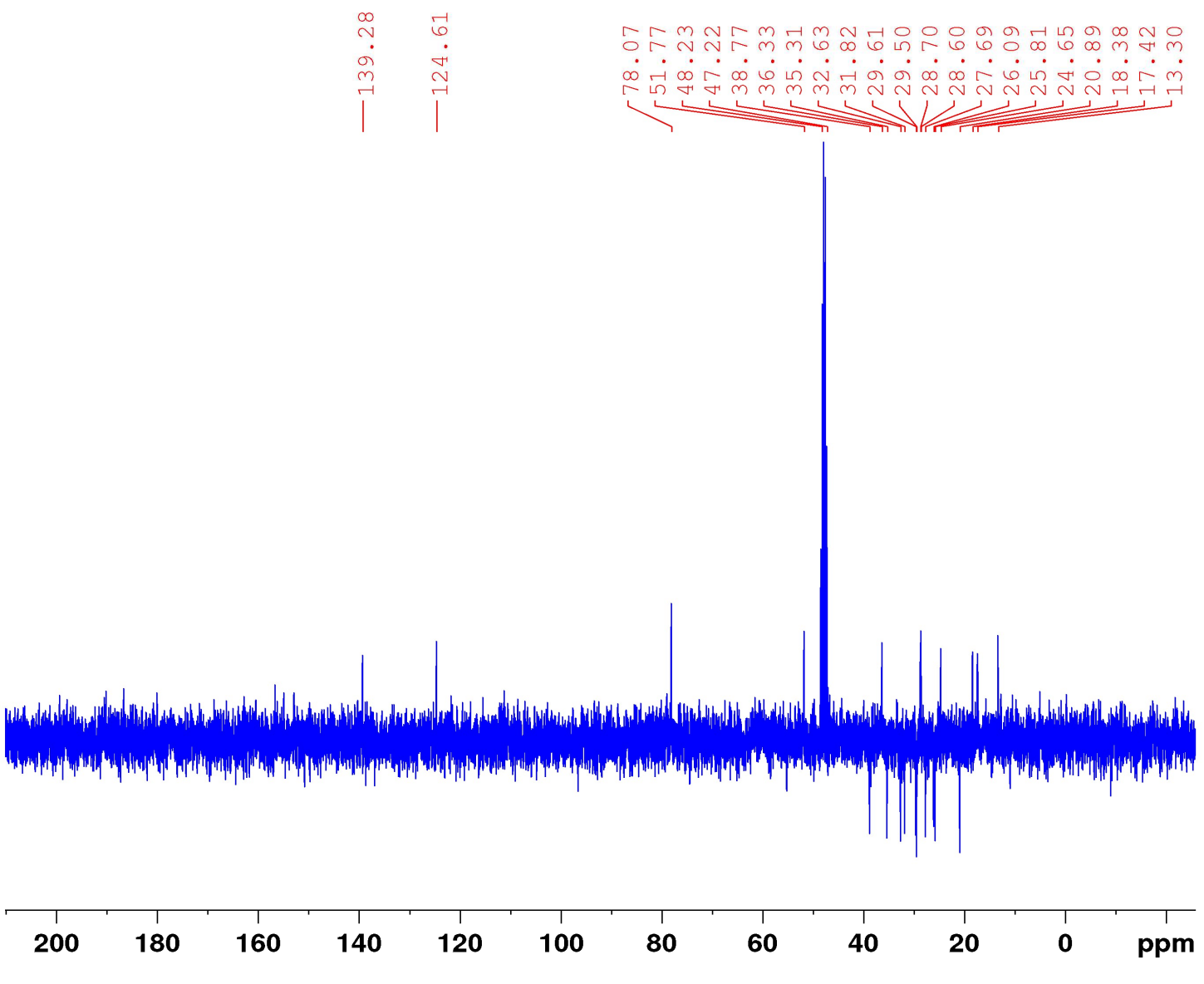


Figura 64. Espectro de DEPT-135 de SMM-1.8.10 (75 MHz, CD_3OD)

TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME  Henrique21_SMM-1.8.10
EXPNO                    4
PROCNO                   1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20210921
Time                21.36
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          dept135
TD                 65536
SOLVENT             MeOD
NS                  9200
DS                     8
SWH            24414.063 Hz
FIDRES          0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                964.3 K
CNST2         145.0000000
D1             2.00000000 sec
D2             0.00344828 sec
D14            0.00001114 sec
D33            0.00000850 sec
D34            0.00344003 sec
D35            0.00345303 sec
L4                    40
P32                90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1           75.4913881 MHz
NUC1                  13C
P1                 8.75 usec
P2                17.50 usec
PLW1          50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2          300.2009601 MHz
NUC2                  1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                 8.50 usec
P4                17.00 usec
PCPD2              90.00 usec
PLW2          20.00000000 W
PLW12          0.17839999 W

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF            75.4853500 MHz
WDW                   EM
SSB                    0
LB                 1.00 Hz
GB                     0
PC                 1.40
```

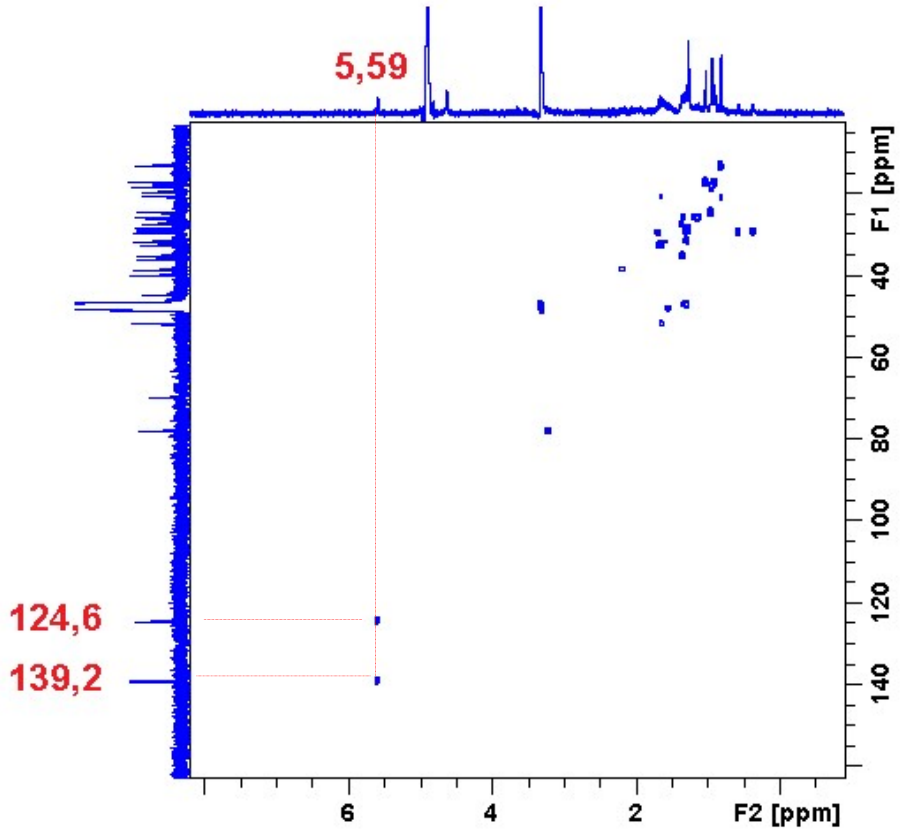


Figura 65. Mapa de HSQC (300/75 MHz, CD_3OD) de **13**.

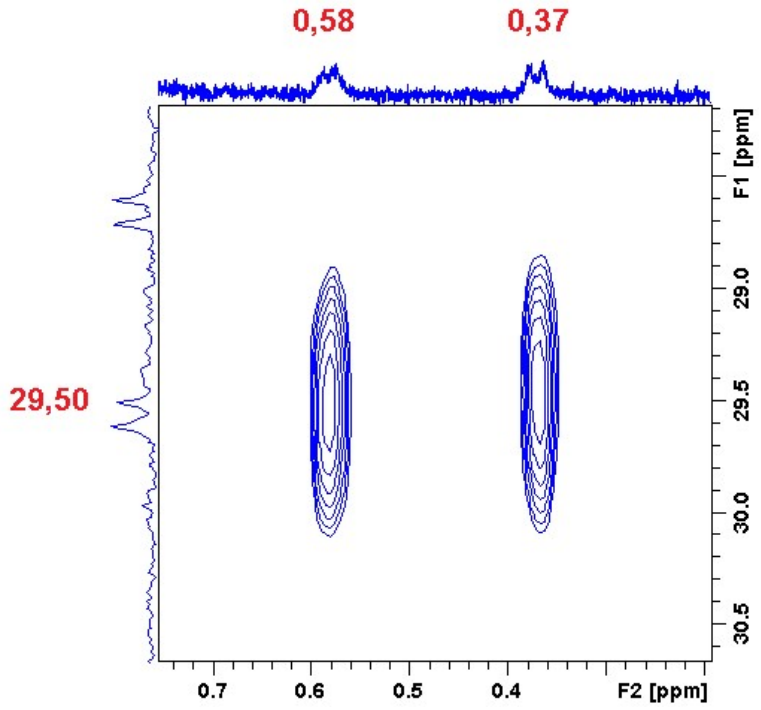


Figura 66. Ampliação do HSQC na região δ_H 0,30-0,65 e δc 27,7-30,5 de **13**.

Tabela 28. Dados de RMN da substância **13** (cicloart-23-eno-3,25-diol)

Nº	cicloart-23-eno-3,25-diol **(13)**			**LITERATURA***	
	δ_C	**δ_H multi; *J* (Hz)[1]**	**HMBC**	**δ_C**	**δ_H multi; *J* (Hz)[2]**
1	31,82			32,1	
2	29,60			30,5	
3	78,06	3,25 *dd* (J11,2 e		79,0	3,24 *dd* (11,2 e 4,4)
4	40,19			40,7	
5	47,21			47,3	
6	20,89			21,3	
7	27,68			28,2	
8	48,2			48,1	
9	19,71			20,2	
10	25,97			26,3	
11	26,09			26,2	
12	32,62			33,0	
13	45,02			45,5	
14	48,57			49,0	
15	35,31			35,8	
16	25,81			26,3	
17	51,77			52,2	
Me-18	17,28	1,02 *s*	C-12; C-13; C-14 e C-17	18,3	0,94 *s*
19	29,5	0,37 *d* (*J*= 3,7 Hz)	C-9; C-10; C-2; C-1 e C-5	30,3	0,31 *d* (*J*= 4 Hz)
		0,58 *d* (*J*=3,7 Hz)	C-11; C-10; C-1 e C-5		0,53 *d* (*J*= 4 Hz)
20	36,32			36,6	
Me-21	17,41	0,91 *d* (*J*= 6,4 Hz)	C-20; C-22 e C-17	18,5	0,830 *d* (*J*= 6.8 Hz)
22	38,77			39,2	
23	124,6	5,59 *s*	C-22 e C-25	125,8	5,57 *m*
24	139,27	5,59 *s*	C-22 e C-25	139,5	5,57 *m*
25	69,78	-		70,9	-
Me-26	28,60	1,27 *s*	C-27; C-25 e C-24	29,9	1,29 *s*
Me-27	28,70	1,27 *s*	C-26; C-25 e C-24	30,1	1,29 *s*
Me-28	18,37	0,94 *s*	C-15; C-13 e C-14	19,5	0,86 *s*
Me-29	13,30	0,81 *s*	C-30; C-4; C-5 e C-3	14.2	0,78 *s*
Me-30	24,64	0,95 *s*	C-4; C-5 e C-29	25.6	0,94 *s*

[1]300 MHz, CD_3OD; [2]400 MHz, $CDCl_3$; *(ABDEL*et al*., 2008)

6.2 Esteróides em *Swietenia macrophylla*

6.2.1 Identificação das substâncias 7 e 8 (SMH-18.3)

A fração codificada em **SMH-18.3** (15,5 mg) apresentou-se como sólido branco e foi isolada conforme os procedimentos cromatográficos descritos no Esquema **7**. Em placa de CCD, não apresentou nenhuma absorção na lâmpada de UV, mas quando revelada em vanilina sulfúrica apresentou mancha roxa e o mesmo fator de retenção (Rf=0,48) da amostra padrão de *β*-sitosterol ao utilizar Hex/AcOEt (9:1) como sistema de eluição (Figura 67).

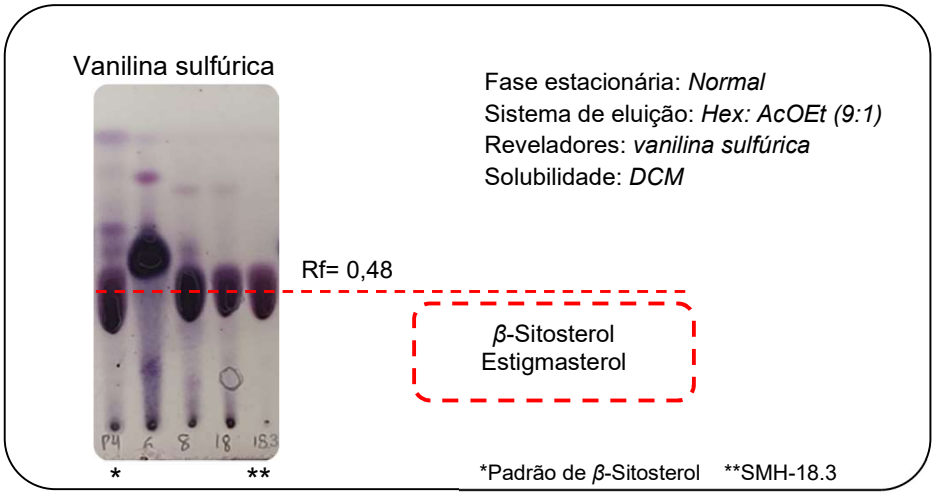
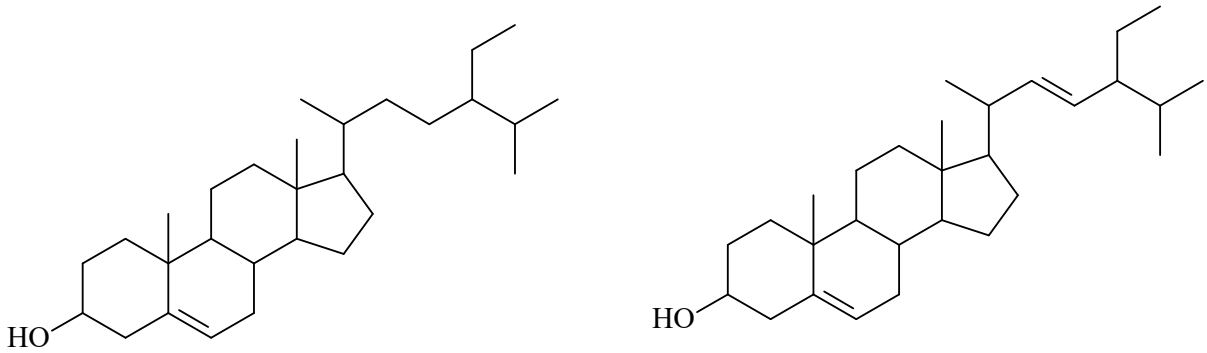


Figura 67. CCD da fração com SMH-18.3.

Para a determinação estrutural é/ou confirmação do esteroide, apenas 15,5 mg do sólido da fração **SMH-18.3** foi submetido a experimentos de ^{1}H-RMN (Figura 69). Nas análises preliminares, verificou-se a presença de sinais característicos de esqueleto esteroidal e que associados às intensidades relativas dos sinais foi possível determinar uma mistura majoritária de *β*-sitosterol (**7**) com uma minoritária de estigmasterol (**8**) na fração. No espectro expandido de ^{1}H-RMN (Tabela 29; Figura 70), por exemplo, foi observado um dubleto em 5,36 (*J*= 5,2 Hz) atribuído aos hidrogênios vinílicos H-6 das substâncias **7** e **8**. Os duplo dubletos em δ_H 5,16 (*J*=

15,1 e 8,5 Hz) e δ_H 5,02 (*J*=15,1 e 8,5 Hz) são sinais característicos dos hidrogênios da posição H-22 e H-23 do estigmasterol. O sinal de hidrogênio carbinólico (H-3) foi registrado como multipleto em δ_H 3,53 nas duas substâncias. Os sinais entre δ_H 0,5 e 2,25 são pertencentes aos hidrogênios metílicos, metínicos e metilênicos da mistura de *β*-sitosterol e estigmasterol.



(**7)** β-sitosterol (**8**) estigmasterol

Figura 68. Esteroides 7 e 8 identificados em mistura na fração SMH-18.3

Tabela 29. Dados dos hidrogênios olefínicos e carbinólicos de **7** e **8**

Nº	^{1}H-RMN δ_H: multi; *J* (Hz)[(1)]		^{1}H-RMN δ_H: multi; *J* (Hz)[(2)]	
	substância (**7**)	substância (**8**)	*β*-sitosterol**	estigmasterol**
3	3,53 *m*	3,53 *m*	3,52 *m*	3,52 *m*
6	5,36 *d* (5,2 *Hz*)	5,36 *d* (5,2 *Hz*)	5,36 *m*	5,36 *m*
22	-	5,16 *dd* (8,5 e 15,1 *Hz*)		5,15 *dd* (9 e 15 *Hz*)
23	-	5,02 *dd* (8,5 e 15,1 *Hz*)		5,01 *dd* (9 e 15 *Hz*)

[(1)] ($CDCl_3$, 300 MHz)[(2)] ($CDCl_3$, 400 MHz) **(KOJIMA *et al.* 1990)

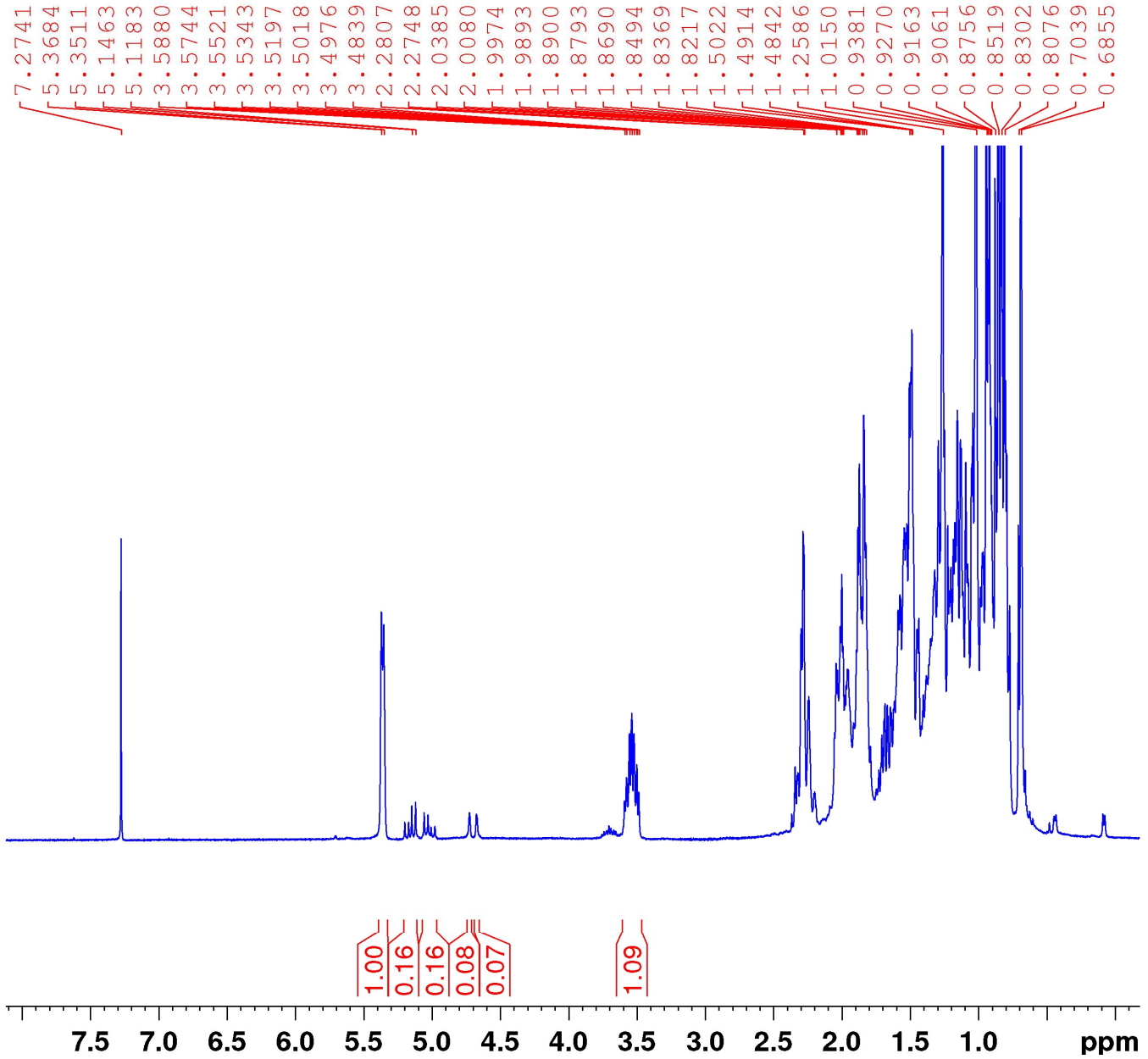


Figura 69. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-18.3 (300 MHz, $CDCl_3$)

TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME      Henrique21_SMH-18.3
EXPNO                       1
PROCNO                      1

F2 - Acquisition Parameters
Date_              20210708
Time                   9.39
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG                zg
TD                  65536
SOLVENT            CDCl3
NS                     32
DS                      0
SWH             6103.516 Hz
FIDRES          0.093132 Hz
AQ              5.3687091 sec
RG                4.41062
DW                81.920 usec
DE                 6.50 usec
TE                1009.3 K
D1             1.00000000 sec
TD0                     1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          300.2019513 MHz
NUC1                    1H
P1                   8.50 usec
PLW1          20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                  65536
SF            300.2000000 MHz
WDW                    EM
SSB                     0
LB                      0 Hz
GB                      0
PC                   1.00
```

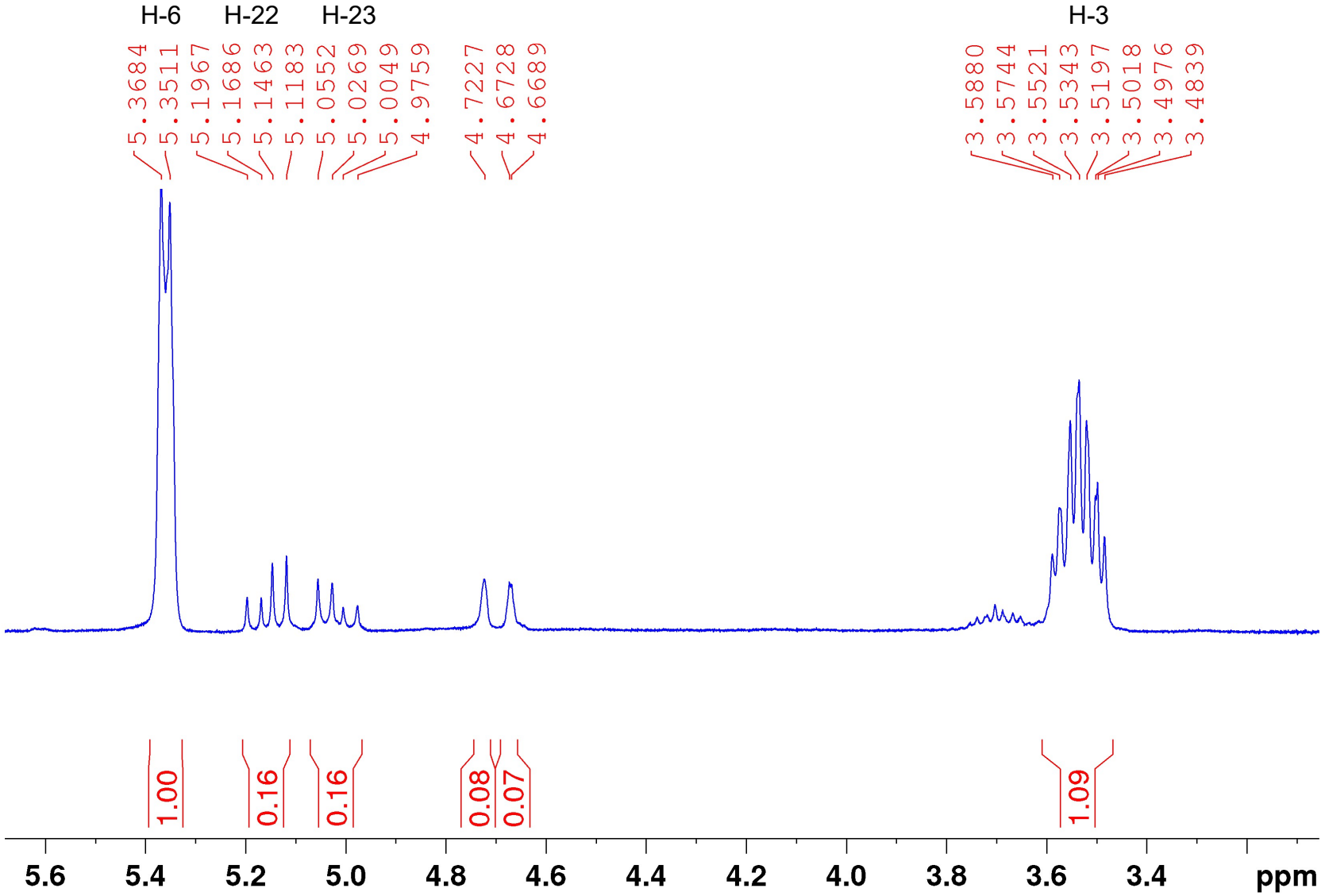


Figura 70. Amplificação (5.6-3.4) de RMN ^{1}H de SMH-18.3 (300 MHz, $CDCl_3$)

6.2.2 Identificação da substância 19 (SMM-13.P2)

A substância **19**, codificada na fração SMM-13.P2 (28 mg) foi obtida na forma de um sólido branco, conforme os procedimentos cromatográficos descrito no Esquema 19. Em placa CCD de fase normal não mostrou absorção no UV, porém, depois de revelada em vanilina sulfúrica exibiu mancha roxa, com Rf=0,81 ao utilizar DCM: MeOH (7:3) como sistema de eluição (Figura 71).

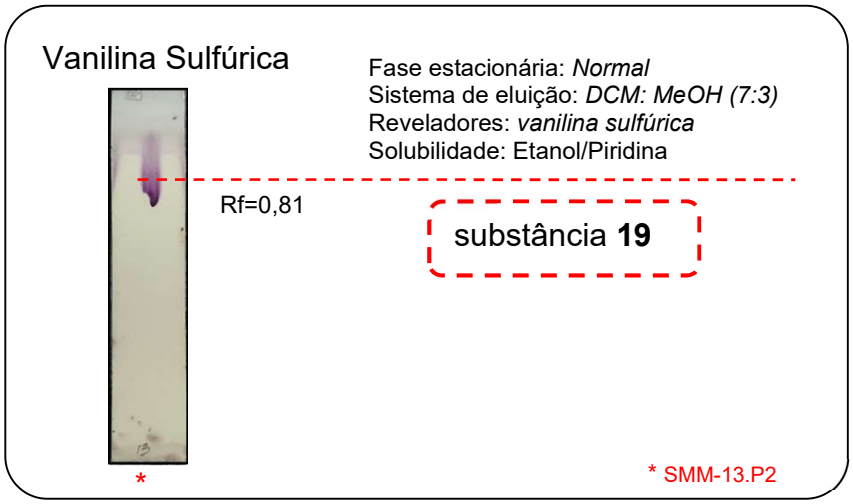


Figura 71. CCD da fração com SMM-13.P1.

Ao analisar os espectros de RMN da substância **19**, foi possível notar semelhança estrutural com os esteroides já identificados anteriormente (substâncias **7** e **8**), por exemplo, os seis sinais metílicos no ^{1}H-RMN (Figura 74, Tabela 30) ressoando entre δ_H 0,64-0,98 e também a presença de um dubleto largo em δ_H 5,35 (H-6). As diferenças espectrais são observadas em dois duplos dubletos em δ_H 4,57/4,41 *dd*, atribuídos aos H-6'a/H-6'b, dois multipletos sobrepostos em δ 4,01-3,94 (H-2' e H-3') e outro em δ_H 4,32-4,21 (H-4' e H-5'), além de um dubleto em 5,05 (H-1') com constante de acoplamento em *J*=7,71 Hz, que caracterizam a presença de um glicosídeo em C-3, com configuração *β*.

No espectro de ^{13}C (Figura 75, Tabela 30) os deslocamentos químicos foram idênticos aos valores observados para o sitosterol, exceto os sinais em δ_C 102,2 (C-1'), 75,0 (C-2'), 77,9 (C-3'), 71,4 (C-4'), 78,31 (C-5') e 62,5 (C-6'). Todas as atribuições heteronucleares $^1J_{C-H}$ foram inferidas através do mapa de correlações HSQC (Tabela 30, Figura 76).

No HMBC (Figura 77) o posicionamento do glicosídeo em C-3 foi confirmado pela conectividade do sinal em 5,05 (H-1') com o carbono em δ_C 78,20 (C-3) e 77,9 (C-3'). As correlações dos hidrogênios metilênicos δ_H 4,57/4,41 (6Ha/6Hb) com δ_C 78,31 (C-5') e 71,4 (C-4') e mais a correlação de δ_H 4,07-3,99 (H-2') com o carbono anomérico em δ_C 102,28 (C-1'), apoiam a presença do açúcar na posição C-3, como apresentadas no espectro de HMBC expandido (Figura 72, tabela 30).

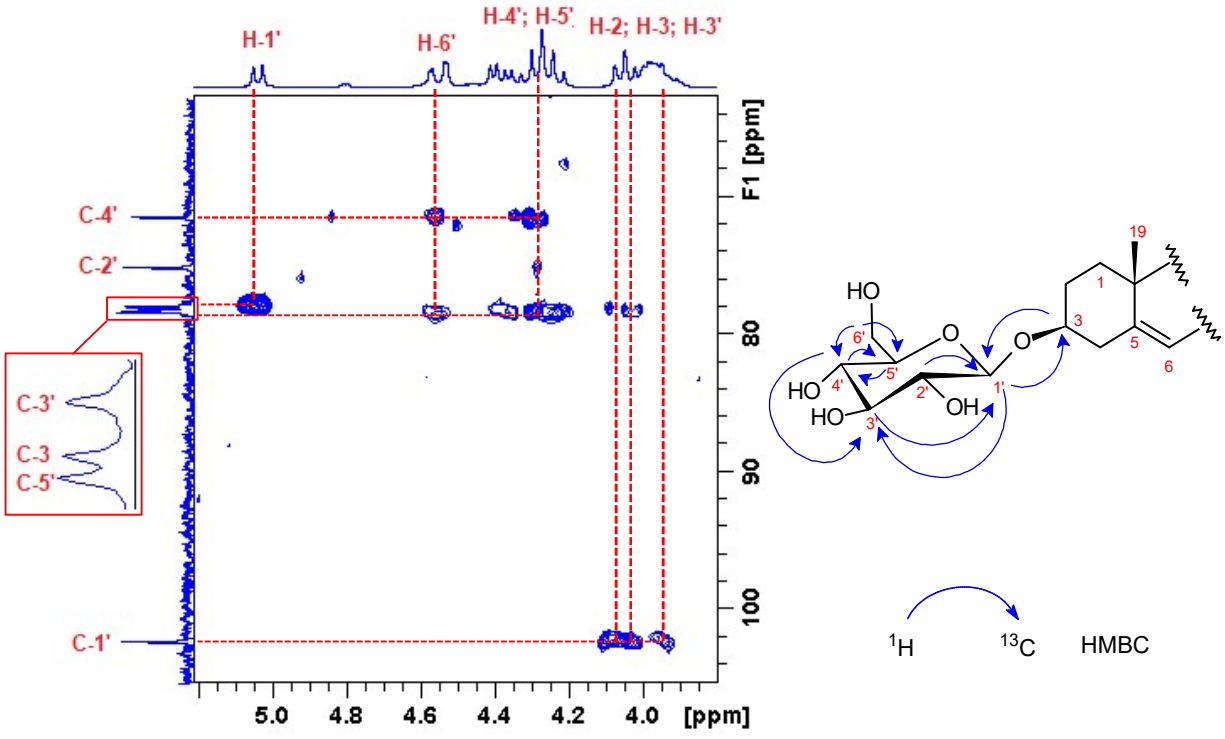


Figura 72. Ampliação do HMBC na região δ_H 3,9-5,5 e δc 64-104 de **19**.

O conjunto das análises de RMN e dos modelos encontrados na literatura (CORREIA *et al.,* 2020) permitiram identificar a substância **19**, como 3-*O*-*β*-glucopiranosil-*β*-sitosterol (Figura 73). Apesar de ser uma substância bastante comum em plantas, esse é o primeiro registro em *Swietenia macrophylla*. A substância possui relatos na literatura de atividades *in vivo* em animais, como antiinflamatória, antipirética, antineoplásica e imunomodulatória (BOUIC e LAMPRECHT, 1999).

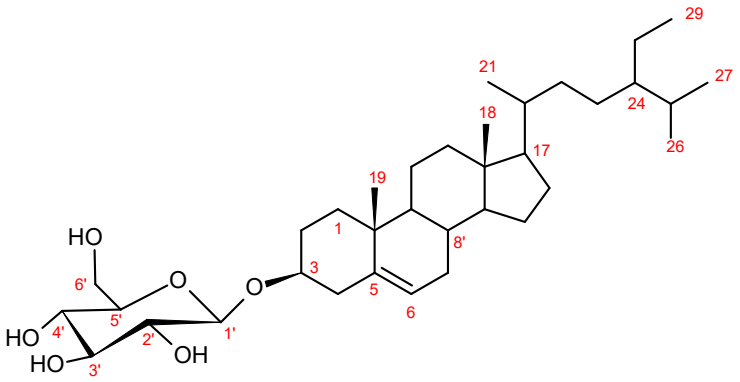


Figura 73. 3-*O*-*β*-glucopiranosil-*β*-sitosterol (**19**) na fração SMM-13.P2

Tabela 30. Dados de RMN da substância **19** (3-*O*-*β*-glucopiranosil-*β*-sitosterol)

Nº	3-O-*β*-glucopiranosil-*β*-sitosterol (**19**)			LITERATURA*	
	δ_C	δ_H multi; *J* (Hz)[1]	HMBC	δ_C	δ_H multi; *J* (Hz)[2]
1	37,25			37,2	
2	30,01			30,0	
3	78,20	4,01-3,94 *m*	C-1'; C-4	78,2	3.82-3.91 *m*
4	39,09	2,75 *dd* 2,47 *t*	C-3	42,2	
5	140,69			140,7	
6	121,72	5,35 *m*	C-4; C-10; C-7; C-8	121,7	5.35 *sl*
7	31,96			31,9	
8	31,82			31,8	
9	50,10			50,1	
10	36,69			36,7	
11	21,05			21,0	
12	39,70			39,1	
13	42,25			42,1	
14	56,59			56,6	
15	24,28			24,2	
16	28,32			28,3	
17	55,99			56,0	
Me-18	11,76	0,64 *s*	C-12; C-13; C-14; C-17	11,7	
Me-19	19,21	0,92 *s*	C-1; C-5; C-9; C-10	19,0	
20	36,15			36,1	
Me-21	18,79	0,98 *d* (6,2)	C-17; C-20; C-22	18,8	
22	33,95			33,9	
23	26,10			26,1	
24	45,78			45,8	
25	29,21			29,2	
Me-26	19,77	0,85 *d* (6,4)	C-27; C-24; C-25	19,7	
Me-27	18,99	0,87 *d* (6,8)	C-24; C-25	19,2	
C-28	23,15			23,1	
Me-29	11,94	0,87 *t* (6,6)	C-24; C-28	11,9	
1'	102,28	5,05 *d* (7,7)	C-3; C-3'	102,3	4.87 *dl* (J= 7,7)
2'	75,06	4,07-3,99 *m*	C-1'	75,0	3,98-4,05 m
3'	77,93	4,01-3.94 *m*	C-1'	77,9	3,98-4,05 *m*
4'	71,41	4,32-4,21 *m*	C-5'; C-3'	71,4	4,32-4,38 *m*
5'	78,31	4,32-4,21 *m*	C-4'; C-3'	78,3	4,32-4,38 *m*
6'	62,52	4,57 *dd* (11,8 e 5,2) 4,41 *dd* (11,8 e 2,2)	C-4'; C-5' C-4'; C-5'	62,6	4,17 *dd* (11,7 e 5,4)

[c] região congestionada; [1] (C_5D_5N, 300 MHz)[2] ; (C_5D_5N, 500 MHz); ** (CORREIA *et al*., 2020)

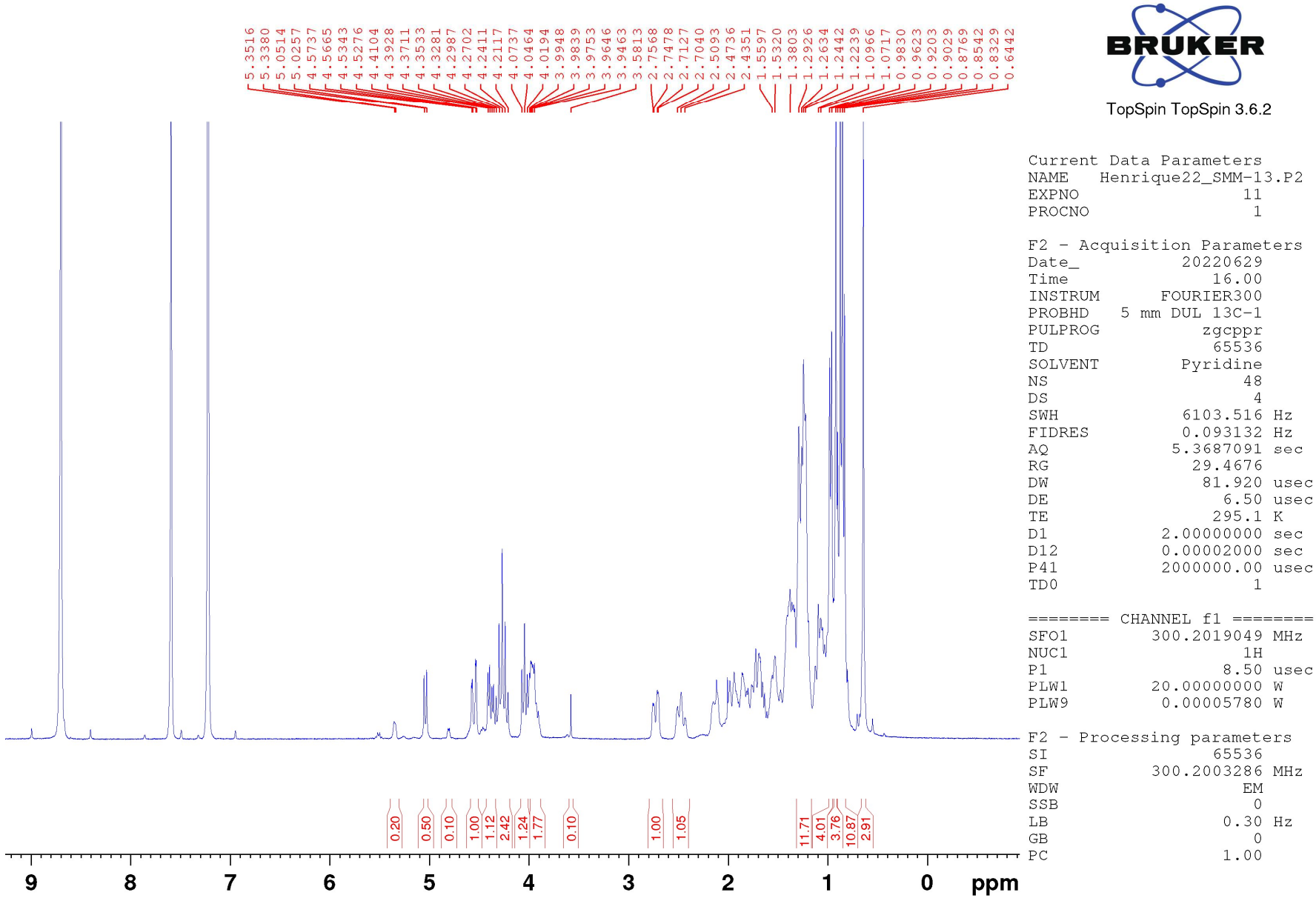


Figura 74. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-13.P2 (300 MHz, C_5D_5N)

BRUKER

TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME    Henrique22_SMM-13.P2
EXPNO                     11
PROCNO                     1

F2 - Acquisition Parameters
Date_               20220629
Time                   16.00
INSTRUM         FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG             zgcppr
TD                      65536
SOLVENT           Pyridine
NS                        48
DS                         4
SWH                6103.516 Hz
FIDRES             0.093132 Hz
AQ                 5.3687091 sec
RG                   29.4676
DW                    81.920 usec
DE                     6.50 usec
TE                    295.1 K
D1              2.00000000 sec
D12             0.00002000 sec
P41             2000000.00 usec
TD0                        1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1           300.2019049 MHz
NUC1                    1H
P1                     8.50 usec
PLW1           20.00000000 W
PLW9            0.00005780 W

F2 - Processing parameters
SI                      65536
SF             300.2003286 MHz
WDW                       EM
SSB                        0
LB                      0.30 Hz
GB                         0
PC                      1.00
```

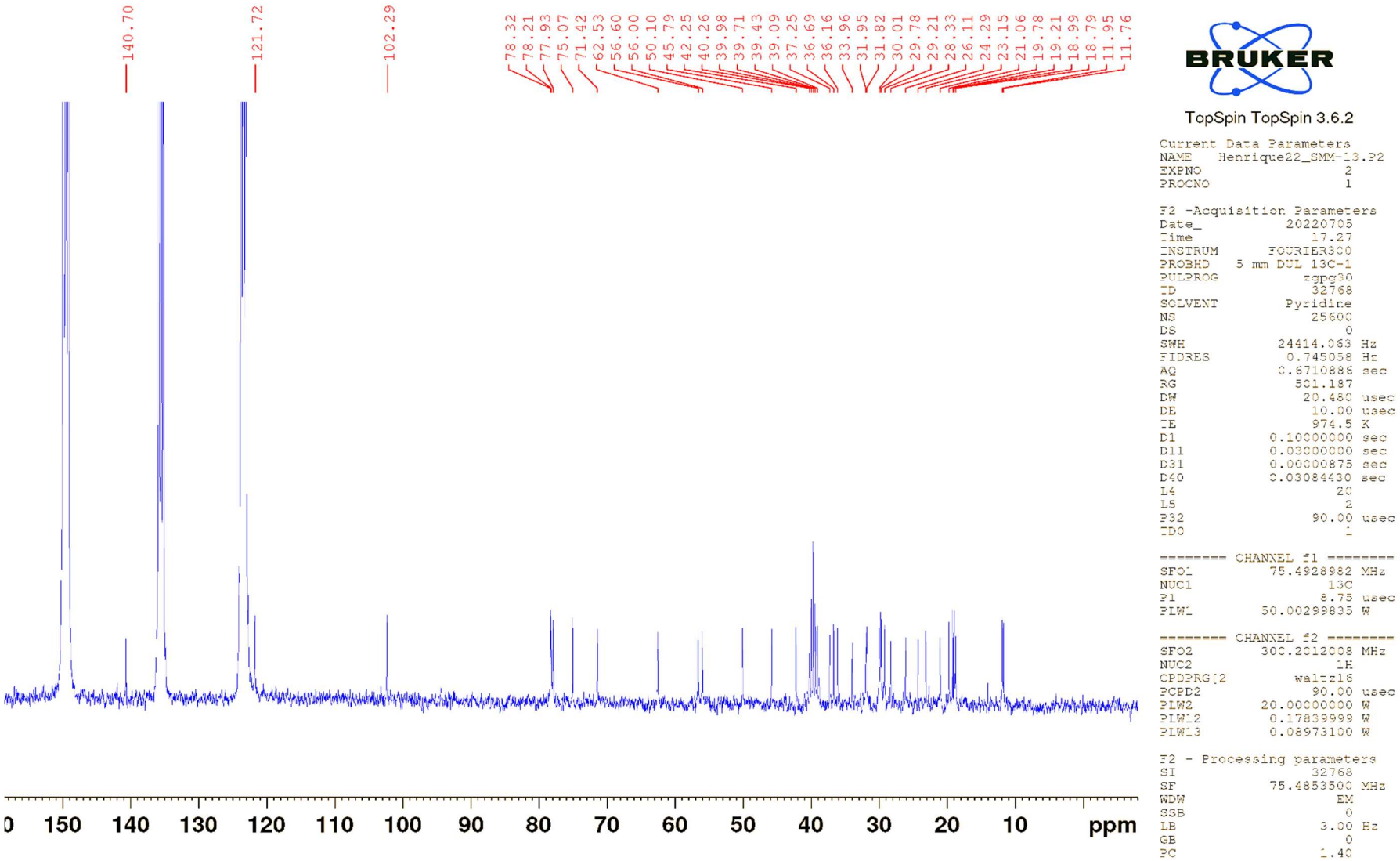


Figura 75. Espectro de RMN ^{13}C de SMM-13.P2 (75 MHz, C_5D_5N)

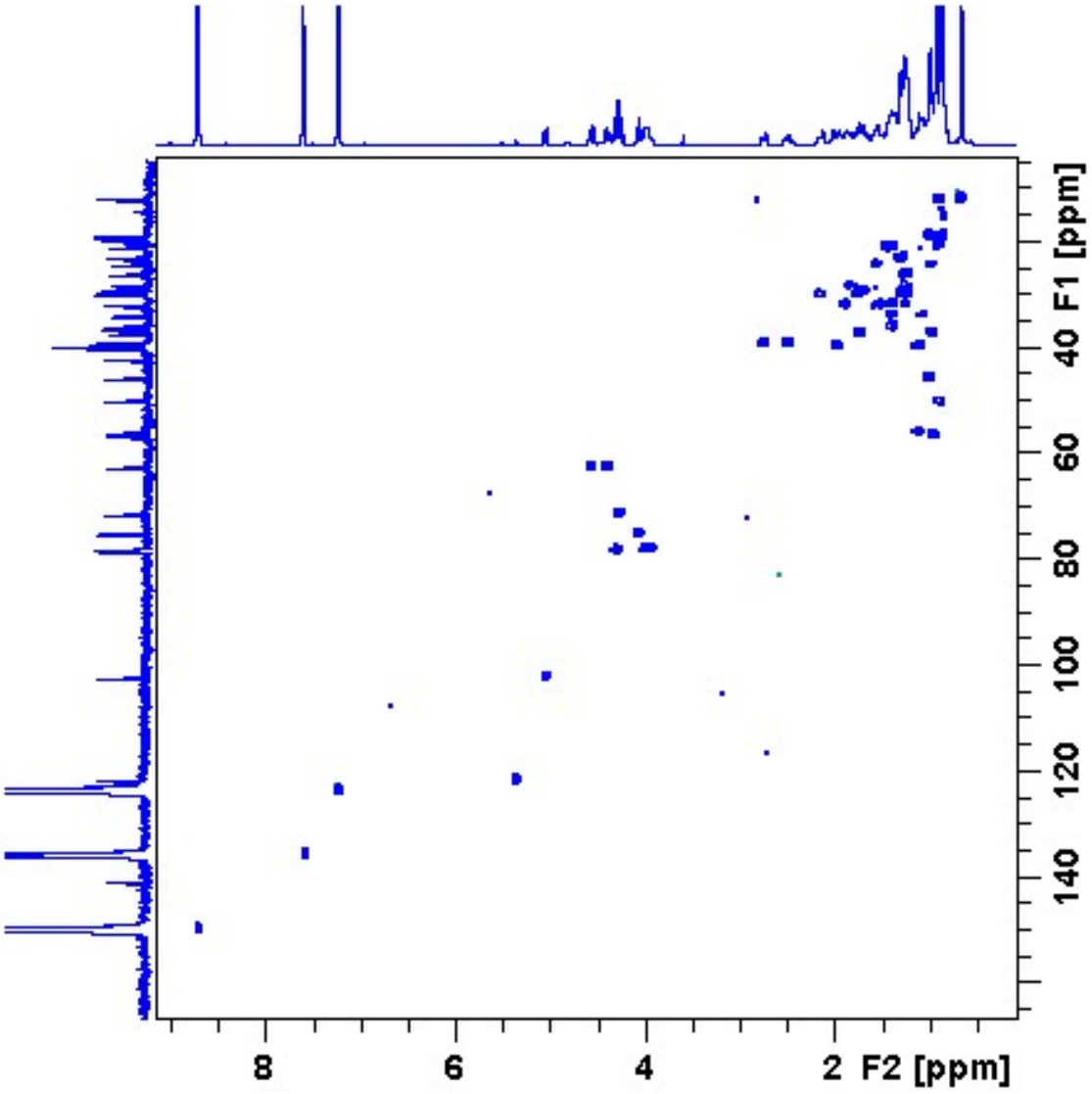


Figura 76. Mapa de contorno de HSQC (300/75 MHz, C_5D_5N) de **19**.

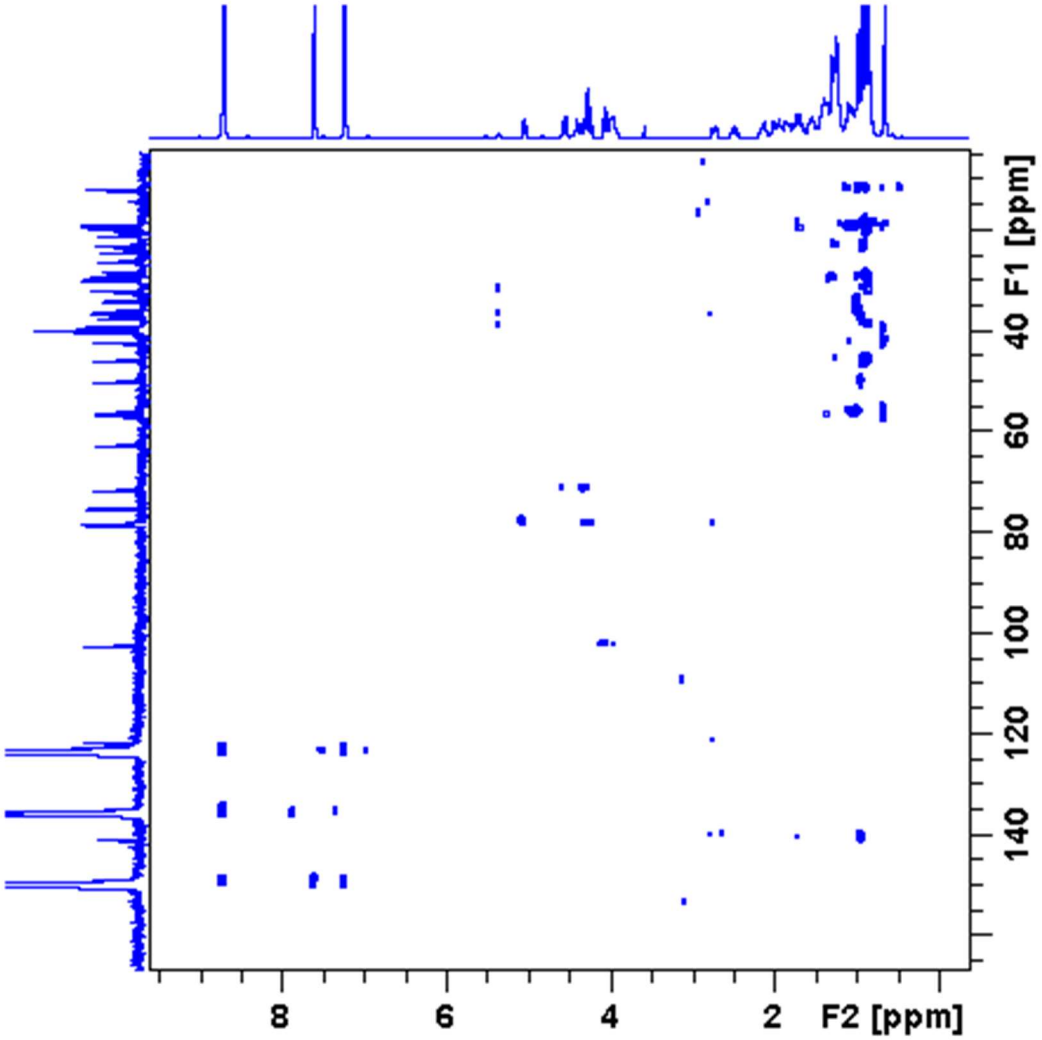


Figura 77. Mapa de contorno de HMBC (300/75 MHz, C_5D_5N) de **19**.

6.3 Determinação em mistura de triterpeno e esteroide esterificados

6.3.1 Identificação das substâncias 2 e 3 (SMH-6.7.P1)

As substância **2 e 3**, codificada na fração SMH-6.7.P1 (15 mg) foram obtidas em mistura, na forma de um sólido branco, conforme os procedimentos cromatográficos descrito no Esquema 5. Em plaquinha de CCD, mostraram absorção fraca no UV em 254 nm e depois de revelada em vanilina sulfúrica, exibiu mancha roxa, com Rf=0,74 ao utilizar Hex:AcOEt (9:1), como sistema de eluição (Figura 78).

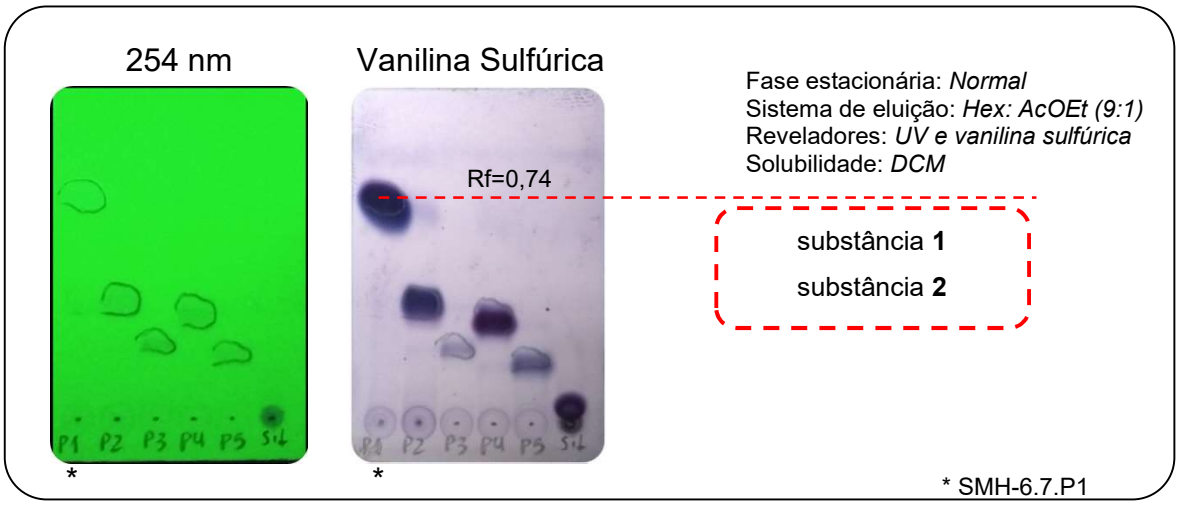


Figura 78. CCD da fração com SMH-6.7.P1.

A substância **2** (Figura 80) mostrou dados espectrais de RMN de ^{1}H e ^{13}C similares com o cicloeucalenol (**1**), como mostra a Tabela 31 (Pag. 126). A integração dos sinais dos hidrogênios de dupla ligação terminal e oximetínico, informaram que a substância com esqueleto cicloartano é majoritária na fração **SMH-6.7.P1**. No espectro de ^{1}H-RMN (Figura 83) o anel ciclopropano foi observado em dois dubletos em δ_H 0,16 (4,0 Hz) e 0,41 (4,0 Hz) e a dupla ligação terminal da cadeia lateral em δ_H 4,72 *sl* e 4,67 *d* (1,2 Hz). As diferenças espectrais de **2** foram evidenciadas no sinal de hidrogênio oximetínico em δ_H 4,53 (*ddd*) que em comparação com o hidrogênio carbinólico do cicloeucalenol (**1**) em δ_H 3,21 (*ddd*) (KIKUCHI *et al*., 1986) foram

indicativos da presença de um grupo alcanoilox (éster) na posição H-3 da substância **2**. Na análise de ^{13}C-RMN (Figura 84) os sinais característicos foram observados em δ_C 27,2 (C-19), 156,9 (C-24) e 105,9 (C-24') e 78,40 (C-3), além de vários sinais metilênicos em δ_C (29,6-29,1). Todas as atribuições heteronucleares ^1J (C-H) foram inferidas através do mapa de correlações HSQC (Tabela 31, Figura 85).

No mapa de contorno HMBC (Figura 86) foi possível confirmar a presença do grupo alcanoilox na posição C-3, pela correlação a longa distância dos hidrogênios δ_H 4,53 (H-3) e 2,30 (H-2') com uma carbonila em δ_C 173,7 (C-1'). Também o sinal em δ_H 2,30 (H-2') correlaciona-se com os sinais de carbonos metilênicos em δ_C 25,0 (C-3') e 29,6-29,1 (CH_2)n da porção de ácido graxo do éster. A correlação do hidrogênio metílico δ_H 0,89 (*t*) com o carbono em 22,7 corresponde ao final da cadeia alquílica do grupamento éster, como mostra o HMBC expandido (Figura 79). As demais correlações de HSQC e HMBC para a identificação da substância **2**, são apresentadas na Tabela 31.

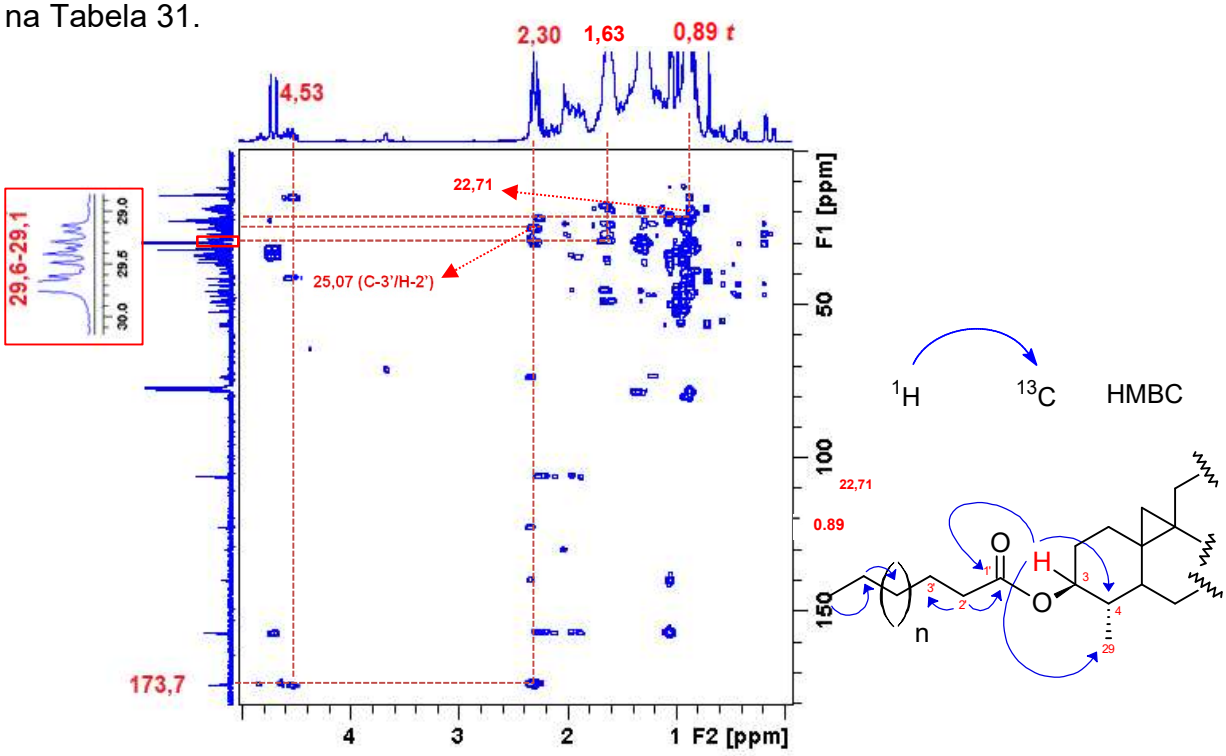


Figura 79. Ampliação do HMBC na região δ_H 4,53-0,89 e δc 10-180 de **2**.

O conjunto das análises de RMN associadas com os dados encontrados na literatura (KIKUCHI *et al*., 1986; CHAVES *et al*., 2010), sugerem que a identidade da substância **2**, seja um cicloeucalenol éster (Figura 80). Vale ressaltar que esse é o primeiro registro da substância **2** na *Swietenia macrophylla*.

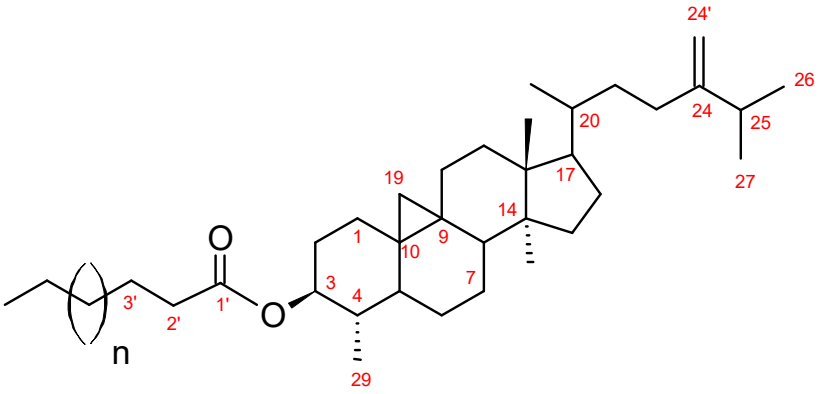


Figura 80. Cicloeucalenol éster (**2**) na fração SMH-6.7.P1.

A substância **3**, também presente na fração (**SMH-6.7.P1**), porém em menor proporção, mostrou dados espectrais de RMN de ^{1}H e ^{13}C (Tabela 32, pag. 127) similares com o sitosterol. No espectro de ^{1}H-RMN (Figura 83), por exemplo, foram evidenciados sinais na região de δ_H 0,61-2,32 característicos de grupos metílicos, metínicos e metilênicos de esteroides. A existência da dupla ligação foi evidenciada pelo multipleto em δ_H 5,39 (C-6), fazendo correlação a ^{1}J com o carbono em δ_C 122,5 no HSQC (Figura 85). As diferenças espectrais são devido à presença de um éster em C-3, que foi sugerida pelo deslocamento químico de δ_H 4,60 (C-3) e 2,30 (C-2'), ambos sinais se correlacionando com uma carbonila em δ_C 173,7 (C-1'), no mapa de correlação a longa distância HMBC (Figura 81). As demais análises de RMN uni e bidimensionais da substância **3**, são apresentadas na Tabela 32.

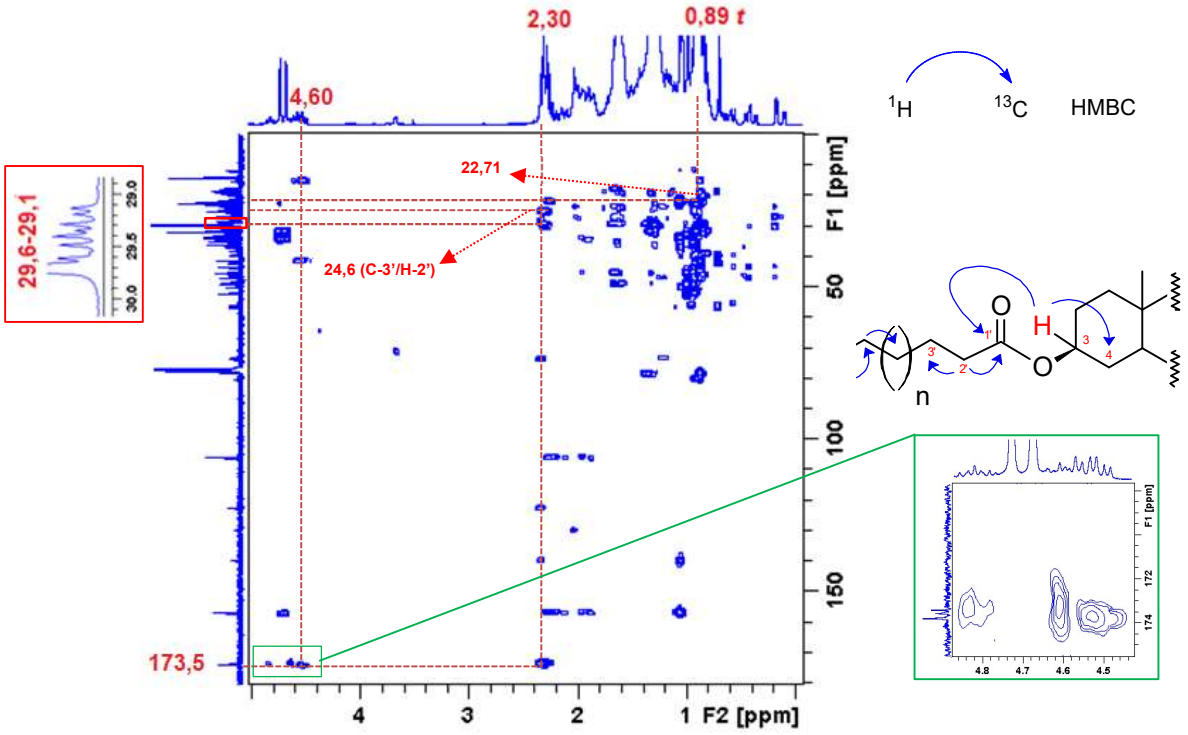


Figura 81. Ampliação do HMBC na região δ_H 4,60-0,89 e δc 10-180 de **3.**

O conjunto de análises de RMN, comparados com os dados descritos na literatura (CHAVES *et al*., 2010; CORREIA *et al*., 2020), permitiram a identificação da substância **3** (Figura 82), como um sitosterol éster. Em resumo, os derivados esterificados ocorrem na natureza como ácidos saturados ou insaturados. Entre os saturados mais comuns estão os ácidos mirístico (C_{14}), palmítico (C_{16}) e esteárico (C_{18}). Já nos insaturados, os mais comuns são os ácidos oléico (C_{18}, Δ^9), linoléico (C_{18}, $\Delta^{9,12}$) e linolênico (C_{18}, $\Delta^{9,12,15}$).

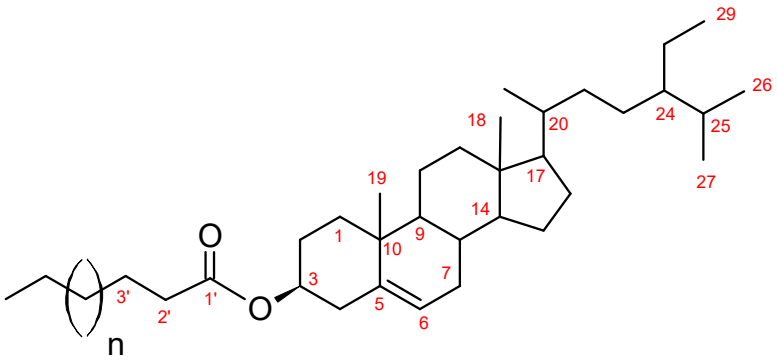
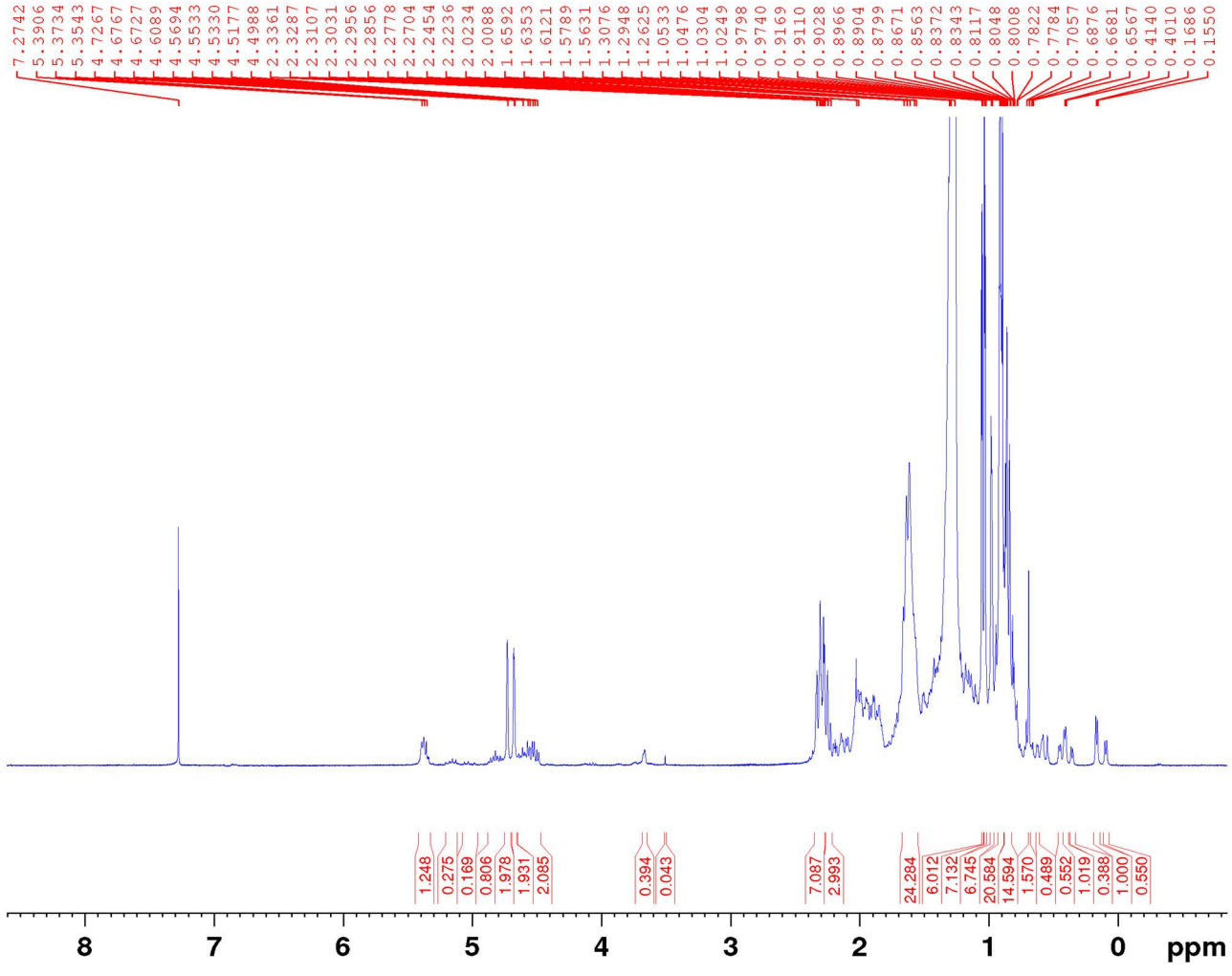


Figura 82. Sitosterol éster (**3**) na fração SMH-6.7.P1.



BRUKER

TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME  Henrique20_SMH-6.7.P1
EXPNO                   1
PROCNO                  1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20200114
Time               15.32
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG                zg
TD                  65536
SOLVENT             CDCl3
NS                     32
DS                      2
SWH           6103.516 Hz
FIDRES        0.093132 Hz
AQ            5.3687091 sec
RG              5.23339
DW               81.920 usec
DE               10.00 usec
TE               292.8 K
D1           1.00000000 sec
TD0                     1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1                   1H
P1                  7.88 usec
PLW1         20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                  65536
SF           300.2000000 MHz
WDW                    EM
SSB                     0
LB                      0 Hz
GB                      0
PC                   1.00
```

Figura 83. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-6.7.P1 (300 MHz, $CDCl_3$)

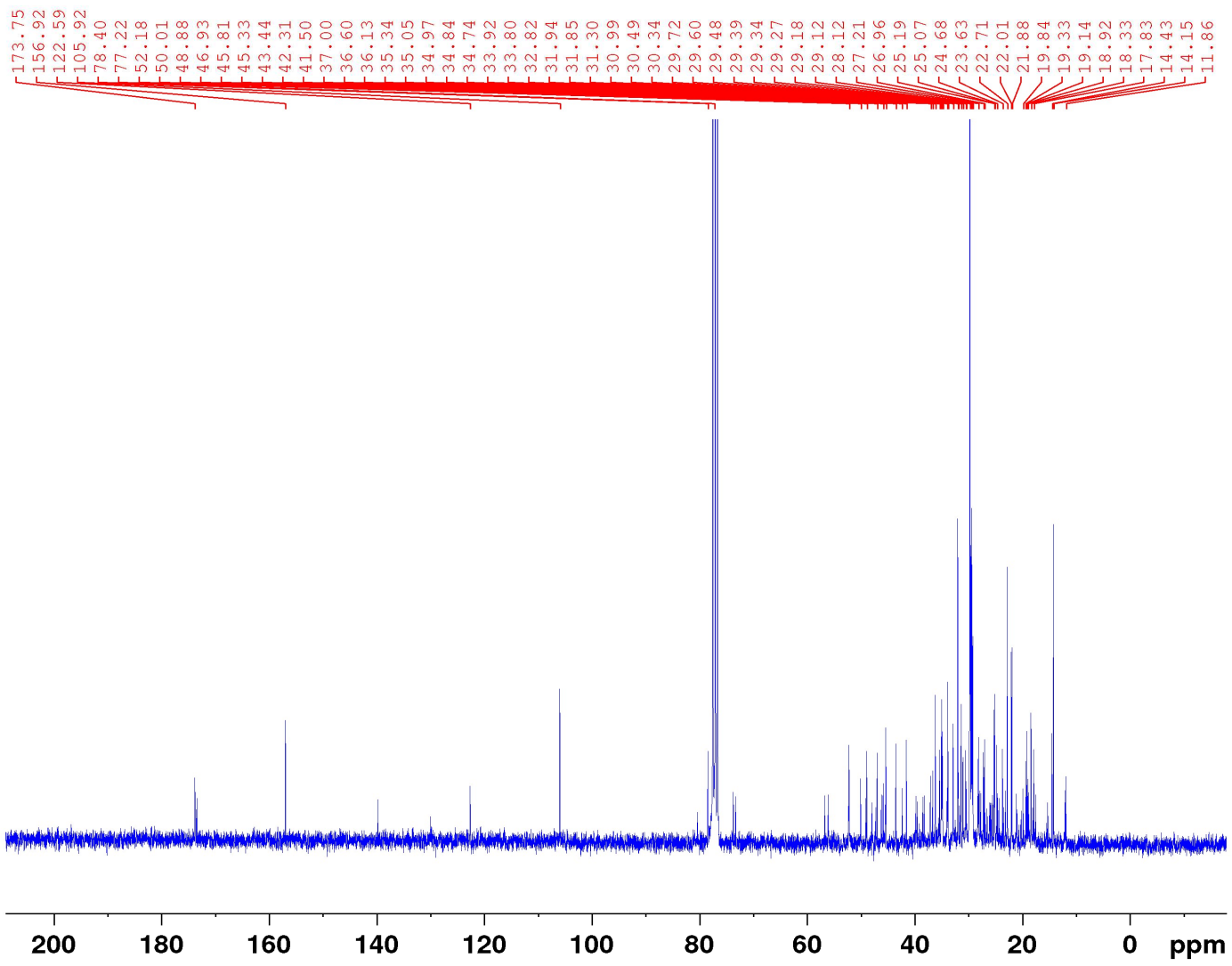


Figura 84. Espectro de RMN ^{13}C de SMH-6.7.P1 (75 MHz, $CDCl_3$)

TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME  Henrique20_SMH-6.7.P1
EXPNO                     2
PROCNO                    1

F2 - Acquisition Parameters
Date_            20200207
Time                12.07
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG            zgpg30
TD                  32768
SOLVENT             CDCl3
NS                  19611
DS                      0
SWH             24414.063 Hz
FIDRES           0.745058 Hz
AQ               0.6710886 sec
RG                 501.187
DW                  20.480 usec
DE                  10.00 usec
TE                  293.2 K
D1             0.10000000 sec
D11            0.03000000 sec
D31            0.00000875 sec
D40            0.03084430 sec
L4                      20
L5                       2
P32                 90.00 usec
TD0                      1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928982 MHz
NUC1                  13C
P1                   8.75 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                  1H
CPDPRG[2           waltz16
PCPD2                90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.16806000 W
PLW13         0.13613001 W

F2 - Processing parameters
SI                   32768
SF            75.4853500 MHz
WDW                     EM
SSB                      0
LB                    1.00 Hz
GB                       0
PC                    1.40
```

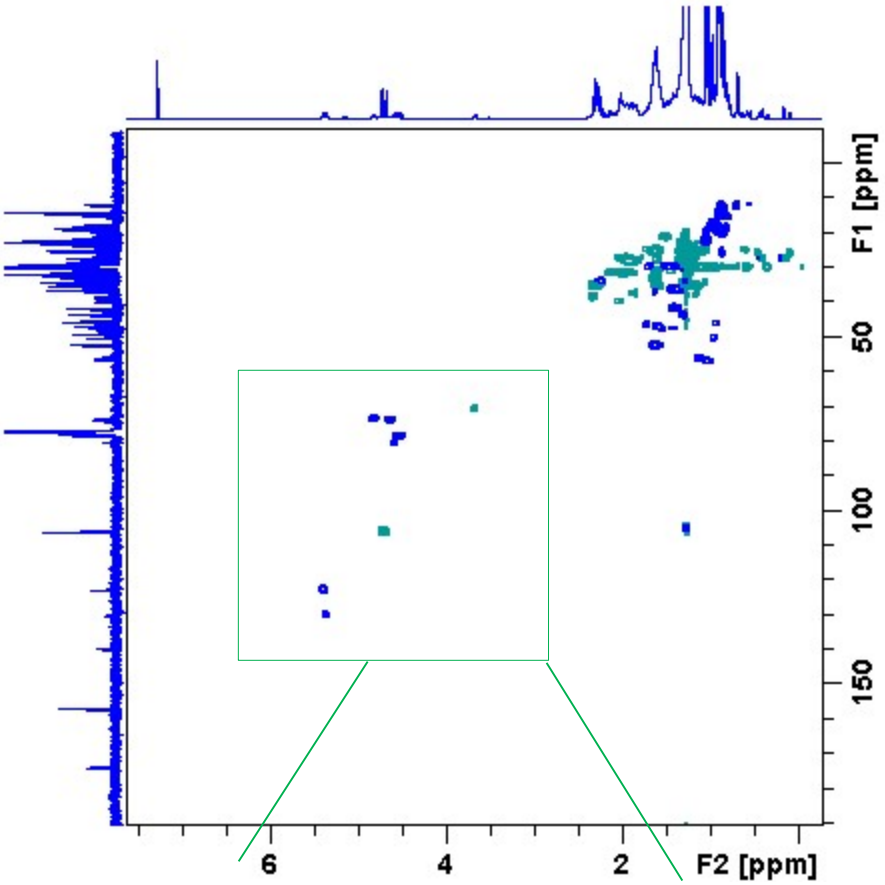
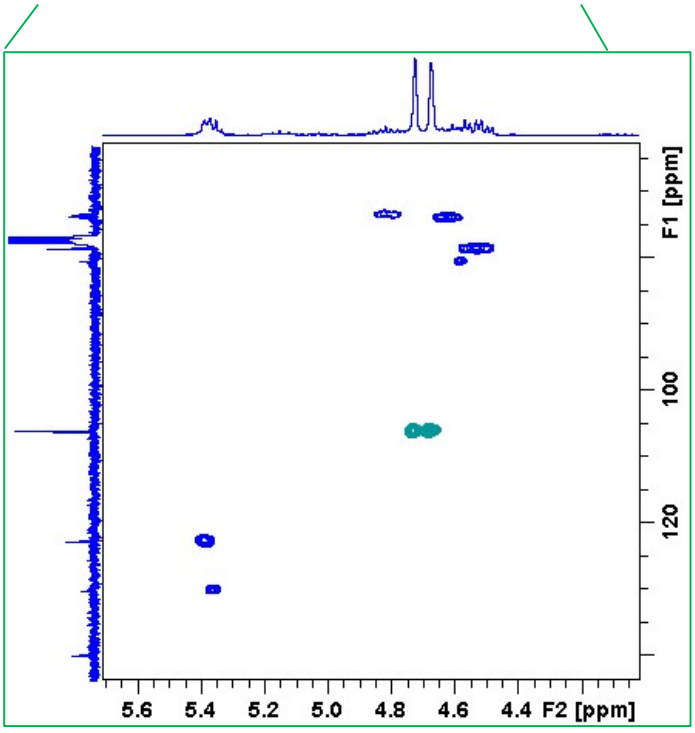


Figura 85. Mapa de contorno HSQC (300/75 MHz, $CDCl_3$) de **2** e **3**.



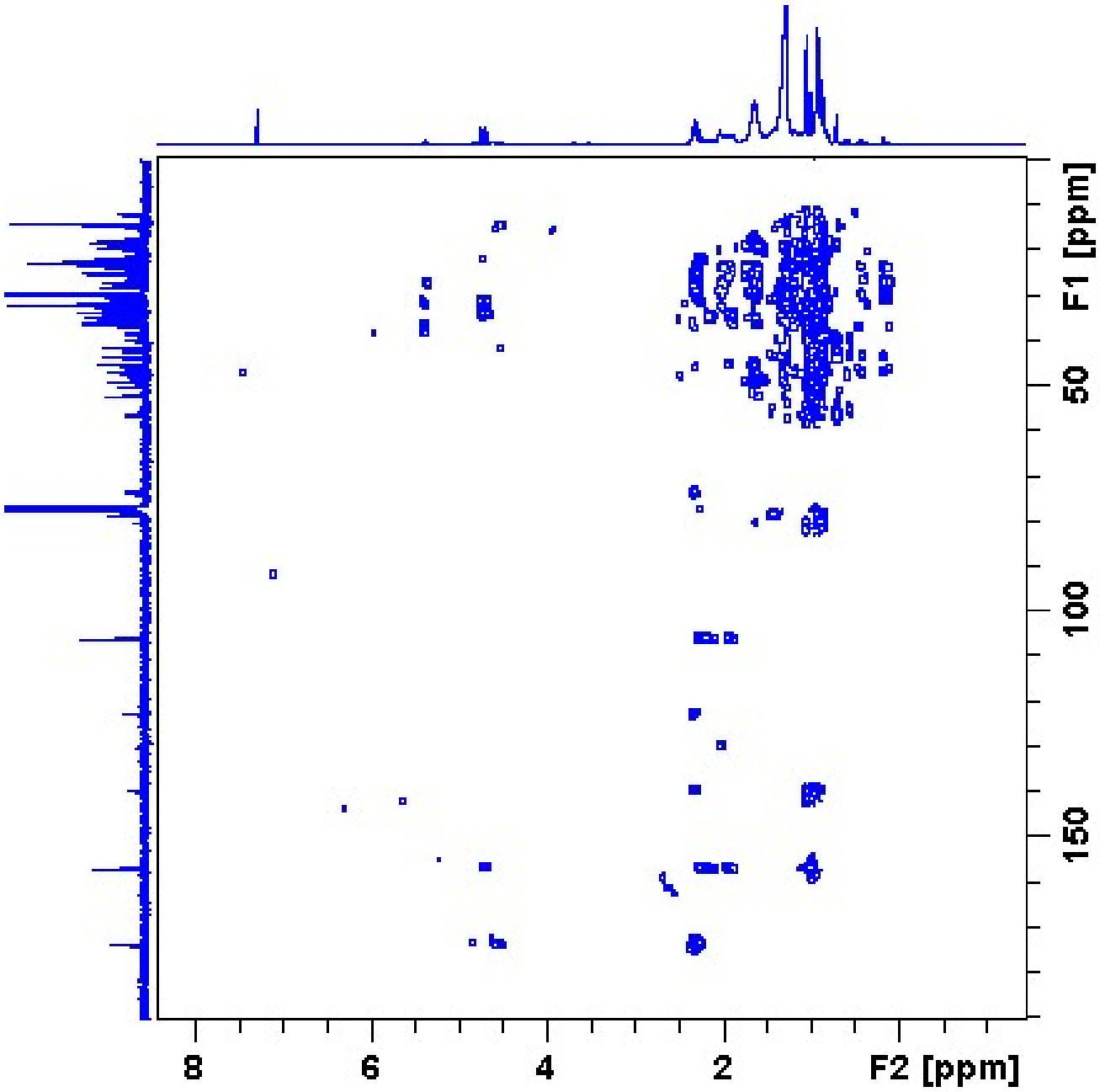


Figura 86. Mapa de HMBC (300/75 MHz, $CDCl_3$) de **2** e **3** (SMH-6.7.P1).

Tabela 31. Dados de **2** extraídos dos espectros de RMN da mistura SMH-6.7.P1.

Nº	cicloeucalenol éster (2)			LITERATURA*	
	δ_C	δ_H multi; *J* (Hz)[1]	HMBC	δ_C	δ_H multi; *J* (Hz)[2]
1	30,48			30,88	
2	30,98			34,90	
3	78,40	4,53 *ddd* (16,3; 10,3; 4,6)	C-29, C-1', C-4	76,64	3.21 *ddd* (J= 10,5; 9; 4,5)
4	41,51			44,69	
5	43,44			43,43	
6	24,68			24,73	
7	25,19			25,22	
8	46,93			46,90	
9	23,62			23,64	
10	29,48			29,65	
11	26,96			27,08	
12	32,82			32,99	
13	45,32			45,45	
14	48,88			49,00	
15	34,83			35,42	
16	28,11			28,18	
17	52,17			52,31	
Me-18	17,82	0,97 s		17,84	0,970 *s*
19	27,20	0,16 d (4,0 Hz)	C-11, C-1, C-5, C-8	27,28	0,143 *d* (J=4,0)
		0,41 d (4,0 Hz)	C-9, C-11, C-1, C-5, C-8		0,387 *d* (J=4,0)
20	36,13			36,21	
Me-21	18,33	0.91 d (6.9 Hz)		18,42	0,898 *d* (J= 6,5)
22	35,34			35,13	
23	31,30			31,41	
24	156,9			156,89	
24'	105,91	4,67 *d* (1,2 Hz)	C-23, C-24, C-25	106,05	4,714 S
		4,72 *sl*	C-23, C-24, C-25		4,662 *d* (J= 1.0)
25	33,79	2.24 t (7,0)	C-27, C-26, C-24, C-24'	33,90	2,233 sept
Me-26	21,87	1,04 *d* (6,8 Hz)		22,06	1,026 d (J= 7,0 Hz)
Me-27	22,00	1,05 *d* (6,8 Hz)		21,94	1,031 d (J= 6,7Hz)
Me-28	19,14	1,03 s		19,21	0,893 *s*
Me-29	14,41	0,85 s		14,46	0,980 *d* (J= 7,0Hz)
C-1'	173,7			-	
C-2'	34,96	2.30 *t* (7,6 Hz)	C-1'	-	
C-3'	25,07	1,63 *m*	$(CH_2)n$	-	
$(CH_2)n$	(29,6-29,1)	(1,30-1,28)		-	
$\underline{C}H_2CH_3$	22,71			-	
$CH_2\underline{C}H_3$	14,14	0,89 t (6,9 Hz)			

[1] ($CDCl_3$, 300 MHz); [2] ($CDCl_3$, 400 MHz); * (KIKUCHI *et al*., 1986)

Tabela 32. Dados de **3** extraídos dos espectros de RMN da mistura SMH-6.7.P1.

Nº	Sitosterol éster (3)			LITERATURA*	
	δ_C	δ_H multi; *J* (Hz)[1]	HMBC	δ_C	δ_H multi; *J* (Hz)[2]
1	37,00			37,0	
2	30,34			27,8	
3	73,66	4.60 *m*	C-1	73,7	4.60 m
4	38,15	2,32 *dl* (7,68)		38,2	230 dl (7.75)
5	139,71			139,7	
6	122,5	5,39 *m*	C-7, C-10, C-4	122,6	5.36 m
7	31,94			31,9	
8	31,94			31,9	
9	50,00			50,1	
10	36,59			36,6	
11	21,02			21,0	
12	39,71			39,7	
13	42,30			42,3	
14	56,68			56,7	
15	24,29			24,3	
16	28,25			28,2	
17	56,01			56,1	
Me-18	11,85	0,68 *s*	C-12, C-13, C-17	11,9	0,68 s
Me-19	19,30	1,03 *s*	C-10, C-1, C-9, C-5	19,3	1,01 s
20	36,13			36,2	
Me-21	18,78	0,91 *d* (6,09)		18,8	0,92 *d* (6,6 Hz)
22	33,92			34,0	
23	39,71			39,7	
24	45,81			45,8	
25	26,02	2,24 *t* (7,0)		26,1	2,24 sep
Me-26	19,02	0,83 *d* (6,7 Hz)		19,0	0,81 *d* (7.0 Hz)
Me-27	19,83	0,85 *d* (6,7 Hz)		19,8	0,84 *d* (7.0 Hz)
C-28	23,05			23,1	
Me-29	11,98	0,85 *t* (6,84)		12,0	0,84 *t* (7.0)
1’	173,5			173,3	
2’	34,83	2,30 *t* (7,6)		34,7	2,26 *t* (7.5)
3’	24,68	1,63 *m*		29,1	
$(CH_2)n$	(29,6-29,1)	(1,30-1.28)		(29,2-29,4)	
$\underline{C}H_2CH_3$	22,71	1,30 *m*		N. I*	
$CH_2\underline{C}H$	14,14	0,89 *t* (6,9 Hz)		14,2	0,88 *t* (6,6)

*N.I (Não informado) [1] ($CDCl_3$, 400 MHz);[2]

6.4 Determinação estrutural de Limonóides em *Swietenia macrophylla*

6.4.1 Elucidação das estruturas das substâncias 9 e 10 (SMH-22.5.P1)

A fração **SMH-22.5.P1** (16 mg) apresentou-se como sólido branco e seus constituintes obtidos em mistura seguiram os procedimentos cromatográficos descrito no Esquema 9. Em CCD de fase normal mostrou leve absorção no UV em 254 nm, depois de revelada em vanilina sulfúrica, exibiu mancha amarela, com Rf=0,38 ao utilizar DCM:MeOH:acetona (97:1,5:1,5) como sistema de eluição (Figura 87).

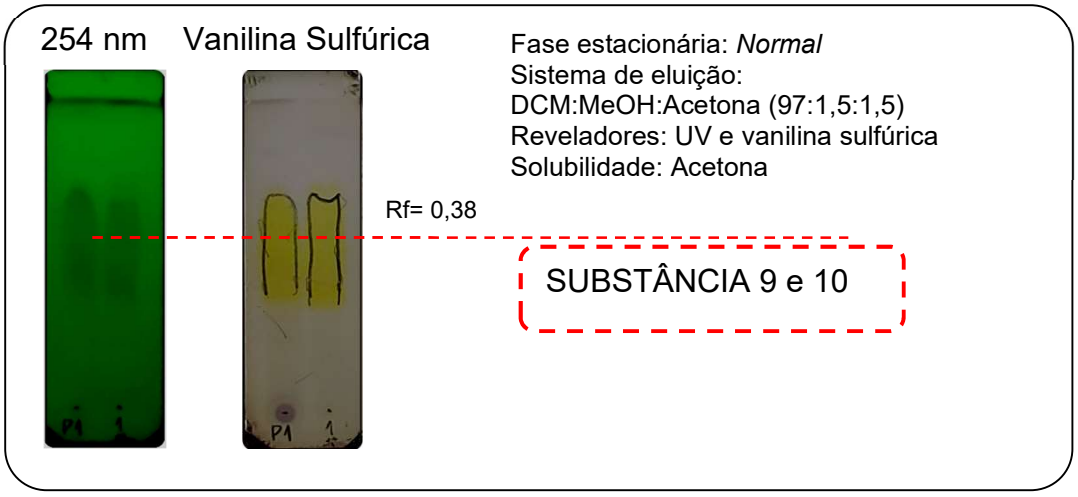


Figura 87. CCD da fração com SMH-22.5.P1.

Nas análises preliminares dos espectros unidimensionais (^{1}H, ^{13}C, DEPT-135), foi possível observar que a fração se tratava de uma mistura de limonóides. E, por meio das intensidades relativas dos sinais foi possível identificar os dois limonóides mais expressivos da mistura, pois a substância majoritária revelou intensidade maior em relação à segunda substância encontrada.

No espectro de ^{1}H-RMN (Tabela 34, Figura 104) observou-se sinais característicos do anel furano em δ_H 7,80 *m*, 7,54 *t* e 6,63 *m,* correspondentes aos hidrogênios H-21, H-23 e H-22, respectivamente do composto majoritário da mistura.

No espectro de ^{13}C-RMN (Tabela 34, Figura 105) o anel furano caracterizou-se pelos sinais em δ_C 142,7 (C-23), 142,2 (C-21), 121,51 (C-20) e 110,0 (C-22). Estas atribuições foram inferidas através do mapa de correlações HSQC (Figura 107). Um singleto metínico foi observado na região de δ_H 6,04 que acoplou diretamente ao carbono 69,21 (C-17) no mapa de HSQC. Este mesmo sinal de hidrogênio em δ_H 6,04 fez correlação à longa distância com os carbonos do anel furano em δ_C 142,2 (C-21), 121,51 (C-20) e 110,0 (C-22) e com uma carbonila de acetato em δ_C 168,5 (OAc-17'), como ilustrado na Figura 88. Além disso, um grupo metoxi em δ_H 3,59 (OMe-16) mostrou estar ligado a uma carbonila em δ_C 170,54 (C-16), do anel D. Essa mesma carbonila correlacionou-se a $^2J_{HC}$ com os hidrogênios metilênicos da posição H-15 (δ_H 3,09 e 3,45). As correlações são apresentadas na Figura 89.

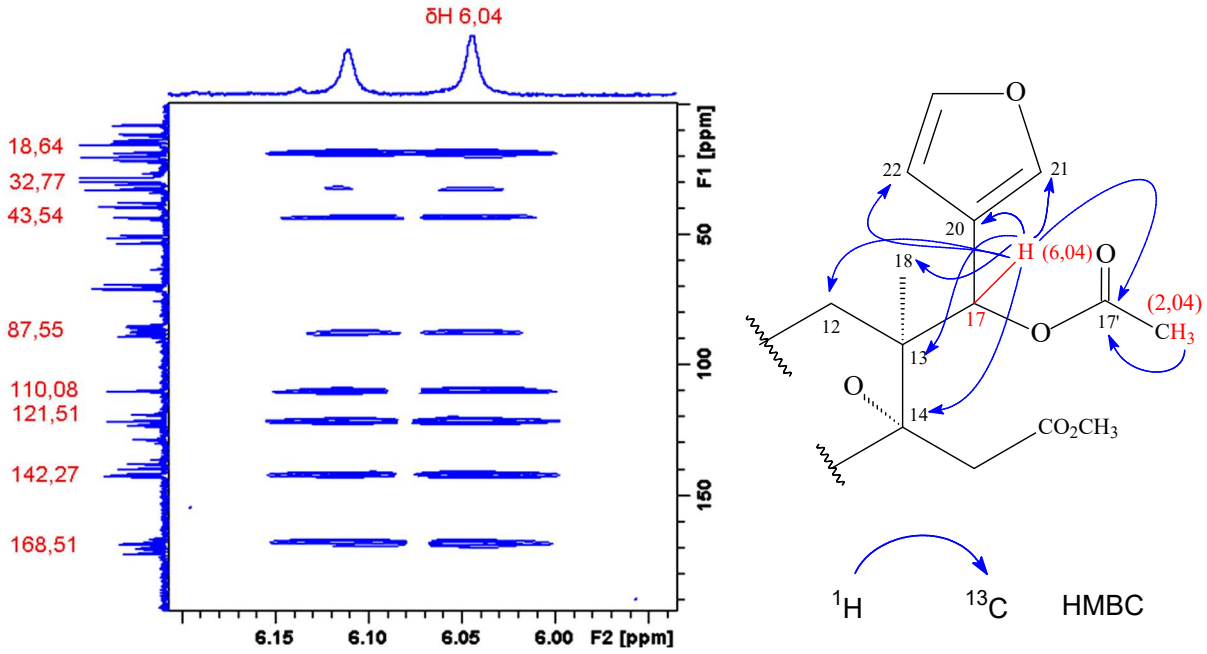


Figura 88. Amplificação do HMBC na região de δ_H 6,04-6,15 e δc 10-190 de **9**.

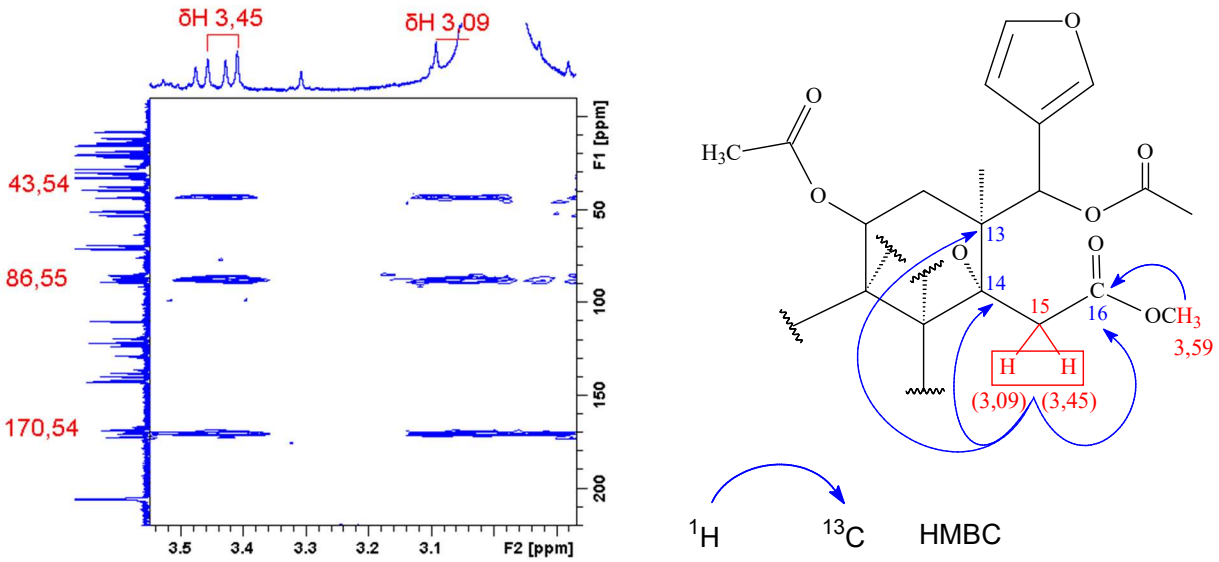


Figura 89. Amplificação do HMBC na região de δ_H 3,09-3,45 da substância **9**.

Estas correlações discutidas acima sugeriram que a substância apresenta anel *D*-seco e através do sinal em δ_H 6,04 percebe-se um grupo furano e um grupo acetato ligado a C-17. Ainda analisando o sinal de hidrogênio em δ_H 6,04 no HMBC (Figura 88), foi possível observar correlações heteronucleares com dois carbonos quaternários em δ_C 43,54 que foi atribuído a posição C-13 e outro em δc 87,55 que sugere um grupo oxigenado em C-14, além das correlações com os sinais em δc 32,77 e 18,64 que apontaram ser respectivamente os C-12 e Me-18. Um grupo acetato ligado em C-11, foi verificado a partir da correlação HMBC do hidrogênio oximetino H-11 (δ_H 5,30) e do hidrogênio metílico em δ_H 2,05 com a carbonila em δ_C 168,8 (AcO-11'), como mostra a Figura 90. Pelo espectro de COSY (Figura 109), correlações entre H-11 (δ_H 5,30) e H-12 (δ_H 1,90) foram observadas e sustentadas pela correlação a ^2J do hidrogênio H-11 (δ_H 5,30) com o carbono metilênico em δ_C 32,77 (C-12) no HMBC (Figura 90).

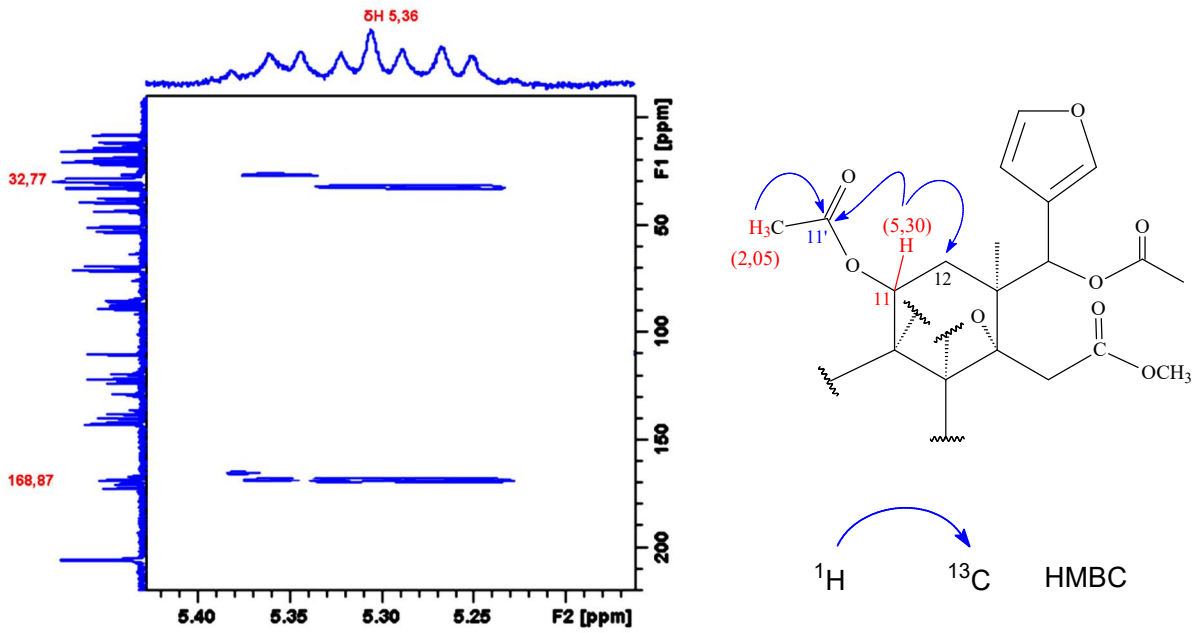


Figura 90. Amplificação do HMBC na região em torno de δ_H 5,30 da substância **9**.

Ao analisar o singleto oximetinico em δ_H 4,91 verificou-se que este acoplou via HSQC com o sinal de carbono em δ_C 70,83 (C-30) e correlacionou-se a longa distância pelo HMBC (Figura 91) com os sinais em δ_C 86,84 (C-9) e 88,57 (C-8). Desta forma, levando em consideração a natureza dos carbonos oxigenados C-8, C-9 e C-14 discutidas acima, assim como a correlação a $^2J_{HC}$ dos hidrogênios metílicos em δ_H 1,73 (H-2''') com o carbono quaternário em 119,09 (C-1''') no HMBC (Figura 92) e a comparação com os dados da literatura de Cheng *et al*. (2014), foi possível sugerir a localização de um grupo ortoacetato em C-8, C-9 e C-14.

Ainda com o hidrogênio oximetinico em δ_H 4,91 (C-30), foi possível observar no HMBC (Figura 91) outro grupo ortoacetato conectado à posição C-30 e C-2, devido às correlações com o carbono oxigenado em δc 85,02 (C-2) e um carbono quaternário em 123,41 (C-1''). Além disso, as correlações via COSY (Figura 171) entre os hidrogênios em δ_H 1,90 (H-2″) e 1,00 (H-3″), juntamente com as correlações no HMBC destes prótons H-3″, H-2'' com o carbono em δ_C 123,41 (C-1″) indicaram um grupo etil e um grupo hidroxi (atribuído com base nos dados de APCI/MS) ligado ao carbono

quaternário ortoacetato, como demonstra a Figura 92. Vale ressaltar que, o sinal de hidrogênio em δ_H 4,91 (C-30) correlacionou-se a $^3J_{HC}$ com o sinal de carbono em δ 89,10 que foi atribuído na posição (C-3), confirmando assim, a posição do grupo ortoacetato no anel B, do limonóide.

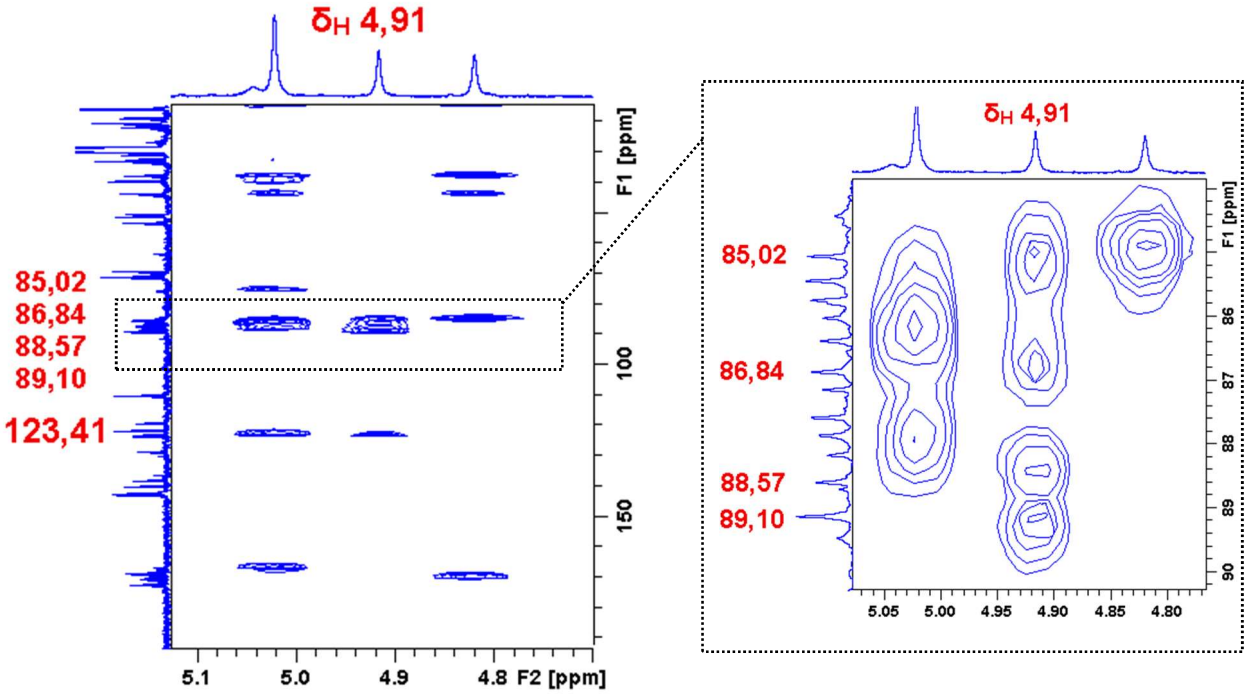


Figura 91. Amplificação do HMBC em torno do sinal em δ_H 4,91 de **9**.

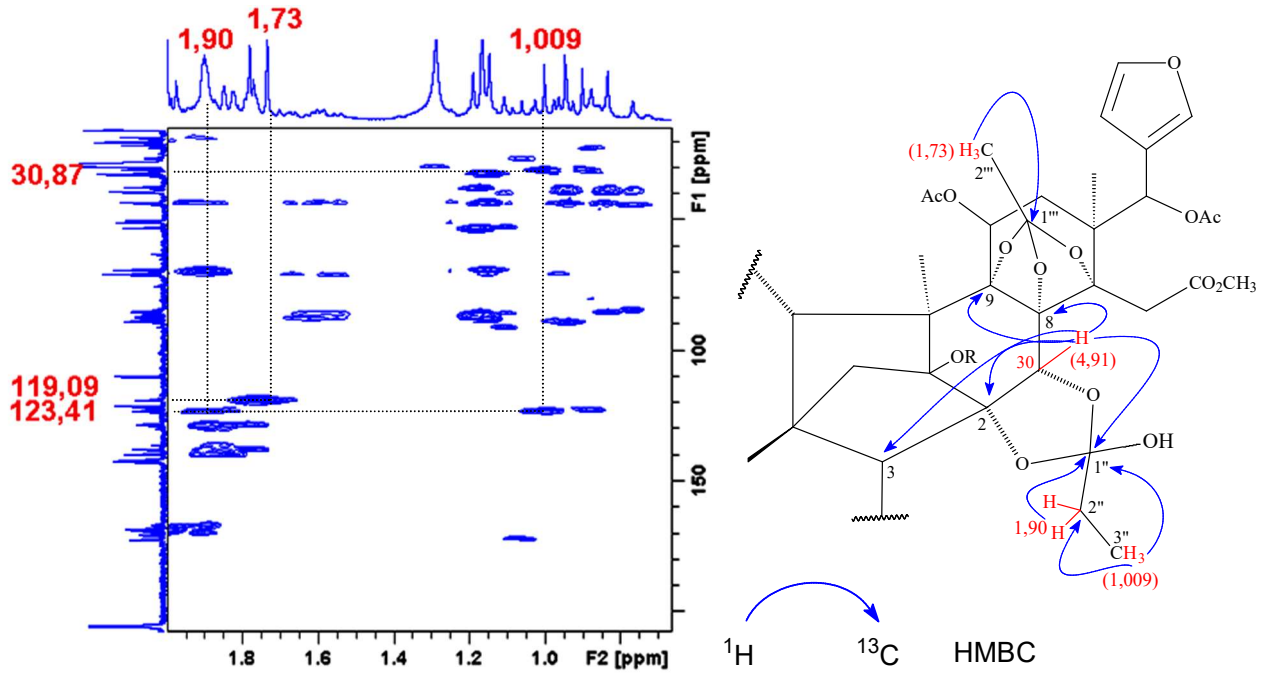


Figura 92. Amplificação do HMBC com destaque para os sinais dos grupos ortoacetato (δ_H 1,90; 1,73 e 1,00)

No anel A da substância ao analisar o sinal de hidrogênio oximetínico em δ_H 4,81, verificou-se que este acoplou com o sinal de carbono em δ_C 89,10 (C-3) no espectro de HSQC (Figura 107). Este mesmo hidrogênio correlaciona com uma unidade tigloiloxi em C-3 a longa distância com a carbonila em δ_C 169,80 (C-1'), como mostra a Figura 93. As correlações do sinal de hidrogênio em δ_H 7,38 com os sinais de carbonos em δ_C 11,64 (Me-5'), 14,02 (Me-4') e 169,80 (C-1') e mais a correlação dos dois hidrogênios metílicos δ_H 1,90 (H-5') e 1,85 (H-4') com os carbonos da dupla ligação em δ_C128,66 (C-2') e 139, 87 (C-3') apoiam a presença do grupo tigloiloxi na posição C-3, como apresentadas no espectro de correlação heteronuclear HMBC (Figura 94, Tabela 34). Outras correlações importantes no HMBC (Figura 93) do hidrogênio oximetínico em δ_H 4,81 (C-3) ajudaram a posicionar a metila em δ_C 14,46 (Me-28), 43,67 (C-4), 37,67 (C-5) e o carbono oxigenado do grupo ortoacetato em 85,02 (C-2).

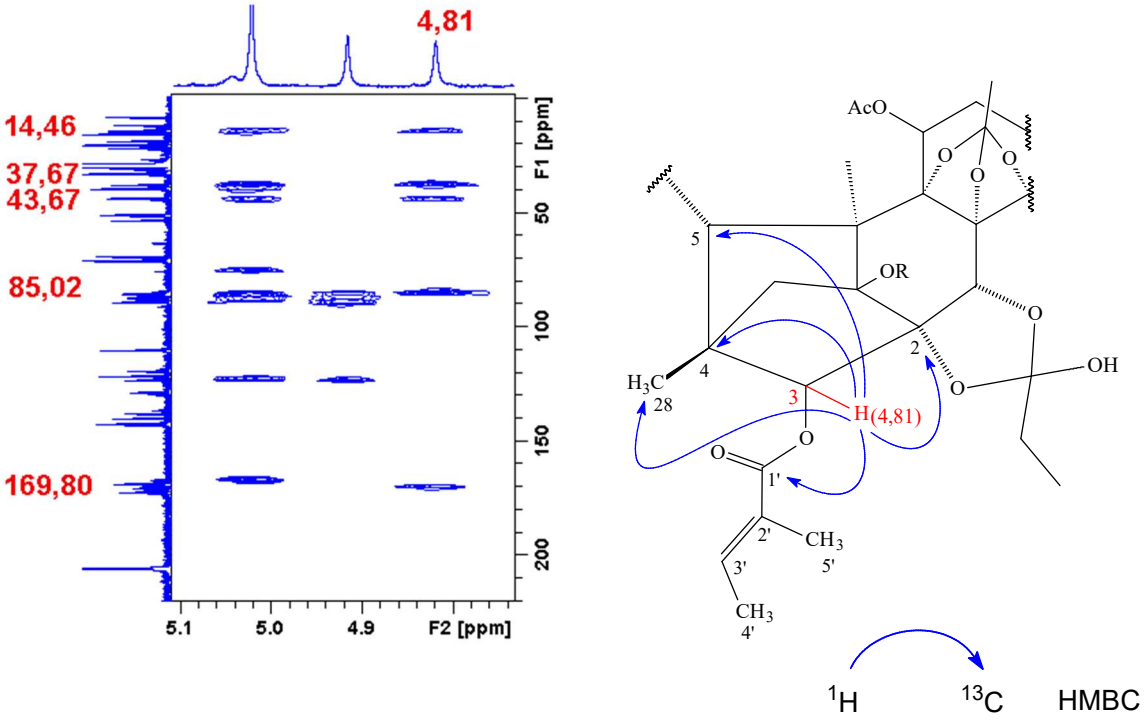


Figura 93. Amplificação do HMBC no sinal em torno de δ_H 4,81 de **9**.

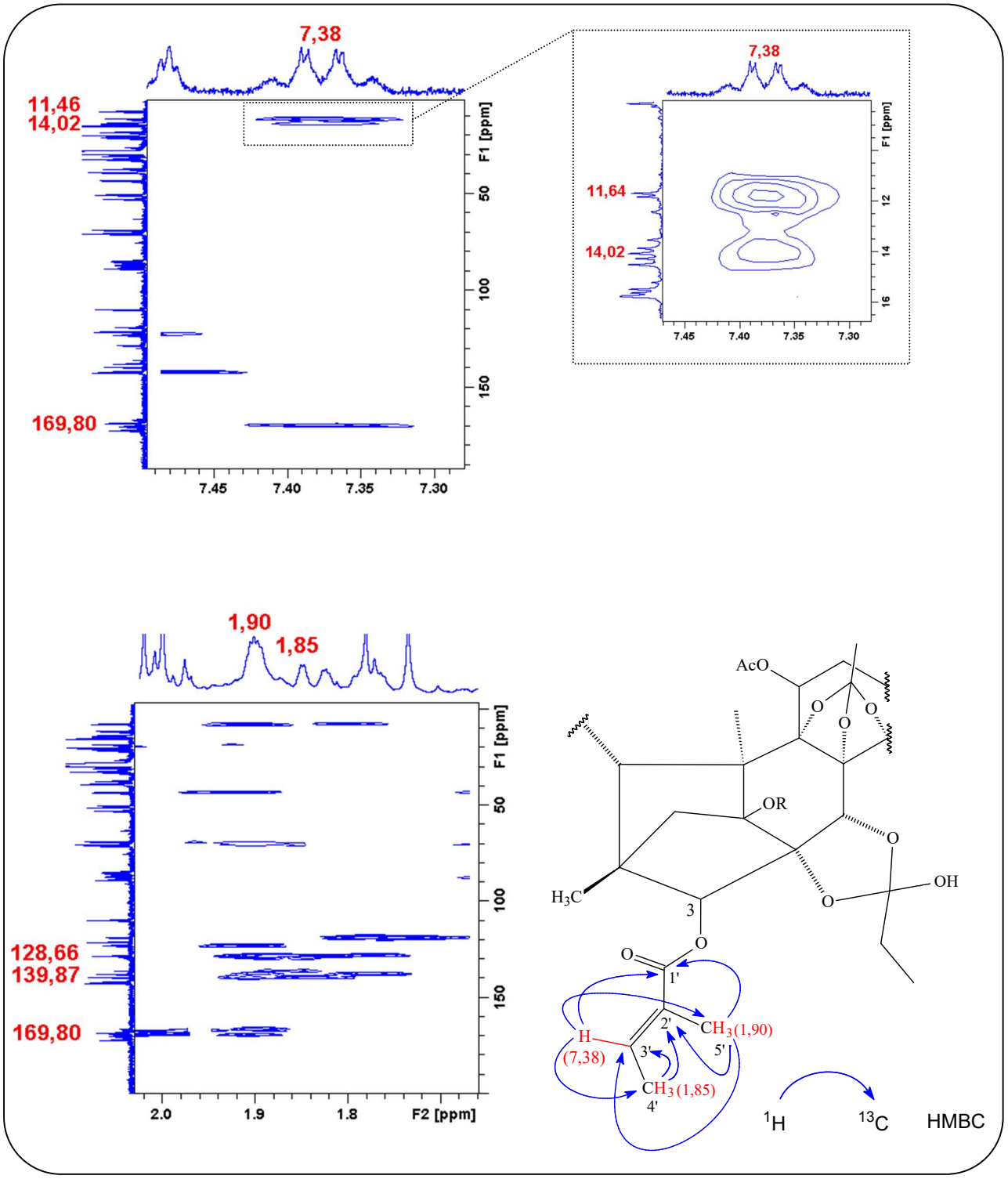


Figura 94. Amplificação do HMBC do grupo tigloiloxi (δ_H 7,38; 1,85 e 1,90) de **9**.

No anel A, um grupo metoxicarbonilmetil foi atribuído em C-5, em virtude das correlações no HMBC do sinal de hidrogênio em δ_H 2,85 (H-5) com carbonos em δ_C

32,77 (C-6) e 172,56 (C-7), somada à correlação dos sinais de hidrogênios metoxilicos em δ_H 3,69 (MeO-7) com o da carbonila em 172,56 (C-7). No COSY, a correlação entre δ_H 2,85 (H-5) com os hidrogênios metilênicos de H-6 (δ_H 2,48 e 2,35) ajudaram na interpretação do grupo metoxicarbonilmetil em C-5. Outras conectividades observadas no HMBC para o hidrogênio em δ_H 2,85 (H-5) firmaram a presença do grupo no anel A, tais correlações foram com os carbonos quaternários 43,67 (C-4), 53,20 (C-10) e 87,71 (C-1), todas observadas no espectro HMBC (Figura 95).

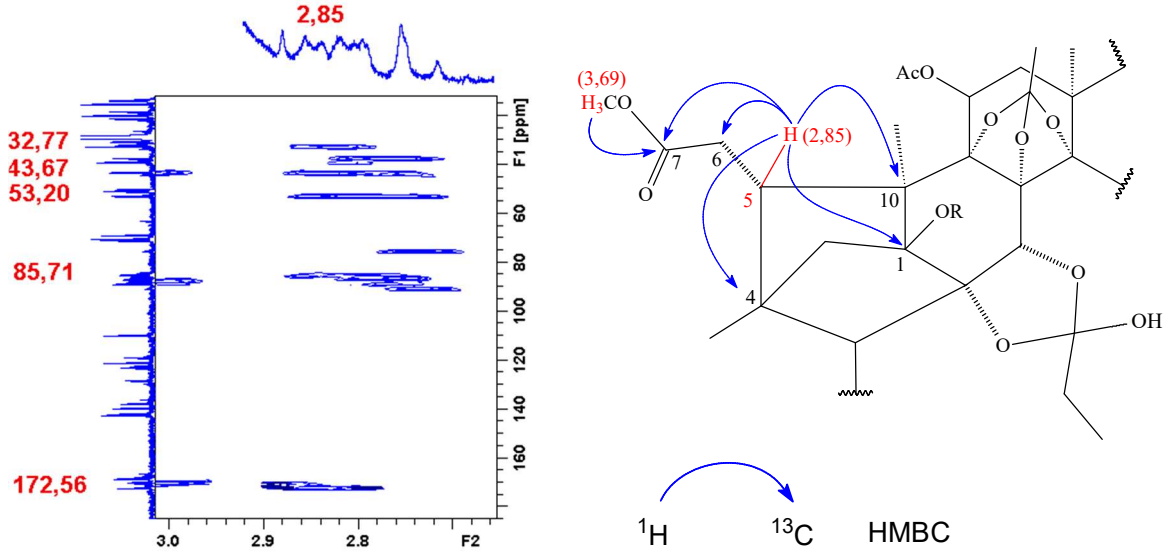


Figura 95. Amplificação do HMBC em torno do sinal em δ_H 2,85 de **9**.

A presença de uma ponte em C4-C29-C1 no anel A, que é característico em limonóide do tipo phragmalina, foi evidenciada no HMBC (Figura 96) pela conectividade a $^3J_{HC}$ dos hidrogênios metílicos em δ_H 0,94 (Me-28) com o carbono metilênico em 39,41 (CH_2; via DEPT-135; Figura 106) que foi atribuído ao carbono C-29. Os sinais dos hidrogênios ligados diretamente ao carbono metilênico da posição H-29 (2,60 e 2,50) confirmaram a ponte 4-29-1 posicionada no anel A, pois estes fizeram correlações no HMBC com os carbonos 43,67 (C-4) e 85,71 (C-1), além de

outras conectividades com carbonos do anel A em 37,67(C-5) e 53,20(C-10), como mostra a Figura 97.

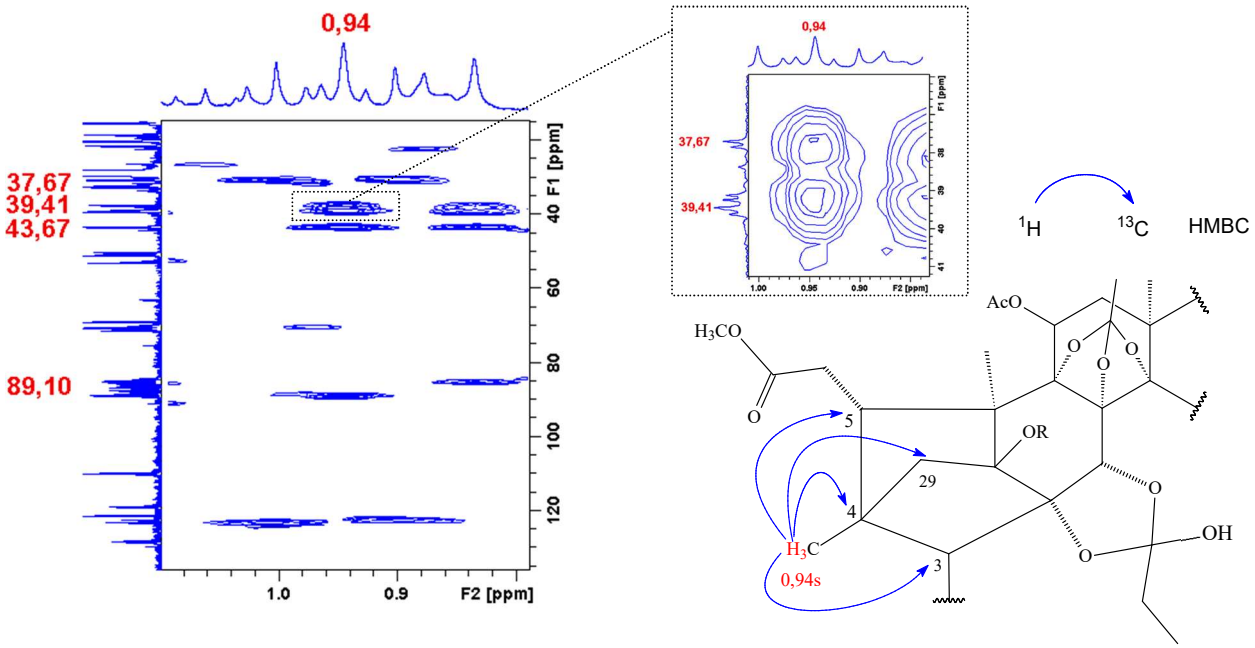


Figura 96. Amplificação do HMBC em torno do sinal em δ_H 0,94 da substância **9**.

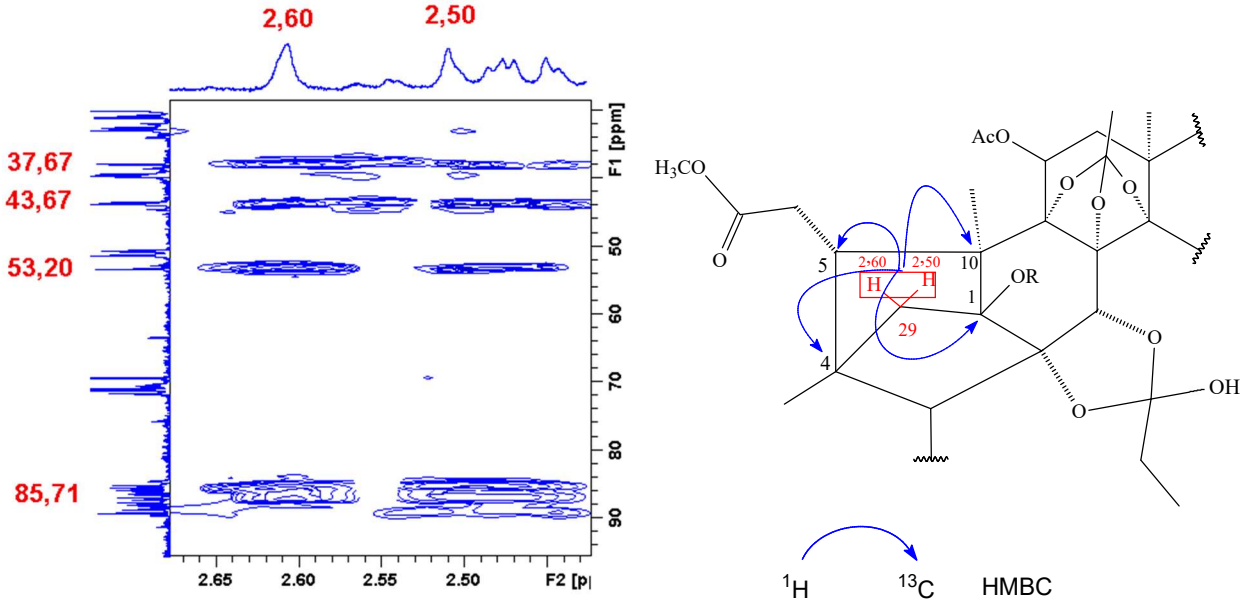


Figura 97. Amplificação do HMBC em torno do sinal em δ_H 2,5- 2,6 de **9**.

O grupo acetato da posição C-1 (AcO-1') e a hidroxila ligada ao anel ortoacetato (HO-1''), foram áreas de difícil interpretação por RMN, mas tiveram suas atribuições feitas com base nos dados obtidos no espectro de APCI/MS de alta resolução (modo negativo de ionização, figura 149), onde foi fornecido um sinal em *m/z* 887,33 correspondente ao pico $[M-H]^-$ e fórmula molecular $C_{44}H_{56}O_{19}$ para o composto (**9**). As análises de RMN, corroboradas com os dados de massas e a comparação com os dados descritos na literatura (CHENG *et al*., 2014; SAAD *et al.,* 2003) permitiram, inicialmente, propor que a substância majoritária da fração SMH-22.5.P1 é uma estrutura com esqueleto similar ao limonóide swietenitina K, com diferenças apenas no acréscimo de um grupo acetato na posição C-11 e na substituição de grupo metoxila por hidroxila em C-1", no composto **9**. Desta forma, a proposta para o limonóide majoritário, foi determinada como 11-acetoxi-1"*α*-hidroxi-swietenitina K (Figura 98).

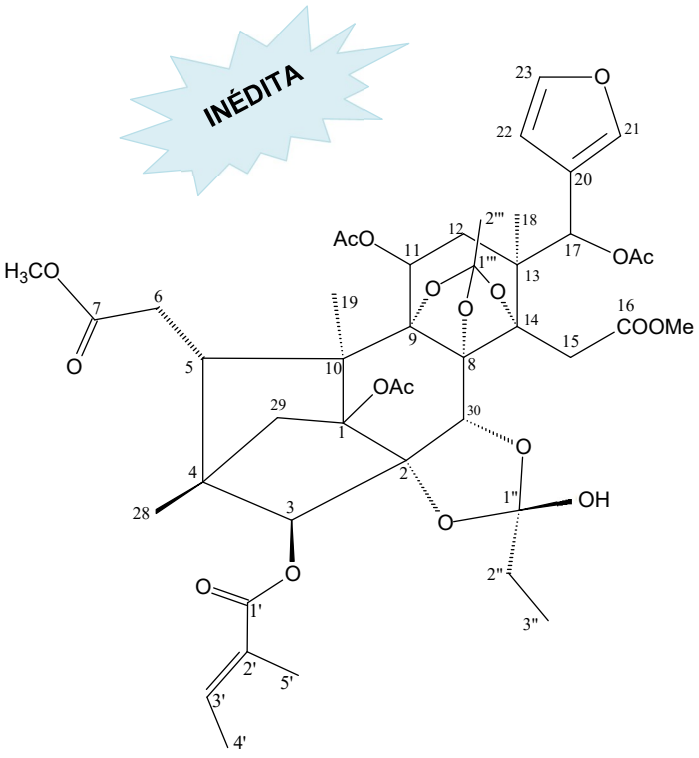


Figura 98. Estrutura do composto 11-acetoxi-1"*α*-hidroxi-swietenitina K (**9**)

A substância minoritária **10,** apresentou dados espectrais de massa (Figura 110) e RMN (^{1}H, ^{13}C, DEPT-135, COSY, HSQC e HMBC) muito semelhante à substância **9** (Figura 98), incluindo todos os grupos substituintes, como mostra a Tabela 34. O que se observa nos espectros unidimensionais em **10**, são algumas variações de deslocamentos químicos para alguns sinais de hidrogênios e carbonos, a exemplo, o sinal em δ_H 5,02, que apresentou duplicidade e acoplou a $^{1}J_{HC}$ com dois carbonos oximetínicos em δc 85,41 (C-3) e 71, 48 (C-30), no espectro de HSQC expandido (Figura 99).

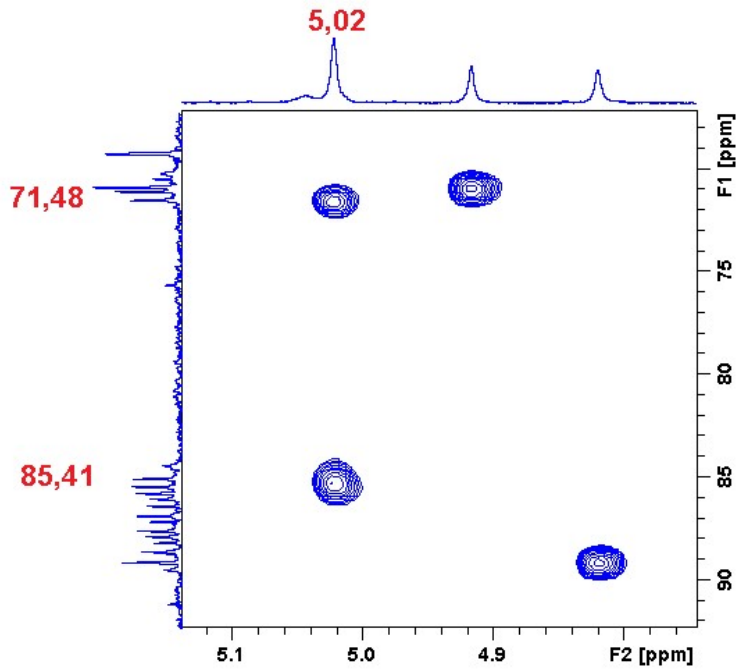


Figura 99, Ampliação do HSQC na região em torno de δ_H 5,02 e δc 68-92 de **10**.

Este mesmo hidrogênio em δ_H 5,02, confirmou a presença de uma unidade tigloiloxi em C-3, assim como a substância **9**, devido à correlação à longa distância com a carbonila em δ_C 166,77 (C-1'). As correlações do hidrogênio em δ_H 7,22 (H-3') com os carbonos em δ_C 11,77 (Me-5'), 13,81 (Me-4') e 166,77 (C-1') apoiam a presença do grupo tigloiloxi na posição C-3, como apresentadas no espectro de

correlação heteronuclear HMBC (Figura 101, Tabela 34). Outras correlações importantes no HMBC (Figura 100), do hidrogênio oximetínico em δ_H 5,02 (C-3) do anel A, auxiliou no posicionamento da metila em δ_C 14,21 (Me-28), 43,62 (C-4), 37,82 (C-5), 86,00 (C-2) e em 39,45, referente ao carbono C-29 da ponte 4,29,1 do anel A.

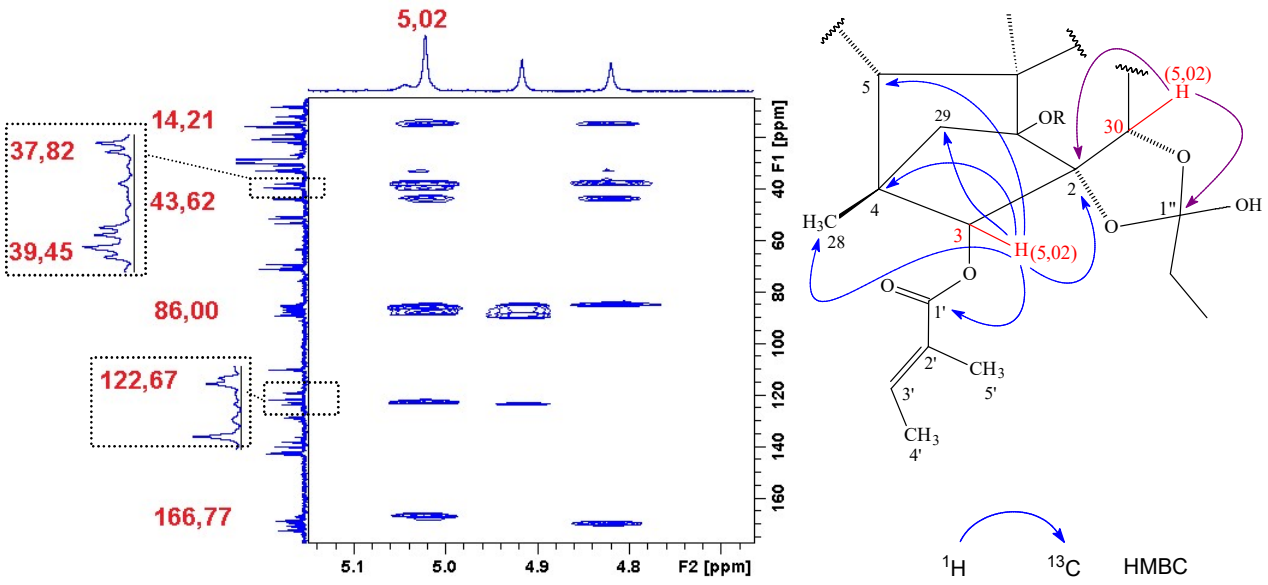


Figura 100. Amplificação do HMBC no sinal em torno de δH 5,02 da substância **10**.

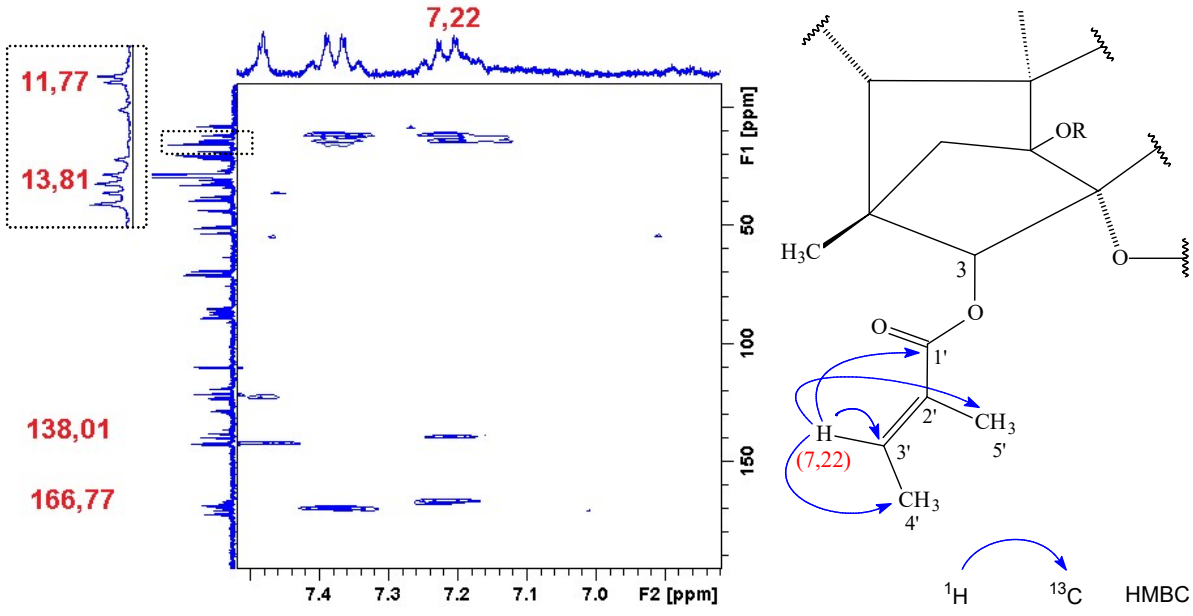


Figura 101. Amplificação do HMBC no sinal em δ_H 7,22 do grupo tigloiloxi de **10**.

Ainda com o sinal de hidrogênio oximetínico em δ_H 5,02 (C-30), foi possível observar no HMBC (Figura 100) correlações que corroboram a ligação do

grupo ortoacetato as posições C-30 e C-2, devido às correlações com o carbono oxigenado em 86,00 (C-2) e um carbono quaternário em 122,67 (C-1”). O sinal de carbono 122,67 (C-1”) mostra correlações com os hidrogênios em δ_H 1,78 (H-2″) e 0,90 (H-3″) indicaram um grupo etila ao carbono quaternário ortoacetato, como demonstra a figura 102. Vale ressaltar, que a hidroxila do grupo ortoacetato, foi atribuída com base dos dados espectrais de APCI/MS de alta resolução (Figura 110. pag. 149).

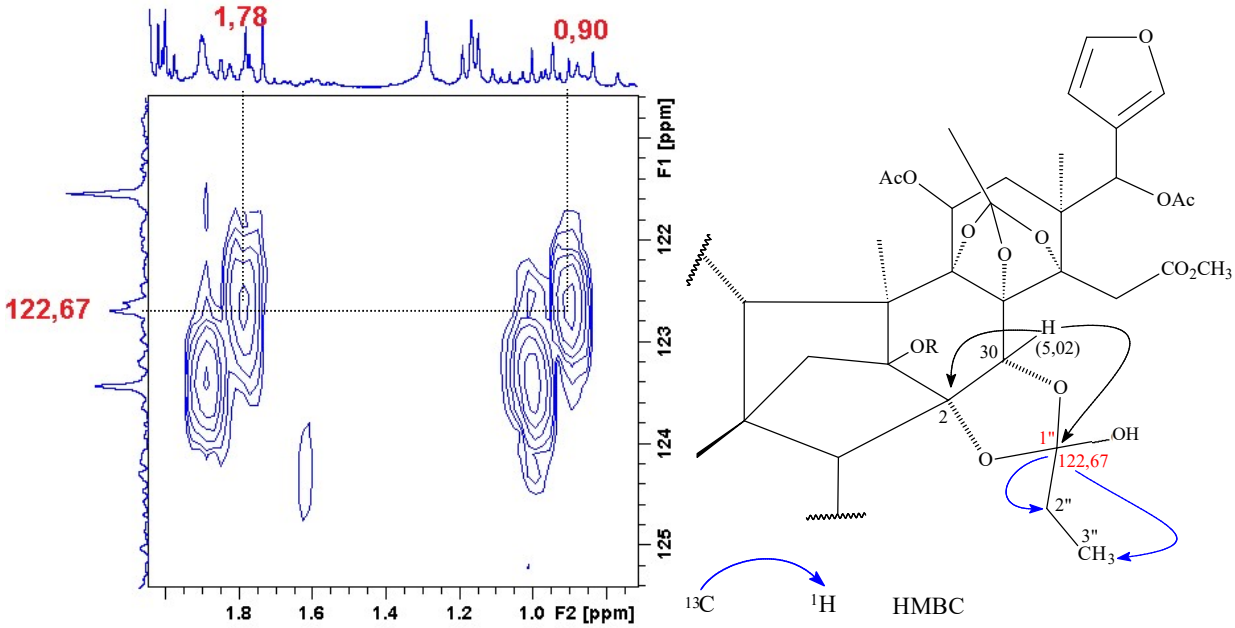


Figura 102. Amplificação do HMBC no sinal em δc 122,67 da substância **10**.

Na Tabela 34 é possível observar a semelhança nos deslocamentos químicos de ^{1}H e ^{13}C, nos espectros tabelados de HMBC (Figura 171) observa-se a mesmas correlações entre os compostos 9 e 10. No entanto, uma comparação mais detalhada dos espectros de ^{1}H-NMR destes isolados mostraram algumas pequenas diferenças, por exemplo, os deslocamentos químicos de H-30 (δ_H 4,91 em **9** e δ_H 5,02 em **10**) que sugerem que as unidades ligadas ao ortoacetato nestes compostos têm configurações diferentes. Essas diferenças nos deslocamentos químicos corroboram com dados apresentados por Cheng *et al.* (2014), que ao realizar experimentos de

ROESY com os compostos swielimonoide C (3) e swielimonoide D (4), confirmam que o grupo etil ligado em C-1″ é *β*-orientado em 4 e oposto ao de 3. Com base nessas informações, os compostos **9** e **10** foram tabelados e comparados com a literatura (Tabela 33) e constatou-se que a orientação dos substituintes altera os deslocamentos químicos de C-2 e C-30 e os valores mais altos são destinados ao grupo etil *α*-orientado, ou seja, para o composto **10**.

Tabela 33. Dados de RMN da orientação dos substituintes do grupo ortoacetato de **9** e **10**.

Nº	substância (9)		substância (10)		literatura (4)*		literatura (3)*	
	δ_C	$^{(1)}\delta_H$	δ_C	$^{(1)}\delta_H$	δ_C	$^{(2)}\delta_H$	δ_C	$^{(2)}\delta_H$
2	85,02	-	86,00	-	83,1	-	86,0	-
30	70,8	4,91 *s*	71,48	5,02 *s*	68,1	4,82	70,5	5,02 *s*
MeO-1”	-	-	-	-	49,3	3,44	49,6	3,11 *s*
1”	123,4	-	122,6	-	123,6	-	124,5	-
2”	30,8	1,90 *m*	30,58	1,78 *m*	30,1	1,25 *m*	27,8	1,90 *m*
				1,28 *m*		1,53 *m*		
3”	8,0	1,00 *t* (7,35)	7,68	0,90 *t* (7,4)	8,2	0,92	8,1	0,95 *s*

$^{(1)}$300 MHz, acetona-*d*4; $^{(2)}$400 MHz, $CDCl_3$; *CHENG *et al.,* (2014)

A compilação de dados de RMN, massas e a comparação com modelos descritos na literatura (CHENG *et al*., 2014; SAAD *et al.,* 2003) permitiram propor para a substância minoritária **10**, uma estrutura idêntica a caracterizada em **9**, com diferença apenas nas orientações dos grupos ligados ao ortoacetato (C-2 e C-30). Desta forma, a identidade proposta para o limonóide **10**, foi de 11-acetoxi-1”*β*-hidroxi-swietenitina K (Figura 103).

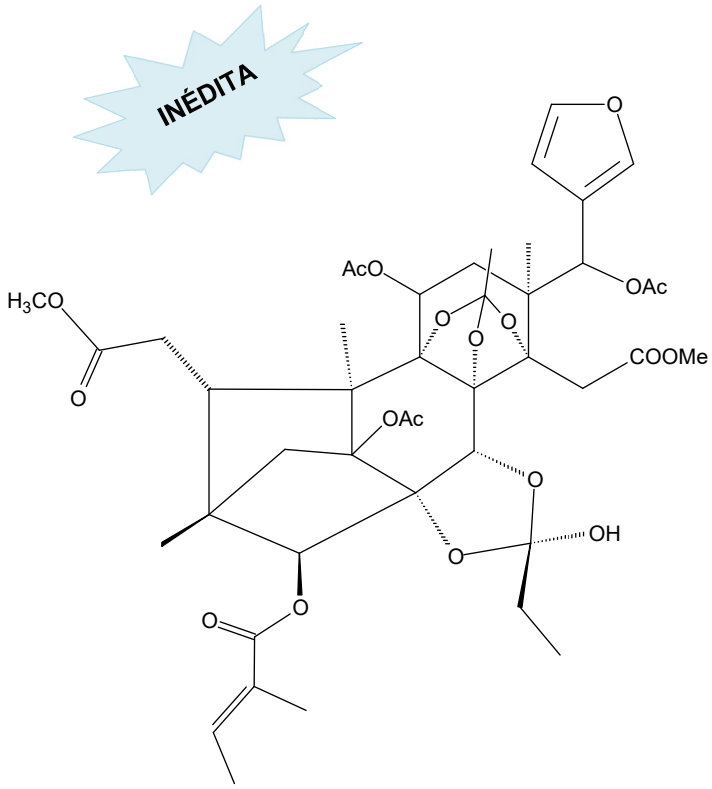


Figura 103. Estrutura do 11-acetoxi-1”*β*-hidroxi-swietenitina K (**10**)

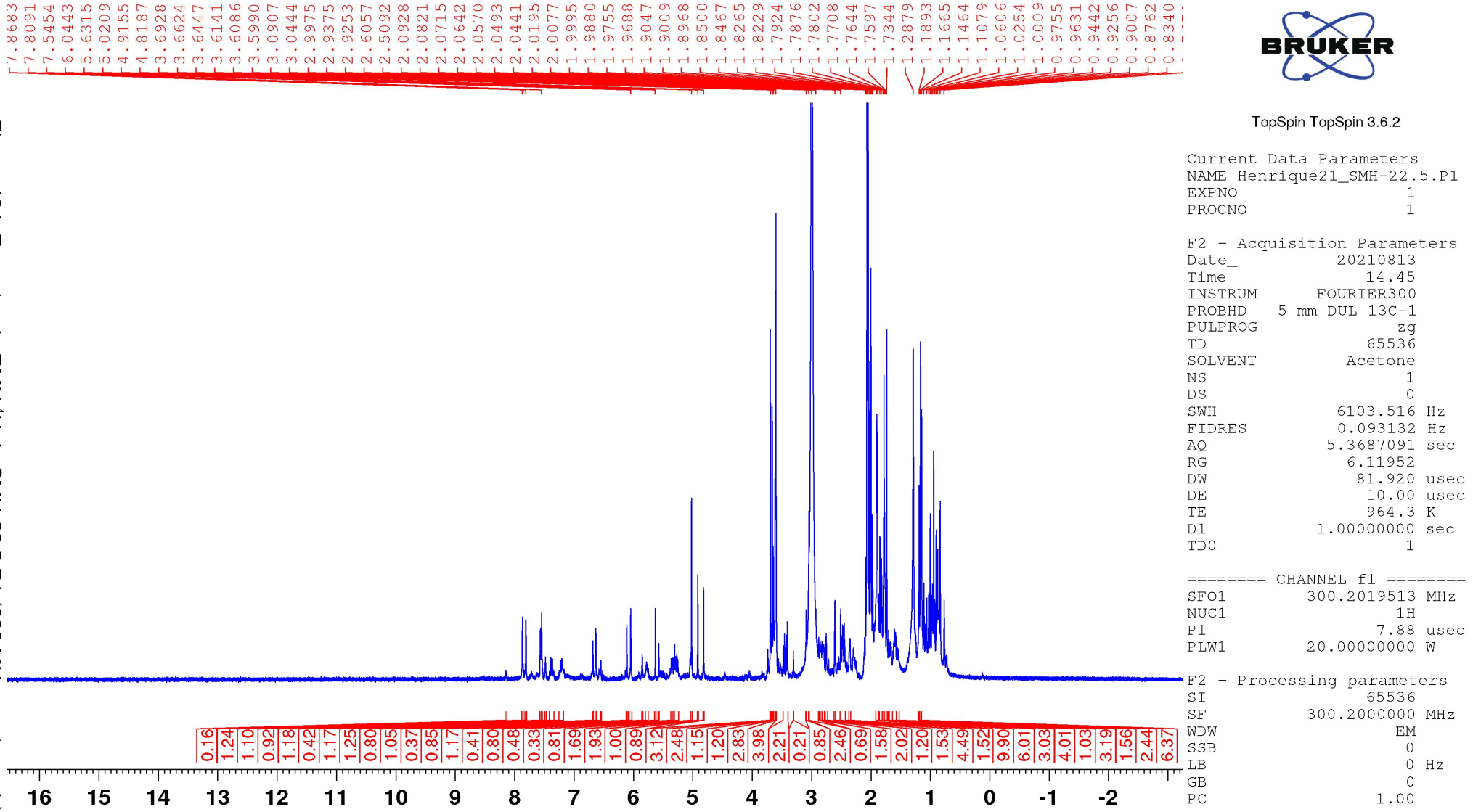


Figura 104. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-22.5.P1 (300 MHz, acetona-d_6)

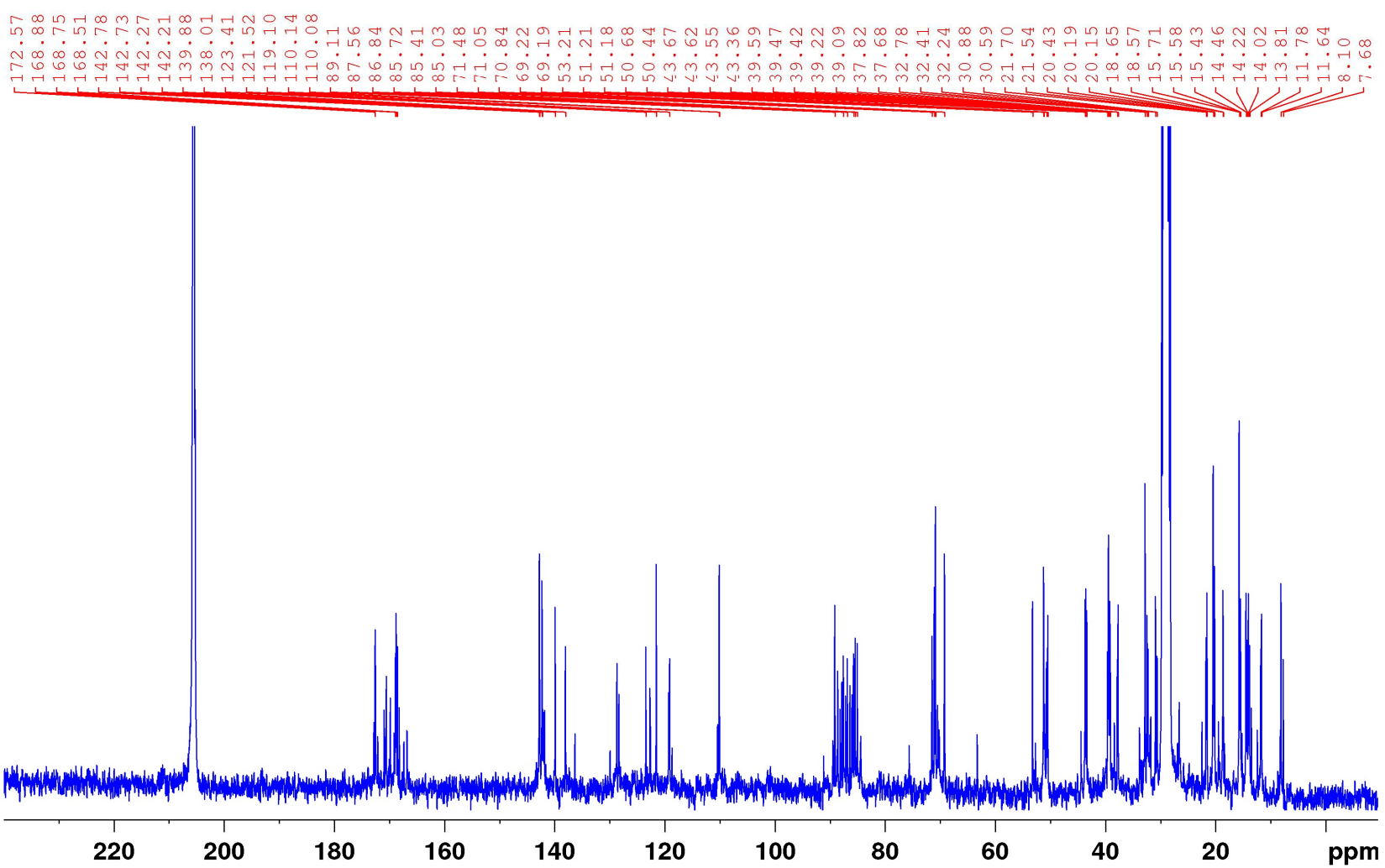
TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME Henrique21_SMH-22.5.P1
EXPNO                   1
PROCNO                  1

F2 - Acquisition Parameters
Date_            20210813
Time                14.45
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG                zg
TD                  65536
SOLVENT           Acetone
NS                      1
DS                      0
SWH              6103.516 Hz
FIDRES           0.093132 Hz
AQ               5.3687091 sec
RG                 6.11952
DW                81.920 usec
DE                10.00 usec
TE                964.3 K
D1             1.00000000 sec
TD0                     1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          300.2019513 MHz
NUC1                    1H
P1                   7.88 usec
PLW1         20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                  65536
SF            300.2000000 MHz
WDW                    EM
SSB                     0
LB                      0 Hz
GB                      0
PC                   1.00
```



BRUKER

TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME  Henrique21_SMH-22.5.P1
EXPNO                   2
PROCNO                  1

F2 - Acquisition Parameters
Date_              20210819
Time                 22.27
INSTRUM         FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG             zgpg30
TD                   32768
SOLVENT            Acetone
NS                   26624
DS                       0
SWH             24414.063 Hz
FIDRES           0.745058 Hz
AQ               0.6710886 sec
RG                 501.187
DW                  20.480 usec
DE                  10.00 usec
TE                  964.3 K
D1              0.30000001 sec
D11             0.03000000 sec
D31             0.00000875 sec
D40             0.02336821 sec
L4                      20
L5                       8
P32                 90.00 usec
TD0                      1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1           75.4928982 MHz
NUC1                  13C
P1                   8.75 usec
PLW1          50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2          300.2012008 MHz
NUC2                  1H
CPDPRG[2           waltz16
PCPD2               90.00 usec
PLW2          20.00000000 W
PLW12          0.17839999 W
PLW13          0.08973100 W

F2 - Processing parameters
SI                   32768
SF            75.4853500 MHz
WDW                     EM
SSB                      0
LB                   3.00 Hz
GB                       0
PC                    1.40
```

Figura 105. Espectro de RMN ^{13}C de SMH-22.5.P1 (75 MHz, acetona-d_6)

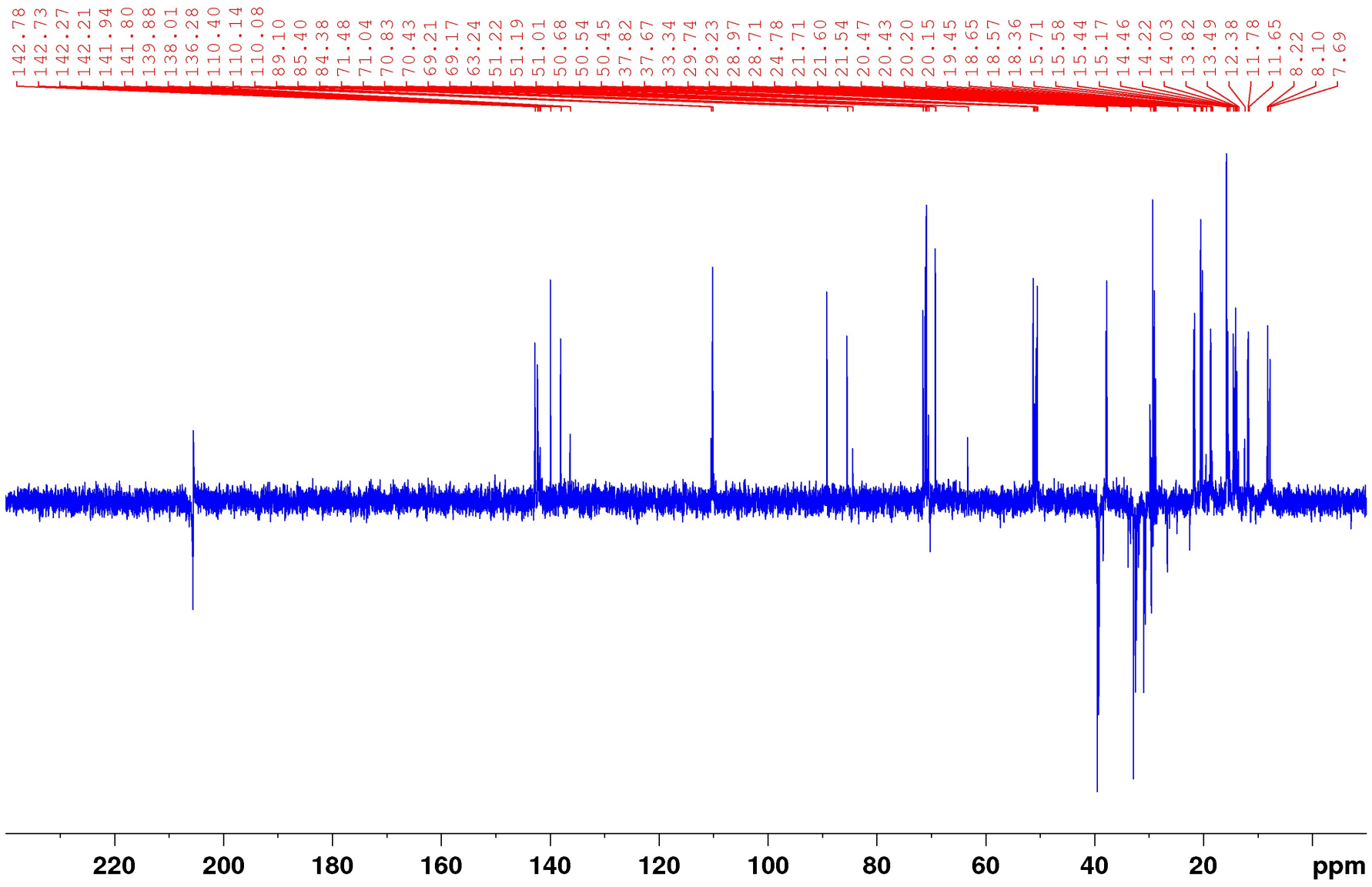


Figura 106. Espectro de DEPT-135 de SMH-22.5.P1 (75 MHz, acetona-d_6)

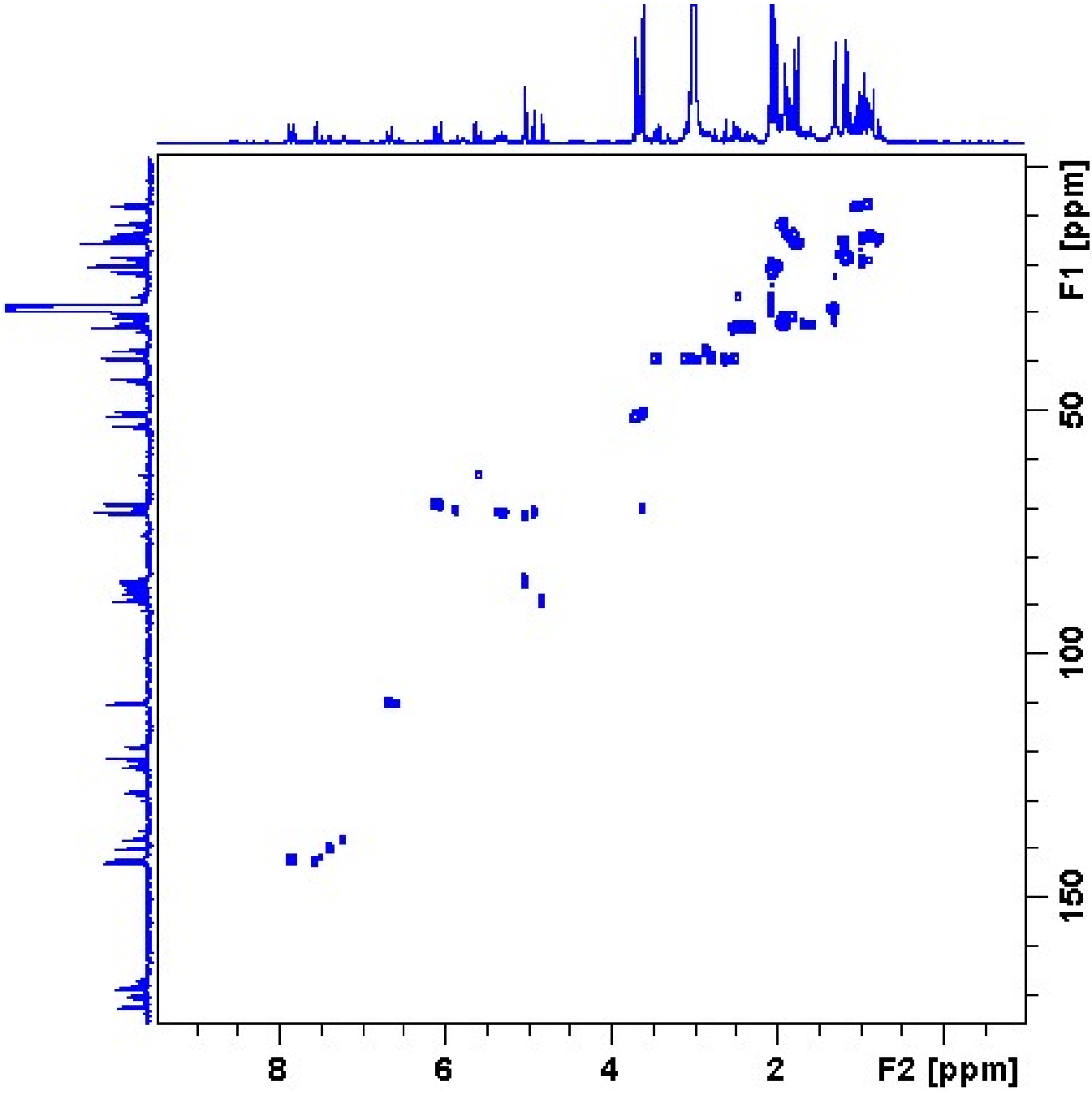


Figura 107. Mapa de HSQC de SMH-22.5.P1 (300/75 MHz, acetona-d_6)

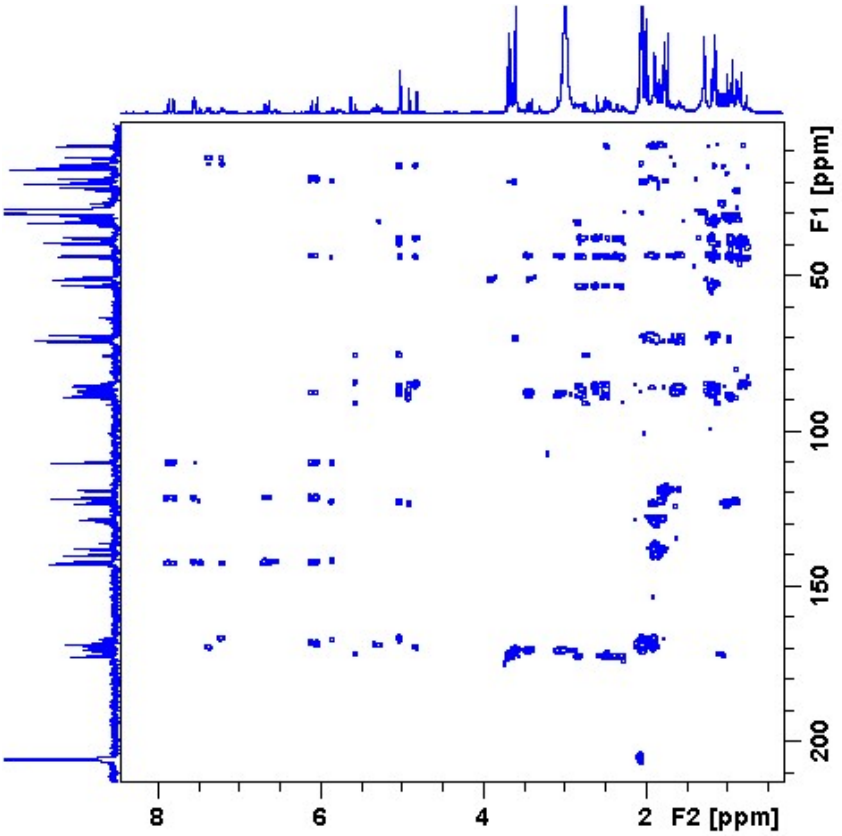


Figura 108. Mapa de HMBC de SMH-22.5.P1 (300/75 MHz, acetona-d_6)

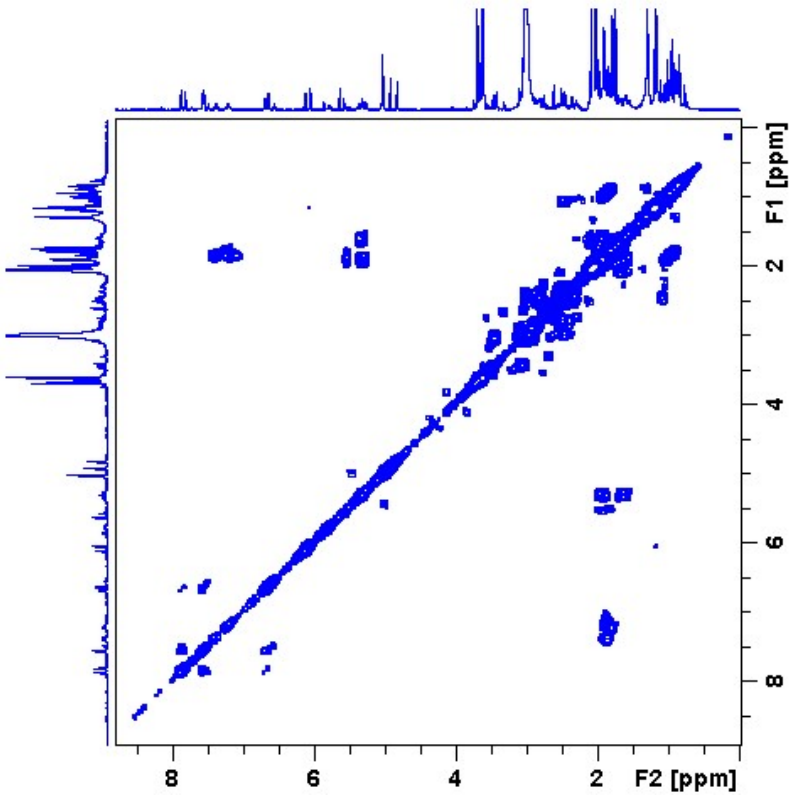


Figura 109. Espectro de COSY de SMH-22.5.P1 (300 MHz, acetona-d_6)

Tabela 34. RMN de ^{1}H (300 MHz) e ^{13}C (75 MHz) das substâncias **9** e **10** em acetona-d_6

Nº	substância (9)		substância (10)	
	δ_C	δ_H multi; *J* (Hz)[1]	δ_C	δ_H multi; *J* (Hz)[1]
1	85,71	-	85,75	-
2	85,02	-	86,00	-
3	89,10	4,81 *s*	85,41	5,02 *s*
4	43,67	-	43,62	-
5	37,67	2,85 *m*	37,82	2,85 *m*
6	32,77	2,48 *m* 2,35 d (16,7)	32,77	2,48 *m* 2,35 *d* (16,7)
7	172,5	-	172,5	-
8	88,57	-	88,16	-
9	86,84	-	87,13	-
10	53,20	-	53,20	-
11	71,08	5,36 *dd* (11,5 e 3,2)	71,08	5,36 *dd* (11,5 e 3,2)
12	32,77	1,90 *m* 1,60 *m*	32,42	1,90 1,97
13	43,54	-	43,36	-
14	87,55	-	87,83	-
15	39,21	3,47 d (14,2) 3,04 d (14,1)	39,09	3,45 d (14,1) 3,04d (14,1)
16	170,54	-	170,92	-
17	69,21	6,04 *s*	69,18	6,11 *s*
18	18,64	1,16 *s*	18,56	1,14 *s*
19	15,70	1,16	15,58	1,18 *s*
20	121,51	-	121,51	-
21	142,27	7,80*m*	142,21	7,86 *m*
22	110,08	6,63 *m*	110,13	6,68 *m*
23	142,72	7,54 *t*(1,7)	142,77	7,56 t (1,6)
Me-28	14,46	0,94 *s*	14,21	0,83 s
29	39,41	2,50 *sl* 2,60 *d* (12,0)	39,45	2,50 *sl* 2,60 *d* (12,0)
30	70,83	4,91 *s*	71,48	5,02 *s*
MeO-7’	51,20	3,69 *s*	51,20	3,69 *s*
MeO-16’	51,18	3,66 *s*	50,18	3,66 *s*
HO-1”	-	-	-	-
AcO-1’ CH_3	168,75 21,53	2,06 *s*	168,76 21,70	2,06 *s*
AcO-11’ CH_3	168,87 21,53	- 2.05 *s*	168,92 21,53	- 2.05 *s*
AcO-17’ CH_3	168,51 20,42	- 2,04 *s*	168,52 20,44	- 2,04
1’	169,80	-	166,77	-
2’	128,66	-	128,31	-
3’	139,87	7,38 dq (7,0 e 1,3)	138,01	7,22 dd (7,1 e 1,3)
4’	14,02	1,85 d (7,0)	13,81	1,84 *d* (7,1)
5’	11,64	1,90 *m*	11,77	1,89 *m*
1”	123,41	-	122,67	-
2”	30,87	1,90 *m*	30,58	1,78 *m* 1,28
3”	8,09	1,009 t (7,3)	7,68	0,90 t (7,4)
1’”	119,09	-	119,2	-
2’”	15,70	1,73 *s*	15,48	1,78 *s*

Generic Display Report

Analysis Info Acquisition Date 2/11/2022 3:48:48 PM

Analysis Name	D:\Data\Usuarios\2022\DaPaz\Alunos\Henrique\MS\11-02-2022\ID_APCI-_SMH-22-5-P1.d		
Method	ID_APCI-__50-1600 COM FOCO_TUNEMIX APCI.m	Operator	BDAL@DE
Sample Name	ID_APCI-_SMH-22-5-P1	Instrument	micrOTOF-Q
Comment	Diluição = 10 uL (1mg/mL 2-PrOH) + 990 uL 2-PrOH		

Adduct	Meas. m/z	Ion Formula	m/z	err [ppm]
M-H	887.3301	C44H55O19	887.3343	4.8

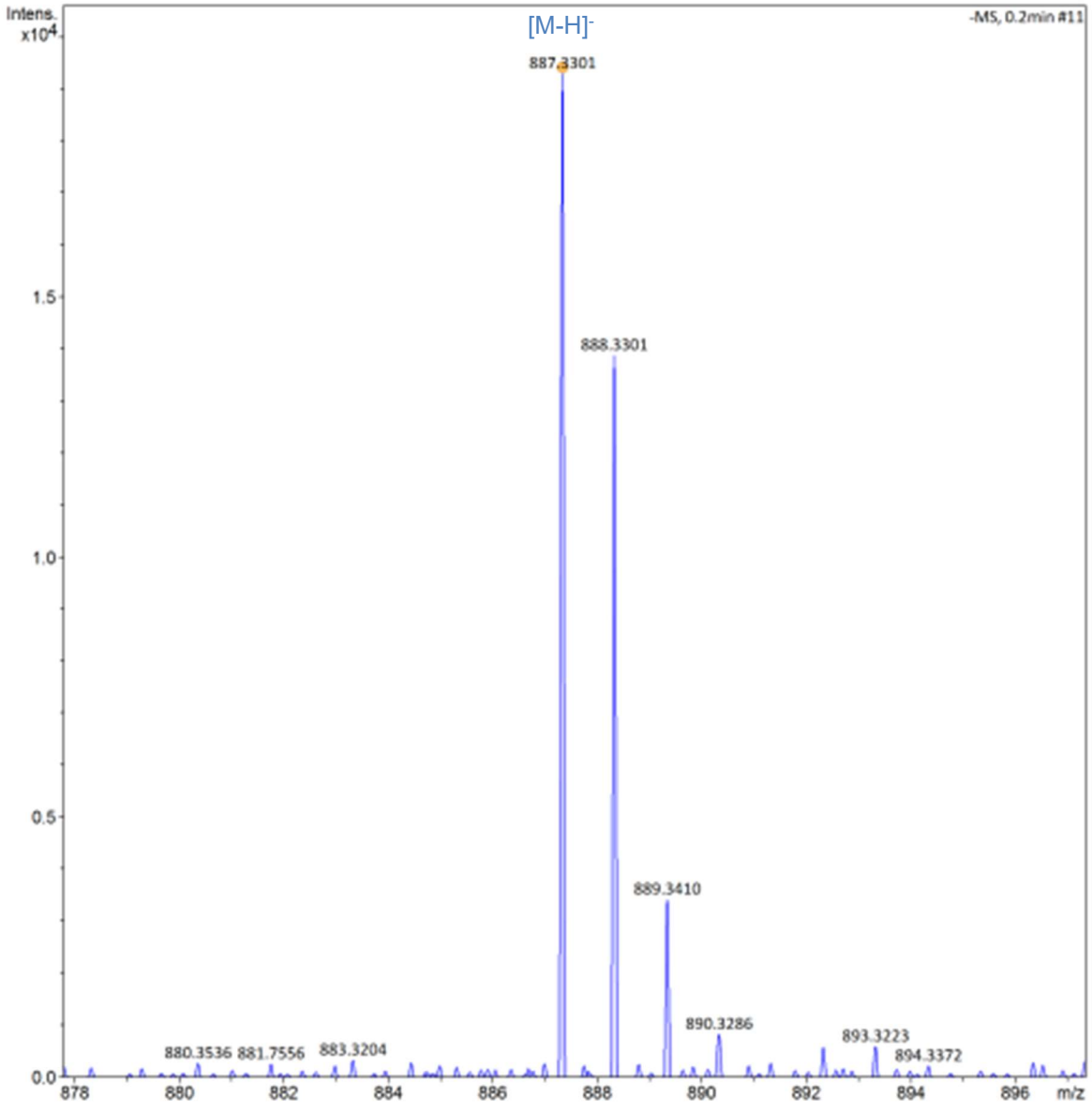


Figura 110. Espectro de massas de **9** e **10** (APCI/MS, modo negativo)

6.4.2 Elucidação estrutural da substância 15 (SMM-3.1.14.3P)

A substância **15**, (SMM-3.1.14.3P; 15,2 mg) apresentou-se como cristais brancos e seus constituintes foram isolados seguindo os procedimentos cromatográficos descrito no Esquema 15. Em placa de CCD de fase normal, mostrou mancha amarela, após revelada em vanilina sulfúrica, com Rf=0,34 ao utilizar DCM:MeOH:acetona (97:1,5:1,5) como sistema de eluição (Figura 111).

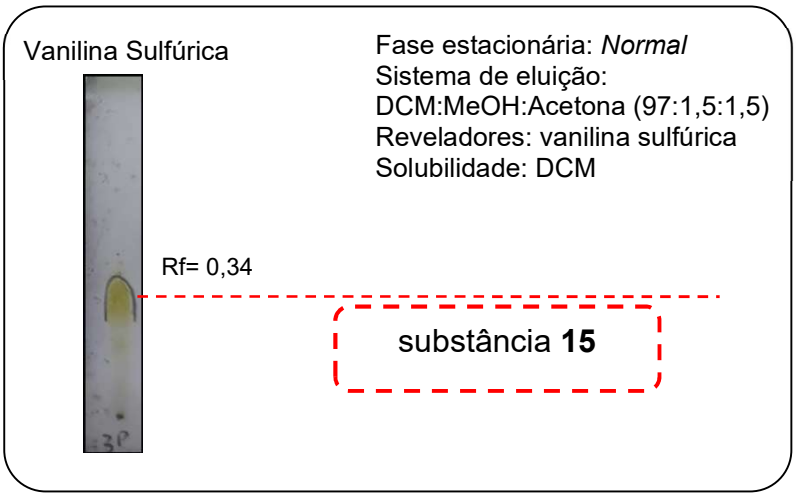


Figura 111. CCD da fração com SMM-3.1.14.3P.

A comparação dos dados de RMN (Tabela 35) mostrou que a estrutura da substância **15** está intimamente relacionada com os limonóides **9** e **10** elucidados anteriormente. A principal diferença espectral foi a presença de um singleto de hidrogênio de grupo metóxi em δ_H 3,16 que acoplou a ^1J com o sinal de carbono em δ_C 49,55, no espectro de HSQC expandido (Figura115). No espectro de HMBC (Figura 112), essa metoxila foi posicionada no carbono de ortoacetato (C-1") devido à correlação do sinal em δ_H 3,16 com o sinal em δ_C124,62 (C-1"). Desta forma, chega-se à conclusão que o grupo hidroxila em C-1" das substâncias **9** e **10** foi substituído por uma por um grupo metoxila na substância (**15**). O espectro de massas (Figura

119, pag. 158), confirma tal substituição, devido ao acréscimo de 14 unidades de massa m/z 901.3503 $[M-H]^-$ em relação ao m/z das substâncias **9** e **10** (Figura 110)

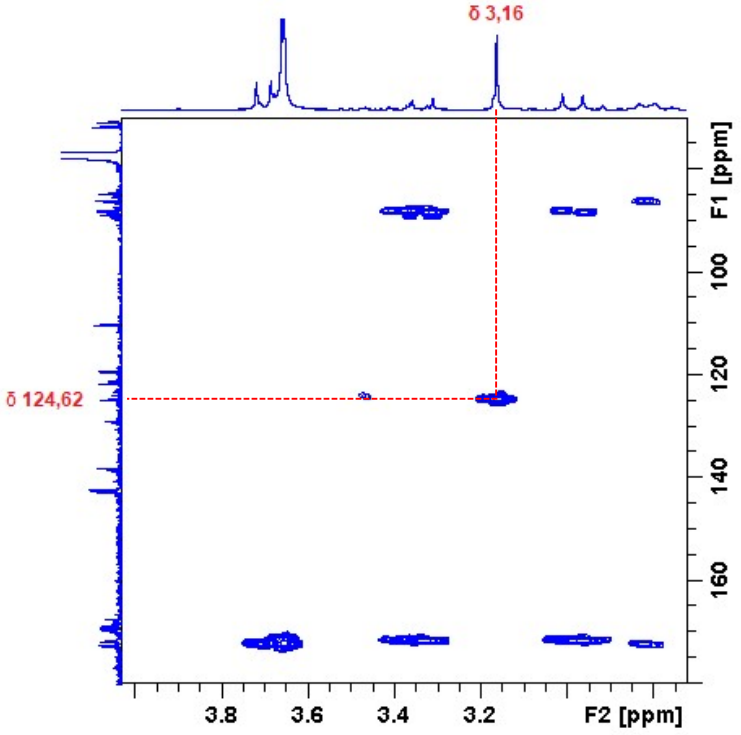


Figura 112. Amplificação do HMBC no sinal metóxi em δ_H 3,16 da substância **15**.

O conjunto de dados tabelados dos espectros de ^{1}H-RMN (Figura 116), ^{13}C-RMN (Figura 117), DEPT-135 (Figura 118), bidimensionais (HSQC e HMBC), massas e com informações de modelos descritos na literatura (CHENG *et al*., 2014; SAAD *et al.,* 2003), permitiram propor o nome da substância **15** como 11-acetoxi-swietenitina K (Figura 113), com estrutura que difere dos limonóides **9** e **10** apenas no grupo metoxila ligado ao carbono ortoacetato (C-1”). Em resumo, os derivados de limonóides do tipo fragmalina são considerados uma classe única de limonóides altamente oxidados e já apresentam alguns poucos relatos na *Swietenia macrophylla*. No presente trabalho, foi possível contribuir com informações químicas e biológicas adicionais de três novos fragmalinas **9**, **10** e **15.** Em outros termos, são os primeiros relatos destes na literatura.

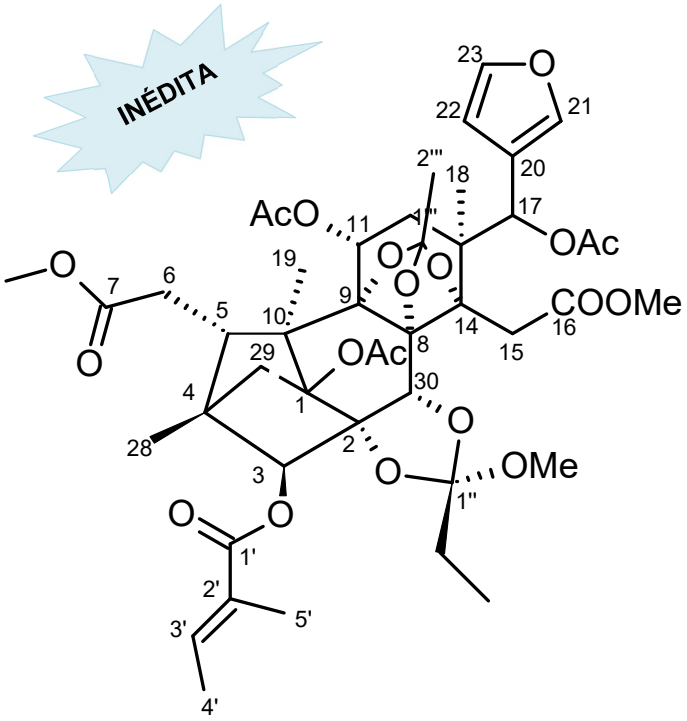


Figura 113. Estrutura da 11-acetoxi-swietenitina K (**15**)

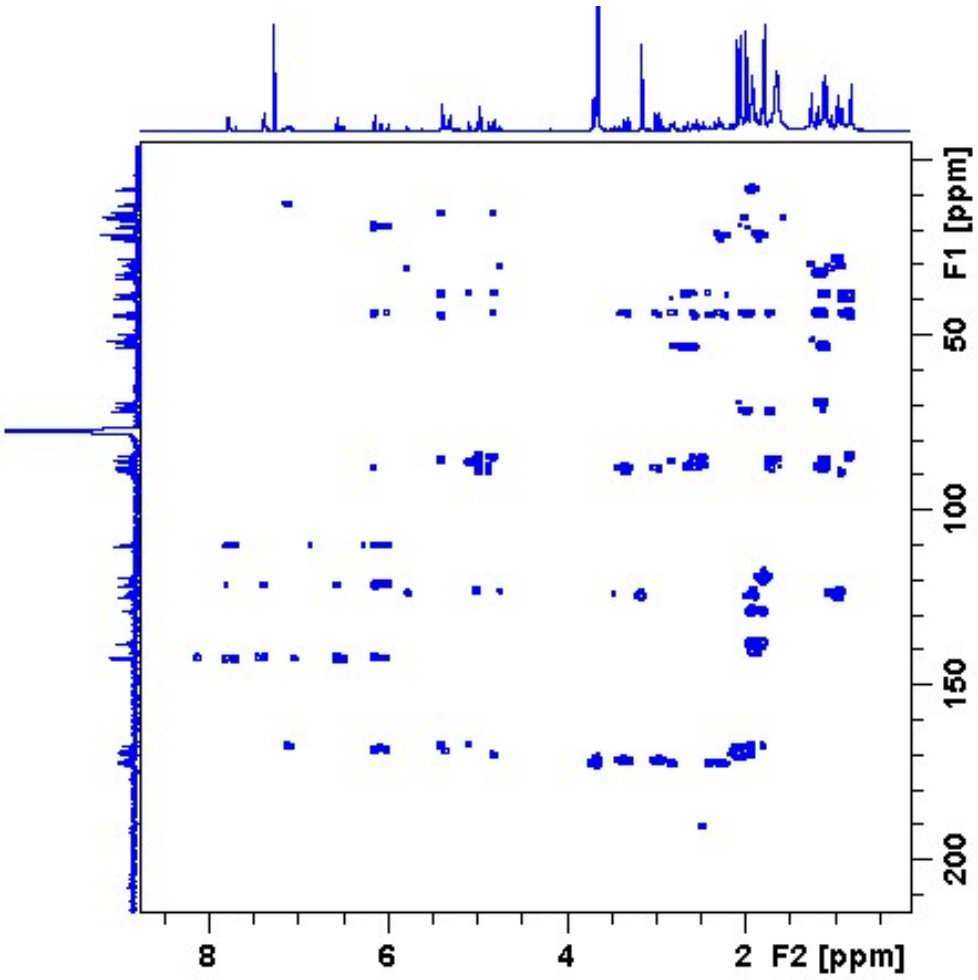


Figura 114. Mapa de contorno de HMBC de SMH-3.1.14.3P (300/75 MHz, $CDCl_3$)

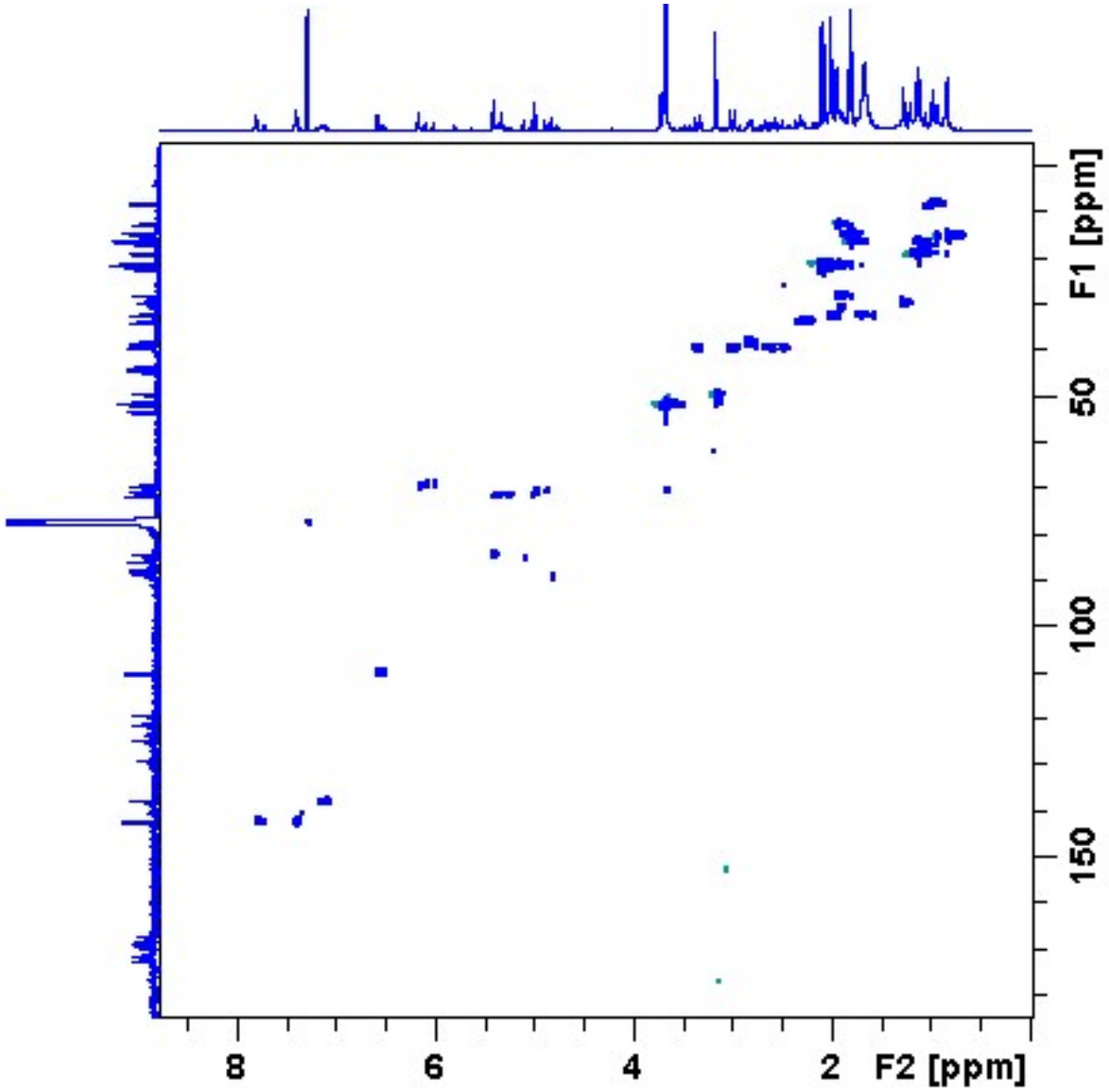


Figura 115. Mapa de contorno de HSQC (300/75 MHz, $CDCl_3$) de **15**.

Tabela 35. Dados espectrais de RMN para as substâncias **15**, **9** e **10**

Posição	SMM-3.1.14.3P*				SMH-22.5.P1**	
	(15)		**(9)**		**(10)**	
	δC	δ H (multi.J/Hz)	δC	δ H (multi.J/Hz)	δC	δ H (multi.J/Hz)
1	85,90	-	85,73	-	86,39	-
2	85,87	-	84,95	-	86,03	-
3	84,47	5,39 *s*	89,28	4,82 s	85,19	5,10 s
4	44,42	-	43,66	-	43,69	-
5	38,30	2,83 *d* (10,5)	37,91	2,83 m	38,15	2,83 m
6	33,85	2,30 *m* 2,34 *dd* (16,8 e 11,1)	33,47	2,31 m 2,27 dd (17,2 e 11,7)	33,47	2,31 m 2,27 dd (17,2 e 11,7)
7	172,51	-	172,38	-	172,33	-
8	88,77	-	88,64	-	88,22	-
9	88,06	-	87,13	-	87,49	-
10	53,44	-	53,17	-	53,17	-
11	71,58	5,38 *dd* (11,4 e 4,5)	71,49	5,25 dd (11,5 e 4,9)	71,30	5,32 dd (11,5 e 4,9)
12	32,36	2,00 *m* 1,68 *m*	32,52	1,98 m 1,60 m	32,34	1,98 m 1,69 m
13	43,75	-	43,63	-	43,82	-
14	87,7	-	87,76	-	88,04	-
15	39,59	3,36 *d* (14,2) 3,01 *d* (14,3)	39,41	3,37 d (14,3) 2,97 d (14,3)	39,14	3,41 dd (14,5) 3,01 dd (14,5)
16	171,56	-	171,48	-	171,43	-
17	69,41	6,14 *s*	68,95	6,01 s	69,06	6,09 s
18	19,08	1,12 *s*	18,86	1,19 s	18,89	1,20 s
19	17,12	1,09 *s*	16,35	1,12 s	16,48	1,15 s
20	121,47	-	121,09	-	121,07	-
21	142,03	7,79 *m*	142,56	7,71 m	142,34	7,78 m
22	110,16	6,56 *m*	109,98	6,51 m	109,98	6,55 m
23	142,37	7,38 *t* (1,6)	142,49	7,38 t (1,6)	142,49	7,40 t (1,6)
Me-28	15,09	0,82 *s*	15,35	0,93 s	14,88	0,85 s
29	39,25	2,65 *d* (11,9) 2,59 *d* (11,9)	38,48	2,48 d (12,1) 2,61 m	39,68	2,79 d (12,1) 2,60 m
30	70,69	4,97 *s*	70,59	4,88 s	71,39	5,01 s
MeO-7'	51,33	3,65 *s*	51,93	3,72 s	51,92	3,69 s
MeO-16'	51,81	3,65 *s*	51,45	3,66 s	51,28	3,66 s
MeO-1"	49,55	3,16 *s*	-	-	-	-
HO-1"	-	-	-	5,78 s	-	4,76 s
AcO-1'	169,61	-	169,61	-	169,46	-
CH3	22,32	2,06 *s*	22,28	2,08 s	22,52	2,11 s
AcO-11'	169,04	-	168,90	-	168,90	-
CH3	21,38	1,99 *s*	20,97	2,01 s	20,97	1,99 s
AcO-17'	168,5	-	168,55	-	168,06	-
CH3	21,11	2,09 *s*	21,37	2,06 s	21,35	2,05 s
1'	167,37	-	170,11	-	167,22	-
2'	128,87	-	18,88	-	128,53	-
3'	137,92	7,12 *dq* (6,9 e 1,3)	138,48	7,36 dd (7,0 e 1,4)	138,48	7,19 dq (7,0 e 1,4)
4'	14,64	1,79 *sl*	14,62	1,81 d (7,5)	14,88	1,88 s
5'	12,64	1,93 s	12,22	1,93 s	12,42	1,94 s
1"	124,62	-	123,78	-	123,01	-
2"	28,16	1,92 *m*	31,07	1,94 m	30,44	1,92 m
3"	8,19	0,95 *t* (7,4)	8,55	1,05 t (7,4)	8,07	0,95 s
1'"	119,14	-	119,21	-	119,31	-
2'"	16,35	1,79 *s*	19,24	1,82 s	19,24	1,79 s

* (300 MHz - ^{1}H e 75 MHz - ^{13}C; $CDCl_3$), ** (300 MHz - ^{1}H e 75 MHz - ^{13}C; acetona-d_6)

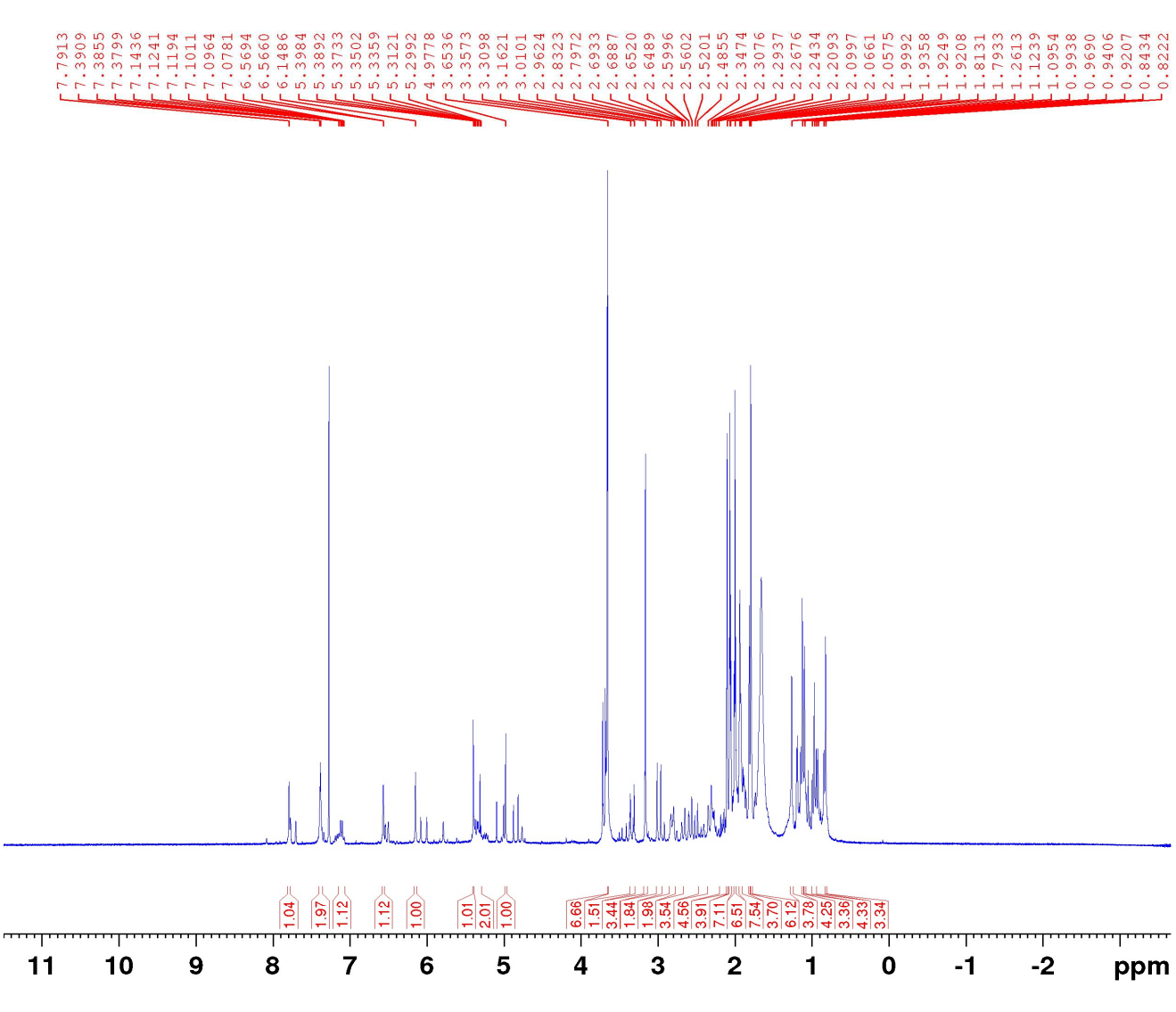


Figura 116. Espectro de RMN ^{1}H de SMH-3.1.14.3P (300 MHz, $CDCl_3$)

TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME Henrique22_SMM-3.1.14.3P
EXPNO                      1
PROCNO                     1

F2 - Acquisition Parameters
Date_              20220512
Time                 14.51
INSTRUM         FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG                zg
TD                  65536
SOLVENT             CDCl3
NS                     64
DS                      0
SWH              6103.516 Hz
FIDRES           0.093132 Hz
AQ               5.3687091 sec
RG                  31.623
DW                  81.920 usec
DE                   6.50 usec
TE                 1023.6 K
D1              1.00000000 sec
TD0                     1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1           300.2019513 MHz
NUC1                   1H
P1                   8.50 usec
PLW1           20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                  65536
SF             300.2000000 MHz
WDW                    EM
SSB                     0
LB                      0 Hz
GB                      0
PC                   1.00
```

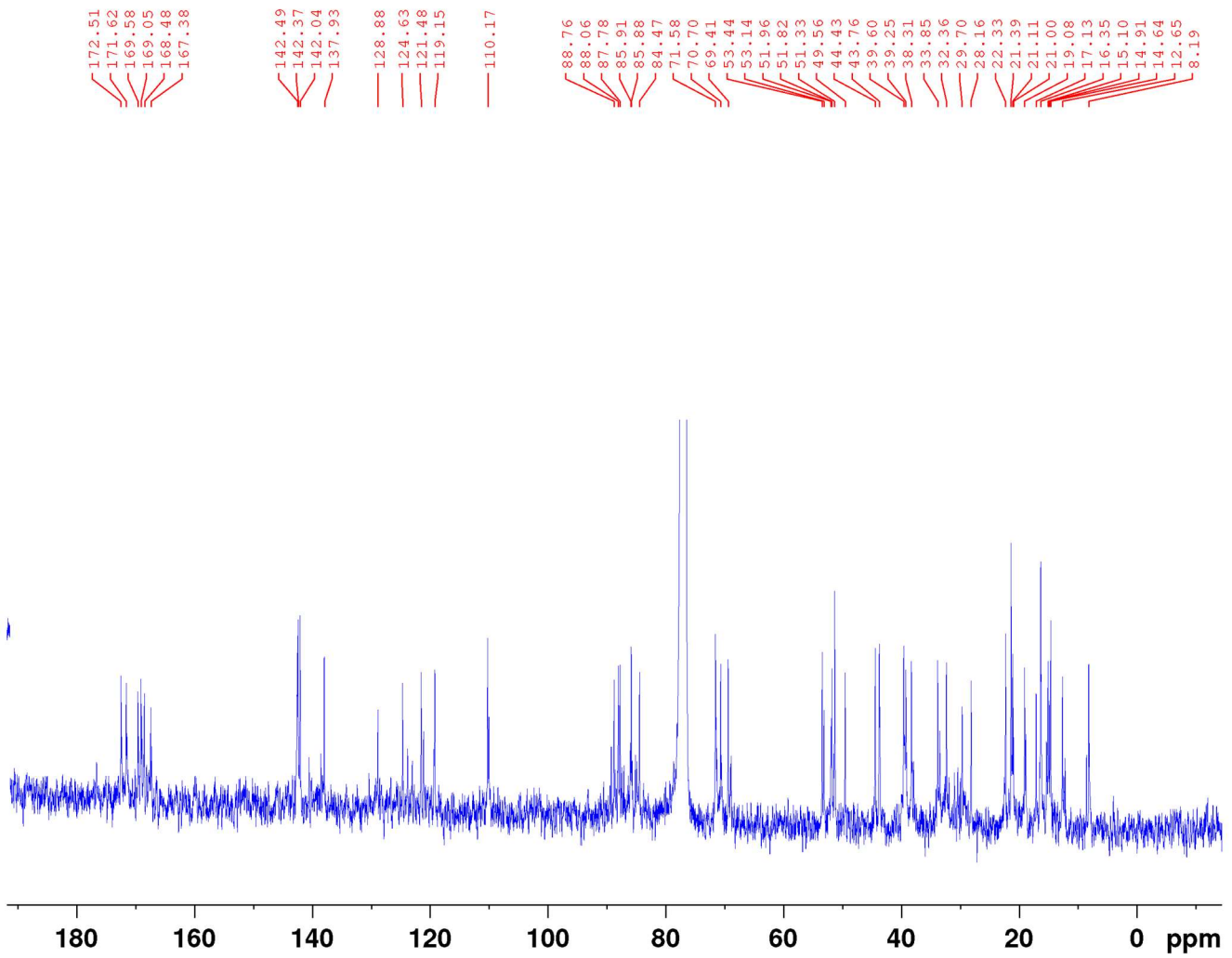


Figura 117. Espectro de RMN ^{13}C de SMH-3.1.14.3P (75 MHz, $CDCl_3$)

TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME Henrique22_SMM-3.1.14.3P
EXPNO                  2
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20220519
Time               12.35
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          zgpg30
TD                32768
SOLVENT           CDCl3
NS               102400
DS                    0
SWH           24414.063 Hz
FIDRES         0.745058 Hz
AQ            0.6710886 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               294.8 K
D1           0.10000000 sec
D11          0.03000000 sec
D31          0.00000875 sec
D40          0.03084430 sec
L4                   20
L5                    2
P32              90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         75.4928982 MHz
NUC1                13C
P1                8.75 usec
PLW1        50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2        300.2012008 MHz
NUC2                1H
CPDPRG[2         waltz16
PCPD2            90.00 usec
PLW2        20.00000000 W
PLW12        0.17839999 W
PLW13        0.08973100 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB                   0
LB                3.00 Hz
GB                    0
PC                1.40
```

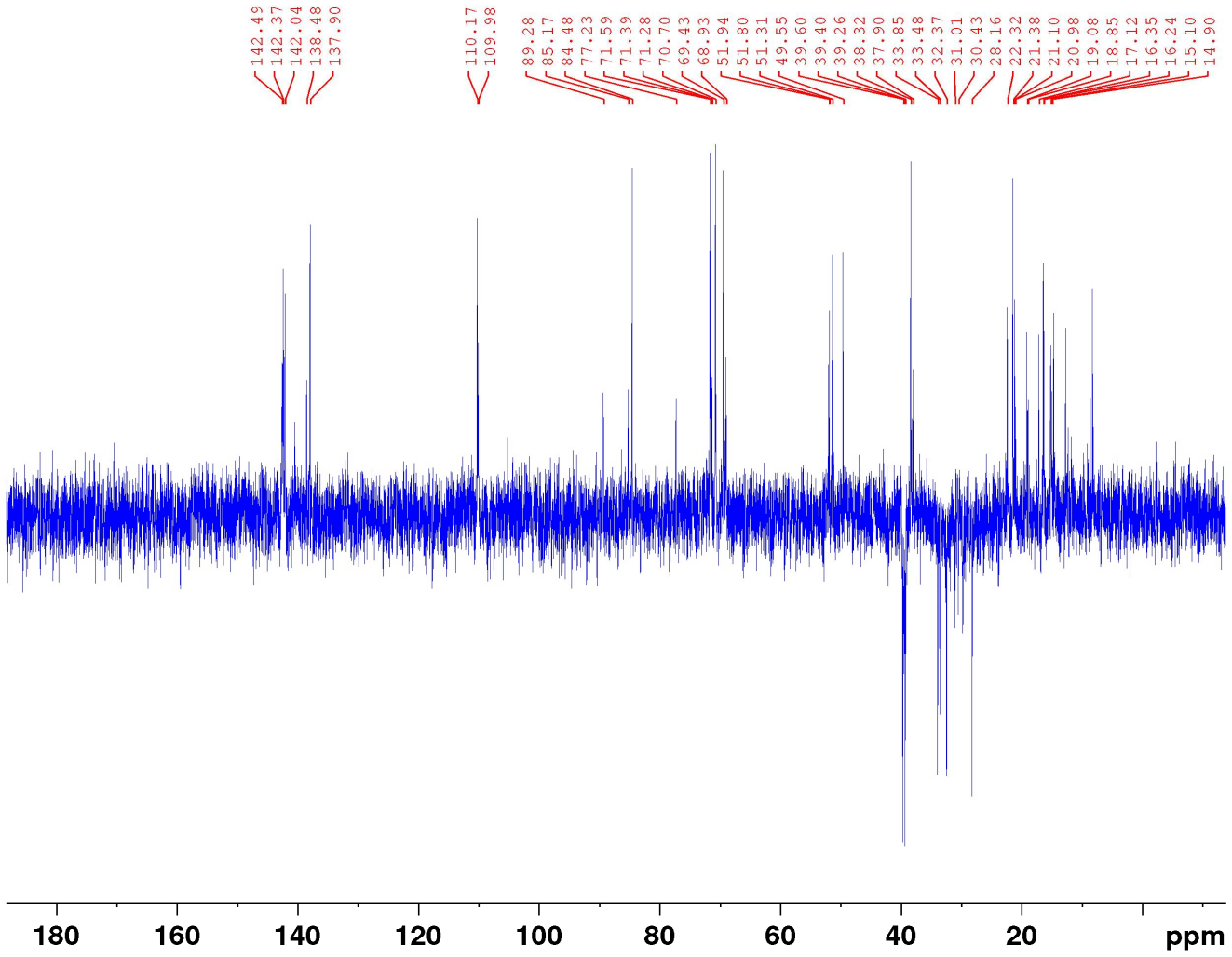


Figura 118. Espectro de DEPT-135 de SMH-3.1.14.3P (75 MHz, $CDCl_3$)

TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME Henrique22_SMM-3.1.14.3P
EXPNO                   4
PROCNO                  1

F2 - Acquisition Parameters
Date_            20220602
Time                2.52
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG           dept135
TD                 65536
SOLVENT            CDCl3
NS                 15360
DS                     0
SWH            24414.063 Hz
FIDRES           0.372529 Hz
AQ             1.3421773 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE               1031.6 K
CNST2         145.0000000
D1              1.00000000 sec
D2              0.00344828 sec
D14             0.00001114 sec
D33             0.00000850 sec
D34             0.00344003 sec
D35             0.00345303 sec
L4                     40
P32                90.00 usec
TD0                    1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1           75.4928978 MHz
NUC1                13C
P1                  8.75 usec
P2                 17.50 usec
PLW1          50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2          300.2012008 MHz
NUC2                1H
CPDPRG[2          waltz16
P3                  8.50 usec
P4                 17.00 usec
PCPD2              90.00 usec
PLW2          20.00000000 W
PLW12          0.17839999 W

F2 - Processing parameters
SI                 32768
SF             75.4853500 MHz
WDW                EM
SSB                    0
LB                  1.00 Hz
GB                     0
PC                  1.40
```

Generic Display Report

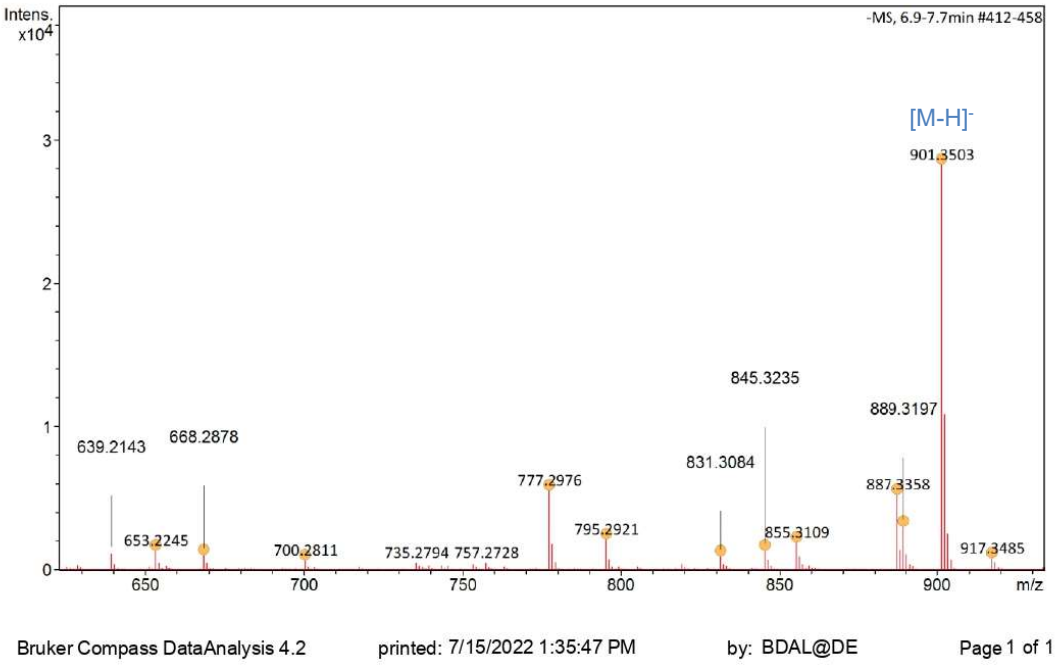
Analysis Info Acquisition Date 7/15/2022 1:06:02 PM

Analysis Name D:\Data\Usuarios\2022\DaPaz\Alunos\Henrique\MS\15-07-2022\ID_APCI-_SMM-3-1-14-3P

Method ID_APCI-__50-1600 COM FOCO_TUNEMIX APCI.m Operator BDAL@DE

Sample Name ID_APCI-_ SMM-3-1-14-3P Instrument micrOTOF-Q

Adduct	Meas. m/z	Ion Formula	m/z	err [ppm]	mSigma	Score
M-H	639.2143	C26H39O18	639.2142	-0.2	49.9	100.00
M-H	639.2143	C44H31O5	639.2177	5.3	58.5	7.24
M-H	639.2143	C51H27	639.2118	-3.9	94.4	4.17
M-H	653.2245	C34H37O13	653.2240	-0.8	15.5	100.00
M-H	653.2245	C52H29	653.2275	4.6	109.9	0.64
M-H	668.2878	C39H42NO9	668.2865	-1.9	14.7	100.00
M-H	700.2811	C32H46NO16	700.2822	1.6	182.1	100.00
M-H	777.2976	C38H49O17	777.2975	-0.1	47.8	100.00
M-H	777.2976	C56H41O4	777.3010	4.4	148.6	0.08
M-H	795.2921	C34H51O21	795.2928	1.0	19.3	100.00
M-H	831.3084	C41H51O18	831.3081	-0.3	66.6	100.00
M-H	831.3084	C59H43O5	831.3116	3.9	103.2	3.16
M-H	845.3235	C42H53O18	845.3237	0.3	32.1	100.00
M-H	845.3235	C60H45O5	845.3272	4.5	74.3	2.17
M-H	855.3109	C43H51O18	855.3081	-3.3	28.3	100.00
M-H	855.3109	C36H55O23	855.3140	3.6	56.7	34.76
M-H	887.3358	C44H55O19	887.3343	-1.7	122.3	100.00
M-H	887.3358	C62H47O6	887.3378	2.3	213.8	0.09
M-H	889.3197	C36H57O25	889.3194	-0.3	36.0	100.00
M-H	889.3197	C54H49O12	889.3230	3.7	113.0	0.70
M-H	889.3197	C61H45O7	889.3171	-2.9	148.5	0.17
M-H	901.3503	C45H57O19	901.3500	-0.4	61.4	100.00
M-H	901.3503	C63H49O6	901.3535	3.5	154.0	0.13
M-H	917.3485	C63H49O7	917.3484	-0.2	114.7	100.00



Bruker Compass DataAnalysis 4.2 printed: 7/15/2022 1:35:47 PM by: BDAL@DE Page 1 of 1

Figura 119. Espectro de massas de **15** (APCI/MS, modo negativo)

6.5 Determinação estrutural de Derivados do benzaldeido em *S. macrophylla*

6.5.1 Identificação da substância 16 (SMM-4.5.7.3)

A fração SMM-4.5.7.3 (2,3 mg) apresentou-se como sólido cristalino salmão e seus constituintes foram isolados seguindo os procedimentos cromatográficos descrito no Esquema 18. Em placa de CCD, mostrou intensa absorção no UV em 254 nm, depois de revelada em vanilina sulfúrica exibiu mancha rosa, com Rf=0,72 ao utilizar DCM:MeOH (97:3) como sistema de eluição (Figura 120).

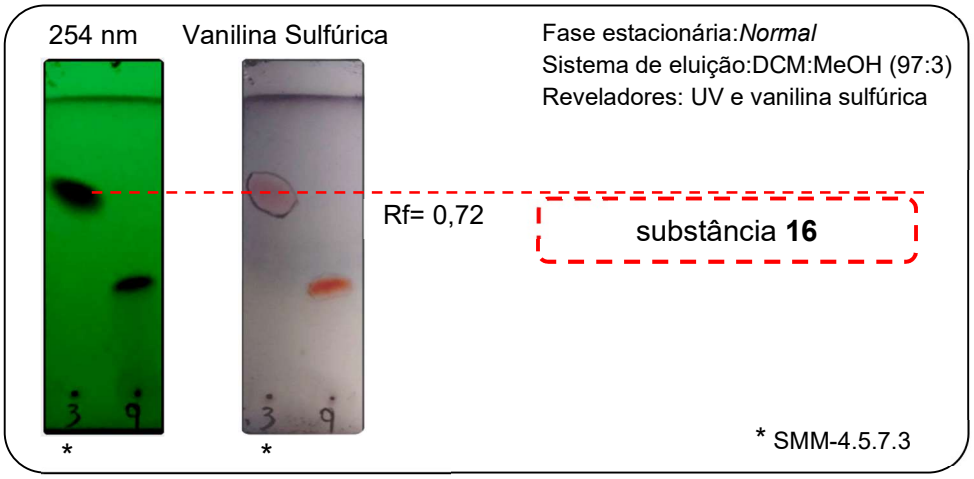


Figura 120. CCD da fração com SMM-4.5.7.3.

Para a determinação estrutural, essa amostra foi submetida a experimentos de RMN 1D e 2D, massas e por comparação com dados existentes na literatura. No espectro de ^{1}H-RMN (Figura 125, Tabela 36) foram presenciados três sinais de hidrogênios característicos de anel benzeno com padrão de substituição do tipo 1,2,4-trissubstituído em δ_H 7,61 *d* (*J*=8,5 Hz*, orto*), 6,56 *dd* (*J*= 8,5 e 2,2*Hz, orto e meta*) e 6,36 *d* (*J*= 2,2 Hz, meta), correspondentes aos hidrogênios H-6, H-5 e H-3, respectivamente. Foi também observado no RMN de ^{1}H um singleto típico de grupo

aldeído em δ_H 9,76 que via HSQC acoplou com a carbonila em 194,8 (C-1'), sustentando a presença de um grupo aldeído. Todas as atribuições heteronucleares ^1J foram inferidas através do mapa de correlações HSQC (Tabela 36; Figura 127).

No espectro ^{13}C-RMN (Tabela 36; Figura 126) o sistema aromático caracterizou-se pelos sinais de carbonos metínicos em δ_C 102,2 (C-3), 108,7 (C-5) e 136,2 (C-6), já os quaternários caíram em δ_C 114,9 (C-1) e 165, 4 (C-4). Vale ressaltar, que o carbono quaternário em 164,3 (C-2) não aparece no espectro de carbono, porém no mapa HMBC percebe-se correlação à longa distância com os prótons de H-1', H-6 e H-3. Com base nisso foi aplicado à função RVPP na barra de comando do espectro de HMBC para tirar os carbonos presentes, com isso o sinal em 164,3 (C-2) é observado, como representado na Figura 129.

No mapa de correlação a longa distância (HMBC) um dubleto em δ_H 6,36 (H-3) ajudou a posicionar os dois grupos hidroxila substituídos no sistema aromático pela conectividade com os carbonos oxigenados em 164,3 (C-2) e 165, 4 (C-4), outras correlações também foram observadas com os carbonos em δ_C 108,7 (C-5) e 114, 9 (C-1) como demonstra a Figura 121.

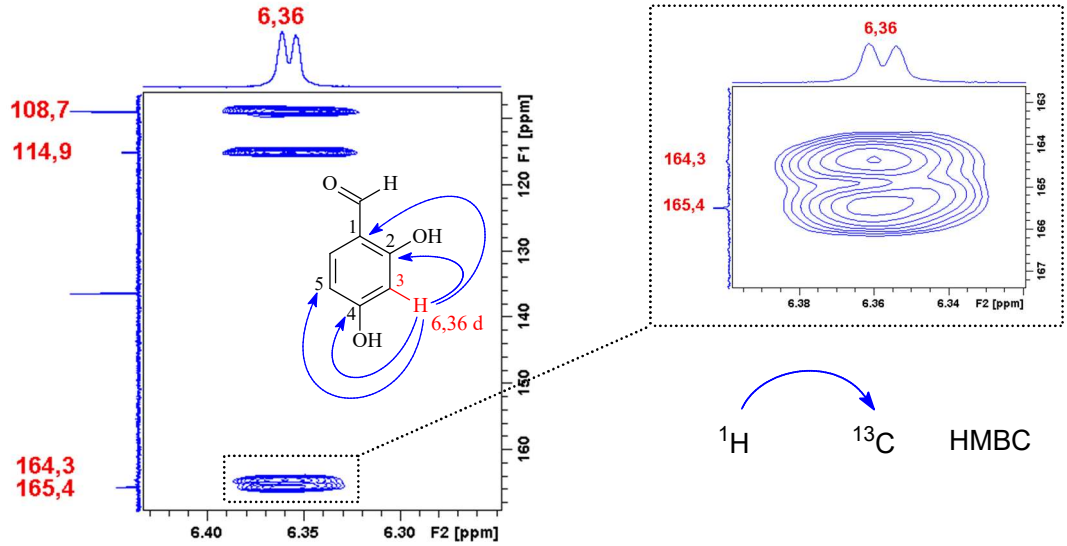


Figura 121. Amplificação do HMBC na região de δ_H 6,36 e δc 105-130 de **16**.

O sinal de hidrogênio do grupo aldeído em δ_H 9,76 (H-1') no HMBC (Figura 122) ajudou a posicionar o grupo em C-1, pela conectividade com o carbono 114,9 (C-1), além das correlações com 136, 2 (C-6) e 164,3 (C-2). O dubleto em 7,61 (H-6), confirma a correlação a $^3J_{HC}$ com a carbonila em 194,8 (C-1') e com os carbonos oxigenados (C-2 e C-4), como mostra na Figura 123.

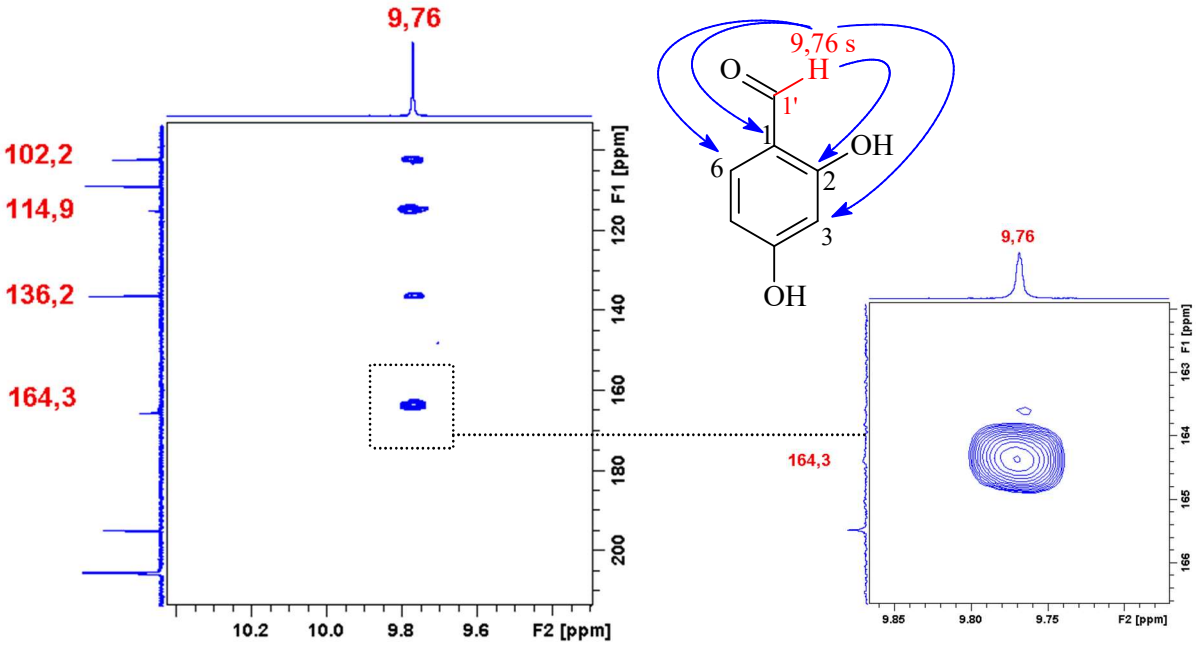


Figura 122. Amplificação do HMBC no sinal em δ_H 9,76 da substância **16**.

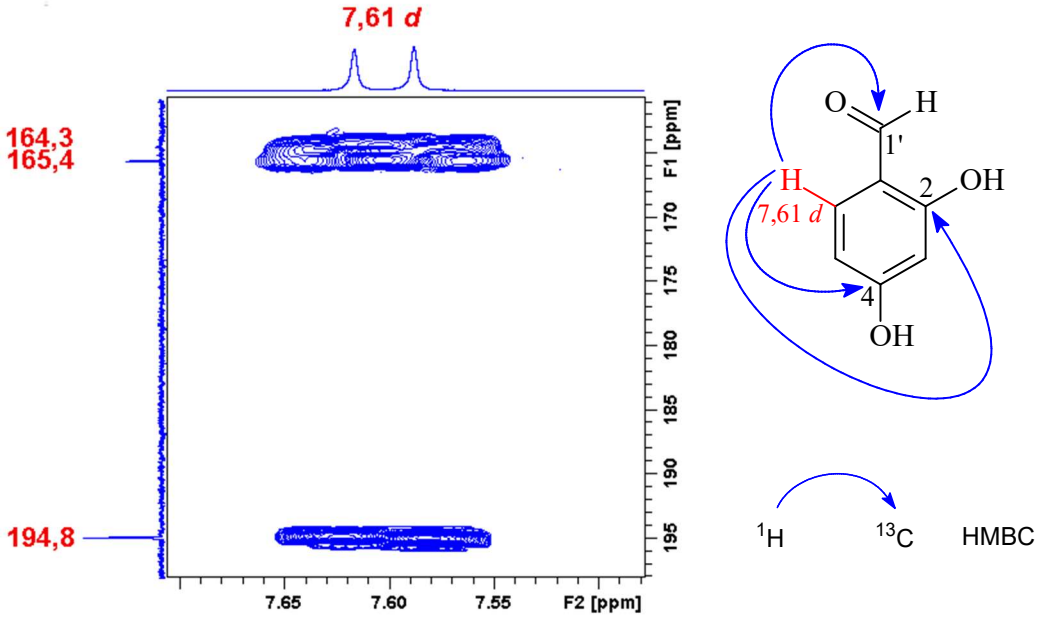


Figura 123. Amplificação do HMBC na região de δ_H 7,61 e δc 160-200 de **16**.

Todos os dados fornecidos e comparados com dados da literatura, sugerem sobre a identidade da substância **16** como *2,*4-dihidroxibenzaldeído (Figura 124). A confirmação estrutural para o composto presente na fração SMM-4.5.7.3 foi corroborado com o espectro de massas de baixa resolução (modo negativo de ionização), onde forneceu um sinal em *m/z* 137,68 correspondente ao pico $[M-H]^-$ (Figura 130, pag. 167). Esse é o primeiro relato de isolamento e identificação dessa substância no gênero *Swietenia*, mas já foi registrada em *Bagassa guianensis* (Moraceae) por Hayasida (2015). As informações relatadas de atividade biológica de *2,*4-dihidroxibenzaldeído são limitadas como antipolimerizante da hemoglobina S (DIEGUEZ *et al*., 2006).

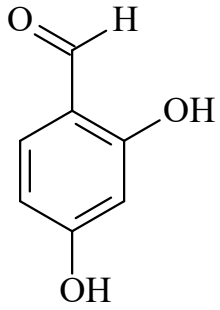


Figura 124. Estrutura do 2,4-dihidroxibenzaldeído (**16**)

Tabela 36. Dados de RMN da substância **16** (2,4-dihidroxibenzaldeido)

Nº	^{1}H-RMN δ_H: multi; *J* (Hz)[1]	^{13}C	HMBC	^{1}H-RMN δ_H: Multi; *J* (Hz)[2]	^{13}C
	2,4-dihidroxibenzaldeído (**16**)			Hayasida (2015)	
1	-	114,9		-	114,5
2	-	164,3		-	164,1
3	6,36 *d* (2.2 *Hz*)	102,2	C-1; C-2; C-4 e C-5	6,27 *ddd* (2,0;0,5 e 0,2*Hz*)	101,8
4	-	165,4		-	165,9
5	6,5 *dd* (8,5 e 2,2 *Hz*)	108,7	C-3 e C-1	6,44 *dd* (8,5 e 2,0*Hz*)	108,5
6	7,6 *d* (8,5 *Hz*)	136,2	C-4 e C-1'	7,50 *d* (8,5 *Hz*)	135,6
CHO	9,7 *s*	194,8	C-2; C-3 e C-6	9,70 *d* (0,5*Hz*)	194,2

[1] (Acetona-d_6, 300 MHz) [2] (CD_3OD, 500 MHz)

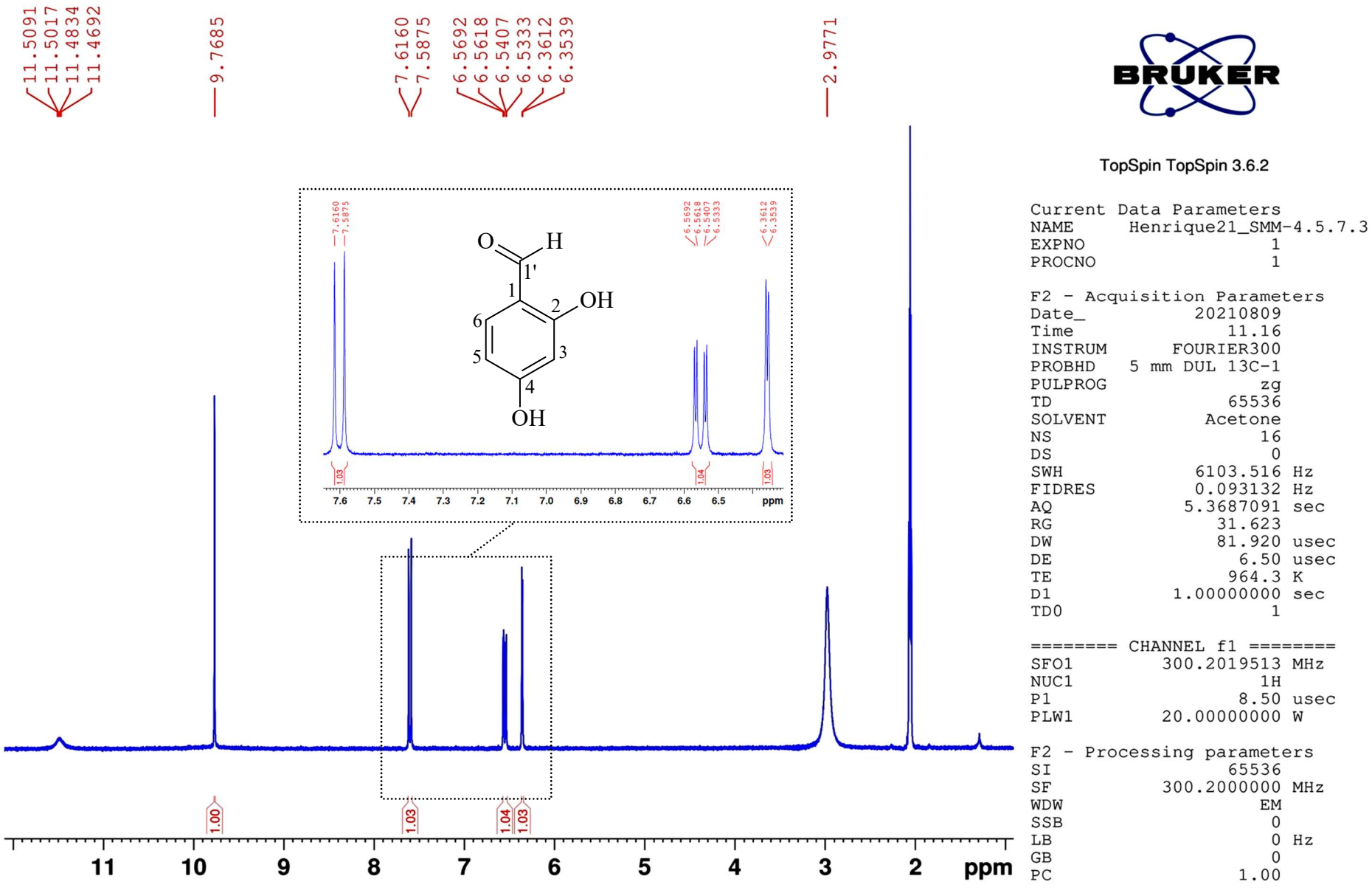


Figura 125. Espectro de RMN ^{1}H de SMM-4.5.7.3 (300 MHz, acetona-d_6)

BRUKER

TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME      Henrique21_SMM-4.5.7.3
EXPNO                  1
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20210809
Time              11.16
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG              zg
TD                65536
SOLVENT         Acetone
NS                   16
DS                    0
SWH            6103.516 Hz
FIDRES          0.093132 Hz
AQ             5.3687091 sec
RG                31.623
DW                81.920 usec
DE                 6.50 usec
TE                964.3 K
D1           1.00000000 sec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         300.2019513 MHz
NUC1                1H
P1                 8.50 usec
PLW1        20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                65536
SF           300.2000000 MHz
WDW                 EM
SSB                  0
LB                   0 Hz
GB                   0
PC                1.00
```

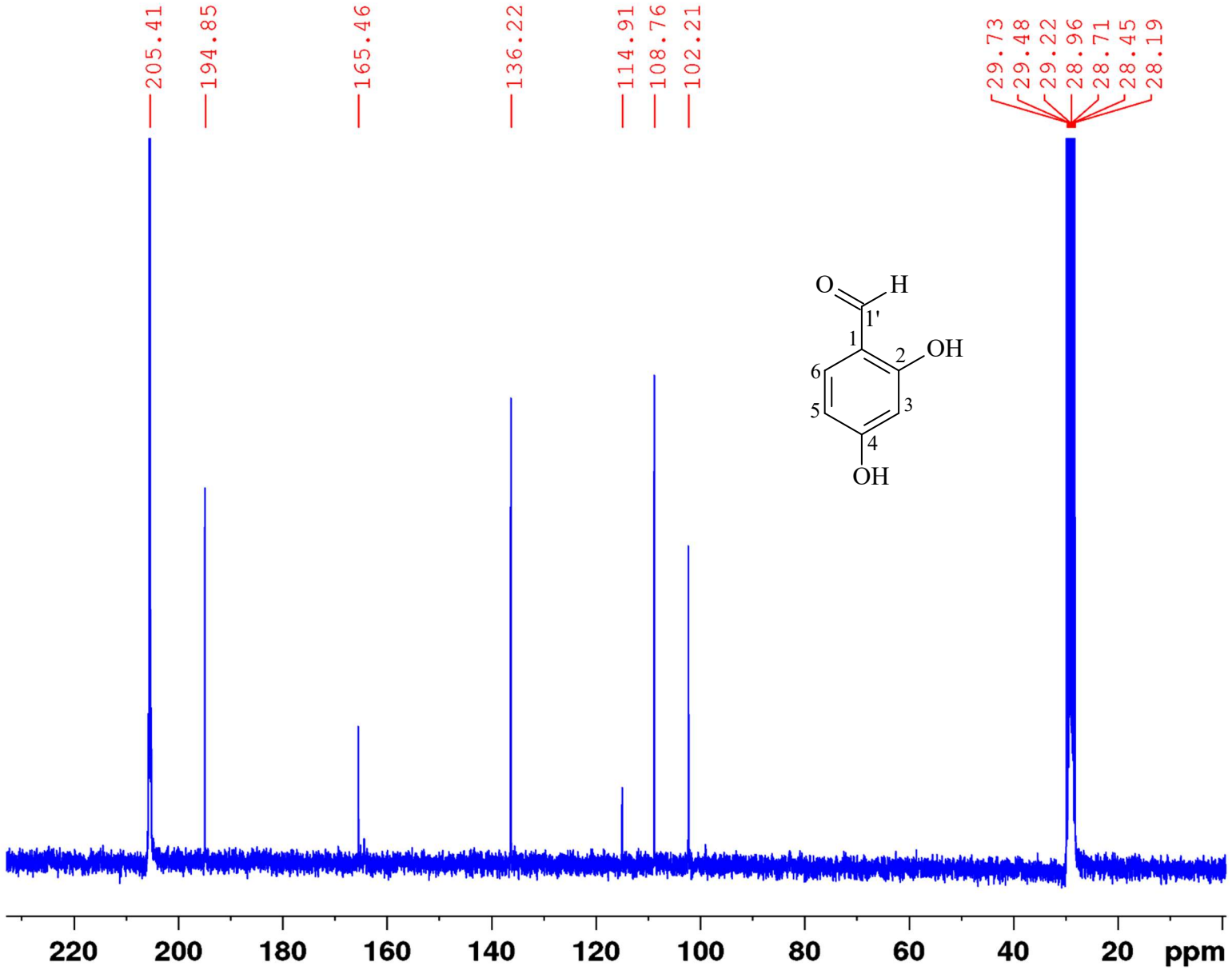


Figura 126. Espectro de RMN ^{13}C de SMM-4.5.7.3 (75 MHz, acetona-d_6)

BRUKER

TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME      Henrique21_SMM-4.5.7.3
EXPNO                 2
PROCNO                1

F2 - Acquisition Parameters
Date_          20210809
Time              11.18
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG          zgpg30
TD                32768
SOLVENT          Acetone
NS                25600
DS                    0
SWH           24414.063 Hz
FIDRES         0.745058 Hz
AQ            0.6710886 sec
RG              501.187
DW               20.480 usec
DE               10.00 usec
TE               964.3 K
D1           0.10000000 sec
D11          0.03000000 sec
D31          0.00000875 sec
D40          0.03084430 sec
L4                   20
L5                    2
P32              90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1         75.4928982 MHz
NUC1                13C
P1                 8.75 usec
PLW1        50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2        300.2012008 MHz
NUC2                1H
CPDPRG[2         waltz16
PCPD2             90.00 usec
PLW2        20.00000000 W
PLW12        0.17839999 W
PLW13        0.08973100 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB                   0
LB                 1.00 Hz
GB                    0
PC                 1.40
```

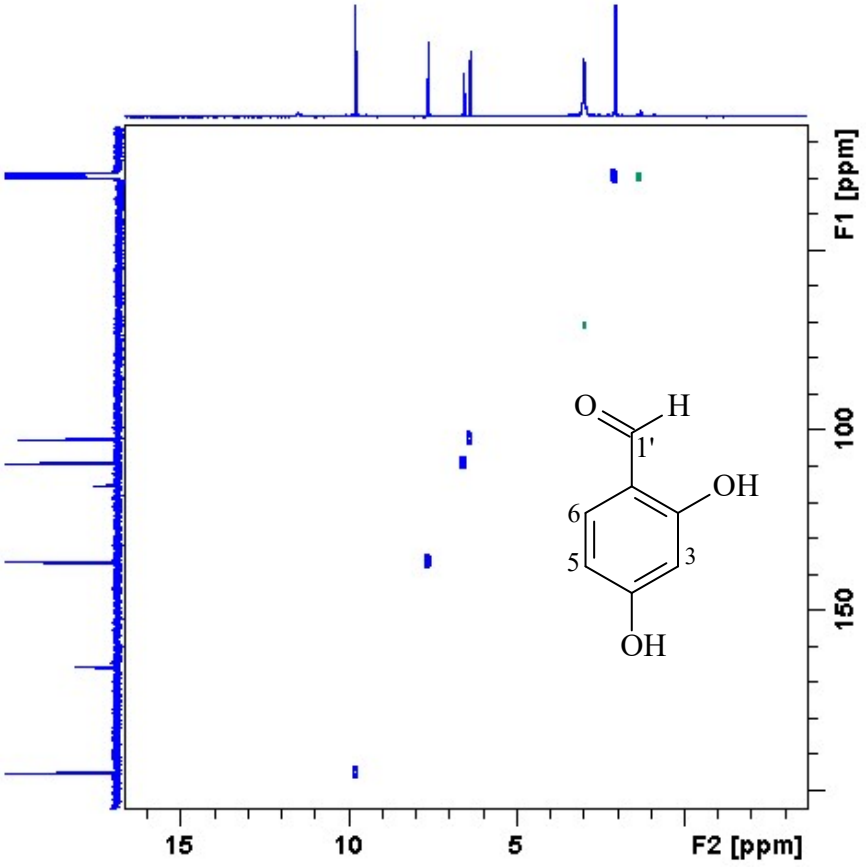


Figura 127. Mapa de HSQC (300/75 MHz, acetona-d_6) de **16**.

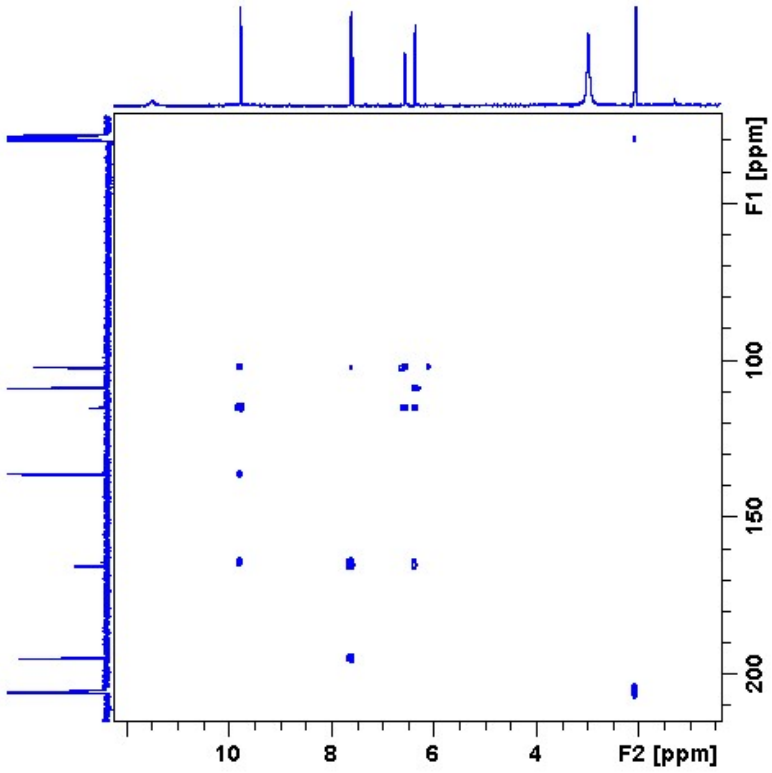


Figura 128. Mapa de HMBC (300/75 MHz, acetona-d_6) de **16**.

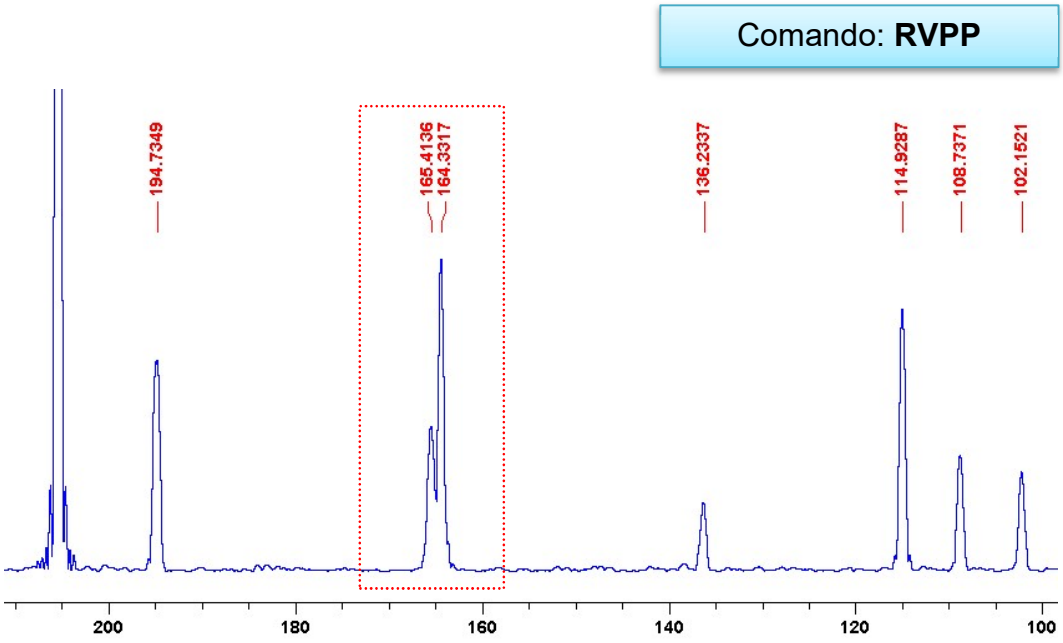


Figura 129. Projeção de RMN de ^{13}C a partir do mapa HMBC de SMM-4.5.7.3 (**16**)

Generic Display Report

Analysis Info Acquisition Date 10/27/2021 9:25:08 AM

Analysis Name D:\Data\2021\DaPaz\Data\Henrique\LC-MS\27-10-2021\ODS_MS_ESI-_SMM_4-5-7-3_1-41_01_2303.d

Method 2303.m

Sample Name ODS_MS_ESI-_SMM_4-5-7-3 Instrument amaZon speed

Comment XR-ODS 2X5
A(H2O0.1%AcFormico)/B(MeOH)
Fluxo:0.4 mL/minSplitde 0,045 mL(MS)/0,255mL(desc); P:2988psi
V.inj: 0.5uL; C =2 mg/mL MeOH); Forno:35C;Inj: MeOH
0-12min: 10-100%
12-14min:100%
14-16min:100-10%
16-18m:10%

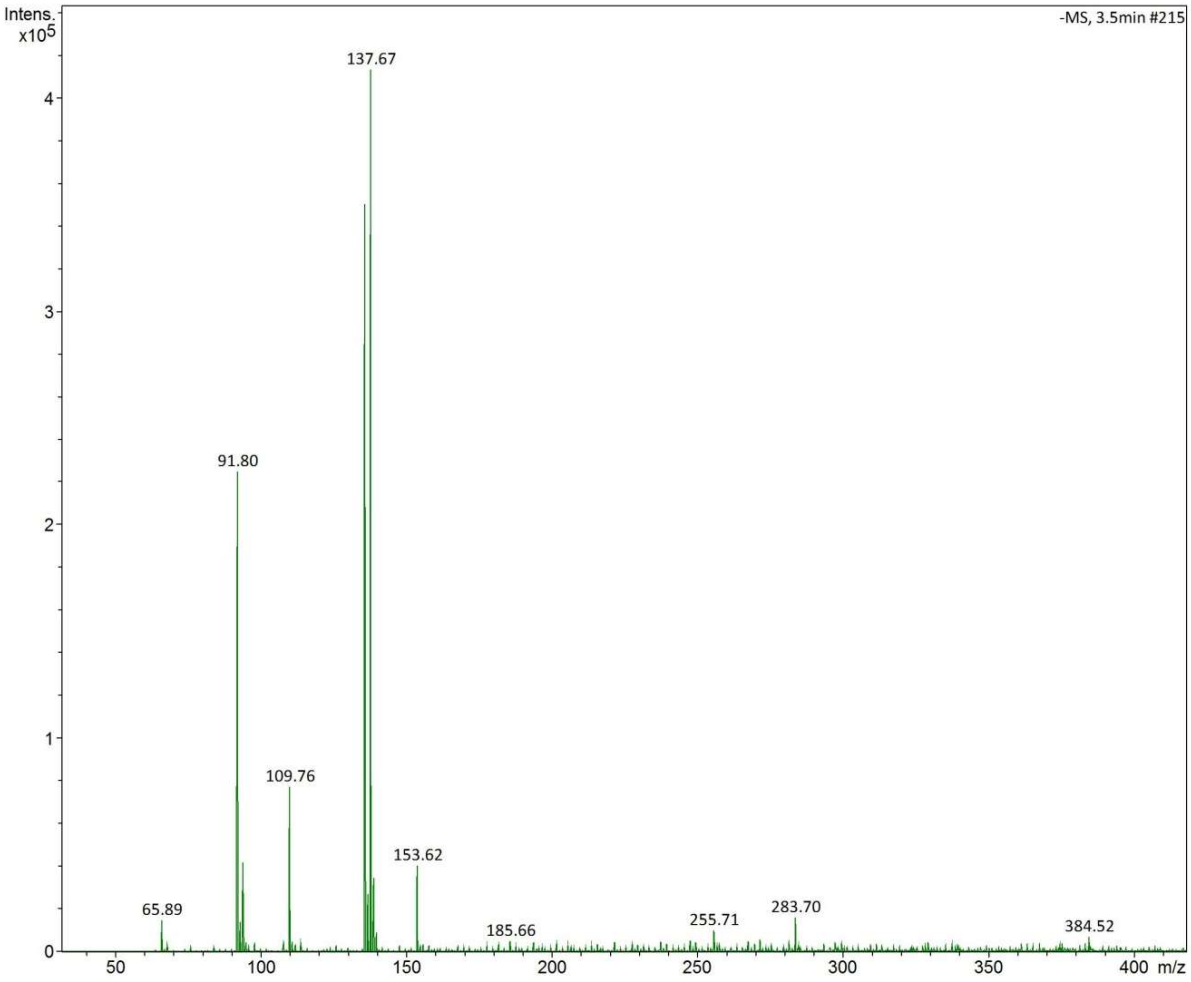


Figura 130. Espectro de massas da substância **16** (ESI, modo negativo)

6.5.2 Identificação das substâncias 17 e 18 (SMM-4.5.7.9)

A fração SMM-4.5.7.9 (3,7 mg) apresentou-se como sólido cristalino salmão e seus constituintes foram isolados seguindo os procedimentos cromatográficos descrito no Esquema 18. Em placa de CCD, mostrou intensa absorção no UV em 254 nm, depois de revelada em vanilina sulfúrica exibiu mancha rose claro, com Rf=0,34 ao utilizar DCM:MeOH (97:3), como sistema de eluição (Figura 131).

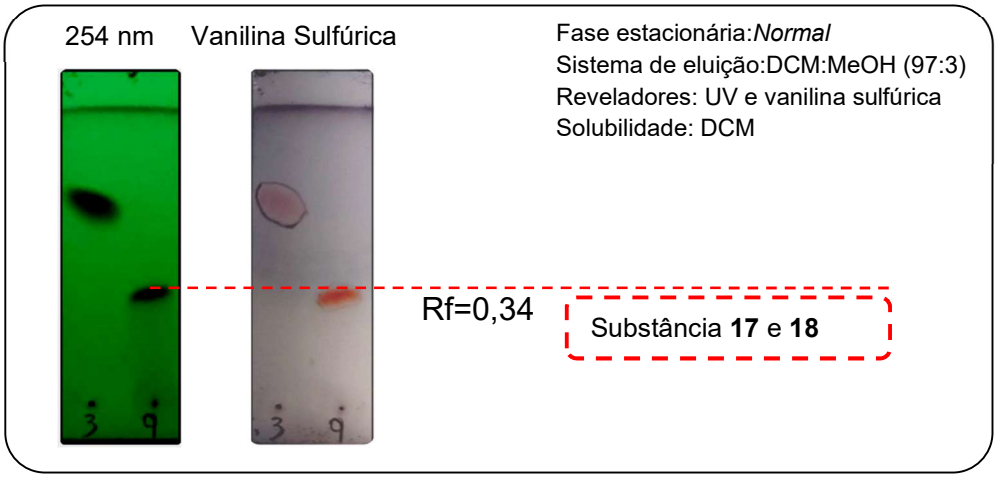


Figura 131. CCD da fração com SMM-4.5.7.9.

Para a determinação estrutural, o sólido da fração SMM-4.5.7.9 (3,7 mg) foi submetido à experimentos uni e bidimensionais de RMN, EM e os valores dos deslocamentos químicos foram comparados com os valores da literatura. Nas análises preliminares dos espectros unidimensionais (^{1}H e^{13}C), foi possível observar que a fração tratava-se de uma mistura (1:5) de substâncias fenólicas com grandes semelhanças espectrais. Mas, por meio das intensidades dos sinais foi possível identificar as duas substâncias da fração SMM-4.5.7.9.

No espectro de ^{1}H-RMN (Tabela 37, Figura 135), foi possível observar sinais característicos de anel benzeno trissubstituído em δ_H 6,91 *d* (*J*=8,1 *Hz,* orto),

7,45 *dd* (*J*= 8,1 e 2,0 *Hz,* orto e meta) e 7,47*d* (*J*= 2,0 *Hz*, meta) do composto majoritário (**17**) da mistura, sugerindo a presença de um grupo arila 1,3,4-trissubstituído, como mostra o ^{1}H-RMN expandido (Figura 136). Foi também observado no espectro de ^{1}H-RMN, hidrogênios metílicos em δ_H 2,46 *s* (H-2'), que via HSQC (Figura 138) fez acoplamento com o carbono em 25,39 (Me-2'), sugestivo de grupo cetona. Todas as atribuições heteronucleares (C-H) foram inferidas através do mapa de correlações HSQC (Tabela 37, Figura 138).

No espectro ^{13}C-RMN (Tabela 37, Figura 137) o sistema aromático caracterizou-se pelos sinais de carbonos metínicos em δ_C 114,7 (C-2), 114,6 (C-5) e 121,9 (C-6), já os desidrogenados caíram em δ_C130,0 (C-1),144,8 (C-3), 150,0 (C-4) e uma carbonila de cetona em 195,4 (C-1').

No mapa de correlação a longa distância (HMBC) o dubleto em δ_H 7,47 (H-2) ajudou a posicionar os dois grupos hidroxilas substituídos no sistema aromático, pela conectividade com os carbonos oxigenados em δ_C 144,8 (C-3) e 150,0 (C-4). Este mesmo sinal foi essencial para posicionar a carbonila pela conectividade a $^{3}J_{HC}$ com o sinal de carbono em 195,4 (C-1'), além de uma correlação com o carbono metínico em 121,9 (C-6) do anel aromático, como demonstra a figura 132. A localização da cetona foi reforçada em C-1 pelas correlações a longa distância dos hidrogênios metílicos em δ_H 2,46 pela conectividade com os carbonos 130,0 (C-1) e 195,4 (C-1'), as correlações são apresentadas no HMBC (Figura 133)

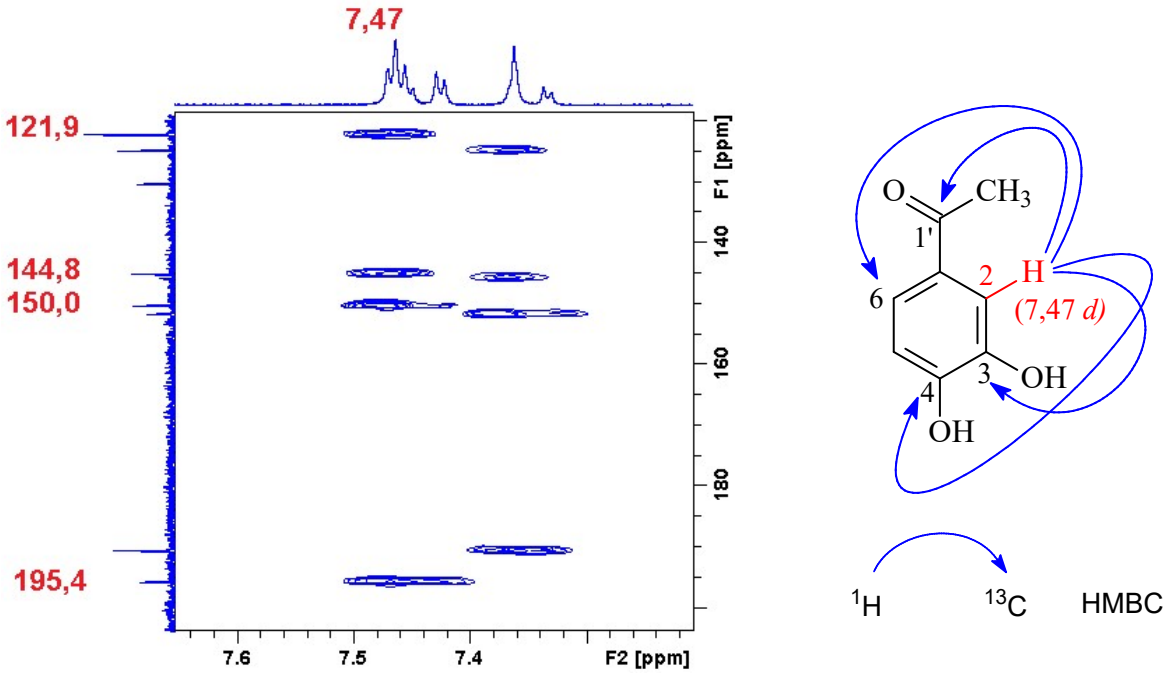


Figura 132. Amplificação do HMBC na região de δ_H 7,47 e δc 20-200 de **17**.

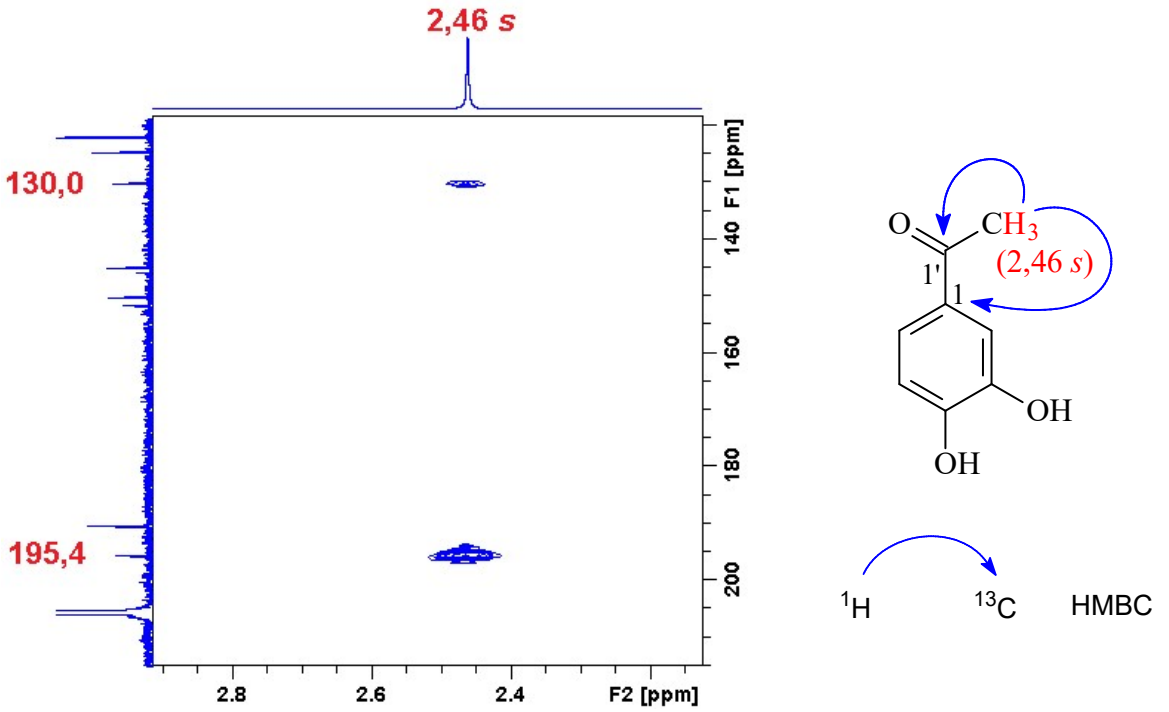


Figura 133. Amplificação do HMBC na região de δ_H 2,46 e δc 20-205 de **17**.

A confirmação estrutural para a substância **17** da fração SMM-4.5.7.9, veio com o espectro de massas de baixa resolução (modo negativo de ionização), onde forneceu um sinal em *m/z* 151,66 correspondente ao pico $[M-H]^-$ (Figura 140, pag.

177), que acompanhado com os dados espectrais de RMN, foi possível propor a fórmula molecular $C_8H_8O_3$ para o derivado do benzaldeído. O conjunto dessas análises, associadas com os dados encontrados na literatura (GRUBER *et al*., 2014), sugerem a identidade da substância **17** como 3,4-diihidroxiacetofenona (Figura 134).

Esse é o primeiro relato do isolamento e identificação dessa substância no gênero Swietenia e é importante ressaltar que o composto 3,4-diiidroxiacetofenona é um ingrediente ativo da medicina tradicional chinesa, que além de apresentar atividade antimelanogênica (KIM *et al.,* 2006), essa substância também é útil no tratamento de gestações patológicas com circulação útero-placentária defeituosa crônica (YANG *et al.,* 1989). Outros relatos na literatura são direcionados para as atividades de autotoxicidade e alelopatia (RUAN *et al.,* 2011).

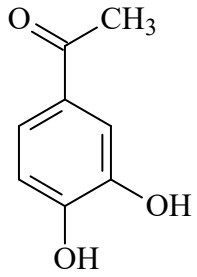
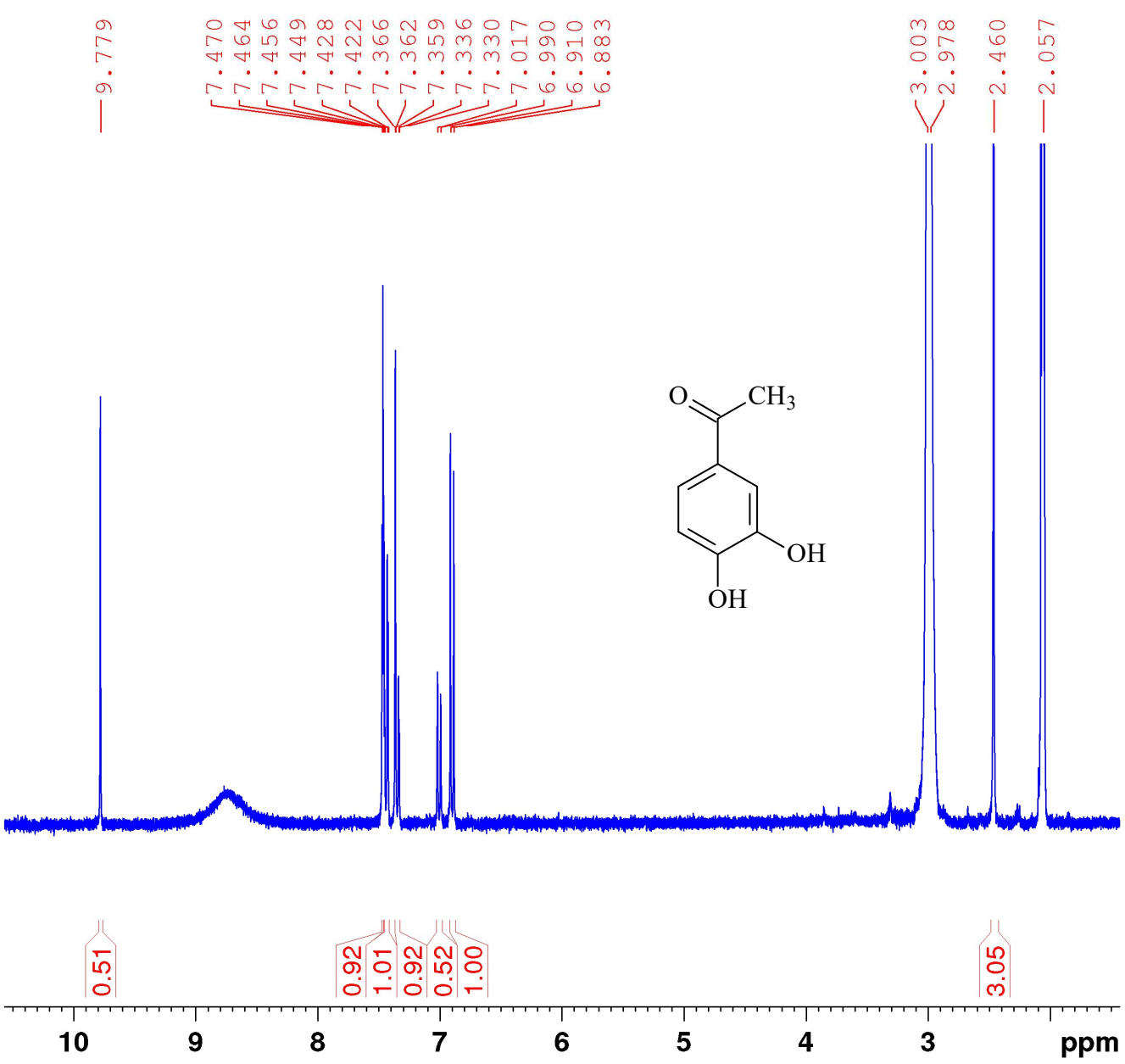


Figura 134. Estrutura do 3,4-dihidroxiacetofenona (**17**)

Tabela 37. Dados de RMN da substância **17** (3,4-diidroxiacetofenona)

Nº	^{1}H-RMN δ_H: multi; *J* (Hz)*	^{3}C	HMBC	^{1}H-RMN δ_H: multi; *J* (Hz)**	^{3}C
	3,4-diidroxiacetofenona (**17**)			(GRUBER *et al.,* 2014)	
1	-	130,0		-	131,0
2	7,47 *d* (2,0 Hz)	114,7	C-6; C-3; C-4 e C-1'	7,45 *d* (1,5 *Hz*)	116,4
3	-	144,8		-	146,7
4	-	150,0		-	152,6
5	6,91 *d* (8,1 Hz)	114,6	C-1 e C-4	6,86 *d* (8,5 *Hz*)	116,1
6	7,45 *dd* (8,1 e 2,0 Hz)	121,9	C-2 e C-1'	7.47 *dd* (8,0 e 1,5 *Hz*)	123,8
Me	2,4 s	25,3	C-1 e C-1'	2,54 *s*	26,5
C=O	-	195,4		-	200,0

*(300 MHz, acetona-d_6) ** (600 MHz, CD_3OD)



TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME      Henrique20_SMM-4.5.7.9
EXPNO                         1
PROCNO                        1

F2 - Acquisition Parameters
Date_              20210526
Time                  17.28
INSTRUM          FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG                  zg
TD                    65536
SOLVENT            Acetone
NS                       16
DS                        2
SWH                6103.516 Hz
FIDRES            0.093132 Hz
AQ                5.3687091 sec
RG                   19.8835
DW                  81.920 usec
DE                  10.00 usec
TE                  293.2 K
D1               1.00000000 sec
TD0                       1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1            300.2019513 MHz
NUC1                      1H
P1                    7.88 usec
PLW1           20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                    65536
SF              300.2000000 MHz
WDW                      EM
SSB                       0
LB                        0 Hz
GB                        0
PC                     1.00
```

Figura 135. Espectro de RMN ^{1}H de SMM-4.5.7.9 (300 MHz, acetona-d_6)

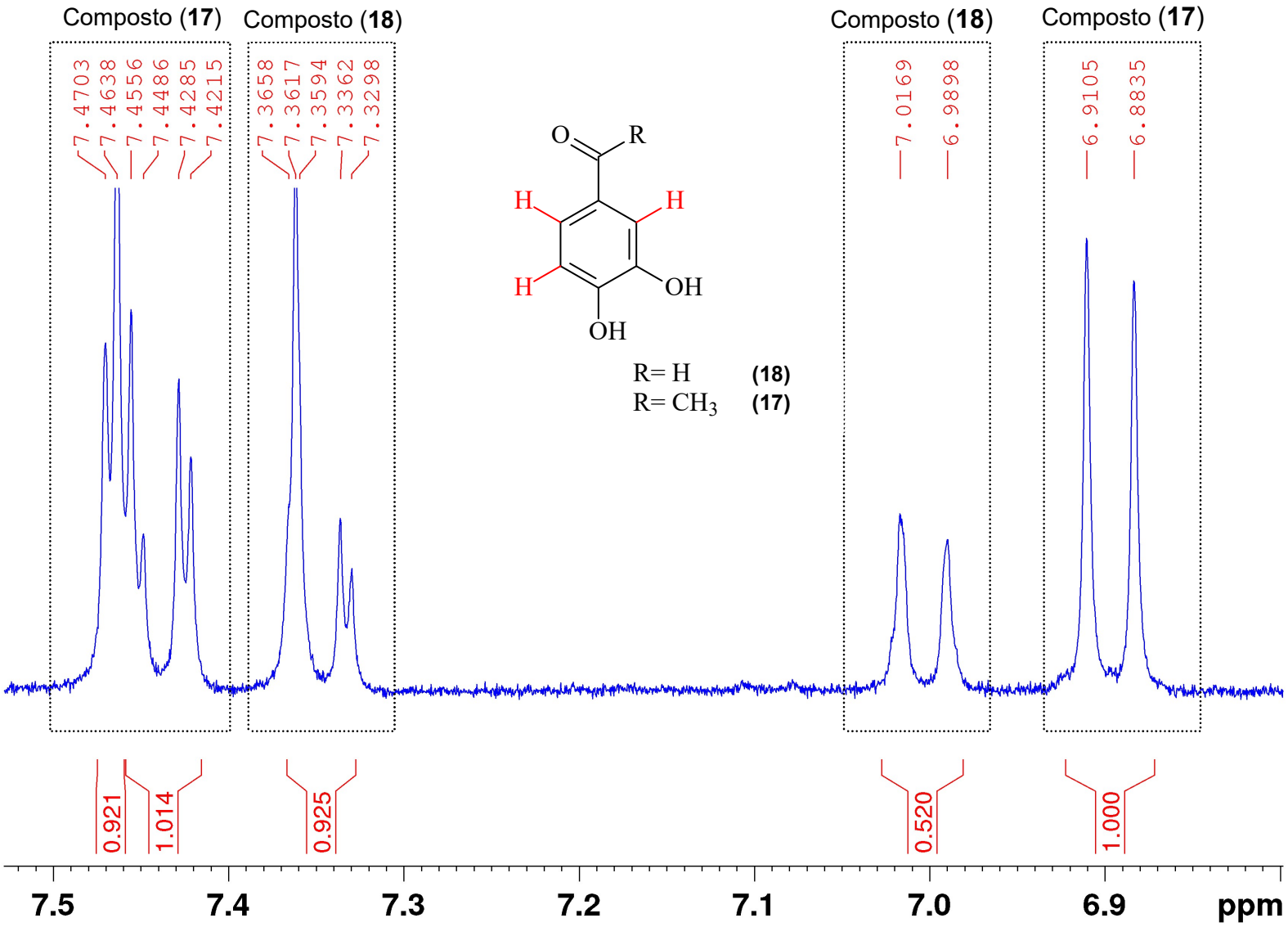


Figura 136. Amplificação de RMN ^{1}H na região de δ 7,47-6,88 (300 MHz, acetona-d_6)

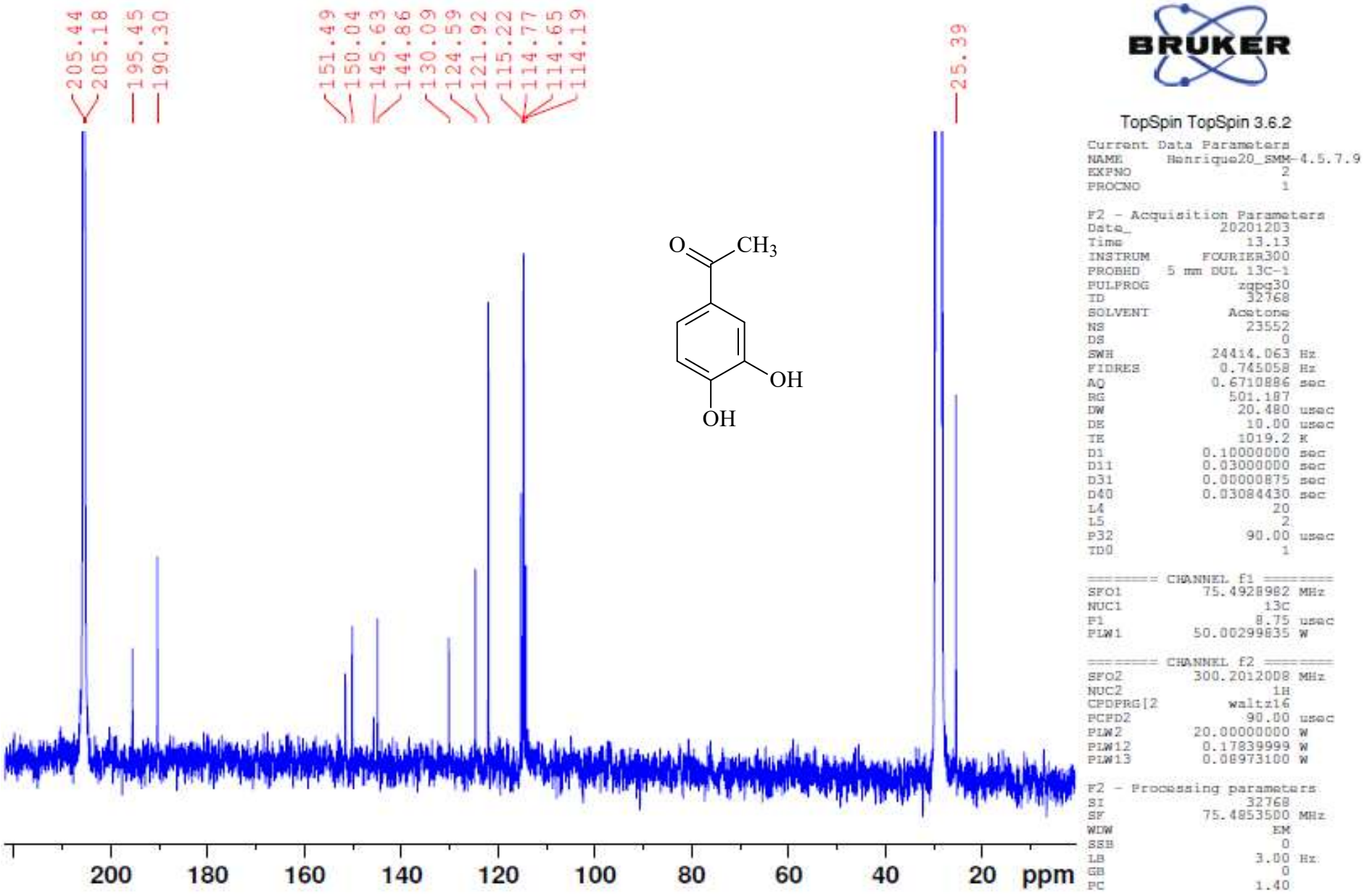


Figura 137. Espectro de RMN 13C de SMM-4.5.7.9 (75 MHz, Acetona-d_6)

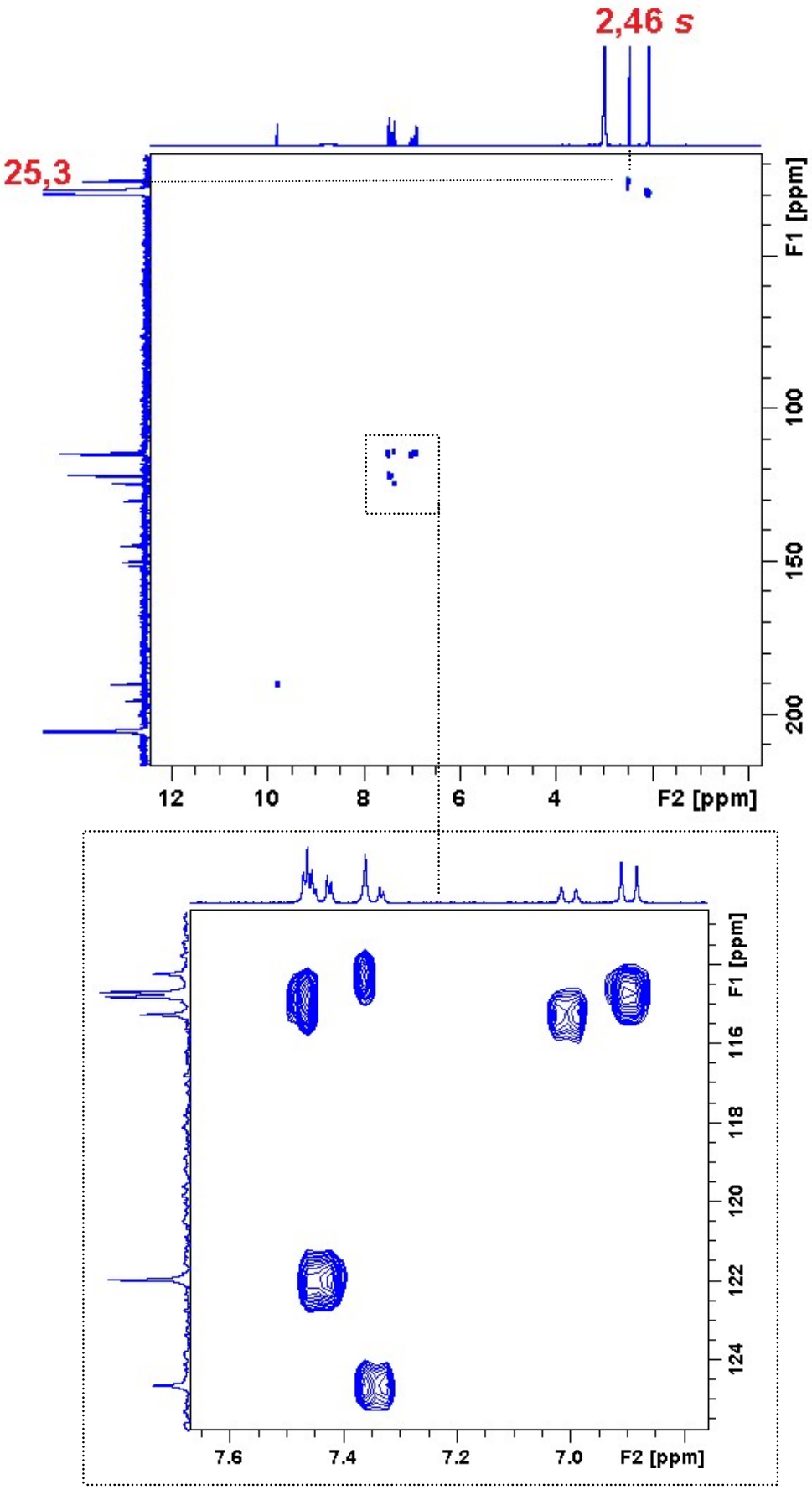


Figura 138. Mapa de HSQC (300/75 MHz, acetona-d_6) de **17** e **18**.

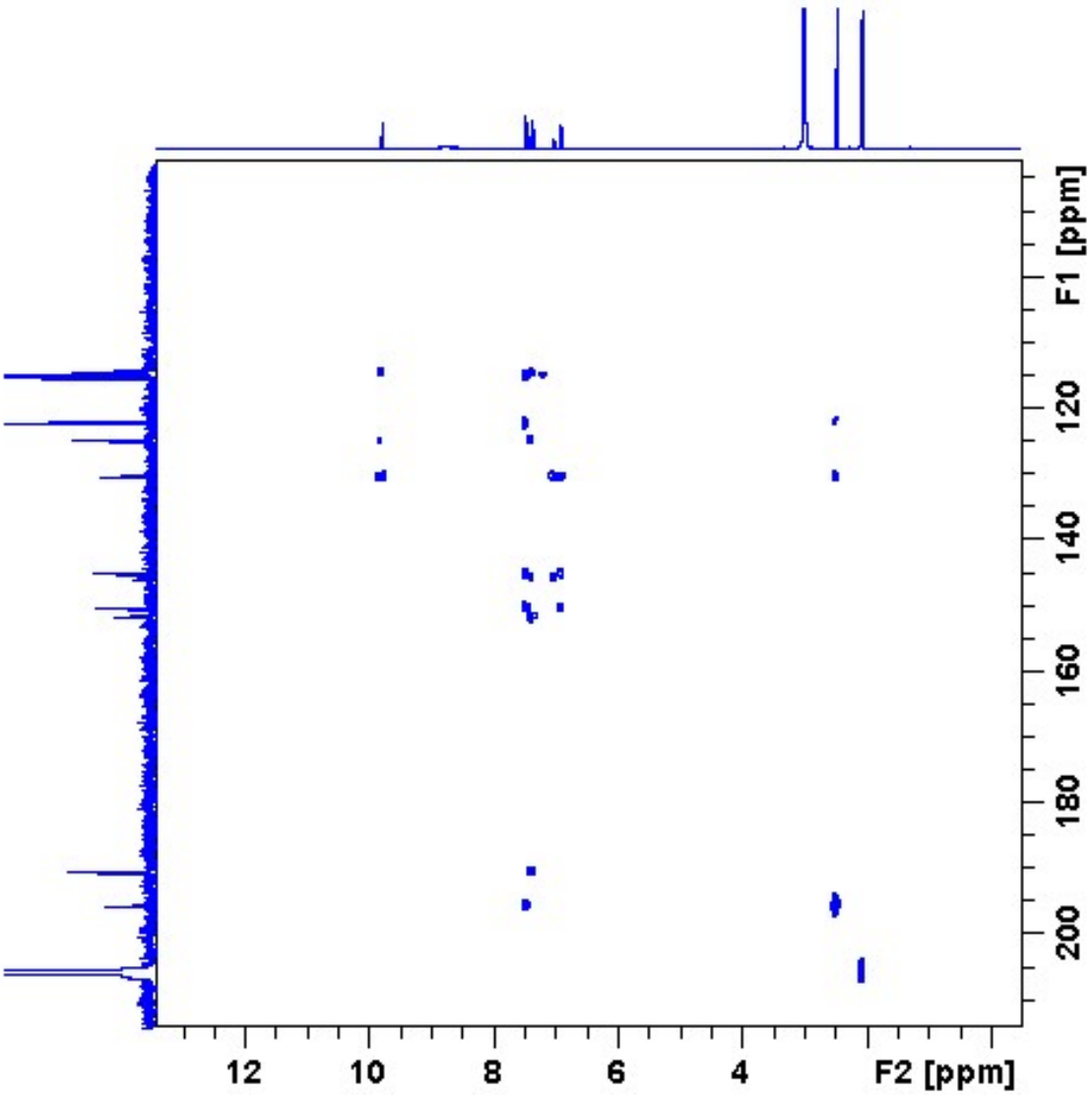


Figura 139. Mapa de HMBC (300/75 MHz, acetona-d_6) de **17** e **18**.

Generic Display Report

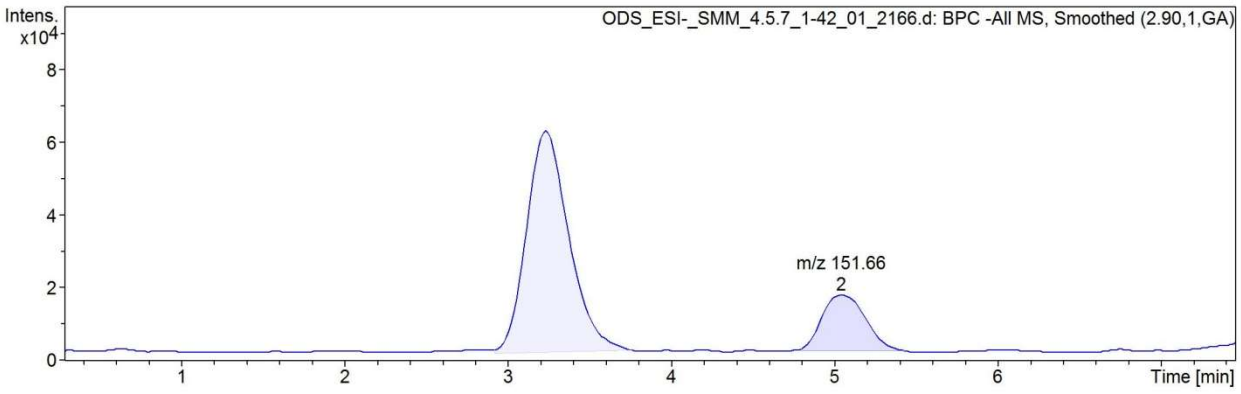
Analysis Info Acquisition Date 8/4/2021 1:08:13 PM

Analysis Name D:\Data\2021\DaPaz\Data\Henrique\LC-MS\03-08-2021\ODS_ESI-_SMM_4.5.7_1-42_01_2166.d

Method 2166.m

Sample Name ODS_ESI-_SMM_4.5.7 Instrument amaZon speed

Comment XR-ODS 2X5
A(H2O0.1%AcFormico)/B(ACN)
Fluxo:0.3 mL/minSplitde 0,045 mL(MS)/0,255mL(desc); P:2692psi
V.inj: 2uL; C =1 mg/mL ACN); Forno:35C;Inj: MeOH
0-5min: 5%
5-10min:5-100%
10-12min:100%
12-14m:100-5%
14-16min:5%



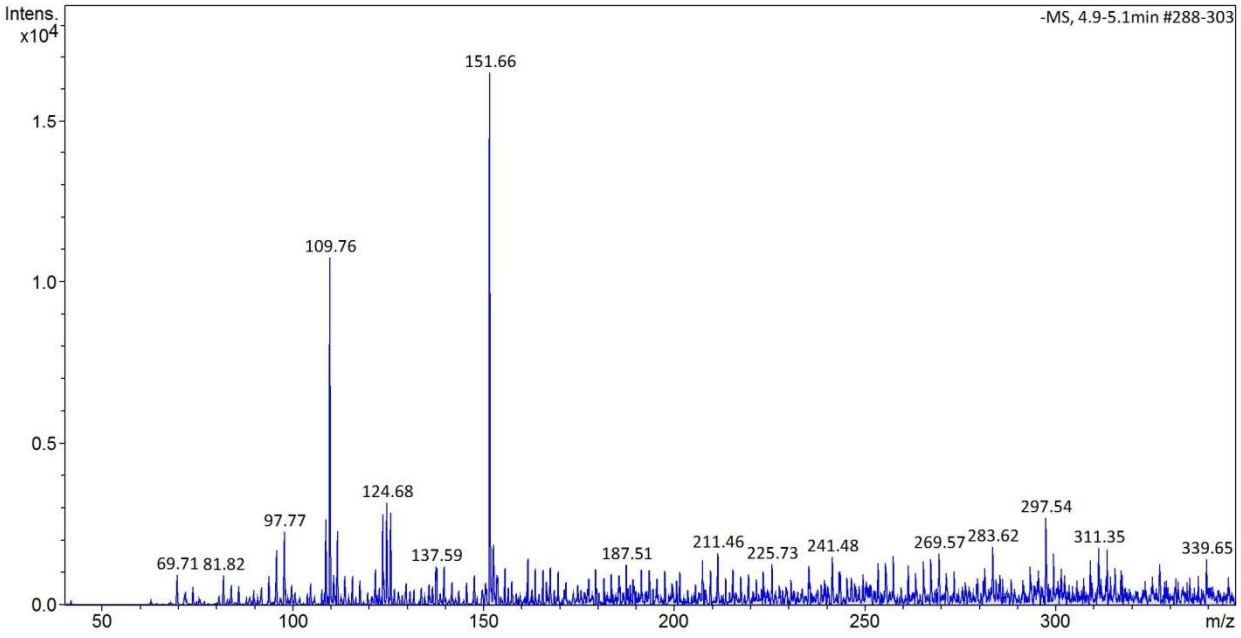


Figura 140. Espectro de massas da substância **17** (ESI, modo negativo).

A substância minoritária **18** da mistura SMM-4.5.7.9 mostrou dados espectrais de RMN de ^{1}H e ^{13}C similares aos da substância **17**. No espectro de ^{1}H-RMN (Figura 135) da substância em mistura em menor proporção (**18**), foi evidenciada a existência de um anel benzeno 1,3,4-trissubistituído com sinais em δ_H 7,01 *d* (J=8,1 *Hz*), 7,36 *dd* (J= 8,8 e 2,0 *Hz*) e 7,36 *sl* (Figura 136). Vale ressaltar que o sinal em δ_H 7,36 apresentou superposição de sinais com a substância 17, porém, partindo do conjunto de análises baseadas nas intensidades dos picos, integrações dos sinais e das correlações no HSQC expandido (Figura 138), foi possível atribuir os sinais metínicos nas posições 2 e 6 da substância **18**. No espectro de ^{13}C-RMN (Tabela 38, Figura 137), o anel aromático caracterizou-se pelos sinais de carbonos metínicos em δ_C 114,1(C-2), 115,2 (C-5) e 124,5 (C-6), já os carbonos quaternários caíram em δ_C 145,5 (C-3), 151,0 (C-4) e 130,0 (C-1), no qual apresentou superposição de sinais dos C-1 para as duas substâncias. Todas as atribuições heteronucleares $^{1}J_{C\text{-}H}$ foram inferidas através do mapa de correlações HSQC (Figura 138).

A principal diferença das substâncias 17 e 18 na mistura estava no substituinte da posição C-1, que na substância majoritária (**17**) apresentou um grupo cetona, enquanto que no composto minoritário (**18**) foi observado no espectro de ^{1}H-RMN um sinal típico de grupo aldeído em δ_H 9,78 *s* (integrando para 0,5) e que analisando o HSQC (Figura 141) acopla com uma carbonila em 190,3 (C-1'), no qual sustenta a presença de um grupo aldeído na substância **18**.

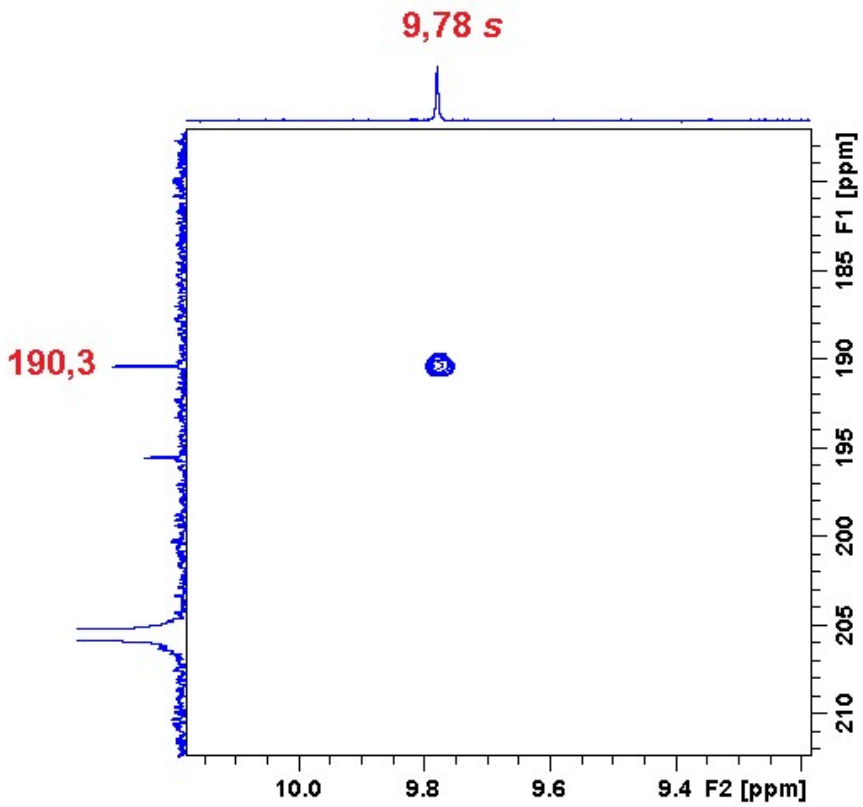


Figura 141. Amplificação do HSQC na região de δ_H 9,78 e δc 20-210 de **18**.

No espectro de HMBC expandido (Figura 142), o sinal de hidrogênio em δ_H 7,36 *sl* (H-2) ajudou a posicionar os dois grupos hidroxilas substituído no sistema aromático pela conectividade com os carbonos oxigenados em δ_C 145,6 (C-3) e 151,4 (C-4). Este mesmo protón em δ_H 7,36 foi essencial para posicionar o grupo aldeído pela conectividade a $^3J_{H\text{-}C}$ com o carbonila em 190,3 (C-1'), além de uma correlação com o carbono metínico em 124,5 (C-6) do anel aromático, como demonstra a Figura 142. O grupo aldeído foi reforçado em C-1 pelas correlações a longa distância do hidrogênio oximetinico em δ_H 9,78 com os carbonos 130,0 (C-1) e 114,1 (C-6), as correlações são apresentadas no HMBC (Tabela 38, Figura 143).

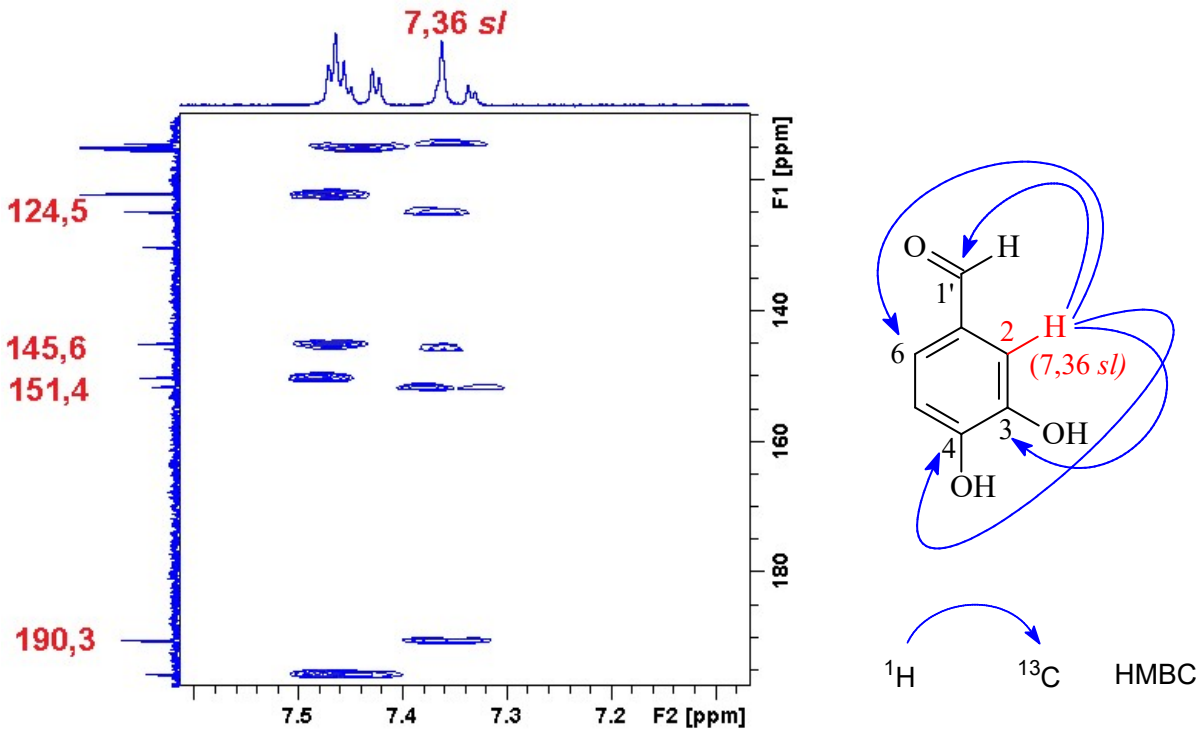


Figura 142. Amplificação do HMBC na região de δ_H 7,36 e δc 110-200 de **18**.

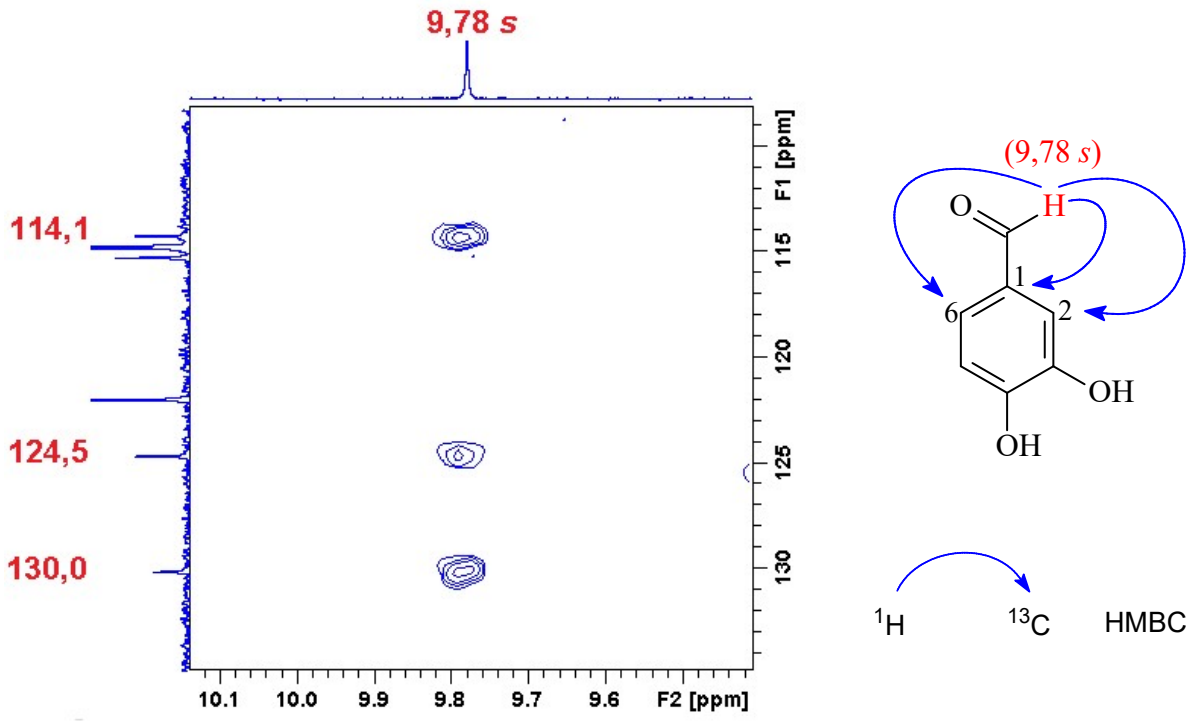


Figura 143. Amplificação do HMBC na região de δ_H 9,78 e δc 110-135 de **18**.

A substância **18,** teve sua confirmação estrutural a partir do espectro de massas de baixa resolução (modo negativo de ionização), onde forneceu um sinal em *m/z* 137,67 correspondente ao pico $[M-H]^-$ (Figura 145, pag. 182), bem como o íon em

m/z 108,76 devido à perda de o grupo bormila (29 u.a), que acompanhado dos dados de RMN e os modelos encontrados na literatura (PRACHAYASITTIKUL *et al*., 2008; SYAFNI *et al.,* 2012), sugerem a identidade da substância **18** como 3,4-diiidroxibenzaldeído (Figura 144).

A 3,4-diidroxibenzaldeído teve seus primeiros relatos fitoquímicos nas folhas de *Vitis vinifera L.* (Vitaceae) com o nome de *protocatecualdeído* (WEBER *et al.,* 1995). A presença dessa substância foi também relatada no cogumelo *Phellinus gilvus* da família Hymenochaetaceae (CHANG *et al.,* 2011), em *Trichomanes chinense* da família Polipodiacea (SYAFNI *et al.,* 2012) e em *Hydnophytum formicarum,* pertencente a familia Rubiaceae (PRACHAYASITTIKUL *et al*., 2008). Essa substância tem relatos na literatura de atividades antimicrobiana e antioxidante (PRACHAYASITTIKUL *et al*., 2008; SYAFNI *et al*., 2012). Vale ressaltar, que esse é o primeiro registro da substância em *Swietenia macrophylla*.

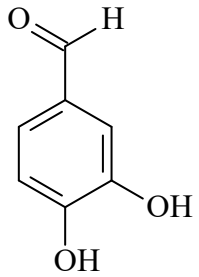


Figura 144. Estrutura do 3,4-dihidroxibenzaldeído (**18**)

Tabela 38. Dados de RMN da substância **18** (3,4-dihidroxibenzaldeído)

Nº	^{1}H-RMN δ_H: multi; *J* (Hz)*	^{13}C	HMBC	^{1}H-RMN δ_H: multi; *J* (Hz)**	^{13}C
	3,4-diiidroxibenzaldeído (**18**)			(PRACHAYASITTIKUL *et al*., 2008)	
1	-	130,0		-	129,29
2	7,36 *sl*	114,1	C-2; C-4 e C-1'	7,25 *s*	113,97
3	-	145,6		-	145,18
4	-	151,5		-	151,74
5	7,0 d (8,1 Hz)	115,2	C-1e C-3	6,87 *d* (8,0*Hz*)	114,90
6	7,36 dd (8,8 e 1,9 Hz)	124,5	C-6; C-3;C-4 e C-1'	7,23*d* (*Hz*)*	125,83
CHO	9,7 s	190,3	C-1; C-2 e C-6	9,63 *s*	191,93

(1) (Acetona-d_6, 300 MHz) (2)(CD_3OD, 400 MHz) *(***J** não informado)

Generic Display Report

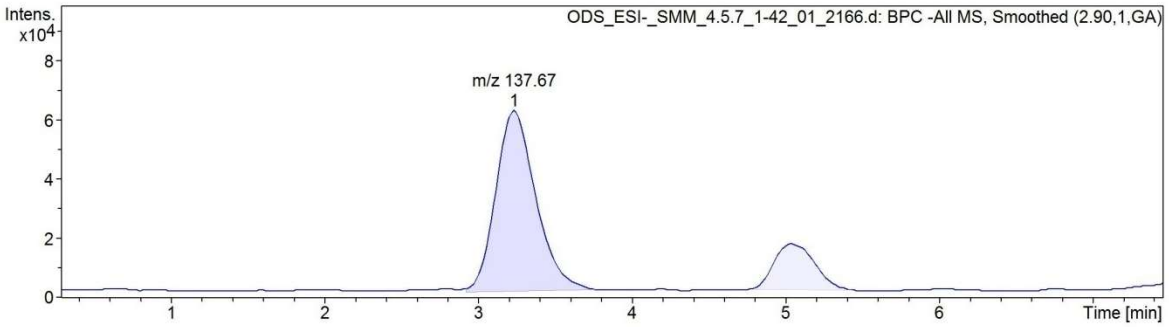
Analysis Info Acquisition Date 8/4/2021 1:08:13 PM

Analysis Name D:\Data\2021\DaPaz\Data\Henrique\LC-MS\03-08-2021\ODS_ESI-_SMM_4.5.7_1-42_01_2166.d

Method 2166.m

Sample Name ODS_ESI-_SMM_4.5.7 Instrument amaZon speed

Comment XR-ODS 2X5
A(H2O0.1%AcFormico)/B(ACN)
Fluxo:0.3 mL/minSplitde 0,045 mL(MS)/0,255mL(desc); P:2692psi
V.inj: 2uL; C =1 mg/mL ACN); Forno:35C;Inj: MeOH
0-5min: 5%
5-10min:5-100%
10-12min:100%
12-14m:100-5%
14-16min:5%



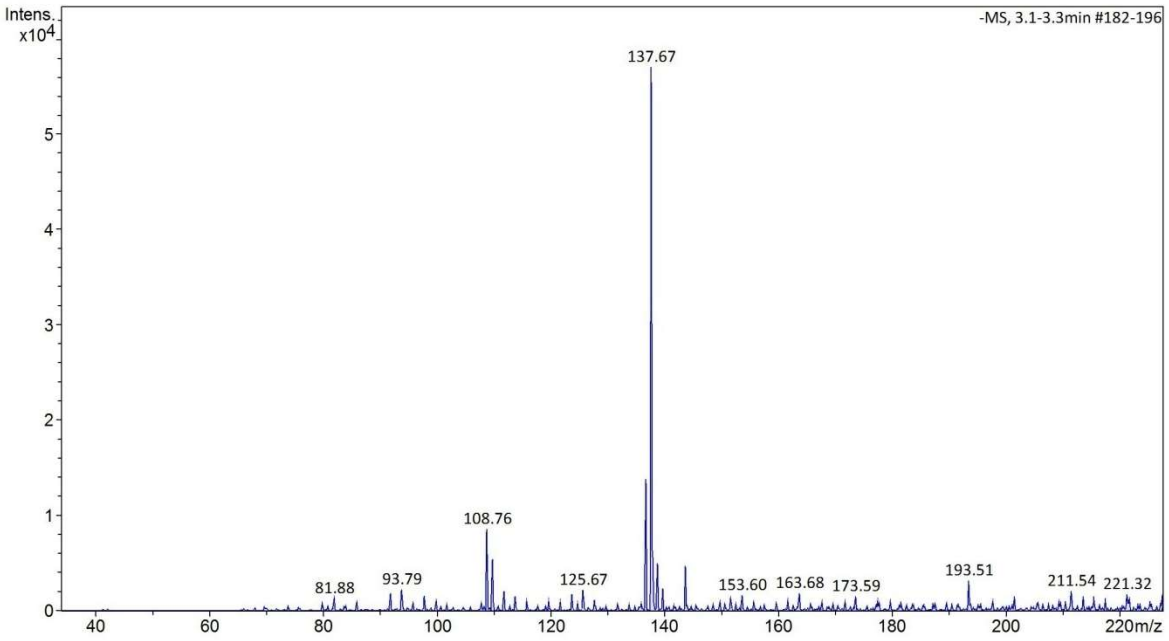


Figura 145. Espectro de massas da substância **18** (ESI, modo negativo)

6.6 Determinação estrutural de cumarina de *Swietenia macrophylla*

6.6.1 Identificação da substância 14 (SMM-3.1.10)

A substância **14**, codificada na fração SMM-3.1.10 (4,3 mg) foi obtida na forma de um sólido marrom, conforme os procedimentos cromatográficos descritos no Esquema 14. Em placa de CCD, mostrou absorção no UV e depois de revelada em vanilina sulfúrica exibiu mancha roxa, com Rf=0,35 ao utilizar Hex: Acetona (7:3), como sistema de eluição (Figura 146).

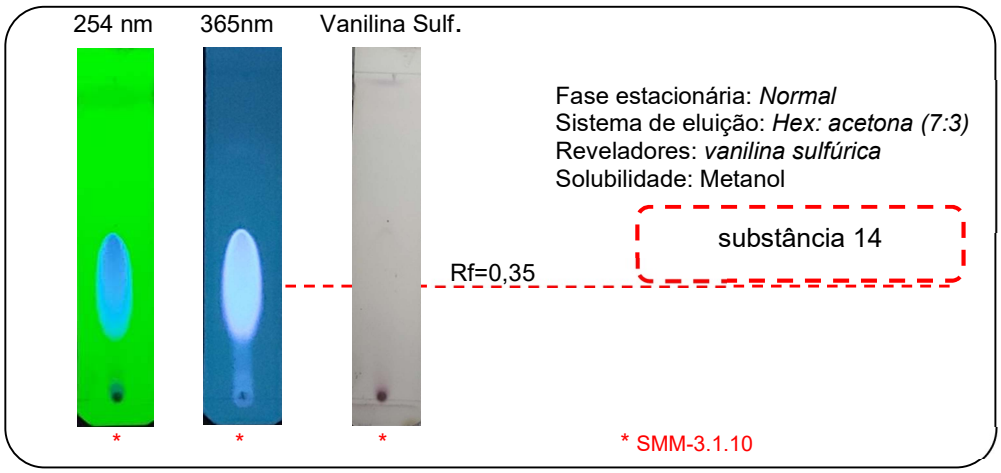


Figura 146. CCD da fração com SMM- 3.1.10.

O espectro de ^{1}H-RMN (Figura 149) da substância **14**, demonstrou sinais característicos de cumarina, como dois dubletos na região de δ_H 7,65 (J=9,4 Hz) e 6,31 (*J*=9,4 Hz) que são referentes a ligação dupla *α*,*β*-insaturada, em outras palavras, são dos hidrogênios H-4 e H-3 do anel lactônico. Singletos em δ_H 6,85 (H-8) e 6,86 (H-5) apontaram para um anel aromático tetrassubstituído. Nota-se também a presença de dois singletos, ambos integrando para 3H, característicos de grupos metóxis em δ_H 3,93 e 3,96.

No espectro de ^{13}C-RMN (Figura 150), foi possível observar a presença de 11 carbonos, sendo que a carbonila foi evidenciada em 161,45 (C-2) e as metoxilas em

56,35 (7-O<u>C</u>H$_3$) e 56,40 (8-OCH$_3$). Todas as outras atribuições estão listadas na tabela 39 e foram inferidas através do mapa de correlações HSQC (Figura 151).

No espectro de HMBC (Figura 147), o dubleto vinílico em δ_H 7,65 (H-4) fez correlacionou-se com o sinal da carbonila do anel lactônico em δ_C 161,4 (C-2) e com os aromáticos em δ_C 107,90 (C-5) e 150,02 (8a). A metoxilas foram posicionadas nas posições 6 e 7, devido à correlação a ^3J dos sinais metílicos δ_H 3,93 e 3,96 com os dos carbonos δ_C 146,33 (C-6) e 152,82 (C-7), respectivamente.

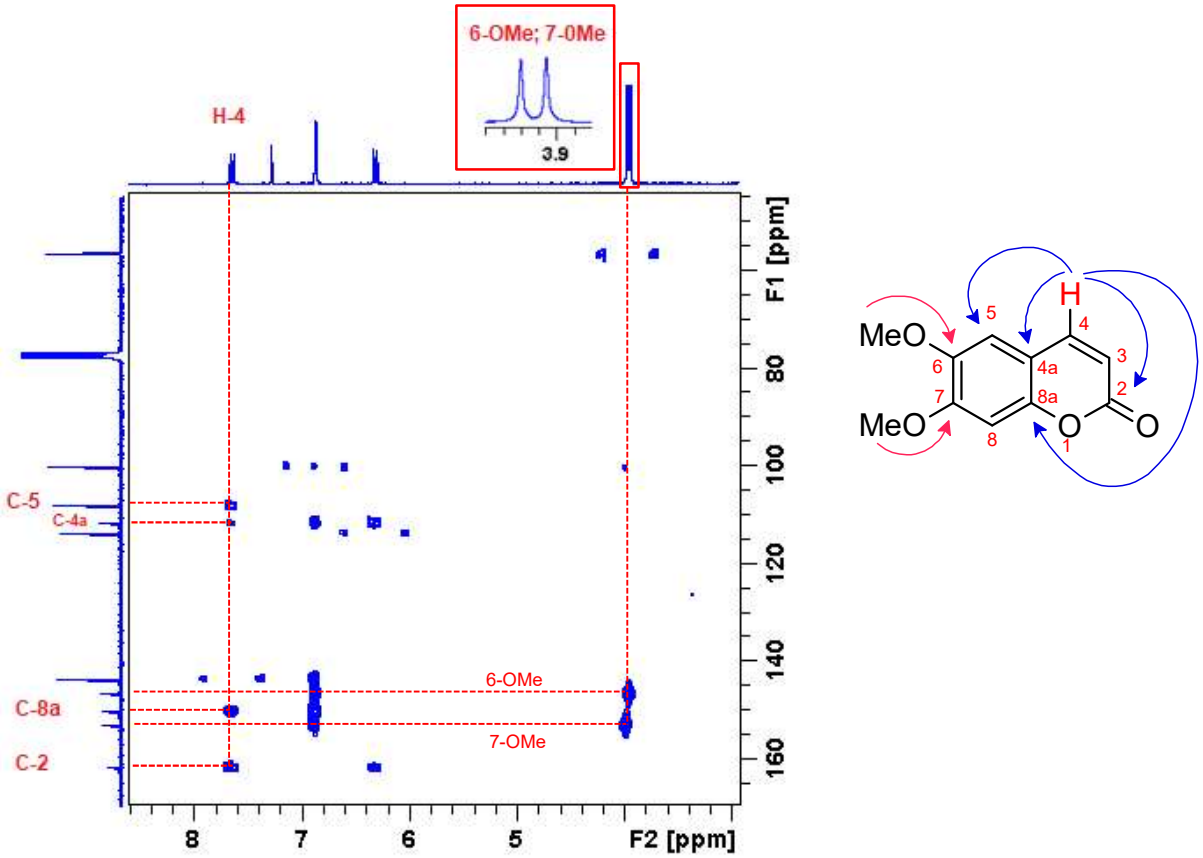


Figura 147. Espectro de HMBC (300/75 MHz, $CDCl_3$) da substância **14**.

Todos os dados de RMN analisados e comparados com modelos da literatura (CORREIA *et al*., 2020) sugerem a identidade da substância **14** como 6,7-dimetóxi-cumarina, conhecida popularmente como escoporona (Figura 148). Esse é o primeiro relato de isolamento e identificação dessa substância no gênero *Swietenia*, mas já foi registrada em *Trichilia elegans* (Meliaceae) por Matos e colaboradores (2009).

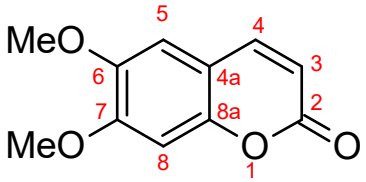


Figura 148. Estrutura da escoporona (**14**)

Tabela 39. Dados de RMN da substância **14** (escoporona)

Nº	^{13}C	^{1}H-RMN δ_H: *multi; J* (Hz)[1]	HMBC	^{13}C	^{1}H-RMN δ_H: multi; *J* (Hz)[2]
	escoporona (**14**)			CORREIA *et al.,* (2020)	
2	161,46			161.4	
3	113,56	6,32 *d* (9,4 *Hz*)	C-4a; C-2	113.5	6.32 d (9.45 Hz)
4	143,33	7,65 *d* (9,4 *Hz*)	C-5; C-8a; C-2	143.3	7.65 d (9.45 Hz)
5	107,90	6,86 *s*	C-4a; C-4; C-6; C-8a; C-7	107.9	6.83 s
6	146,33			146.3	
7	152,82			152.8	
8	100,00	6,85 *s*	C-4a; C-6; C-8a; C-7	100.0	7.82 s
4a	111,43			111.4	
8a	150,02			150.0	
6-OMe	56,40	3,93 *s*	C-6	56.4	3.95 s
7-OMe	56,35	3,96 *s*	C-7	56.3	3.98 s

[1] ($CDCl_3$, 300 MHz) [2] ($CDCl_3$, 500 MHz)

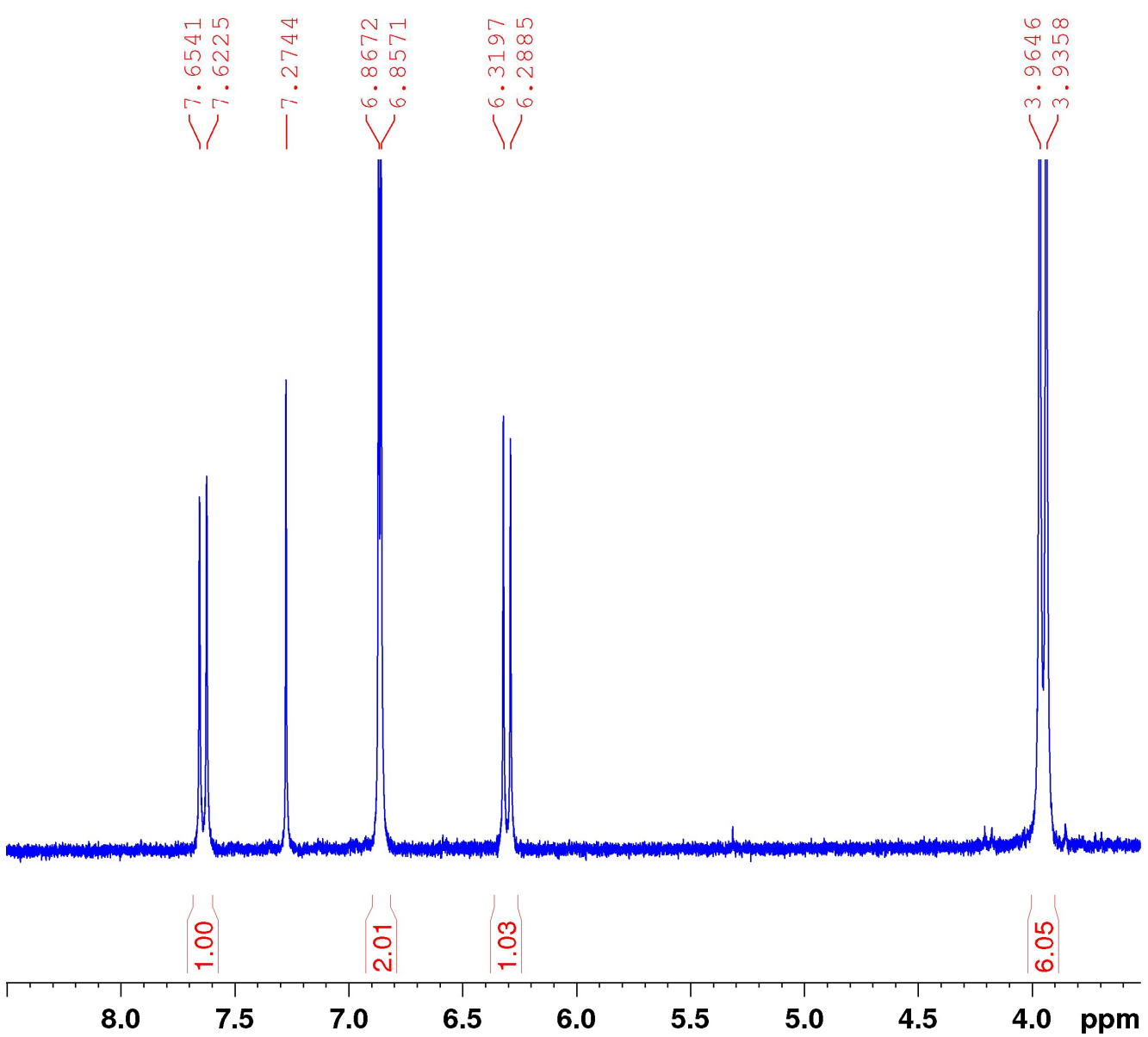


Figura 149. Espectro de RMN ^{1}H de SMM-3.1.10 (300 MHz, $CDCl_3$)

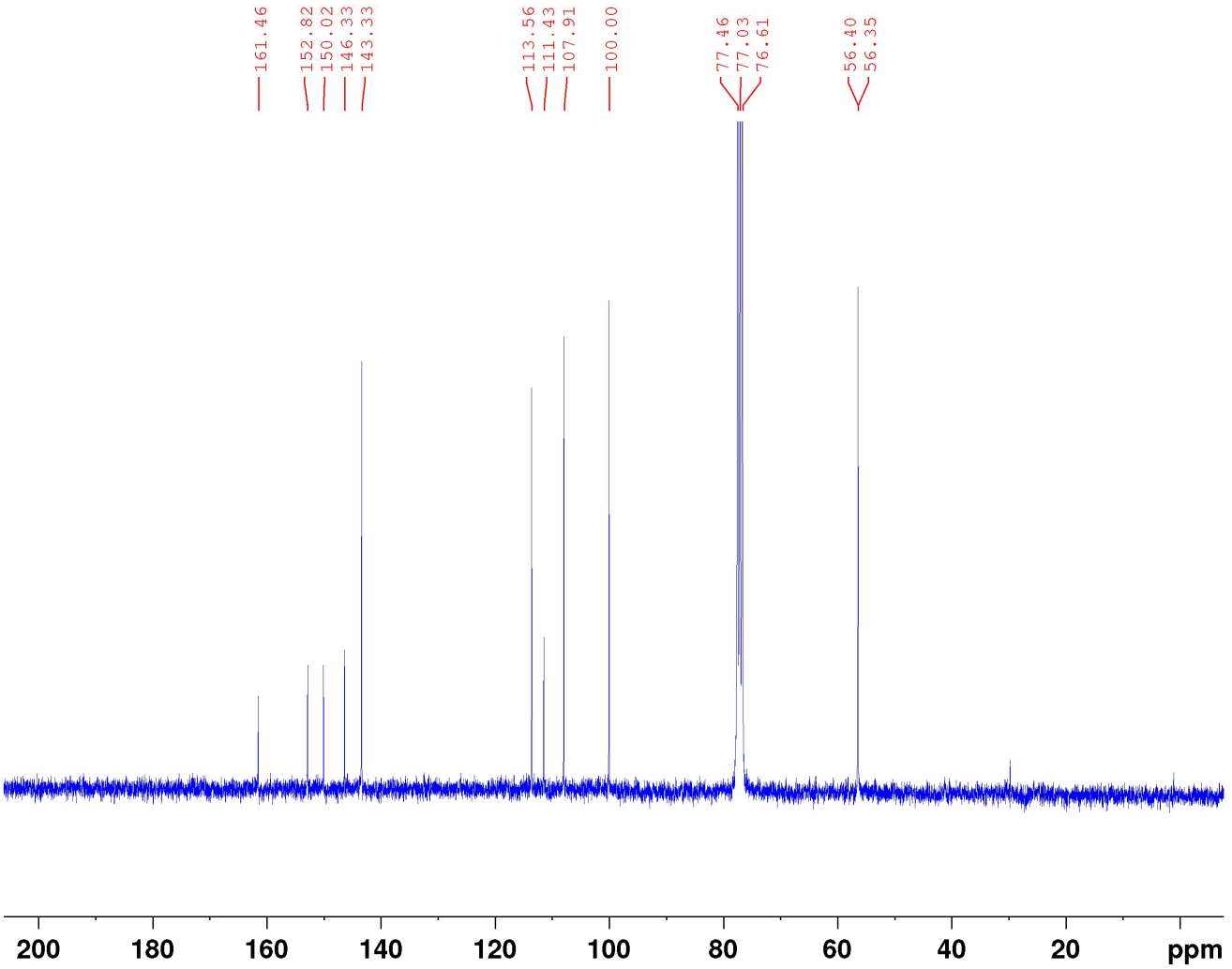
```
Current Data Parameters
NAME      Henrique22_SMM-3.1.10
EXPNO                       11
PROCNO                       1

F2 - Acquisition Parameters
Date_              20220221
Time                  16.15
INSTRUM         FOURIER300
PROBHD    5 mm DUL 13C-1
PULPROG                  zg
TD                    65536
SOLVENT               CDCl3
NS                       16
DS                        2
SWH                6103.516 Hz
FIDRES            0.093132 Hz
AQ                5.3687091 sec
RG                   31.623
DW                   81.920 usec
DE                    6.50 usec
TE                   966.0 K
D1              1.00000000 sec
TD0                       1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1           300.2019513 MHz
NUC1                     1H
P1                    8.50 usec
PLW1           20.00000000 W

F2 - Processing parameters
SI                    65536
SF             300.2000000 MHz
WDW                      EM
SSB                       0
LB                        0 Hz
GB                        0
PC                     1.00
```

Figura 150. Espectro de RMN ^{13}C de SMM-3.1.10 (75 MHz $CDCl_3$)



TopSpin TopSpin 3.6.2

```
Current Data Parameters
NAME    Henrique22_SMM-3.1.10
EXPNO                  2
PROCNO                 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_           20220222
Time              17.27
INSTRUM       FOURIER300
PROBHD   5 mm DUL 13C-1
PULPROG           zgpg30
TD                32768
SOLVENT           CDCl3
NS                51200
DS                    0
SWH           24414.063 Hz
FIDRES          0.745058 Hz
AQ             0.6710886 sec
RG               501.187
DW                20.480 usec
DE                10.00 usec
TE                966.0 K
D1            0.30000001 sec
D11           0.03000000 sec
D31           0.00000875 sec
D40           0.02336821 sec
L4                   20
L5                    8
P32               90.00 usec
TD0                   1

======== CHANNEL f1 ========
SFO1          75.4928982 MHz
NUC1                 13C
P1                8.75 usec
PLW1         50.00299835 W

======== CHANNEL f2 ========
SFO2         300.2012008 MHz
NUC2                 1H
CPDPRG[2          waltz16
PCPD2             90.00 usec
PLW2         20.00000000 W
PLW12         0.17839999 W
PLW13         0.08973100 W

F2 - Processing parameters
SI                32768
SF           75.4853500 MHz
WDW                  EM
SSB                   0
LB                 1.00 Hz
GB                    0
PC                 1.40
```

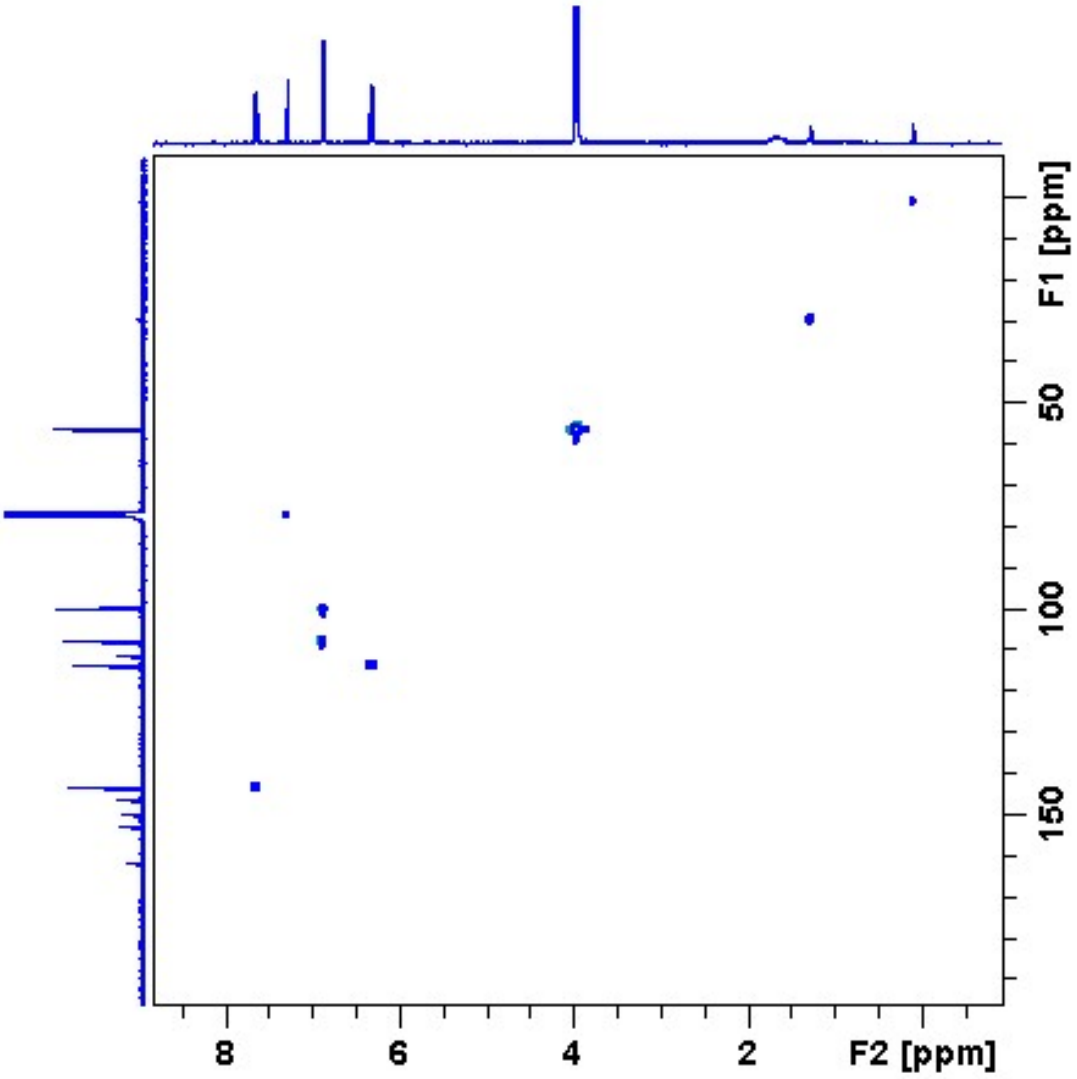


Figura 151.Mapa de HSQC (300/75 MHz, $CDCl_3$) de **14**.

6.7 Resultados dos Bioensaios

6.7.1 Atividade antifúngica

Os resultados encontrados para os testes *in vitro* das substâncias provenientes dos resíduos da madeira de *Swietenia macrophylla* (Figura 152), frente às diferentes linhagens de fungos *Candida albicans* (ATCC 60193)*, Candida krusei* (ATCC 34135) e *Cryptococcus gatii* (CFP55), são apresentadoas na tabela 40.

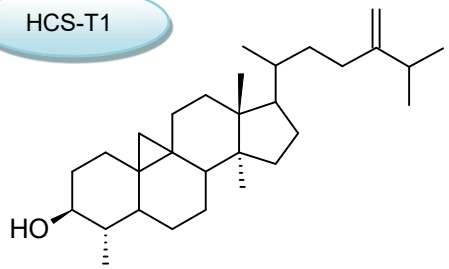
Tabela 40. CIM das substâncias frente às cepas de fungos

Substâncias	CIM (µg/mL)		
	Candida albicans	*Candida krusei*	*Cryptococcus gattii*
HCS-SG1 (19)	40 µg/mL	160 µg/mL	160 µg/mL
HCS-L1 (9 e 10)	160 µg/mL	S. A	160 µg/mL
HCS-T1 (1)	160 µg/mL	S. A	80 µg/mL
HCS-T3 (11 e 12)	S. A	S. A	S. A
HCS-T5 (2 e 3)	80 µg/mL	S. A	80 µg/mL
Fluconazol	0,25 µg/mL	32 µg/mL	8 µg/mL

S.A (Sem Atividade na concentração de 320 µg/mL)

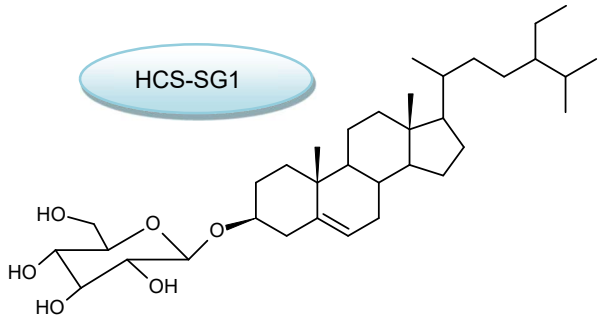
Os resultados mais expressivos do ensaio antifúngico demonstram que o esteroide glicosilado (HCS-SG1) foi o mais promissor, com inibição de 100% na concentração de 40 µg/mL para *C. albicans,* seguido das substâncias em mistura (HCS-T5), na concentração de 80 µg/mL e de 160 µg/mL para as substâncias HCS-L1. Já para os isolados testados contra *Cryptococcus gatti,* as substâncias HCS-T1 e HCS-T5 apresentaram-se ativa, com 100% de inibição nas concentrações em 80 µg/mL, acompanhado das substâncias HCS-SG1, HCS-L1, com inibição de 160 µg/mL. Enquanto que, para o *Candida krusei,* apenas a substância HCS-SG1 apresentou atividade na concentração de 160 µg/mL.

HCS-T1



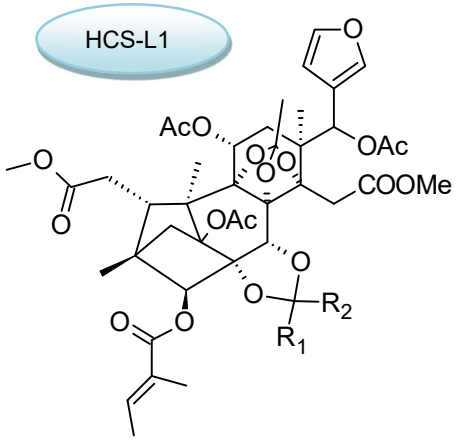
(**1**)

HCS-SG1

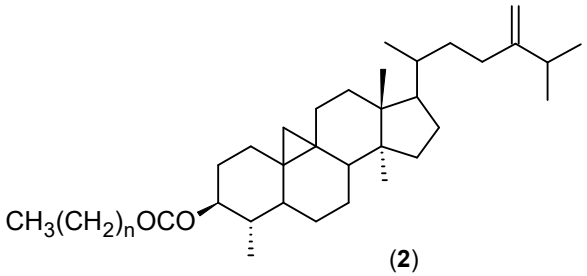


(**19**)

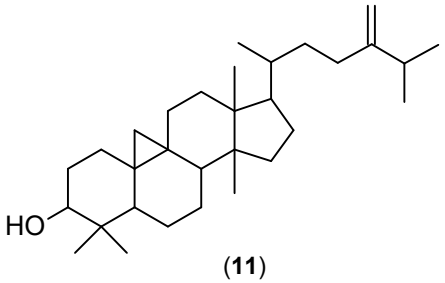
HCS-L1



(**9**) R1 = *β*-Et R2= *α*-OH
(**10**) R1 = *α*-Et R2 = *β*-OH

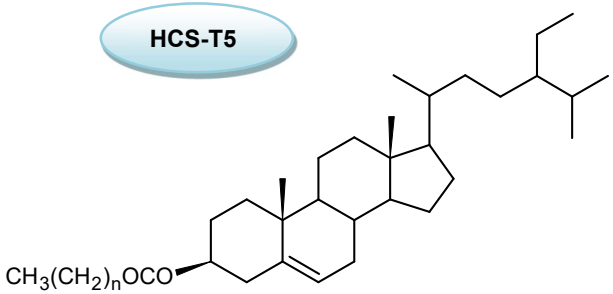


(**2**)



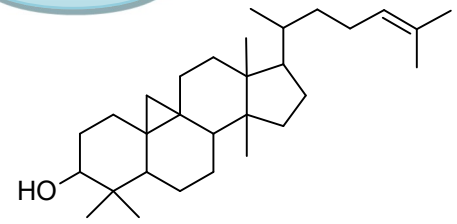
(**11**)

HCS-T5



(**3**)

HCS-T3



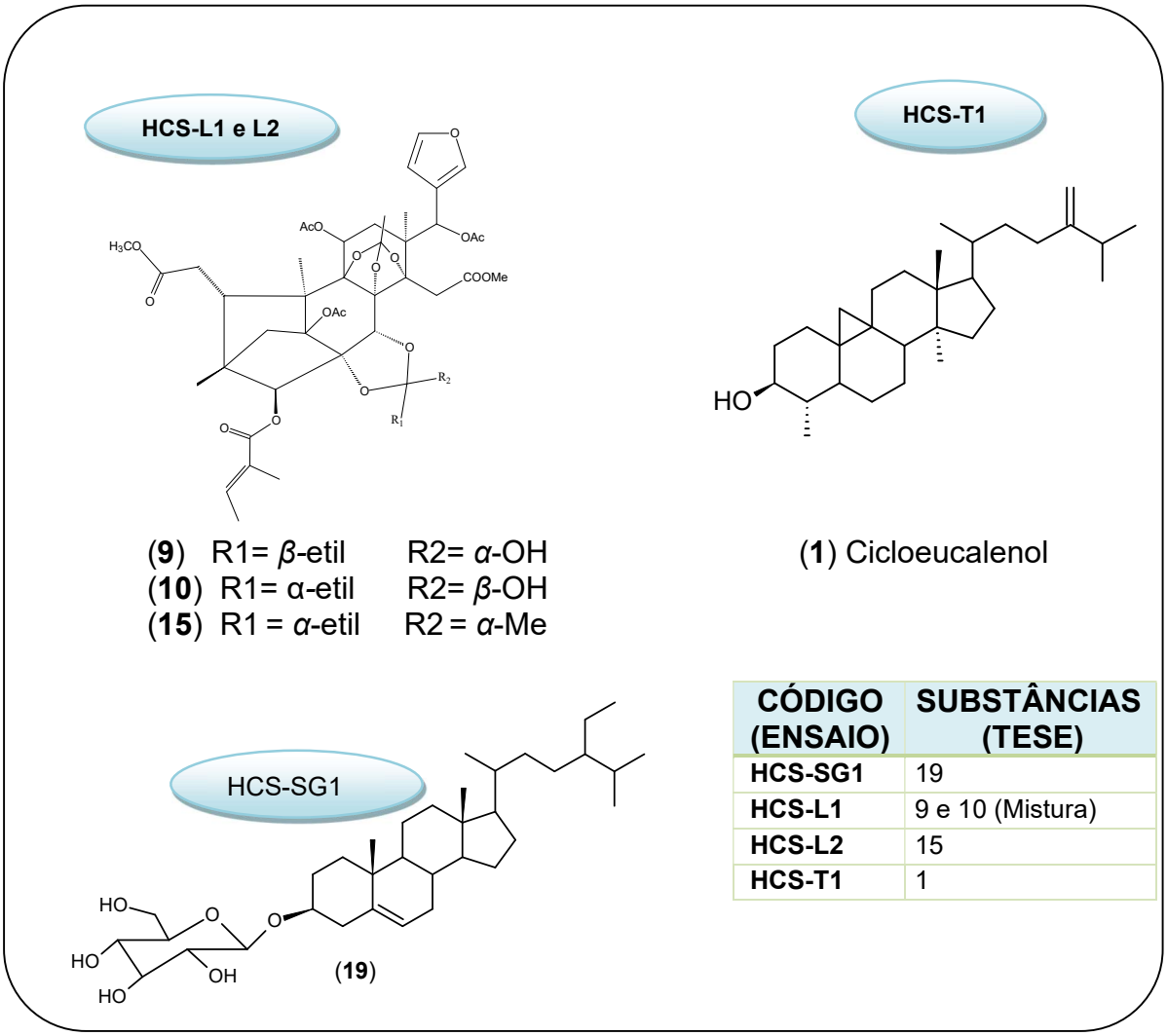
(**12**)

CÓDIGO (ENSAIO)	SUBSTÂNCIAS (TESE)
HCS-SG1	19
HCS-L1	9 e 10 (Mistura)
HCS-T1	1
HCS-T3	11 e 12 (Mistura)
HCS-T5	2 e 3 (Mistura)

Figura 152. Estruturas das substâncias utilizadas no ensaio fungicida

6.7.2 Atividade inseticida sobre as ninfas de *Bemisia tabaci*

Para avaliação da atividade inseticida das substâncias (Figura 153) provenientes dos resíduos de madeira de *Swietenia macrophylla*, foi realizado o teste de sensibilidade para testar a eficiência destes compostos naturais no inseto *B. tabaci,* biótipo B, sob condições de semi-campo em casa de vegetação.



CÓDIGO (ENSAIO)	SUBSTÂNCIAS (TESE)
HCS-SG1	19
HCS-L1	9 e 10 (Mistura)
HCS-L2	15
HCS-T1	1

Figura 153. Estruturas dos compostos utilizados no ensaio inseticida

Os resultados de mortalidade obtidos nos testes *in vitro*, são evidenciados na tabela **41.** Resumidamente, os tratamentos demonstram que os limonóides (**15)** e (**9** e **10**), obtiveram o melhor resultado ao efeito de mortalidade causado nas ninfas com 53,88 e 52,31%, respectivamente. Já o triterpeno (**1**) apresentou porcentagem de mortalidade de 33,67%, seguido do composto **19** (18,70%) que apresentaram atividade menor em comparação com controle positivo Evidence WG700 (41,25%). Todos tiveram os resultados em uma concentração de 1 mg/mL.

Tabela 41. Mortalidade obtidos nos testes de sensibilidade

Tratamento	Mortalidade (%)
HCS-L2 (**15**)	53,88±0,32 **a**
HCS-L1 (**9** e **10**)	52,31±0,53 **b**
Evidence WG700 (1g/L)	41,25±0,45 **c**
HCS-T1 (**1**)	33,67±0,23 **d**
HCS-SG1 (**19**)	18,70±0,19 **e**
Acetona P.A.	16,93±0,20 **f**

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente (p≤0,05) pelo Teste de Tukey

Os limonóides fragmalinas (HCS-L1, HCS-L2) mostraram-se mais eficiente em relação ao triterpeno cicloeucalenol (**HCS-T1)** e ao esteroide glicosilado (**19),** que provavelmente são justificados por serem substâncias altamente oxigenados. E que, de alguma forma esse alto grau de oxigenação acaba influenciando na atividade ninficida, seja na produção de toxicidade as ninfas, desativação de enzimas, formação de radicais de oxigênio ativos ou pelas propriedades antialimentares que é característica dos limonóides. A exemplo, temos a azadiractina que é tóxica a insetos, tem efeito de repelência e inibe a alimentação e crescimento destes (SCHMUTTERER, 1990; BEARD, 1989;

MORDUE e BLACKELL, 1993). Da mesma forma, o limonóide **15** com atividade um pouco superior à mistura de **9** e **10**, podem ser explicadas estruturalmente pela troca de um grupo metoxila por hidroxila, ou seja a substância **15** com grupo metóxi apresenta maior atividade frente ao inseto. Esses, são os primeiros relatos de atividade inseticida com *Bemisia tabaci* com as substâncias aqui relatada.

7 CONCLUSÃO

Os estudos fitoquímicos trouxeram mais informações do perfil químico até então nunca relatadas na madeira de *S. macrophylla*, com a predominância de compostos da classe dos triterpenos cicloartânicos (cicloeucalenol, cicloeucalenona, cicloartenol, *24*-metileno-cicloartan-*3β-ol,* cicloart-23-*eno*-3,25-*diol e* cicloeucalenol éster), além dos triterpenos (*α*-amirina e *β*-amirina), foram também encontrados esteroides (*β*-sitosterol, estigmasterol, sitosterol éster e sitosterol-3-*O-β*-D-glucopyranosideo), derivados do benzaldeído (2,4-diidroxibenzaldeído, 3,4-diidroxibenzaldeídeo e 3,4-diidroxiacetofenona), cumarina (escoporona) e três novos limonóides do tipo fragmalina (11-acetoxi-1”α-hidroxi-swietenitina K, 11-acetoxi-1”β-hidroxi-swietenitina K e 11-acetoxi-swietenitina K).

Na busca por substâncias com potencial biológico, todas as substâncias testadas contribuíram com os primeiros relatos de atividade inseticida frente às ninfas de *Bemesia tabaci* (mosca branca) e fungicida frente às cepas de *Candida albicans*, *C. Krusei* e *Criptococcus gatii*.

A importância de agregar valor aos resíduos madeireiros descartados foi demonstrada na presente pesquisa, através de conhecimentos fitoquímicos, pois através da doação dos resíduos da madeira de mogno, foi possível conhecer a natureza química e biológica da madeira, uma vez que, mesmo sendo uma madeira envelhecida, preservou várias classes de metabolitos secundários, especialmente os triterpenos e limonoides, que provavelmente refletem em sua resistência.

8 REFERÊNCIAS

ABDEL-MONEM, A.; ABDEL-SATTAR, E.; HARRAZ, F.; FRANK PETEREIT, F. 2008. Chemical Investigation of *Euphorbia schimperi* C. Presl. *Records Natural Products*, 2: 39-45

AKIHISA, T. 1997. 4-Epicycloeucalenone and 4-epicyclomusalenone: two 3- oxo-28-norcycloartanes from the fruit peel of *Musa sapientum* L. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 45:744-746.

ANAYA, A. L.; RUBALCAVA, M. M.; ORTEGA, R. C. *et al.,* 2005. Allelochemicals from *Stauranthus perforates* a Rutaceous tree of the Yucatan Peninsula Mexico. *Phytochemistry,* 66: 487-494.

APG (Angiosperm Phylogeny Group). http://www.mobot.org/MOBOT/research/ APweb/. Acesso em 03/01/2022.

AZEVEDO, F. R.; GUIMARÃES, J.A.; SOBRINHO, R.B.; LIMA, M. 2005 eficiência de produtos naturais para o controle de *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae) em meloeiro. Arq. Inst. Bio, São Paulo, 72: 73-79.

BARBOSA, A.P.; VIANEZ, B.F.; VAREJÃO, M.J.; ABREU, R.L. 2001. Considerações sobre o perfil tecnológico do setor madeireiro na Amazônia Central. *Parcerias Estratégicas*, 12: 42-61.

BEARD, J. 1989. Tree may hold the key to to curbing Chagas' parasite. *New Scientist*, 124: 1688- 1731.

BONDAR, G. 1928. Aleyrodidos do Brasil: 2ª contribuição. *Boletim do Laboratório de Pathologia Vegetal do Estado da Bahia*. Salvador, 5: 1-17.

BOUIC, P. J. D.; LAMPRECHT, J. H. 1999. Plant sterol and sterolins: A review of their immune-modulating properties. *Alternative Medicine Review*, 4: 170-177.

BRASIL. Decreto número 3.559 de 14 de agosto de 2000. Suspende a exploração da espécie mogno (*Swietenia macrophylla*), na região Amazônica, pelo período de dois anos, e dá providência. Diário Oficial da Nação, Brasília, D.O.U. DIA 15/08/2000 SEÇÃO 1, p. 02.
CAMARGO, R. S. 2011. Morfologia interna. In: FUJIHARA, R.T. et al. (Ed.). Insetos de importância econômica: guia ilustrado para identificação de famílias. Botucatu: Fepaf. 24: 43-61.

CAMPOS, C.S.; ANDRADE, M.C. 2011. Aproveitamento de resíduos madeireiros para o cultivo do cogumelo comestível *Lentinus strigosus* de ocorrência na Amazônia. *Acta Amazonica*, 41:1-8.

CARVALHO, P.E. 2007. Mogno *Swietenia macrophylla*. Circular Técnica (EMBRAPA), 40: 1-12.

CHAMPAGNE, D. E.; KOUL, O. L.; ISMAN, M. B.et al. 1992. Biological activity of limonoids from the Rutales. *Phytochemistry*, 31: 377-394.

CHANG, Z.-Q.; GEBRU, E.; LEE, S.-P.; RHEE, M.-H.; KIM, J.-C.; CHENG, H.; PARK, S.-C. 2011. Atividade antioxidante e anti-inflamatória *in vitro* do protocatecualdeído isolado de *Phellinus gilvus*. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 57: 118–122.

CHAVES, M.; CITÓ, A.; LOPES, J.; COSTA, D.; OLIVEIRA, C.; COSTA, A.; BRITO JÚNIOR, F. 2010. Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 20: 106-112.

CHAWLA, A.; KAPOOR, V.; SANGAL, P. 1978. Cycloart–23–ene–3β, 25–diol from *Tricholepis glaberrima. Planta Medica,* 34:109-110.

CHEN, J.J.; HUANG, S.S.; LIAO, C. H.et al. 2010. A new phragmalin-type limonoid and anti-inflammatory constituents from the fruits of *Swietenia macrophylla*. *Food Chemistry*, 120: 379-384.

CHEN, L.C.; LIAO, H.R.; CHEN, P.Y. et al. 2015. Limonoids from the Seeds of *Swietenia macrophylla* and Their Anti-Inflammatory Activities. *Molecules*, 20: 18551-18564.

CHENG, Y.; CHIEN, Y.; LEE, J.; TSENG, C.; WANG, H.; LO, I.; CHANG, F; 2014. Limonoids from the Seeds of *Swietenia macrophylla* with Inhibitory Activity against Dengue Virus 2. *Journal of Natural Products*, 77:2367–2374.

CHIMELI, A. B.; BOYD, R. G. 2010. Prohibition and the Supply of Brazilian Mahogany. *Economics,* 86: 191-208.

CIOCIOLA, J. A. I.; MARTINEZ, S. S. Nim: alternativa no controle de pragas e doenças. Belo Horizonte: EPAMIG, 2002. 24 p. (Boletim Técnico, 67).

CLSI - Clinical And Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts, CLSI M27 – A3 (28). 3rd ed.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T. 2003. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 36:599-607.

CONNOLLY, J.; MCCRINDLE, R.; OVERTON, K.; WARNOCK, W. 1965. Swietenolide. *Tetrahedron Letters*, 6: 2937-2940.

CONNOLLY, J.D.; LABBÉ, C. 1980.Tetranortriterpenoids and related compounds. Part 24. The interrelation of swietenine and swietenolide, the major tetranortriterpenoids from the seeds of *Swietenia macrophylla* (Meliaceae*). Journal of the Chemical Society.* 1:529-530.

CORREIA, F.; TARGANSKI, S.; BOMFIM. T.; DA SILVA, Y.; VIOLANTE, I.; DE CARVALHO, M.; SOUSA JR, P.; SILVA, V.; RIBEIRO, T. 2020. Chemical constituents and antimicrobial activity of branches and leaves of *Cordia insignis* (Boraginaceae). *Revista Virtual de Química,* 12: 809-816.

COSTA, J. R.; MORAIS, R. R. CAMPOS, L. S. 2013. Cultivo e manejo do mogno (*Swietenia macrophyll*a King). Manaus, AM: Embrapa Amazônia Ocidental.40p.

COUTO, G. M. 2009. Utilização de serragens de *Eucalyptus* sp. na preparação de carvões ativados. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras - Minas Gerais. 89p.

DEWANJEE. S.; KUNDU. M.; MAITI A.; MAJUMDAR R.; MAJUMDAR A.; MANDEL S.C. 2007. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of crude plant extract *Diospyros peregrina, Coccinia grandis* and *Swietenia macrophylla. Tropical Journal of Pharmaceutical Research,* 6: 773-77.

DEWICK, P. M. (2004) Medicinal natural products. A biosythetic approach. 2. ed. Chichester:John Wiley & Sons LTD, 507p.

DUAN, J.-Y.; WANG, Y.-J.; CHEN, W.; ZHAO, Y.-Q.; BAI, Z.-H.; HE, V;CHUN-PING ZHANG. 2021. Limonoids isolated from fruits of *Swietenia macrophylla* king enhance glucose consumption in insulin-resistant HepG2 cells via activating PPARγ. *Journal of Food Biochemistry,* 45:1-11.

EKHUEMELO, D. O.; AGBIDYE, F. S.; ANYAM, J. V.; EKHUEMELO, C.; IGOLI, J. O. 2019. Antifungal Activity of Compounds obtained from Sawdust and Stem Bark of Sasswood Tree (*Erythrophleum suaveolens*) *on Wood Rot Fungi. Journal of Applied Sciences and Environmental Management, 23:1685.*

FALAH, S.; SUZUKI, T.; KATAYAMA, T. 2008. Chemical Constituents From *Swietenia macrophylla* bark and their antioxidant activity. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11: 2007-2012.

FANG, X.; DI, Y.T.; HAO, X.J. 2011. Advances in limonoid chemistry of the Meliaceae family. *Current Organic Chemistry,* 15:1363-1391.

FARIA, J. C.; ANJOS, J. R. N.; COSTA, A. F.; 1996. Doenças causadas por vírus e seu controle. In: ARAÚJO, R.D.; RAVA, C.A.; STONE, L.F. et al. Cultura do feijoeiro comum no Brasil. Piracicaba, Potafos. p. 731-769.

FERREIRA, J. T.; CORRÊA, A. L. & VIEIRA, P. C2001. "Produtos Naturais no controle de insetos". Série de Textos da Escola de Verão em Química, vol. III, EdUFSCar,176 p.

FOWLES, R.G.; MOOTOO, B.; RAMSEWAK, R.; REYNOLDS, W.; LOUGH, A. 2007. 3, 6-di-O-acetylswietenolide 0.25-hydrate. *Acta Crystallographica E*, 63: 660-661.

FURLAN, M.; ROQUE, N. F.; FILHO, W. W. 1993. Cycloartane derivatives from *Guarea trichilioides*. *Phytochemistry*, 32: 1519-1522.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA-NETO, S. 2002. Entomologia agrícola. Piracicaba: FEALQ, p. 920.

GARCIA, M. G.; NASCIMENTO, C. C.; FERREIRA, A. G.; LIMA, M. P. 2018. Identification of isoflavonoids in residue wood from *Swartzia laevicarpa*, *Dipteryx odorata* and *Andira parviflora*. *Chemistry Of Natural Compounds*, 54 (5): 00-00.

GATEHOUSE, A. M. R.; BOULTER D; HILDER, V.A. 1992. Biotechnology in Agriculture N° 7: Plant Genetic Manipulation for Crop Protection. *CAB International*, 3: 155-181.

GILL, R. J. 1990. The morphology of whiteflies. pp. 13-45 in: Gerling D. (ed.), Whiteflies: their bionomics, pest status, and management. Intercept ltd., Andover, Hants, England, 348 p.

GODOY, M.F.; VICTOR, S.R.; BELLINI, A.M. et al. 2005. Inhibition of the symbiotic fungus of leaf-cutting ants by coumarins. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16: 669-672.

GOH, B.H.; KADIR, A. 2011. In vitro cytotoxic potential of *Swietenia macrophylla* King seeds against human carcinoma cell lines. *Journal of Medicinal Plants*, *5:* 1395–1404.

GOMES, Renan F. Avaliação dos constituintes químicos em resíduos madeireiros de *Inga alba* Willd. e *Inga paraenses* Ducke. 2015. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM, 132p.

GÓMEZ-GAVIRIA, M.; RAMÍREZ-SOTELO, U.; MORA-MONTES, H. M. 2023. Non-*albicans Candida* Species: Immune Response, Evasion Mechanisms, and New Plant-Derived Alternative Therapies. *Journal of Fungi*, 9: 1-11.

GROGAN, J.; BARRETO, P.; VERÍSSIMO, A. 2002. Mogno na Amazônia Brasileira: Ecologia e Perspectivas de Manejo. Imazon, Belém, 40p.

GRUBER, G,; KERSCHENSTEINER, L,; STEGLICH, W. 2014. Chromapedic Acid, Pulvinic Acids and Acetophenone Derivatives from the Mushroom *Leccinum chromapes* (Boletales) Zeitschrift fur Naturforsch., 69: 432-438

HAJI, F. N. P.; FERREIRA, R. C. F.; MOREIRA, A. N. 2004. Descrição morfológica, aspectos biológicos, danos e importância econômica. In: HAJI, F.N.P.; BLEICHER, E. (Ed.) Avanços no manejo da mosca-branca *Bemisia tabaci* biótipo B (Hemiptera: Aleyrodidae). Petrolina: Embrapa Semi-Árido, p. 21- 30.

HAYASIDA, W.; SOUSA, A.S.; LIMA, M.P.; NASCIMENTO, C.C.; FERREIRA, A.G. 2008. Proposta de aproveitamento em resíduos de pau-rainha (*Brosimum rubescens*) descartados pelo setor madeireiro. *Acta Amazonica*, 38:749-752.

HAYASIDA, W.; SOUSA, A.S.; LIMA, M.P.; NASCIMENTO, C.C.; FERREIRA, A.G. 2011. Resíduos madeireiros do alburno de pau-rainha (*Brosimum rubescens*): Investigação de metabólitos secundários e alguns aspectos tecnológicos. *Acta Amazonica*, 41: 285-288.

IMAZON (Instituto do Homem e do Meio Ambiente da Amazônia). Disponivel em: https://imazon.org.br/mogno-na-amazonia-brasileira-ecologia-e-perspectivas-de-manejo/. Acesso em: 24 março de 2022.

KAMAL, I. M.; AL-HADAD, Z. A. 2023. Isolation and molecular identification of Pathogenic *cryptococcus gattii* from natural habitat. *Eastern Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 3: 30-38.

KHUONG-HUU, F. 1975. Carbon-13 nuclear magnetic resonance spectral analysis of cycloartanol. *Tetrahedron, Letters*, 22: 1787-1790.

KIKUCHI, T.; KADOTA, S.; TSUBONO, K. 1986. Studies on the Constituents of Orchidaceous Plants. IV. Proton and Carbon 13 Signal Assignments of Cycloeucalenol – Tipe Triterpenes from Nervilia purpurea SCHLECHTER by Two-Dimensional Nuclear Magnetic Ressonance Spectroscopy. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 34 (6): 2479-2486.

KIM, YJ; NÃO, JK; LEE, JS; KIM, MS; CHUNG, HY. 2006. Atividade antimelanogênica de 3,4-dihidroxiacetofenona: Inibição de tirosinase e MITF. Biosci. Bioquenol. Bioquímica.70: 532-534.

KOJIMA, H.; SATO, N.; HATANO, A.; OGURA, H. 1990. Sterol glucosides from *Prunella vulgaris. Phytochemistry,* 29: 2351–2355.

KOJIMA, K.; ISAKA, K.; OGIHARA, Y. 1998. Tetranortriterpenoids from *Swietenia macrophylla. Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 46: 523-525.

KONGKATHI P,N.; DHUMMA-UPAKOR N,P.; KONG KATHIPK, B.; CHAWANANORASET, K.; ANGCHOMKAEO,P.; HATTHAKITPANIC HAKUL,S. 2002.Studyon cardiac contractility of cycloeuclonol and cycloeucalenone isolated from *Tinospora crispa*. *Journal of Ethnopharmacology*. 83: 95-99.

KRETZER, Sara A. Infecções relacionadas à assistência à saúde em hospital universitário de Santa Catarina: perfil epidemiológico de candidemia no período de janeiro de 2009 a dezembro de 2013. (2015). Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, 120f.

LAMPRECHT, H. Silvicultura nos trópicos. *Eschborn: GTZ*, 1990. 343 p.

LARA, F.M. 1991. Princípios de resistência de plantas a insetos. São Paulo, *Icone*, 336 p.

LEIMANN, B. C. Q.; KOIFMAN, R. J. 2008. Meningite criptocócica no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, no período de 1994 a 2004. *Cadernos de Saúde Pública*, 24: 2582-2592.

LIMA, J. A.O.; HAYASIDA, W. ; GARCIA, M. G.; FREITAS, J.A.; NASCIMENTO, C.C. ; QUEIROZ, L. H. K. ; LIMA, M.P. 2022. Chemical investigation and anatomical aspects of wood residues from *Hymenaea courbaril* L, *Platymiscium ulei* Harms, *Hymenolobium petraeum* Ducke. *International Journal for Innovation Education and Research*, 10:34-46.

LIN, B.; ZHANG, C.; YANG, S.; ZHANG, S.; WU, Y.; YUE, J. 2009. D-Ring-Opened Phragmalin-Type Limonoid Orthoesters from the Twigs of *Swietenia macrophylla*. *Journal of Natural Products*, 72: 1305-1313.

LIU, J. Q.; WANG, C. F.; CHEN, J. C.; QIU, M. H. 2012. Limonoids from the leaves of *Swietenia macrophylla*. *Natural Product Research,* 26: 1887-1891.

MA, Y.-Q.; JIANG, K.; DENG, Y.; GUO, L.; WAN, Y.-Q.; TAN, C.-H. (2017). Mexicanolide-type limonoids from the seeds of *Swietenia macrophylla*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 20: 299–305.

MA, Y-Q; LIU, M.-H.; JIANG, K.; GUO, L.; QU, S.-J.; WAN, Y.-Q.; TAN, C.-H. 2018. Limonoids from the fruits of Swietenia macrophylla with inhibitory activity against H 2 O 2 -induced apoptosis in HUVECs. *Fitoterapia*, 129:179-184.

MAITI, A.; DEWANJEE, S.; JANA, G.; MANDAL, S.C. 2008. Hypoglycemic effect of *Swietenia macrophylla* seeds against type II diabetes. *International Journal of Green Pharmacy,2*: 224–227.

MARTIN, J. H.; MIFSUD, D.; RAPISARDA, C. 2000. The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and the Mediterranean Basin. Bulletin of Entomological Research, Lanham Royal, 90: 407- 448.

MATOS, A. P; NEBO, L; VIEIRA, P. C; SILVA, M. F; RODRIGUES, R. R. 2009. Constituintes químicos e atividade inseticida dos extratos de frutos de *Trichilia elegans* E T. catigua (Meliaceae). *Química Nova*, 32: 1553-1556.

MELO, L. E. S,; SILVA, J. B,; NASCIMENTO, C. C,; FERREIRA, A. G,; LIMA. M. P. 2020. Identification of phenolic compounds and their relationship to the natural resistance of Wood

from *Dipteryx polyphylla* Huber and *Acacia mangium* Willd. *International Journal for Innovation Education and Research*, 8: 471-480.

MELO, L. E. S.; CRUZ, K. S.; SOARES, P. I. L.; NASCIMENTO, C. C.; SOUZA, J. V. B.; MARCELINO, B. M.; ANDRADE-NETO, V. F.; FERREIRA, A. G.; LIMA, M. P. (2019). Antifungal and Antiplasmodial Activity of Isolated Compounds from *Handroanthus serratifolius* (Vahl) S. Grose Sawdusts. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, *6*(9).

MI, C.-N.; LI, W.; CHEN, H.-Q.; WANG, J.; CAI, C.-H.; LI, S.-P.G; MEI, W.-LI.; DAI, H.-F. 2018. Two new compounds from the roots of *Swietenia macrophylla. Journal of Asian Natural Products Research, 1:1-8.*

MI, C.-N.; WANG, H.; CHEN, H.-Q.; CAI, C.-H.; LI, S.-P.; MEI, W.-L.; DAI, H. -F. 2019. Poliacetilenos das Raízes de *Swietenia macrophylla* King. *Molecules,* 24:1291.
MOOTOO, B.; ALI, A.; MOTILAL, R.; et al. 1999. Limonoids from *Swietenia macrophylla* and *S. aubrevilleana*. *Journal Natural Products*, 62: 1514-1517.

MORDUE A. J.; BLACKWELL, A. 1993. Azadirachtin: a update. *Journal of Insect Physiology*, 39: 903-924.

MOUTINHO, V. H.; ROCHA, J. J.; AMARAL, E.P. et al. 2016. Propriedades químicas e energéticas de madeiras Amazônicas do segundo ciclo de corte. *Floresta e Ambiente*, 23: 443-449.

NAIR A.N.S.; NAIR R.V.R.; NAIR A.P.R.; NAIR A.S.; THYAGARAJAN S.; JOHNSON J, et al. 2020. Antidiabetes constituents, cycloartenol and 24-methylenecycloartanol, from Ficus krishnae. PLoS ONE, 15(6): 235-221.

NASCIMENTO, C.C. 2007. Artefatos de madeira tipo exportação. *Revista Amazonas Ciência* - Especial Pappe, 3: 23-27.

NOGUEIRA, Paulo A. Duarte. Resíduos madeireiros de *Cedrela odorata* L. de demolição: investigação fitoquímica e atividade antifúngica. 2018. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus – AM, 91f.

OLIVEIRA, M. A. S.; ICUMA, I. M.; ALVES, R. T. *et al*. 2000. Avaliação de surtos de mosca-branca em áreas do sistema produtivo de melão, soja e feijão. Planaltina: EMBRAPA, *Comunicado Técnico*, 29:1-10.

ONDEYKA, J.G.; JAYASURIY A,H.;HERATH, K.B.; GUAN,Z.; SCHULMA N,M.; COLLADO,J.; DOMBROWSKI, A.W.; KOWN, S.S.; MCCALLUM, C.; SHARMA, N.; MMECNAU, K.; HAYES, N.; MENK, J.;SINGH,S.B. 2005. Steroidal and triterpenoidal fungal metabolites as ligand of fliver x receptors. *Journal of Antibiotic*. 58: 559-565.

PAMPLONA, S.; SÁ, P.; LOPES, D.; et al. 2015. In Vitro Cytoprotective Effects and Antioxidant Capacity of Phenolic Compounds from the Leaves of *Swietenia macrophylla. Molecules*, 20: 18777-18788.

PARK, B. J.; WANNEMUEHLER, K. A.; MARSTON, B. J.; GOVENDER, N.; PAPPAS, P. G.; CHILLER, T. M. 2009. Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. *Aids*, 23: 525-530.

PENNINGTON, T.D., STYLES B.T.; TAYLOR, D.A.H. 1981. Meliaceae. Flora Neotropical, New York, 28: 1- 470.

PEREIRA, T. C. D.; BARROS, R. A. M. D. 2012. *Cryptococcus neoformans* E *Cryptococcus gattii*: Perspectivas sobre a eco-epidemiologia e novos nichos ecológicos. *FACIDER-Revista Científica*, 1:1-21.

PHILLIPSON, J. D. 2001. Phytochemistry and medicinal plants. *Phytochemistry*, 56: 237-243.

PRACHAYASITTIKUL, S.; BURAPARUANGSANG, P.; WORACHARTCHEEWAN, A.; ISARANKURA C.; RUCHIRAWAT, S.; PRACHAYASITTIKUL V. 2008. Antimicrobial and antioxidative activities of bioactive constituents from *Hydnophytum formicarum*. Jack. *Molecules*.13:904- 21.

ROBBS, C. F. E. & BITTENCOURT, A. M. 1996. O controle biológico de insetos nocivos à agricultura com o emprego de fungos imperfeitos ou hifomicetos. Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, n°6.

RODAN, B. D.; NEWTON, A. C.; VERISSIMO, A. (1992). Mahogany Conservation: Status and Policy Initiatives. *Environmental Conservation*, 19: 331.

RODRIGUES, D.R.S; SANTIAGO, W.O; SANTOS, H.C; NASCIMENTO, C.C; JOÃO SOUZA, J.V.B; CORTEZ, A.C.A; BRUNO BEZERRA JENSEN, B.B; WYREPKOWSKI, C.D.C; FRANCO, A. M. R e LIMA, M.P. 2022. 5-Alkylresorcinols From *Roupala montana* Aubl. Wood Residues And Their Leishmanicidal And Antifungal Activities. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 13: 145-150.

ROY, A.; SARAF, S. 2006. Limonoids: Overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. *Biology and Pharmaceutical Bulletin*, 29: 191-201.

RUAN, X.; LI, Z.; WANG, Q.; PAN, C.; JIANG, D.A.; WANG, G. 2011. Autotoxicidade e Alelopatia de 3,4-Dihidroxiacetofenona Isolada de Agulhas de *Picea schrenkiana. Moléculas*, 16: 8874-8893.

SAAD, M.; IWAGAWA, T.; DOE, M.; NAKATANI, M. 2003. Swietenialides, novel ring D opened phragmalin limonoid orthoesters from *Swietenia mahogani* JACQ. *Tetrahedron*, 59: 8027–8033.

SALES, C.C.; ABREU, R.L.S.; VIANEZ, B.F. 2000. Indústrias madeireiras de Manaus, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, 30: 319-331.

SAMARANAYAKE, Y. H.; SAMARANAYAKE, L. P. 1994. *Candida krusei*: biology, epidemiology, pathogenicity and clinical manifestations of an emerging pathogen. *Journal of medical microbiology*, 41: 295-310.

SCHMUTTERER, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology*,35: 271-297.

SCHMUTTERER, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annual Review of Entomology*, 35: 271-297.

SILVA, M. F, ET AL. 1999. Química de *Toona ciliata* e enxerto de *Cedrela odorata* (Meliaceae): significado quimiossistêmico e ecológico. *Pure and Applied Chemistry,* 71: 1083-1087.

SILVA, M. N.; ARRUDA, M. S .P.; CASTRO, K .C. F.; SILVA, M. F. G.; FERNANDES, J. B.; VIEIRA, P. C. 2008. Limonoids of the phragmalin type from *Swietenia macrophylla* and their chemotaxonomic significance. *Journal of Natural Products*, 71: 1983-1987.

SILVA, Samirimi, J. Estudo químico em resíduos madeireiros de espécies secretoras: *Protium tenuifolium* (Burseraceae) e *Manilkara huberi* (Sapotaceae). 2015. Tese (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM, 126f.

SNOOK, L.K (1992). Exploração madeireira e mogno nas florestas de Quintana Roo, México: Por que o manejo silvicultural é necessário para sustentar *Swietenia macrophylla .Tropical Forest Foundation*, 9: 3-4

SOLOMON, K. A.; MALATHI, R.; RAJAN, S.; NARASIMHAN, S.; NETHAJI, M. 2003. Swietenine. *Acta Crystallographica E,* 59: 1519-1521.

SOUZA, Eden S. Análise do alvo predito da plumieridina *em Cryptococcus neoformans*. 2020. Dissertação (Mestrado em Bioinformática) - Instituto Metrópole Digital, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 56f.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. 2005. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado na APG II. 2nd ed. Nova Odessa, *Instituto Plantarum*, 640p.

SYAFNI, N,; PUTRA, D.; ARBAIN, D. 2012. 3,4-dihydroxybenzoic acid and 3,4-dihydroxybenzaldehyde from the fern Trichomanes chinense L.; isolation, antimicrobial and antioxidant properties. *Indonesian Journal of Chemistry* 12: 273-278.

TAKAHASHI, J. A.; LIMA, G. S.; DOS SANTOS, G. F.; LYRA, F. H.; HUGHES, A. F.; GONÇALVES, F. A. G. 2017. Fungos filamentosos e química: velhos conhecidos, novos aliados. *Revista virtual de química*, *9*: 2351-2382.

TAN, S. K.; OSMAN, H.; WONG, K. C.; BOEY, P. L. 2009. New phragmalin-type limonoids from Swietenia macrophylla king. *Food Chemistry,* 115:1279-1285.

TAN, S. K.; OSMAN, H.; WONG, K. C.; FUN, H. K.; CHANTRAPROMMA, S. 2008. Swietenolide monohydrate. *Acta Crystallographica E*, 64:1267-1268

TAYLOR, A. R.; TAYLOR, D. A. 1983. Limonoid extractives from *Swietenia macrophylla*. *Phytochemistry*, 22: 2870-2871.

TAYLOR, D.A.H. 1984. The Chemistry of the Limonoids from Meliaceae. Department of Pure and Applied Chemistry, University of Natal, Durban, South Africa, 102p.

TENG, C.M.; LI, H.L.; WU, T.S.; HUNG, S.C.; HUNG, T.F. 1992. Antiplatelet actions of some coumarin compounds isolated from plant sources. *Thrombosis research*, 66: 549-557.

TROPICOS.ORG. Missouri Botanical Garden. Disponível em: <http://www.tropicos.org>. Acesso em: 21 março de 2022.

VERÍSSIMO, A.; BARRETO , P.; TARIFA, R.; UHL, C. 1995. Impactos da exploração de uma espécie de alto valor na Amazônia Oriental: o caso do Mogno*. Forest Ecology and Management*, 72: 39-60.

WEBER, B.; HOESCH,L,;RAST, DM. 1995. Protocatecualdeído e outros fenóis como componentes da parede celular de folhas de videira. *Fitoquímica*, 40, 2, 433-437.

YANG, DS.; WU, XR,; MA, TY.1989. Efeitos de 3,4-dihidroxiacetofenona na biossíntese de TXA 2 e PGI 2 em vilosidades placentárias humanas e segmentos de artéria umbilical in vitro. *Prostaglandinas*, 38,497-504.

ZALABANI, S. M.; EL-ASKARY, H. I.; MOUSA, O. M.; ISSA, M. Y.; ZAITOUN, A. A.; ABDEL-SATTAR, E. 2012. Acaricidal activity of *Swietenia mahogani* and *Swietenia macrophylla* ethanolic extracts against *Varroa destructorin* honeybee colonies. *Experimental Parasitology*, 130: 166-170.