UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA

SESQUITERPENOS E ESTERÓIDES DA CASCA
DO TRONCO DE *GUAREA GUIDONIA* (L.)
SLEUMER (MELIACEAE)

CECILIA VERONICA NÚÑEZ

Dissertação de Mestrado

PROF^a. Dr^a. NIDIA FRANCA ROQUE

Orientadora

São Paulo

-1996-

**“SESQUITERPENOS E ESTERÓIDES DA
CASCA DO TRONCO DE *GUAREA GUIDONIA*
(L.) SLEUMER (MELIACEAE)”.**

CECILIA VERONICA NÚÑEZ

Dissertação de Mestrado submetida ao Instituto de Química da
Universidade de São Paulo como parte dos requisitos necessários à
obtenção do grau de Mestre em Ciências - Área: Química Orgânica.

Aprovada por:

Profa. Dra. Nidia Franca Roque
IQ-USP
(Orientadora e Presidente)

Profa. Dra. Daisy de Brito Rezende
IQ-USP

Prof. Dr. João Luis Callegari Lopes
FCFRP-USP

SÃO PAULO
18 DE ABRIL DE 1996

La Gota de Água

Salió del mar y se encontró en la nube
Después la nube se alejó en el viento
Y por fin al llover
La gota de água se encontró en la raíz del duraznero

Otras gotas quedaron en las ramas
Y al verse tan arriba
Se rieron de la pobre gotita que
Tan abajo y oscuro se había muerto

Pero cuando en el árbol
No quedaba de las gotas brillantes ni el recuerdo
La gota muerta no era muerta
Era jugo en el jugo de un durazno nuevo

José Sebastián Tallón
(de Las Torres de Nuremberg)

À minha mãe, Alicia, por estar sempre presente

Ao meu pai, Rodolfo, pelos conselhos

Ao meu irmão, Leonardo, por existir

Às minhas avós, Raquel (in memoriam) e Aurora

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Nidia Franca Roque, por ser a melhor orientadora que eu poderia ter.

À Mariana Helena Chaves, por ter me ajudado e ensinado tanto durante estes anos e por sua amizade.

À Ana Luísa Lacava, Cláudia Brochini, Clara Miti, Dulce Siqueira, Isabel Moreira, Luciana Retz e ao Alberto Cavalheiro e Norberto Lopes, pela amizade e conselhos.

À Kennia Rocha, Fabiana Fonseca, Ana Paula Danelutte, Patrícia Sartorelli e Paulo Benevides, pela amizade e boas gargalhadas que demos neste período.

À Fernanda Garcez e ao Prof. Dr. Massuo Kato, por trazerem as cascas estudadas, pela amizade e conselhos.

Aos professores, alunos e funcionários do bloco-11-térreo-IQ-USP, por tudo.

A todos os funcionários da Central Analítica, em especial ao Luiz Carlos Roque, pelos espectros.

À Rute, pela amizade e obtenção dos espectros.

Aos “meninos do Comasseto” e todos os alunos da Prof^a. Dr^a. Helena Ferraz, pela amizade, empréstimos e por juntar de uma vez por todas este bloco tão animado.

Às Prof^{as} Dr^{as} Paulette Romoff e Patrícia Macari e Prof^a Luciana Zaterka e ao Prof. Dr. Wilhem Baader, pela amizade e por chegar até aqui.

Ao Prof. Dr. Vicente de Paulo Emerenciano, pela utilização do banco de dados de sesquiterpenos, Sistemats.

Ao CNPq pela bolsa de estudos concedida.

A todos que de alguma maneira contribuíram para eu alcançar este objetivo.

SUMÁRIO

	<i>Página</i>
SUMÁRIO DE TABELAS	iv
SUMÁRIO DE FIGURAS	vi
ABREVIACÕES E SÍMBOLOS UTILIZADOS	ix
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUÇÃO	1
A PLANTA	6
PARTE EXPERIMENTAL	8
1 - EXTRATO HEXÂNICO DA CASCA DO TRONCO DE <i>GUAREA GUIDONIA</i>	8
1.1 - COLETA E EXTRAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL	8
1.2 - FRACIONAMENTO DO EXTRATO HEXÂNICO	9
2 - ÓLEO ESSENCIAL DA CASCA DO TRONCO DE <i>GUAREA GUIDONIA</i>	13

PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS DAS	
CROMATOGRAFIAS E DAS REAÇÕES	
REALIZADAS	16
1 - REAÇÕES	16
1.1 - HIDRÓLISE DE 16 E 17	16
1.2 - METILAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS COM	
DIAZOMETANO	18
2 - CROMATOGRAFIAS	19
2.1 - CROMATOGRAFIAS DE ADSORÇÃO EM COLUNA	19
2.2 - CROMATOGRAFIAS EM CAMADA DELGADA	21
2.3 - CROMATOGRAFIAS A GÁS	22
ESPECIFICAÇÃO DE EQUIPAMENTOS	23
DADOS FÍSICOS DAS SUBSTÂNCIAS	24
IDENTIFICADAS	
IDENTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS	31
1 - ESTERÓIDES DO EXTRATO HEXÂNICO	31
1.1 - SITOSTEROL E ESTIGMASTEROL	31
1.2 - SITOSTEROL ESTERIFICADO COM ÁCIDOS	35
GRAXOS	
1.3 - ESTERÓIDES GLICOSILADOS	39
2 - SESQUITERPENOS DO EXTRATO HEXÂNICO	42
2.1 - AROMADENDRANOS	42
2.1.1 - 10-ALOAROMADENDRANOL	43
2.1.2 - 3-OXA-10-ALOAROMADENDRANOL	49
2.2 - CARIOFILANOS E HUMULANOS	53

2.2.1 - <i>TRANS</i> 1(10)-EPÓXI-4(15)-CARIOFILENO E 1(10)- EPÓXI-4,7-HUMULADIENO	55
2.2.2 - 1(10),4-DIEPÓXI-7-HUMULENO	62
3 - SESQUITERPENOS DO ÓLEO ESSENCIAL	65
3.1 - SEPARAÇÃO DOS SESQUITERPENOS	65
3.2 - IDENTIFICAÇÃO DOS SESQUITERPENOS	76
CONSIDERAÇÕES FINAIS	113
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115

SUMÁRIO DE TABELAS

	<i>Página</i>
Tabela I: Partes estudadas de <i>Guarea guidonia</i> .	2
Tabela II: Obtenção do óleo essencial	13
Tabela III: Fragmentações observadas no espectro de massas para 4, 7, 8, 9, 10, 11 e 12.	28
Tabela IV: Fragmentações observadas no espectro de massas para 1, 2 e 5.	29
Tabela V: Fragmentações observadas no espectro de massas para 3 e 6.	30
Tabela VI: Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (ppm), em CDCl_3 , de 14 e 15	33
Tabela VII: Dados dos espectros de massas dos ésteres metílicos dos ácidos palmítico e olêico.	36
Tabela VIII: Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (ppm), em CDCl_3 , de 3 e 6.	45
Tabela IX: Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (ppm), em CDCl_3 , de 3 e 6.	46
Tabela X: Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (ppm), em CDCl_3 , de 4, 1 e 13.	57
Tabela XI: Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (ppm), em CDCl_3 , de 12, 2 e 5.	58
Tabela XII: Constituintes do óleo essencial.	66

Tabela XIII: Fracionamento do óleo essencial em coluna de sílica impregnada com AgNO_3 .	68
Tabela XIV: Dados de RMN de ^{13}C característicos de alguns carbonos.	78
Tabela XV: Dados de RMN de ^{13}C do grupo IV.	79
Tabela XVI: Dados de RMN de ^{13}C do grupo V.	81
Tabela XVII: Dados de RMN de ^{13}C do grupo VI.	82
Tabela XVIII: Comparação de deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C de cadinadienos.	83
Tabela XIX: Dados de RMN de ^{13}C do grupo XV.	85
Tabela XX: Dados de RMN de ^{13}C do grupo XVIII.	86
Tabela XXI: Cálculos efetuados para a supressão dos efeitos β e γ da hidroxila e adição dos mesmos efeitos provocados pela ligação dupla.	88
Tabela XXII: Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (ppm), em CDCl_3 , de 7, 8, 9, 10 e 11.	89

SUMÁRIO DE FIGURAS

	<i>Página</i>
Figura 1: Substâncias previamente isoladas de <i>Guarea guidonia</i> .	3
Figura 2: Esquema de separação do extrato hexânico.	10
Figura 3: Substâncias isoladas do extrato hexânico.	12
Figura 4: Esquema de separação do óleo essencial.	14
Figura 5: Substâncias identificadas do óleo essencial	15
Figura 6: Esquema de hidrólise de sitosterol esterificado com ácidos graxos	17
Figura 7: Espectro de RMN de ^1H da mistura 14 e 15, em CDCl_3 .	34
Figura 8: Espectro de RMN de ^1H da fração H1.27, em CDCl_3 .	37
Figura 9: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) da fração H1.27, em CDCl_3 .	38
Figura 10: Espectro de RMN de ^1H da fração H42.19.9.22, em acetona- d_6 .	40
Figura 11: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) da fração H42.19.9.22, em acetona- d_6 .	41
Figura 12: Espectro de RMN de ^1H de 3, em CDCl_3 .	47
Figura 13: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) de 3, em CDCl_3 .	48
Figura 14: Espectro de RMN de ^1H de 6, em CDCl_3 .	51
Figura 15: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) de 6, em CDCl_3 .	52
Figura 16: Esqueletos sesquiterpênicos mais abundantes em Angiospermas.	54

Figura 17: Cromatograma a gás da mistura 1 e 2.	59
Figura 18: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) de 1 e 2, em CDCl_3 .	60
Figura 19: Espectro de RMN de ^1H de 1 e 2, em CDCl_3 .	61
Figura 20: Espectro de RMN de ^1H de 5, em CDCl_3 .	63
Figura 21: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) de 5, em CDCl_3 .	64
Figura 22: Cromatograma a gás da casca coletada em Campo Grande (MS).	70
Figura 23: Cromatograma a gás da casca coletada em Araraquara (SP).	71
Figura 24: Cromatograma a gás da fração E9-12.	72
Figura 25: Espectro de RMN de ^1H da fração E9-12, em CDCl_3 .	73
Figura 26: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) da fração E9-12, em CDCl_3 .	74
Figura 27: Cromatograma a gás da fração E2-4.	75
Figura 28: Cromatograma a gás do grupo II.	90
Figura 29: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) do grupo II, em CDCl_3 .	91
Figura 30: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT 135°) do grupo II, em CDCl_3 .	92
Figura 31: Cromatograma a gás do grupo IV.	93
Figura 32: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) do grupo IV, em CDCl_3 .	94
Figura 33: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT 135°) do grupo IV, em CDCl_3 .	95
Figura 34: Cromatograma a gás do grupo V.	96
Figura 35: Cromatograma a gás do grupo VI.	97

Figura 36: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) do grupo V, em CDCl_3 .	98
Figura 37: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT 135°) do grupo V, em CDCl_3 .	99
Figura 38: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) do grupo VI, em CDCl_3 .	100
Figura 39: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT 135°) do grupo VI, em CDCl_3 .	101
Figura 40: Cromatograma a gás do grupo XIII.	102
Figura 41: Espectro de RMN de ^1H do grupo XIII, em CDCl_3 .	103
Figura 42: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) do grupo XIII, em CDCl_3 .	104
Figura 43: Cromatograma a gás do grupo XV.	105
Figura 44: Cromatograma a gás do grupo XVI.	106
Figura 45: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) do grupo XV, em CDCl_3 .	107
Figura 46: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT 135°) do grupo XV, em CDCl_3 .	108
Figura 47: Cromatograma a gás do grupo XVIII.	109
Figura 48: Espectro de RMN de ^1H do grupo XVIII, em CDCl_3 .	110
Figura 49: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT 135°) do grupo XVIII, em CDCl_3 .	111
Figura 50: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT 135°) do grupo XVIII, em CDCl_3 .	112

ABREVIACÕES E SÍMBOLOS UTILIZADOS

Δ^n = ligação dupla.

CC = cromatografia em coluna.

CCDC = cromatografia em camada delgada comparativa.

CCDP = cromatografia em camada delgada preparativa.

CCSi = cromatografia em coluna aberta usando como fase estacionária sílica.

CCFSi = cromatografia em coluna sob pressão usando como fase estacionária sílica.

CCSp = cromatografia em coluna aberta usando como fase estacionária Sephadex LH-20.

DCM = diclorometano.

MeOH = metanol.

RMN de ^1H = ressonância magnética nuclear de hidrogênio.

RMN de ^{13}C = ressonância magnética nuclear de carbono treze.

PND = proton noise decoupling: espectro de RMN de ^{13}C com desacoplamento de protons.

DEPT 135⁰ = Distortionless Enhancement by Polarization Transfer: espectro de RMN de ^{13}C no qual não aparecem os carbonos quaternários e os grupos metilênicos são registrados em fase oposta aos metínicos e metílicos.

J = constante de acoplamento.

TR = tempo de retenção

s = singleto

d = dubleto

dd = duplo dubleto

t = tripleto

m = multiplete

$M^{+\bullet}$ = pico do íon molecular

CG = cromatografia gasosa

CMG = cromatograma a gás

EM = espectrometria de massas

p. = página

UV = ultra violeta

IV = infra vermelho

P = pequeno

“P” = pequeno devido a ser um carbono quaternário

M = médio

G = grande

RESUMO

A presente dissertação descreve um estudo químico das cascas do tronco de *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae). Do extrato hexânico de cascas coletadas de um espécimen localizado em Campo Grande (MS) foram isolados e identificados cinco sesquiterpenos: o *trans* 1(10)-epóxi-4(15)-cariofileno; o 1(10)-epóxi-4,7-humuladieno; o 10-aloaromadendranol (viridiflorol); o 1(10),4-diepóxi-7-humuleno e o 3-oxa-10-aloaromadendranol e quatro esteróides: o sitosterol, o estigmasterol, o palmitato do sitosterol e o oleato do sitosterol. Esteróides glicosilados foram também detectados nesse extrato. Uma destilação por arraste a vapor d'água forneceu o óleo essencial que foi comparado por cromatografia gasosa, com o óleo extraído de cascas de uma planta localizada em Araraquara (SP). Os cromatogramas dos dois óleos indicam que eles possuem composições químicas muito semelhantes. Do óleo essencial obtido do espécimen de Araraquara foram identificados onze sesquiterpenos: o 1(10),4(15),5-germacatrieno (germacreno D), o *cis* 4,10(14)-cadinadieno (γ -muuroleno), o *trans* 4,10(14)-cadinadieno, o 3,9-cadinadieno (δ -cadineno), o 1(10),4(15)-cariofiladieno, o 1,3,11-elematrieno (β -elemeno), o 1(10),4,7-humulatrieno (α -humuleno), o *cis* e o *trans* 1(10)-epóxi-4(15)-cariofileno, o 1(10)-epóxi-4,7-humuladieno e o 10-aloaromadendranol (viridiflorol). Os três últimos sesquiterpenos foram encontrados também no extrato hexânico do espécimen que vive em Campo Grande. As substâncias foram isoladas através de cromatografias de adsorção em sílica gel e desta impregnada com AgNO₃ e identificadas por espectroscopias de RMN de ¹H e de ¹³C (PND e DEPT 135⁰) e de massas.

Errata: onde se lê 3,9-cadinadieno, leia-se 1(10),4-cadinadieno (δ -cadineno).

ABSTRACT

This work describes a chemical study of the bark wood of *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae). The hexanic extract of barks collected from an specimen growing at Campo Grande (MS) afforded five sesquiterpenes: the *trans* 1(10)-epoxi-4(15)-cariofileno; the 1(10)-epoxi-4,7-humuladieno; the 10-aloaromadendranol (viridiflorol); the 1(10),4-diepoxi-7-humuleno and the 3-oxa-10-aloaromadendranol and four steroids: the sitosterol, the stigmasterol, the palmitato of sitosterol and the oleato of sitosterol. From this extract were also detected glycosyl steroids. The essencial oil obtained from a steam water extraction of this barks was compared with that extract from the barks of an Araraquara's plant (SP). The chromatograms of the oils showed that the chemical composition of both oils are very similar.

From the Araraquara's oil were identified eleven sesquiterpenes: the 1(10),4(15),5-germacatrieno (germacreno D), the *cis* 4,10(14)-cadinadieno (γ -muuroleno), the *trans* 4,10(14)-cadinadieno, the 3,9-cadinadieno (δ -cadineno), the 1(10),4(15)-cariofiladieno, the 1,3,11-elematrieno (β -elemeno), the 1(10),4,7-humulatrieno (α -humuleno), the *cis* and the *trans* 1(10)-epoxi-4(15)-cariofileno, the 1(10)-epoxi-4,7-humuladieno and the 10-aloaromadendranol (viridiflorol). The last three sesquiterpenes were also isolated from the hexanic extract. The compounds were isolated by adsorption chromatography on silica gel and on silica gel impregnated by AgNO₃ and identified by ¹H and ¹³C NMR (PND and DEPT 135⁰) and mass spectroscopy.

INTRODUÇÃO

A maioria dos estudos realizados com espécies da família Meliaceae visa o isolamento de triterpenos e tetranortriterpenos, sendo estes denominados de limonóides. Isto deve-se ao fato destas substâncias apresentarem atividades biológicas interessantes tais como inseticida, inibidor de apetite e antitumoral (Taylor, 1984; Lidert et al., 1985). Além disto, as plantas desta família apresentam uma quantidade enorme de usos populares. A *Guarea guidonia* é usada como purgativo, vermífugo e é abortiva (Corrêa, 1926-1978).

Alguns estudos químicos já foram empreendidos com a *Guarea guidonia* (tabela I, p. 2). No entanto, do extrato hexânico da casca do tronco (da qual é extraído o suco utilizado pela população), tinha sido isolado apenas o sitosterol (Zelnik, 1971). O extrato etanólico, da mesma fonte, foi recentemente estudado (Garcez, 1994). As substâncias isoladas anteriormente de *Guarea guidonia* estão mostradas na Figura 1, p. 3.

Tabela I: Partes estudadas de *Guarea guidonia*.

Parte Estudada	Local da Coleta	Referência	Substância(s) Isolada(s) (figura 1)
Sementes	Rio de Janeiro	Zelnik, 1971	I
Casca e Madeira	Rio de Janeiro	Zelnik, 1971	II
Casca da Raiz	?	Lukacova et al., 1982	III a V
Frutos	?	Lins, 1991	VI e VII
Madeira	Amazônia	Wolter Filho, 1991	II, VIII a XV
Folhas	São Carlos	Furlan, 1992	XVI a XXI
Folhas	Amazônia	Furlan, 1993	XXII a XXX
Casca do Tronco	Campo Grande	Garcez, 1993, 1994	XXXI a XXXIV

O objetivo do presente trabalho consiste no isolamento e na identificação ou determinação estrutural de constituintes químicos do extrato hexânico e do óleo essencial da casca do tronco de *Guarea guidonia*. Foram coletadas cascas de dois espécimens, um de Campo Grande (MS) e outro de Araraquara (SP).

Figura 1: Substâncias previamente isoladas de *Guarea guidonia*.

Continuação da figura 1

XIII

XIV

XV

XVI R=O

XVII R= α OHXVIII R= β OH

XIX

XX

XXI

Continuação da figura 1

XXII Δ^{24} ; $R_1=O$; $R_2=R_3=R_4=O$

XXIII e XXVI (epímeros) Δ^{24} ; $R_1=O$; $R_2=R_3=H$; $R_4=OH$

XXV Δ^{23} ; $R_1=O$; $R_2=R_3=H$; $R_5=OH$

XXVI Δ^{24} ; $R_1=O$; $R_2=R_4=H$; $R_3=OH$

XXVII Δ^{24} ; $R_1=\beta OH$; $R_2=R_3=H$; $R_5=OH$

XXVIII Δ^{23} ; $R_1=\beta OH$; $R_2=R_3=H$; $R_5=OH$

XXIX $R_1=\beta OH$; $R_2=OH$; $R_3=R_4=R_5=H$

A PLANTA

A espécie vegetal escolhida para constituir este trabalho de mestrado foi a *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae) (sinonímia de *Guarea trichilioides*) identificada pelo professor Humberto Barreiros da Divisão de Botânica e Sistemática do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, colhida em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, em janeiro de 1992. Esta espécie é encontrada no Brasil desde o Amazonas até o Paraná.

Esta espécie é conhecida no Brasil como Carrapeta verdadeira. Porém, outros gêneros e outras espécies desta família também são conhecidos assim, como: *Gouaré trichilioides* (Desc.), *Guarea aubletii* (Juss.), *G. guara* (Wilson), *G. multijuga* (Juss.), *G. pauciflora* (Sessé e Moc.), *G. purgans* (Saint-Hilaire), *G. sinuata* (Roem.), *G. surinamensis* (Miq.), *Melia guara* (Jack.), *Trichilia guara* (L.), *T. quadrifuga* (Spr.).

A *Guarea guidonia* (L.) Sleumer apresenta outros nomes populares no Brasil, tais como: Açafrota; Bilreiro; Camboatá; Cangerana miúda; Cedrão; Cedro branco; Cedrorana; Gatna-uba, de alguns aborígenes do norte; Gitó ou Jitó; Guaré; Jataúba; Jatuaúba branca; Macaqueiro; Marinheiro; Pau bala; P. de sabão; Taúva; Yaguá rataí; dos Guaranis. Alguns nomes dados no exterior são: Bois à balles, B. balle, B. Pistolet, B. Rouge de Dominique e Pistolet, dos colonos franceses; Cabirma, na República Dominicana; Camboatá, na Argentina; Guanco e Trompeto, na Colômbia; Guaragáo e Yamáo, em Cuba; Musk-wood, na Jamaica; Trompito, na Venezuela.

A *Guarea guidonia* é uma árvore regular de até 20 m de altura e 50 cm de diâmetro. A casca é espessa, cinzenta, lisa. Os ramos são de tom avermelhado-escuro, as folhas chegam a 40 cm. A semente é vermelha. Fornece madeira castanho-avermelhada com estrias mais claras e manchas escuras, dura, com fibras longas e retas, aromática, muito resistente quando em contato com o solo e, devido à presença de uma resina que lhe enche os vasos, inatacável pelos insetos, própria para a construção civil e naval. A casca do caule, desprovida de epiderme, é amarela, resinosa, produzindo suco amargo, adstringente, purgativo, vermífugo, antipirético, abortivo por ação direta sobre o útero e, conforme a dose, veneno violento. O cozimento da casca das raízes é considerado útil contra a hidropsia, a gota e, em banhos, contra tumores artríticos (Corrêa, 1926-1978).

PARTE EXPERIMENTAL

1 - EXTRATO HEXÂNICO DA CASCA DO TRONCO DE *GUAREA GUIDONIA*

1.1 - COLETA E EXTRAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Foram coletados 2,0 kg de casca do tronco de *Guarea guidonia* (L.) Sleumer, em janeiro de 1992, em Campo Grande, Mato Grosso do Sul. A excisata deste espécimen encontra-se depositada no herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Este material foi submetido à extração a frio com hexano. Após uma semana de maceração, o sobrenadante da extração foi filtrado, perfazendo um total de 5 L. O extrato hexânico foi concentrado. Durante a concentração houve precipitação de XXXIV (figura 1, p. 3) que foi separado por filtração. Após a eliminação do solvente, foram obtidos 9,0 g do material.

1.2 - FRACIONAMENTO DO EXTRATO HEXÂNICO

Visando o isolamento de terpenóides, o extrato hexânico obtido da casca do tronco da espécie *Guarea guidonia* foi submetido à cromatografia em coluna de sílica. Após análise por cromatografia em camada delgada comparativa, as frações obtidas foram reunidas em 14 grupos. Algumas frações reunidas não foram trabalhadas, seja por causa da complexidade aliada à pouca quantidade do material, seja pela grande quantidade de material graxo presente impurificando substâncias encontradas em outras frações mais puras. A seguir, está apresentado o fracionamento cromatográfico através de um fluxograma (figura 2, p. 10). As substâncias isoladas, após fracionamento cromatográfico, estão mostradas na figura 3, p. 12.

Continuação da figura 2

Eluentes Utilizados	Quantidade de Cada Eluente Utilizado, em mL
(a) DCM, DCM/AcOEt 98:2; 95:5; 9:1; 8:2; 7:3; 1:1; AcOEt puro; AcOEt/MeOH 95:5; 9:1	300
(b) Pentano puro; pentano/acetona 97:3**, 95:5; 9:1; 75:25; 3:2.	75
(c) DCM/MeOH 99,75:0,25** e 99:1	180
(d) CHCl ₃ /MeOH 99:1** e 95:5	150
(e) (DCM/MeOH 99:1)/hexano 7:3	
(f) (DCM/acetona 99:1)/pentano 2:8**, 1:1; DCM/acetona 8:2; 1:1	200
(g) DCM/MeOH 99:5** e 99:1	200
(h) Hexano/éter etílico (secos) 1:1**; DCM/MeOH 99:1 e 9:1	200
(i) DCM puro** e DCM/MeOH 9:1	200
(j) (DCM/MeOH 99:1)/hexano 1:1** e DCM/MeOH 99:1	200
(l) (DCM/acetona 9:1)/hexano 1:1** e DCM/acetona 9:1	200
(m) Hexano/DCM 1:4**: DCM/ acetona 3:2 e 1:4	50
(n) DCM/MeOH 99,5:0,5	
(o) (DCM/acetona 9:1)/hexano 1:1**; DCM/acetona 9:1	200
(p) MeOH puro	
(q) MeOH puro	
(r) DCM/acetona 9:1, 8:2, 1:1; AcOEt puro	75

* Massa entre parêntesis expressa em mg.

** Sistema de eluição das substâncias isoladas.

Figura 3: Substâncias isoladas do extrato hexânico.

2 - ÓLEO ESSENCIAL DA CASCA DO TRONCO DE *GUAREA GUIDONIA*.

As cascas coletadas de dois espécimens de *Guarea guidonia*, após serem esmiuçadas, foram submetidas a arraste a vapor d'água durante duas horas em um aparelho tipo Clevenger (tabela II, p. 13).

Tabela II: Obtenção do óleo essencial.

Origem	Casca (g)	Óleo (mg)	%
Campo Grande (A)	300	80	0,026
Araraquara (B)	1000	400	0,04

O óleo B foi separado em duas partes. Uma delas foi submetida a cromatografia em coluna de sílica e, a outra, em coluna de sílica impregnada com AgNO_3 (figura 4, p. 14). As substâncias identificadas estão mostradas na figura 5, p. 15.

Figura 4: Esquema de separação do óleo essencial.

* número entre parêntesis expressa massa das frações, em mg.

Figura 5: Substâncias identificadas do óleo essencial.

PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS DAS CROMATOGRAFIAS E DAS REAÇÕES REALIZADAS

1 - REAÇÕES

1.1 - HIDRÓLISE DE 16 E 17

Em balão de fundo redondo de 50 mL equipado com condensador de refluxo, banho de óleo e agitador magnético, foram adicionados 30 mg do material, 30 mg de KOH e 7,5 mL de MeOH. A reação foi mantida sob aquecimento por 1 hora. Decorrido este período, a mistura reacional foi extraída sucessivamente com éter etílico e o esquema de hidrólise do sitosterol esterificado com ácidos graxos está mostrado na figura 6, p. 17.

Figura 6: Esquema de hidrólise de sitosterol esterificado com ácidos graxos.

1.2 - METILAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS COM DIAZOMETANO

a) preparação do diazometano

Em balão de destilação de 500 mL equipado com banho de gelo e condensador de tubo reto, adicionou-se uma solução de KOH (5 g) em água (7 mL) e etanol (25 mL) a uma solução de N-metil-N-nitroso-*p*-tolueno-sulfonamida (Diazald) (21,5 g) em éter etílico (240 mL). A seguir, esta mistura foi aquecida entre 60 - 65 °C e a solução destilada, contendo cerca de 3 g de diazometano, foi coletada em frasco sob banho de gelo.

OBS: a preparação deve ser conduzida em capela adequada, visto que o diazometano é muito tóxico e explosivo.

b) metilação

As misturas contendo ácidos graxos H19-4, H19-12, H30 e H42.19 (figura 2, p. 10), além dos ácidos provenientes da hidrólise dos esteróides, foram tratadas com excesso de diazometano previamente preparado conforme o item a. Os ésteres metílicos foram separados do produto bruto em coluna de sílica, sendo o rendimento desta reação considerado quantitativo.

2 - CROMATOGRAFIAS

2.1 - CROMATOGRAFIAS DE ADSORÇÃO EM COLUNA

a) em sílica

Os procedimentos cromatográficos foram realizados da seguinte forma:

As colunas abertas utilizando como fase estacionária sílica gel (63 - 210 μm , art. 7734 da Merck) foram empacotadas por via úmida, sempre evitando a formação de bolhas e rachaduras. Isto foi conseguido adicionando-se o primeiro eluente à sílica e esta mistura à coluna. A quantidade de sílica utilizada varia, mas a proporção de amostra/sílica está em torno de 1:80. No caso de a temperatura ambiente estar elevada, a coluna foi envolta em algodão e este embebido constantemente em DCM. A sílica foi previamente lavada com AcOEt, a fim de retirar o ftalato que a contamina, e deixada durante 1 noite a 60 $^{\circ}\text{C}$, para retirar o AcOEt. Utiliza-se coluna de vidro, com um pequeno pedaço de algodão na extremidade inferior, suficiente para que a sílica não escoe. Uma vez empacotada, é aplicada a amostra. Quando a amostra continha muita graxa foi feita uma pastilha de amostra e sílica previamente lavada (a mesma que vai na coluna). Quando a amostra era mais pura, pôde-se aplicar direto, dissolvida no menor volume possível do primeiro eluente ou de um solvente menos polar. Se a amostra não for solúvel, torna-se necessário adsorvê-la na menor quantidade possível de sílica. Após a aplicação da amostra é conveniente colocar um pedaço de algodão na extremidade superior,

para poder adicionar o solvente sem a necessidade de tomar muito cuidado, já que a sílica não deve ser mexida para não prejudicar a separação. Todo este procedimento é feito em capela.

As colunas abertas utilizando como fase estacionária Sephadex LH-20 (25 - 100 μm da Pharmacia) foram empacotadas por via úmida, seguindo os mesmos procedimentos que para as colunas abertas de sílica. A maior diferença, neste caso, é que se deve tomar cuidado na escolha do eluente, que deve ser menos denso que a Sephadex LH-20. A Sephadex deve permanecer em contato com o eluente algumas horas (uma noite) antes de ser introduzida na coluna. Além disto, sendo o fundamento da separação, a diferença no tamanho das moléculas, o fluxo da coluna é muito importante. Este deve estar em torno de 1,5 e 2,0 mL/min. A proporção de amostra/Sephadex LH-20 deve estar em torno de 1:70.

As colunas sob pressão (tipo “flash”) utilizam como fase estacionária, sílica-60 da Merck (40 - 63 μm , art. 9385). O empacotamento é realizado a seco, com cuidado para que não fiquem camadas na coluna. Deve-se colocar algodão nas duas extremidades, uma vez que será aplicada pressão. A pressão deve estar em torno de 0,5 lb e usa-se nitrogênio como gás de arraste. A proporção de amostra/sílica deve estar em torno de 1:60. A lavagem da sílica é feita sob pressão e na sequência é equilibrada com o primeiro solvente.

b) em sílica impregnada com AgNO_3

Adsorção de AgNO_3 à sílica gel:

A uma solução de AgNO_3 (3 g) em água (3 mL) e álcool etílico absoluto (47 mL), foram adicionadas gradualmente e sob agitação, 20 g de sílica gel (63 - 210 μm), mantendo-se a agitação por 15 minutos à temperatura ambiente. Decorrido este período, a mistura foi filtrada em funil com sucção e o excesso de solvente removido em evaporador rotatório, sob pressão reduzida. A sílica impregnada com AgNO_3 foi mantida em dessecador sob vácuo até o momento de ser usada.

OBS: todo o procedimento de impregnação deve ser realizado no escuro.

A coluna aberta usando como fase estacionária sílica gel impregnada com AgNO_3 , foi empacotada por via úmida, seguindo o mesmo procedimento que para a coluna aberta de sílica. A proporção de amostra/sílica com AgNO_3 empregada foi de 1:100.

2.2 - CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

Todas as frações das colunas realizadas foram analisadas através de CCDC. O procedimento de preparação é o seguinte: adicionam-se lentamente ~ 60 mL de água destilada a 25 g de sílica 60 da Merck (4-45 μm , art. 7731).

Agita-se com bastão de vidro até não ter mais bolhas no interior. Aplica-se esta mistura às placas, com espalhador próprio. A espessura da camada é de 0,25 mm. As placas de vidro devem estar sem gordura e bem niveladas. Uma vez secas são ativadas em estufa a 60 °C por 1 hora, antes do uso.

A revelação das placas comparativas foi feita utilizando vapores de I₂ e solução de Ce(SO₄)₂ com aquecimento a 110 °C.

As placas para CCDP foram preparadas da seguinte forma: adicionam-se ~ 150 mL de água destilada a 75 g de sílica PF₂₅₄ da Merck (4-45 µm, art. 7747). Agita-se com bastão de vidro até não ter mais bolhas no interior. Deixa-se descansar por 1 hora antes de aplicar. Aplica-se esta mistura às placas, com espalhador próprio. A espessura da camada é de 1,00 mm. As placas de vidro devem estar sem gordura e bem niveladas. Deixa-se secar em local sem ventilação. Após estarem secas, são ativadas em estufa a 60 °C, por 2 horas, antes do uso. Estas placas devem ser usadas no máximo até uma semana depois de preparadas.

A revelação das placas preparativas foi feita utilizando irradiação no UV (254 e 356 nm).

2.3 - CROMATOGRAFIAS A GÁS

As cromatografias a gás foram realizadas em aparelho Hewlett Packard 5890 Series II, com injetor automático HP 7673 e integrador HP 3396A, coluna de 30 m capilar de 5 % de fenil em 95 % metil-silicone. O gás de arraste é o nitrogênio e o detector é por ionização em chama. As condições de

análise foram: 2 min a 100 °C, rampa de 5 °C/min, 2 min a 180 °C, rampa de 50 °C/min e 1 min a 250 °C.

ESPECIFICAÇÃO DE EQUIPAMENTOS

Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C foram registrados em espectrômetros Bruker AC-200 operando, respectivamente, a 200 e 50,3 Mhz, utilizando como solventes e padrões de referência interna CDCl_3 e acetona- d_6 .

Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetro INCOS 50 Finnigan-Mat (quadrupolo) operado com impacto eletrônico (IE) a 70 eV, usado nas análises por CG/EM acoplado ao cromatógrafo 3400 Varian, coluna DB-5, 30 m e 0,25 mm x 0,25 μm de diâmetro interno.

Os espectros de IV foram registrados em aparelhos FT-IR 1750 Perkin Elmer e FT-IR 510 Nicolet, em forma de filmes em DCM.

DADOS FÍSICOS DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS

1 *trans* 1(10)-epóxi-4(15)-cariofileno

Óleo amarelo.

RMN de ^{13}C : tabela X, p. 57.

EMIE 70 eV, m/z (int. rel.): tabela IV, p. 29.

IV: 2954, 2931, 2862, 1678, 1631, 1455, 1384, 1368, 864.

2 1(10)-epóxi-4,7-humuladieno

Óleo incolor.

RMN de ^{13}C : tabela XI, p. 58.

EMIE 70 eV, m/z (int. rel.): tabela IV, p. 29.

IV: 2957, 2929, 2870, 1714, 1687, 1645, 1449, 1385, 1367, 1073.

3 10-aloomadendranol (viridiflorol)

Óleo incolor.

RMN de ^1H : tabela VIII, p. 45.

RMN de ^{13}C : tabela IX, p. 46.

EMIE 70 eV, m/z (int. rel.): tabela V, p. 30.

IV: 3391, 2955, 2870, 1456, 1373, 1256, 1161, 1108, 987, 886.

4 1(10),4(15)-cariofiladieno

Óleo incolor.

RMN de ^{13}C : Tabela X, p. 57.

EMIE 70 eV, m/z (int. rel.): tabela III, p. 28.

5 1(10),4-diepóxi-7-humuleno

Óleo amarelo.

RMN de ^{13}C : Tabela XI, p. 58.

EMIE 70 eV, m/z (int. rel.): tabela IV, p. 29.

IV: 2957, 2928, 2858, 1714, 1454, 1389, 1369, 1066, 976.

6 3-oxa-10-aloaromadendranol

Óleo amarelo.

RMN de ^1H : Tabela VIII, p. 45.

RMN de ^{13}C : Tabela IX, p. 46.

EMIE 70 eV, m/z (int. rel.): tabela V, p. 30.

IV: 3455, 2961, 2930, 2870, 1732, 1455, 1415, 1375, 1251, 1233, 1212, 1188, 1157, 1146, 1113, 1092, 1075, 1043, 887.

7 1(10),4(15),5-germacatrieno (germacreno D)

Óleo incolor.

RMN de ^{13}C : Tabela XXII, p. 89.

EMIE 70 eV, m/z (int. rel.): tabela III, p. 28.

8 *cis* 4,10(14)-cadinadieno (γ -muuroleno)

Óleo incolor.

RMN de ^{13}C : Tabela XXII, p. 89.

EMIE 70 eV, m/z (int. rel.): tabela III, p. 28.

9   *trans* 4,10(14)-cadinadieno

Óleo incolor.

RMN de ^{13}C : Tabela XXII, p. 89.

EMIE 70 eV, m/z (int. rel.): tabela III, p. 28.

10   3,9-cadinadieno (δ -cadineno)

Óleo incolor.

RMN de ^{13}C : tabela XXII, p. 89.

EMIE 70 eV, m/z (int. rel.): tabela III, p. 28.

11   1,3,11-elematrieno (β -elemeno)

Óleo incolor.

RMN de ^{13}C : tabela XXII, p. 89.

EMIE 70 eV, m/z (int. rel.): tabela III, p. 28.

12   1(10),4,7-humulatrieno

Óleo incolor.

RMN de ^{13}C : tabela XI, p. 58.

EMIE 70 eV, m/z (int. rel.): tabela III, p. 28.

13   *cis* 1(10)-epóxi-4(15)-cariofileno

Óleo incolor.

RMN de ^{13}C : tabela X, p. 57.

14 sitosterol

Sólido amarelo claro (não recristalizado).

RMN de ^{13}C : Tabela IV, p. 33.

15 estigmasterol

Sólido amarelo claro (não recristalizado).

RMN de ^{13}C : Tabela IV, p. 33.

16 palmitato do sitosterol

Sólido branco (não recristalizado).

EMIE 70 eV, m/z (int. rel.): Tabela VII, p. 36.

17 oleato do sitosterol

Sólido branco (não recristalizado).

EMIE 70 eV, m/z (int. rel.): Tabela VII, p. 36.

Tabela III: Fragmentações observadas no espectro de massas para 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12.

m/z	Fórmula	Obs	4	7	8	9	10	11	12
204	C ₁₅ H ₂₄	M ⁺ •	4	13	20	21	17	-	3
189	C ₁₄ H ₂₁	M ⁺ •-CH ₃ •	12	1	5	5	5	22	2
162	C ₁₂ H ₁₈	M ⁺ •-C ₃ H ₆ •	6	15	15	15	13	7	1
161	C ₁₂ H ₁₇	M ⁺ •-C ₃ H ₇ •	23	100	100	100	95	25	3
148	C ₁₁ H ₁₆		19	2	5	5	3	13	3
147	C ₁₁ H ₁₅		22	5	6	4	3	39	12
133	C ₁₀ H ₁₃		66	21	25	21	10	28	2
121	C ₉ H ₁₃		24	5	12	6	13	41	24
119	C ₉ H ₁₁		32	41	58	31	100	30	7
105	C ₈ H ₉		53	75	59	52	91	38	11
93	C ₇ H ₉		100	32	52	35	19	100	100
91	C ₇ H ₇		79	61	55	39	39	43	22
81	C ₆ H ₈		39	48	32	23	25	90	7
79	C ₆ H ₇		71	43	43	29	19	57	17
69	C ₅ H ₉		75	15	15	10	9	14	4
67	C ₅ H ₇		35	19	15	10	7	55	11
55	C ₄ H ₇		24	15	13	10	10	23	7

Obs: Os espectros foram registrados acima de m/z 55.

Tabela IV: Fragmentações observadas no espectro de massas para 1, 2, 5.

m/z	Fórmula	1	2	5
236	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	-	-	0,3 (M ⁺ •)
220	C ₁₅ H ₂₄ O	0,2 (M ⁺ •)	1 (M ⁺ •)	0,2
205	C ₁₅ H ₂₅	2	1	0,3
204	C ₁₄ H ₂₀ O	-	-	0,2 (M ⁺ •-MeOH)
189	C ₁₄ H ₂₁	0,4	0,3	1
162	C ₁₂ H ₁₈	2	1	1
161	C ₁₂ H ₁₇	7	1	2
148	C ₁₁ H ₁₆	2	1	1
147	C ₁₁ H ₁₅	6	4	3
133	C ₁₀ H ₁₃	8	3	5
121	C ₉ H ₁₃	26	13	11
119	C ₉ H ₁₁	16	11	10
111	C ₇ H ₁₁ O	9	18	100
109	C ₈ H ₁₃	39	100	27
105	C ₈ H ₉	34	26	10
93	C ₇ H ₉	72	51	50
91	C ₇ H ₇	76	32	22
81	C ₆ H ₈	37	44	41
79	C ₆ H ₇	100	38	30
69	C ₅ H ₉	49	28	47
67	C ₅ H ₇	43	90	58
55	C ₄ H ₇	35	31	74

Obs: Os espectros foram registrados acima de m/z 55.

Tabela V: Fragmentações observadas no espectro de massas para 3, 6.

m/z	Fórmula	3	6
236	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	-	-
222	C ₁₅ H ₂₆ O	1 (M ⁺)	-
218	C ₁₅ H ₂₂ O	-	12 (M ⁺ -H ₂ O)
205	C ₁₅ H ₂₅	3	-
204	C ₁₅ H ₂₄	15 (M ⁺ -H ₂ O)	-
203	C ₁₅ H ₂₃	-	11
190	C ₁₄ H ₂₂	5	10
189	C ₁₄ H ₂₁	32	4
175	C ₁₃ H ₁₉	7	36
161	C ₁₂ H ₁₇	64	23
147	C ₁₁ H ₁₅	27	59
133	C ₁₀ H ₁₃	31	28
121	C ₉ H ₁₃	48	24
119	C ₉ H ₁₁	45	48
109	C ₈ H ₁₃	100	41
107	C ₈ H ₁₁	80	95
93	C ₇ H ₉	84	44
91	C ₇ H ₇	70	60
81	C ₆ H ₈	77	57
79	C ₆ H ₇	71	77
67	C ₅ H ₇	85	100
55	C ₄ H ₇	61	66

Obs: Os espectros foram registrados acima de m/z 55.

IDENTIFICAÇÃO DAS SUBSTÂNCIAS ISOLADAS

A identificação das substâncias isoladas de *Guarea guidonia* foi feita principalmente através das técnicas de RMN de ^1H e de ^{13}C , nesta última utilizando-se PND e DEPT 135⁰ e da espectrometria de massas. Como não foram realizadas medidas de rotações ópticas, as estereoquímicas apresentadas são relativas.

1 - ESTERÓIDES DO EXTRATO HEXÂNICO

1.1 - SITOSTEROL E ESTIGMASTEROL

A fração H19.12.9 (figura 2, p. 10) apresentou em CCDC forte indício da presença de esteróis, ou seja, $R_f \cong 0,16$ quando eluída com DCM puro e coloração rosa, que muda para azul, quando revelada com $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$.

A análise do espectro de RMN de ^1H dessa fração (figura 7, p. 34) revela a presença de alguns sinais característicos de esteróides, entre os quais podem-se citar:

- um singleto em 0,6 ppm referente ao grupo metílico C18.
- vários sinais entre 0,7 e 1,0 ppm de grupos metílicos.
- vários sinais entre 1,0 e 2,0 ppm de grupos metilênicos.

- um multipeto em 3,4 ppm referente ao próton H3.
- dois duplos dubletos em 5,1 ppm referentes aos prótons H22 e H23, relativos à substância 15.
- um dubleto largo em 5,3 ppm referente ao próton H6.

No espectro de RMN de ^{13}C , cujos dados estão mostrados na tabela VI, p. 33, observam-se quatro valores de deslocamentos característicos de carbonos olefinicos, que são 129,8 e 138,8 ppm da ligação dupla entre os carbonos 22 e 23 do estigmasterol (de menor intensidade) e 121,9 e 141,3 ppm, referentes à ligação dupla entre os carbonos 5 e 6 (de maior intensidade), de ambos esteróides.

Unindo estas informações foi possível propôr o sitosterol (14) e o estigmasterol (15) como componentes da fração H19.12.9. A comparação com dados da literatura (Ahmad, et al., 1992), confirmou a presença dos esteróides.

Tabela VI: Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (ppm), em CDCl_3 , de 14 e 15.

^{13}C	14		15	
1	37,8	CH_2	37,8	CH_2
2	32,2	CH_2	32,2	CH_2
3	71,8	CH	71,8	CH
4	42,9	CH_2	42,7	CH_2
5	141,3	C	141,3	C
6	121,9	CH	121,9	CH
7	32,4	CH_2	32,4	CH_2
8	32,2	CH	32,4	CH
9	50,6	CH	50,6	CH
10	37,0	C	37,0	C
11	21,7	CH_2	21,6	CH_2
12	40,3	CH_2	40,3	CH_2
13	42,9	C	42,7	C
14	57,4	CH	56,6	CH
15	24,8	CH_2	24,8	CH_2
16	28,8	CH_2	29,5	CH_2
17	56,6	CH	56,2	CH
18	12,5	CH_3	12,7	CH_3
19	19,9	CH_3	19,6	CH_3
20	36,7	CH	41,0	CH
21	19,4	CH_3	21,8	CH_3
22	34,5	CH_2	138,8	CH
23	26,7	CH_2	129,8	CH
24	46,4	CH	51,7	CH
25	29,7	CH	32,4	CH
26	20,5	CH_3	21,8	CH_3
27	19,7	CH_3	19,6	CH_3
28	23,6	CH_2	25,9	CH_2
29	12,6	CH_3	12,9	CH_3

Figura 7: Espectro de RMN de ^1H da mistura de 14 e 15, em CDCl_3 .

1.2 - SITOSTEROL ESTERIFICADO COM ÁCIDOS GRAXOS

A fração H1.27 (figura 2, p. 10) apresentou $R_f \cong 0,9$ quando eluída em CCDC com pentano/acetona 97:3 e coloração rosa quando revelada com $Ce(SO_4)_2$.

Os espectros de RMN de ^1H (figura 8, p. 37) e de ^{13}C (figura 9, p. 38) desta fração revelam sinais em 1,2 ppm e em 29,6 ppm, respectivamente, muito intensos em proporção ao tamanho dos outros sinais de esteróide, identificado, por estes espectros, como sendo o sitosterol. Estes sinais provêm de ácidos graxos que estão esterificando o esteróide. Esta conclusão pode ser obtida ao perceber-se que o sinal correspondente ao H3 está deslocado de 3,4 ppm para 4,6 ppm indicando que houve uma esterificação na hidroxila. No espectro de RMN de ^{13}C observa-se também que o sinal do C3 está desprotegido de cerca de 2 ppm, aparecendo em 73,7 ppm. A fim de determinar quais eram os ácidos graxos presentes, a fração foi hidrolisada conforme mostrado na figura 6, p. 17.

Através dos dados dos espectros de massas dos ésteres metílicos dos ácidos graxos, mostrados na tabela VII, p. 36, foi possível identificar, como principais constituintes, o ácido palmítico e o ácido olêico.

Tabela VII: Dados dos espectros de massas dos ésteres metílicos dos ácidos palmítico e olêico.

Palmitato de metila		Oleato de metila	
m/z	%	m/z	%
270	13	296	3
227	13	264	16
199	5	222	9
185	6	180	7
171	6	123	11
143	17	110	16
129	7	97	36
87	62	83	47
74	100	74	55
69	17	69	65
55	36	55	100

1.3 - ESTERÓIDES GLICOSILADOS

A fração H42.19.9.22 (figura 2, p. 10) apresentou em CCDC indícios de esteróide glicosilado, ou seja, $R_f \cong 0,36$ quando eluída com DCM/acetona 9:1 e coloração rosa e azul quando revelada com $Ce(SO_4)_2$. Os espectros de RMN de ^1H e de ^{13}C desta fração (figuras 10 e 11, p. 40 e 41, respectivamente) indicam, através de sinais referentes a esteróides e carboidratos, a presença de esteróides glicosilados. Devido a esta fração apresentar uma mistura muito grande de substâncias e pouca quantidade, a separação dos componentes foi abandonada.

Figura 10: Espectro de RMN de ^1H da fração H42.19.9.22, em acetona- d_6 .

Figura 11: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) da fração H42.19.9.22, em acetona- d_6 .

2 - SESQUITERPENOS DO EXTRATO HEXÂNICO

2.1 - AROMADENDRANOS

Enquanto para a maioria dos terpenos os dados de RMN de ^{13}C são muito mais elucidativos do que os de RMN de ^1H , para os sesquiterpenos com esqueleto aromadendrano o espectro de RMN de ^1H fornece informações importantes, não só a respeito do esqueleto como também da estereoquímica relativa da molécula. O espectro de RMN de ^1H apresenta sinais na região entre 0,1 e 0,6 ppm referentes aos prótons H6 (1H) e H7 (1H), do anel ciclopropânico. A presença de um tripleto para H6 revela uma junção *cis* do ciclopropano e uma relação *trans* entre H6 e H5 (Goldsby and Burke, 1987). A junção *cis* entre os anéis de cinco e sete carbonos é evidenciada pelo deslocamento químico de H6 que é menor que no caso da junção *trans* e pelos sinais do espectro de RMN de ^{13}C quando comparado com a literatura (Weener, et al., 1991; Beechan, et al., 1978; Pizza and Tommasi, 1988).

2.1.1 - 10-ALOAROMADENDRANOL

A fração H12.10 (figura 2, p. 10) apresenta $R_f \cong 0.38$ quando eluída em CCDC com DCM/MeOH 99:1 e coloração rosa quando revelada com $Ce(SO_4)_2$.

Os dados do espectro de RMN de ^1H da fração (figura 12, p. 47), principalmente os sinais para três grupos metílicos em carbono quaternário em 1,00, 1,03 e 1,15 ppm, o grupo metílico em carbono terciário em 0,92 ppm, dois prótons ciclopropânicos em 0,1 ppm (1H, t, $J_{5,6}=J_{6,7}=9,1$ Hz) e 0,62 ppm (1H, m), sugerem um sesquiterpeno tipo 10-aloaromadendranol.

O espectro de RMN de ^{13}C (figura 13, p. 48) está de acordo com esta proposta, sobretudo quando se observam os sinais de um carbono quaternário em 18,3 ppm do ciclopropano e o carbono carbinólico em 74,5 ppm. A estereoquímica foi determinada com base nas seguintes evidências. O tripleto observado para H6 e sua constante de acoplamento estão de acordo com uma junção *cis* para o anel ciclopropânico, uma vez que se fosse *trans*, seria observado um dd e uma constante de acoplamento menor (Goldsby and Burke, 1987). Uma orientação *cis* entre H5 e H6 foi descartada desde que produziria uma constante de acoplamento menor que a observada (9,1 Hz).

O espectro de RMN de ^{13}C de 3 confirma a presença de quatro grupos metílicos em 16,1; 16,3; 28,6 e 32,0 referentes aos carbonos 15, 12, 13 e 14 respectivamente. O grupo metílico 12 está mais protegido que o 13 devido a um efeito γ gauche ocasionado por uma interação com os carbonos 5 e 8. O deslocamento químico da metila em 15 indica que ela possui uma interação γ

gauche com C6, estando portanto do mesmo lado da molécula que o H6. O valor do deslocamento do C14 é devido à presença do grupo hidroxila em C10. A estereoquímica do C10 foi proposta por comparação com dados de RMN de ^{13}C descritos na literatura, as constantes de acoplamento entre H5 e H6 e entre H6 e H7 são idênticas ($J=9,5\text{ Hz}$) (Faure et al., 1991). O íon molecular obtido a partir do espectro de massas está de acordo com a estrutura proposta. Com estes dados, propôs-se a seguinte estrutura para o componente da fração H12.10, cujos dados espectrais estão relacionados nas tabelas VIII e IX, p. 45 e 46, respectivamente:

10-aloaromadendranol

Tabela VIII: Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (ppm), em CDCl_3 , de 3 e 6.

Posição	^1H	
	3	6
1		
2		
3		
4		
5		
6	0,1 (t)	-0,3 (t)
7	0,6 (m)	0,6 (m)
8		
9		
10		
11		
12	1,00 (s)	0,95 (s)
13	1,03 (s)	0,95 (s)
14	1,15 (s)	1,13 (s)
15	0,92 (d, J=6,4 Hz)	0,95 (d)

Tabela IX: Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (ppm), em CDCl_3 , de 3 e 6.

Posição	^{13}C			
	3		6	
1	58,0	CH_2	52,8	CH
2	25,6	CH_2	38,4	CH_2
3	29,0	CH	219,5	C
4	38,4	CH	52,4	CH
5	39,6	CH	37,6	CH
6	22,0	CH	23,9	CH
7	28,3	CH_2	29,0	CH
8	18,7	CH_2	18,3	CH_2
9	37,7	CH_2	37,4	CH_2
10	74,5	C	73,5	C
11	18,3	C	19,1	C
12	16,3	CH_3	15,8	CH_3
13	28,6	CH_3	28,2	CH_3
14	32,0	CH_3	32,0	CH_3
15	16,1	CH_3	9,8	CH_3

Figura 13: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) de 3, em CDCl_3 .

2.1.2 - 3-OXA-10-ALOAROMADENDRANOL

A fração H30.24 (figura 2, p. 10) apresenta $R_f \cong 0,27$, quando eluída em CCDC com (DCM/acetona 9:1)/hexano 1:1 e coloração amarela quando revelada com $Ce(SO_4)_2$.

O espectro de RMN de ^1H de H30.24 (figura 14, p. 51) mostra um tripleto em -0,3 ppm referente ao próton H6 (1H, $J_{5,6}=J_{6,7}=8,9$ Hz) e um multipletto em 0,60 ppm referente ao próton H7, além de sinais de grupos metílicos em 0,8 e 1,12 ppm.

O espectro de RMN de ^{13}C (figura 15, p. 52) mostra quatro grupos metílicos em 9,8; 15,8; 28,2 e 32,0 ppm referentes aos carbonos 15, 12, 13 e 14, respectivamente, enquanto a 19,1 ppm observa-se o carbono quaternário do anel ciclopropânico. Além disto, observa-se um carbono carbinólico em 73,5 ppm atribuído ao carbono 10 e uma carbonila em 219,5 ppm. Esta foi localizada no carbono 3, em função do efeito γ gauche que o oxigênio provoca no C15.

Com estes dados foi proposta a estrutura para a substância 6, cujos dados espectrais estão relacionados nas tabelas VIII e IX, p. 45 e 46, respectivamente.

3-oxa-10-aloaromadendranol
6

A estereoquímica relativa foi confirmada através de comparação com dados da literatura (Bohlmann, et al., 1978a). O íon molecular obtido do espectro de massas confirma a estrutura proposta. Esta substância foi isolada, anteriormente, do extrato etanólico da *Guarea guidonia* (Garcez, 1994).

Figura 14: Espectro de RMN de ^1H de 6, em CDCl_3 .

Figura 15: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) de 6, em CDCl_3 .

2.2 - CARIOFILANOS E HUMULANOS

Entre os sesquiterpenos mais abundantes em Angiospermas (figura 16, p. 54) estão os germacranos, cariofilanos e humulanos, todos contendo estruturas com anéis de mais de 7 carbonos (Young and Seigler, 1981). No caso dos cariofilanos e humulanos, o farnesol cicliza inicialmente pelo carbono olefinico contendo dois grupos metílicos. Este fato faz com que, em sua estrutura, o grupo isopropila (freqüente em anéis de 6 e 7 átomos de carbono) desapareça dando lugar a duas metilas vicinais em carbono quaternário. Uma nova ciclização transforma o humulano em cariofilano, que apresenta um anel com 9 e outro com 4 átomos de carbono. Estes sesquiterpenos são encontrados freqüentemente na natureza com as ligações duplas epoxidadas.

Figura 16: Esqueletos sesquiterpênicos mais abundantes em Angiospermas.

humulano

cariofilano

bisabolano

cadinano

selinano

germacrano

guaiano

pseudoguaiano

elemano

eremofilano

2.2.1 - *TRANS* 1(10)-EPÓXI-4(15)-CARIOFILENO E 1(10)-EPÓXI-4,7-HUMULADIENO

A fração H12.4.4.1 (figura 2, p. 10) apresenta $R_f \cong 0,57$ quando eluída em CCDC com (DCM/MeOH 99:1)/hexano 7:3 e coloração rosa que muda para azul, quando revelada com $Ce(SO_4)_2$.

O cromatograma a gás (figura 17, p. 59) da fração H12.4.4.1 revelou a presença de duas substâncias predominantes, na proporção de 4:1. O tempo de retenção, nas condições utilizadas (vide parte experimental), sugere que estas sejam sesquiterpenos.

O espectro de RMN de ^{13}C (figura 18, p. 60) confirmou tratar-se de uma mistura onde predominam duas substâncias. Por diferença entre as intensidade de picos correspondentes a carbonos com o mesmo número de hidrogênios, foi possível separar os sinais referentes aos carbonos de uma e de outra substância. Isto tornou-se necessário uma vez que, pelas técnicas cromatográficas usadas (CC e CCDP), não foi possível separá-las. Alguns sinais da substância predominante são característicos de cariofilenos como, por exemplo, a presença de um carbono quaternário em 33,9 ppm, ausência de grupo isopropila e a presença de dois grupos metílicos em carbono quaternário (21,6 e 29,8 ppm). A análise do espectro de RMN de ^1H (figura 19, p. 61) revela a presença de um grupo metilênico terminal em 4,86 (d) e 4,97 ppm (d) e um dd em 2,89 ppm, correspondendo ao H1.

De um modo geral, unindo as informações dos espectros de RMN de ^1H , de ^{13}C , de massas é proposto um esqueleto carbônico. A partir deste ponto, procura-se, na literatura, dados espectroscópicos referentes a sesquiterpenos

com o esqueleto carbônico e as funcionalizações propostas. Deste modo, chegou-se à estrutura do *trans* 1(10)-epóxi-4(15)-cariofileno (1), confirmada por comparação com dados da literatura (Heymann, 1994). A estrutura da substância presente em menor proporção na mistura foi identificada apenas pelos espectros de massas e de RMN de ^{13}C , o qual indica a ausência de grupo isopropílico e de grupo metilênico exocíclico. As ligações duplas são ambas dissustituídas. Comparação dos dados de RMN de ^{13}C com os da literatura (Schneider and Agrawal, 1986) identificou a substância como o 1(10)-epóxi-4,7-humuladieno (2). A estereoquímica do epóxido foi definida considerando a origem biossintética. Nas tabelas X e XI, p. 57 e 58, estão mostrados os dados de RMN de ^{13}C das substâncias 1 e 2, respectivamente.

Tabela X: Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (ppm), em CDCl_3 , de 4, 1 e 13.

Posição	^{13}C					
	4		1		13	
1	120,6	CH	63,7	CH	61,0	CH
2	34,3	CH_2	30,1	CH_2	30,5	CH_2
3	29,2	CH_2	29,7	CH_2	29,5	CH_2
4	154,0	C	151,7	C	152,7	C
5	48,4	CH	48,7	CH	47,8	CH
6	40,2	CH_2	39,7	CH_2	37,7	CH_2
7	52,8	CH	50,7	CH	53,8	CH
8	28,9	CH_2	27,1	CH_2	27,5	CH_2
9	40,3	CH_2	39,1	CH_2	36,6	CH_2
10	137,4	C	59,7	C	55,8	C
11	33,5	C	33,9	C	35,0	C
12	22,5	CH_3	21,5	CH_3	21,6	CH_3
13	30,0	CH_3	29,8	CH_3	22,5	CH_3
14	17,0	CH_3	16,9	CH_3	18,8	CH_3
15	112,0	CH_2	112,7	CH_2	112,1	CH_2

Tabela XI: Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (ppm), em CDCl_3 , de 12, 2 e 5.

^{13}C						
Posição	12		2		5	
1	123,8	CH	61,9	CH	60,2	CH
2	23,5	CH_2	24,7	CH_2	25,1	CH_2
3	39,4	CH_2	36,6	CH_2	34,7	CH_2
4	139,3	C	131,8	C	60,0	C
5	124,5	CH	125,6	CH	64,5	CH
6	41,6	CH_2	40,2	CH_2	38,3	CH_2
7	139,3	CH	143,0	CH	142,7	CH
8	124,7	CH	122,0	CH	122,5	CH
9	41,3	CH_2	42,5	CH_2	43,2	CH_2
10	133,2	C	63,1	C	63,2	C
11	37,8	C	36,4	C	35,5	C
12	20,6	CH_3	25,5	CH_3	23,2	CH_3
13	29,2	CH_3	28,9	CH_3	30,6	CH_3
14	15,2	CH_3	17,1	CH_3	16,4	CH_3
15	17,9	CH_3	15,0	CH_3	16,4	CH_3

Figura 17: Cromatograma a gás da mistura 1 e 2.

Figura 18: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) de 1 e 2, em CDCl_3 .

Figura 19: Espectro de RMN de ^1H de 1 e 2, em CDCl_3 .

2.2.2 - 1(10),4-DIEPÓXI-7-HUMULENO

No espectro de RMN de ^1H da fração H19.4.1 (figura 20, p. 63) observam-se prótons ligados em anéis epóxido em 2,5 e 2,7 ppm e prótons de olefina em 5,2 e 5,4 ppm, além de quatro grupos metílicos em carbono quaternário. Esta fração apresenta $R_f \cong 0,32$, quando eluída em CCDC com DCM/MeOH 99,5:0,5 e coloração amarela, quando revelada com $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$.

1(10),4-diepóxi-7-humuleno
5

O espectro de RMN de ^{13}C (figura 21, p. 64) mostra que a fração é constituída por uma mistura na qual uma substância predomina. Nele foi possível observar os sinais referentes à ligação dupla em 122,5 e 142,7 ppm e os sinais referentes aos carbonos dos epóxidos em 60,2; 63,2; 64,5 e 60,0 ppm. Os dois sinais referentes aos grupos metílicos em carbono quaternário (16,3 e 16,4 ppm) e os referentes aos dois grupos metílicos em carbono quaternário do epóxido em 23,2 e 30,6 ppm também são observados.

Juntando essas informações às do espectro de massas foi possível propôr a estrutura do 1(10),4-diepóxi-7-humuleno (5), confirmada através de comparação com dados da literatura (Heymann, 1994). Na tabela XI, p. 58 estão mostrados os deslocamentos químicos dos carbonos da substância.

Figura 20: Espectro de RMN de ^1H de 5, em CDCl_3 .

Figura 21: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) de 5, em CDCl_3 .

3 - SESQUITERPENOS DO ÓLEO ESSENCIAL

3.1 - SEPARAÇÃO DOS SESQUITERPENOS

A fim de se verificar se há diferença na composição química do óleo essencial de espécimens coletados em locais diversos, foram realizadas duas coletas de material, uma em Campo Grande (MS) e outra em Araraquara (SP), uma vez que já haviam sido observadas diferenças na composição química das folhas de espécimens coletados em São Carlos (SP) e Amazônia (AM). Os óleos foram obtidos conforme mostrado na parte experimental. Os cromatogramas a gás dos dois óleos essenciais, o de Campo Grande (MS) (figura 22, p. 70) e o de Araraquara (SP) (figura 23, p. 71), revelaram ser a composição química destes muito semelhante. Nos cromatogramas, pode-se observar que nos óleos há cerca de 50 constituintes, sendo dois os constituintes principais. Na tabela XII, p. 66 estão mostrados os tempos de retenção, no cromatograma a gás, dos constituintes com mais de 1% de intensidade, dos quais 10 foram identificados. Verificou-se que um dos picos (TR = 11,69) corresponde a 2 substâncias, sendo estas dois epóxicariofilenos.

Foram realizadas coinjeções do óleo essencial com os sesquiterpenos isolados do extrato hexânico. Deste modo, foi possível identificar o *trans* 1(10)-epóxi-4(15)-cariofileno, o 1(10)-epóxi-4,7-humuladieno e o 10-aloomadendranol; os dois primeiros, com concentração superior a 1% e, o último, representando apenas 0,3% do óleo.

Tabela XII: Constituintes do óleo essencial.

Tempo de Retenção	%	Substância Identificada
7,40	2,0	1,3,11-elematrieno (β -elemeno)
8,06	25,0	1(10),4(15)-cariofiladieno
8,70	8,5	1(10),4,7-humulatrieno (α -humuleno)
9,31	4,0	<i>cis</i> 4,10(14)-cadinadieno (γ -muuroleno)
9,41	24,0	1(10),4(15),5-germacratrieno (germacreno-D)
9,70	2,5	-
9,8	1,0	-
10,13	2,5	<i>trans</i> 4,10(14)-cadinadieno
10,33	5,0	1(10),4-cadinadieno (δ -cadineno)
11,69	5,0	<i>trans</i> 1(10)-epóxi-4(15)- cariofileno e <i>cis</i> 1(10)-epóxi-4(15)-cariofileno
11,85	0,3	10-aloaromadendranol (viridiflorol)
11,93	1,0	-
12,26	2,0	1(10)-epóxi-4,7-humuladieno
13,13	1,0	-
13,35	1,5	-

Uma parte do óleo essencial obtido da coleta feita em Araraquara (200 mg) foi submetida a cromatografia em coluna aberta de sílica (figura 4, p. 14). Na fração E9-12 constatou-se, por cromatografia a gás e RMN de ^1H e de ^{13}C (figuras 24, 25 e 26, p. 72, 73 e 74 respectivamente), a presença predominante do *trans* 1(10)-epóxi-4(15)-cariofileno e do 1(10)-epóxi-4,7-humuladieno.

Uma vez que os cromatogramas a gás da fração E2-4 (figura 27, p. 75) e do restante do óleo essencial mostraram-se muito parecidos ambos foram reunidos e submetidos a cromatografia em coluna de sílica gel impregnada com AgNO_3 (vide parte experimental). O princípio de separação desta coluna é a força de complexação do AgNO_3 com as ligações duplas das moléculas. As frações desta coluna foram reunidas através de semelhanças analisadas por CCDC e CG, em 18 grupos (tabela XIII, p. 68). Este procedimento permitiu a separação de substâncias com tempos de retenção muito próximos e com polaridades semelhantes.

Tabela XIII: Fracionamento do óleo essencial em coluna de sílica impregnada com AgNO₃.

Grupo	Frações Reunidas	TR	%	Massa (mg)	Substância Identificada
I	1-2	-	-	1	mistura complexa
II	3	7,10 9,81 10,35 10,76	7,5 9,5 39,0 6,0	15	- - 1(10),4-cadinadieno ^a -
III	4-5	-	-	30	mistura complexa
IV	6	9,31 10,13 11,69	23,0 5,0 48,5	12	<i>cis</i> 4,10(14)-cadinadieno ^a <i>trans</i> 4,10(14)-cadinadieno ^b <i>trans</i> 1(10)-epoxi-4(15)-cariofileno ^b
V	7-8	9,31 10,13 11,69	18,0 11,0 54,0	26	<i>cis</i> 4,10(14)-cadinadieno ^b <i>trans</i> 4,10(14)-cadinadieno ^b <i>trans</i> 1(10)-epoxi-4(15)-cariofileno ^b e <i>cis</i> 1(10)-epoxi-4(15)-cariofileno ^b
VI	9-10	9,31 10,13 11,61 11,69	12,0 18,0 13,0 20,0	8	<i>cis</i> 4,10(14)-cadinadieno ^b <i>trans</i> 4,10(14)-cadinadieno ^b <i>trans</i> 1(10)-epoxi-4(15)-cariofileno ^b e <i>cis</i> 1(10)-epoxi-4(15)-cariofileno ^b
VII	11-13	-	-	7	mistura complexa
VIII	14	-	-	2	mistura complexa
IX	15-18	-	-	5	mistura complexa
X	19-20	-	-	3	mistura complexa
XI	21-26	-	-	7	mistura complexa
XII	27	-	-	2	mistura complexa
XIII	28-29	9,50 9,70 12,26 13,34	11,0 8,5 59,0 5,5	8	- - 1(10)-epoxi-4,7-humuladieno ^b -
XIV	30	-	-	4	mistura complexa

Continuação da tabela XIII.

Grupo	Frações Reunidas	TR	%	Massa (mg)	Substância Identificada
XV	31-38	8,06	36,5	55	1(10),4(15)-cariofiladieno ^b
		9,41	40,0		1(10),4(15),5-germacatrieno ^b
XVI	39-45	8,06	56,0	15	1(10),4(15)-cariofiladieno ^b
		9,41	40,0		1(10),4(15),5-germacatrieno ^b
XVII	46-58	-	-	8	mistura complexa
XVIII	59	7,4		15	1,3,11-elematrieno ^c
		8,7			1(10),4,7-humulatrieno ^c

a) identificado através de RMN de ¹³C.

b) identificado através de RMN de ¹³C e TR.

c) identificado através de RMN de ¹³C, TR e EM.

Figura 22: Cromatograma a gás da casca coletada em Campo Grande (MS).

Figura 23: Cromatograma a gás da casca coletada em Araraquara (SP).

Figura 24: Cromatograma a gás da fração E9-12.

Figura 25: Espectro de RMN de ^1H da fração E9-12, em CDCl_3 .

Figura 26: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) da fração E9-12, em CDCl_3 .

Figura 27: Cromatograma a gás da fração E2-4.

3.2 - IDENTIFICAÇÃO DOS SESQUITERPENOS

A determinação estrutural de hidrocarbonetos sesquiterpênicos por RMN de ^{13}C é bem complicada. Estes apresentam moléculas pequenas e qualquer mudança na estrutura provoca alterações nos dados espectroscópicos de toda a molécula. Além disto, existem poucos dados de RMN de ^{13}C disponíveis na literatura para serem empregados como modelos. Entre os milhares de sesquiterpenos descritos, encontrou-se, em um levantamento rápido, apenas cerca de 50 hidrocarbonetos sesquiterpênicos com dados de RMN de ^{13}C . No entanto, na ausência de padrões, a RMN de ^{13}C é a melhor técnica espectroscópica para identificar estas substâncias.

A identificação dos componentes do óleo essencial por EM através da técnica CG/EM pode levar a muitos erros. Primeiro porque o $\text{M}^{+\bullet}$ é quase sempre 204, além disto, as moléculas rearranjam-se facilmente formando fragmentos com estruturas iguais, originando espectros de massas semelhantes diferindo apenas nas intensidades relativas dos picos. Por fim, existe muita variação entre espectros obtidos em instrumentos diferentes. Assim, optou-se por analisar o óleo essencial da casca do tronco de *Guarea guidonia* através da RMN de ^{13}C e cada grupo de frações foi submetido às técnicas PND e DEPT 135⁰.

A análise seguiu a metodologia descrita para mistura de triterpenos (Gallegos Olea, 1990). De início, algumas indicações sobre os esqueletos dos sesquiterpenos podem ser obtidas dos deslocamentos químicos dos carbonos olefinicos, dos metílicos e, quando detectáveis, dos quaternários (tabela XIV, p. 78). Sabe-se que os hidrocarbonetos sesquiterpênicos naturais possuem na

grande maioria, índice de deficiência de hidrogênio igual a 4, portanto o número de anéis somado ao número de ligações duplas deve ser igual a 4. Além disto, o número de metilas e/ou metilenos terminais é também igual a 4. Aliado a essas informações, sabe-se que sesquiterpenos com ligações duplas epoxidadas apresentam TR ligeiramente maior do que os hidrocarbonetos sesquiterpênicos. No espectro de RMN de ^{13}C , os carbonos epoxidados apresentam deslocamentos químicos em torno de 60 ± 3 ppm, região facilmente observável.

Seguindo a metodologia citada, os sinais de carbonos com o mesmo número de hidrogênios e de intensidades semelhantes (que a princípio devem corresponder à mesma substância) foram agrupados. Cada grupo de sinais foi então comparado com espectros de RMN de ^{13}C da literatura. Esta comparação foi dirigida, inicialmente, pelas observações dos deslocamentos químicos das ligações duplas (tabela XIV, p. 78) tendo-se como base os esqueletos dos sesquiterpenos de maior ocorrência em Angiospermas (figura 16, p. 54) e do aromadendrano; uma vez que derivados deste último foram isolados do extrato hexânico da casca do tronco de *Guarea guidonia*.

Tabela XIV: Dados de RMN de ^{13}C característicos de alguns carbonos.

	δ (ppm)	
duplas exocíclicas em anéis de 5 a 7 átomos de carbono	$\text{CH}_2=$ 105 ± 3	$=\text{C}<$ 150 ± 3
duplas terciárias	$-\text{CH}=$ 123 ± 3	$=\text{C}<$ 133 ± 3
duplas em isopropileno e anéis maiores	$\text{CH}_2=$ 110 ± 3	$=\text{C}<$ 150 ± 3
anel ciclopropânico	$\text{CH}_3 \sim 16$ e ~ 28	$\text{C} (4^{\text{ário}}) \sim 20$

Os grupos I, III, VII-XII, XIV e XVII não foram trabalhados.

O CMG do grupo II (figura 28, p. 90) mostrou a predominância do constituinte com $\text{TR} = 10,35$. Através do espectro de RMN de ^{13}C (PND e DEPT 135°) (figuras 29 e 30, p. 91 e 92, respectivamente) foi possível identificá-lo como sendo o 1(10),4-cadinadieno (10) (Randriamiharisoa, et al., 1986). O espectro de massas está de acordo com a proposta.

O CMG do grupo IV (figura 31, p. 93) indica a predominância de dois constituintes. A tabela XV, p. 79, mostra a separação de sinais em função de intensidades semelhantes (informações obtidas do espectro PND) e do número de hidrogênios de cada carbono (informações obtidas do espectro DEPT 135°).

Tabela XV: Dados de RMN de ^{13}C do grupo IV.

CH ₃ ou CH		CH ₂		C	>C=CH ₂	-CH=CH ₂
M	G	M	G	“P”	“P” G	M M
15,4	17,0	25,4	27,2	34,0	151,8 112,7	124,5 106,4
21,7	21,6	25,8	29,8	59,8		
23,9	29,9	30,8	30,2			
26,6	48,7	31,6	39,1			
43,5	50,7		39,7			
44,7	63,7					

Comparação dos dados da tabela XV com dados de RMN de ^{13}C da literatura identificou o constituinte predominante como o *trans* 1(10)-epoxi-4(15)-cariofileno (1) (Heymann, et al., 1994) e, o outro, como o *cis* 4,10(14)-cadinadieno (γ -muuroleno) (8) (Randriamiharisoa, et al., 1986). Nas figuras 32 e 33, p. 94 e 95, estão mostrados os espectros de RMN de ^{13}C PND e DEPT 135⁰, respectivamente, do grupo IV. O espectro de massas dos constituintes mais abundantes do grupo confirmou a proposta. Além destes, a presença do *trans* 4,10(14)-cadinadieno, identificado no grupo V, pôde ser constatada através do sinal no CMG com TR = 10,13.

Embora os CMGs dos grupos V e VI (figuras 34 e 35, p. 96 e 97, respectivamente) revelem uma composição química semelhante, estes não foram reunidos devido à diferença de concentração dos constituintes principais. Esta diferença facilita a análise dos espectros de RMN de ^{13}C .

Após separar os sinais dos espectros de RMN de ^{13}C desses grupos por intensidade e fase (tabelas XVI e XVII, p. 81 e 82, respectivamente) verificou-se a presença do *trans* 1(10)-epóxi-4(15)-cariofileno (1) e *cis* 4,10(14)-cadinadieno (8). Retirados os sinais correspondentes a estas substâncias, constatou-se, através de observações já descritas, a presença de mais dois constituintes predominantes. Os tempos de retenção, espectros de massas, além dos deslocamentos químicos nos espectros de RMN de ^{13}C , sugerem que estes sejam um cadineno e um epóxicariofileno. A localização das ligações duplas e a estereoquímica foram definidas através de comparação com dados de RMN de ^{13}C de substâncias análogas, uma vez que não se encontrou na literatura, espectros iguais aos observados. Assim para o cadineno, fez-se uma analogia, mostrada na tabela XVIII, p. 83, com as substâncias *cis* e *trans* 4(15),10(14)-cadinadieno (18 e 19, respectivamente) (Koster, et al., 1986), chegando à estrutura do *trans* 4,10(14)-cadinadieno (9). Para o epóxicariofileno fez-se uma analogia com o *cis* e *trans* 14-hidróxi-1(10),4(15)-cariofiladieno (Barrero, et al., 1989) e comparou-se com os dados do *cis* e do *trans* 1(10)-epóxi-4(15)-cariofileno (Bohlmann and Zdero, 1978b), os quais apresentaram algumas discrepâncias. Porém, acredita-se que a substância 13 seja o *cis* 1(10)-epóxi-4(15)-cariofileno. O espectros de RMN de ^{13}C (PND e DEPT 135⁰) dos grupos V e VI estão mostrados nas figuras 36, 37, 38 e 39, p. 98, 99, 100 e 101, respectivamente).

Tabela XVI: Dados de RMN de ^{13}C do grupo V.

CH ₃ ou CH				CH ₂			C	CH ₂ =			CH=			=C<		
G	M	P		G	M	P		G	M	P	G	M	P	G	M	P
17,0	15,4	15,1		27,2	25,3	25,7	33,9	112,7	106,5	102,9	124,5	122,4		151,7	133,8	134,7
21,5	21,6	21,4		29,7	25,8	26,5										
29,8	23,9	22,5		30,2	30,8	27,7									154,3	152,1
48,7	26,7	26,2		39,0	31,5	30,5										153,4
50,7	43,5	44,1		39,7		32,1										
63,7	44,7	45,1				36,2										
		46,8				36,3										
		47,0				36,5										
		53,8				42,2										
		61,0														

Tabela XVII: Dados de RMN de ^{13}C do grupo VI.

CH ₃ ou CH		CH ₂		C	CH ₂ =		CH=	
G	M	G	M		G	M	G	M
15,1	15,4	26,5	25,3	34,0	103,1	110,9	124,4	133,9
17,0	21,4	27,2	25,7	35,0	106,5	112,2	124,5	151,8
21,5	21,7	29,5	25,8		112,2			
21,6	26,2	29,7	27,7		112,7			
22,5	26,6	30,2	30,8					
23,9	28,7	30,5	31,6					
29,9	32,1	36,3	32,2					
45,1	39,7	39,1	36,2					
46,9	43,5	39,7	36,6					
48,7	44,2	42,2						
50,7	44,7							
53,9	47,8							
61,0	47,9							
63,7	53,0							
	58,2							

Tabela XVIII: Comparação de deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C de cadinadienos.

	18	19	$\Delta=19-18$	8	calculado (cis+ Δ)	9
1	46,19	47,41	1,22	43,5	44,72	44,2
2	29,34	30,64	1,30	25,3	26,60	25,7
3	34,59	34,56	-0,03	31,6	31,57	32,8
4	146,49	149,36	2,87	133,9	136,77	134,7
5	36,48	39,13	2,65	124,5	127,15	122,4
6	41,32	46,24	4,92	39,7	44,62	45,1
7	38,08	48,64	10,56	44,7	55,26	53,0
8	25,70	26,32	0,62	25,8	26,42	26,5
9	31,15	36,67	5,52	30,8	36,32	36,2
10	153,28	152,97	-0,31	154,3	153,99	153,4
11	25,53	26,26	0,73	26,6	27,33	28,7
12	21,59	21,66	0,07	21,7	21,77	21,7
13	15,07	15,06	-0,01	15,4	15,39	15,1
14	106,35	104,04	-2,31	106,5	104,19	103,1
15	107,91	107,03	-0,88	23,9	23,02	26,2

O CMG do grupo XIII (figura 40, p. 102) indica a presença de um constituinte majoritário. Através do TR e dados de RMN de ^1H e de ^{13}C (PND) (figuras 41 e 42, p. 103 e 104, respectivamente) este pôde ser identificado como o 1(10)-epóxi-4,7-humuladieno (2) (Schneider and Agrawal, 1986).

Do mesmo modo que os grupos V e VI, os grupos XV e XVI não foram reunidos devido à diferença na concentração dos seus constituintes principais. Os CMGs dos grupos XV e XVI estão mostrados nas figuras 43 e 44, p. 105 e 106, respectivamente. Porém, essa variação na concentração não foi suficiente para se poder observar diferença na intensidade dos sinais das substâncias diferentes nos espectros de RMN de ^{13}C (PND e DEPT 135⁰) (tabela XIX, p. 85 e figuras 45 e 46, p. 107 e 108, respectivamente). Uma vez que um dos constituintes é o 1(10),4(15),5-germacatrieno (7), que já havia sido identificado no óleo essencial por comparação com a literatura (Randriamiharisoa, et al., 1986), foi possível retirar os sinais de ressonância correspondentes aos carbonos desta substância e assim restaram os sinais da outra substância, identificada por TR e RMN de ^{13}C como o 1(10),4(15)-cariofiladieno (4). Este foi confirmado através de comparação com dados da literatura (Bohlmann and Zdero, 1978b). O espectro de massas dos constituintes principais está de acordo com a proposta.

Tabela XIX: Dados de RMN de ^{13}C do grupo XV.

CH_3 ou CH	CH_2	$\text{CH}_2=$	$\text{CH}=$	$=\text{C}<$
16,3	26,4	109,1	120,5	135,3
16,9	28,8	111,9	127,2	137,4
19,2	29,2		133,6	148,2
20,6	29,3		135,0	153,8
22,4	34,1			
29,9	34,2			
32,6	40,1			
48,4	40,2			
52,7	40,7			
52,8				

O CMG do grupo XVIII (figura 47, p. 109) mostra a presença de dois constituintes principais. Os TR associados à demora na eluição da coluna de sílica impreganda com AgNO_3 indicam que eles possuem três ligações duplas e nenhum oxigênio. O espectro de RMN de ^1H (figura 48, p. 110) revela a presença de uma ligação dupla terminal através do sinal em 6,0 ppm, dd com $J = 17$ e 10 Hz, que corresponde a um hidrogênio com acoplamento *trans* e outro *cis*. Isto implica na existência de uma ligação monosubstituída terminal, encontrada em sesquiterpenos da classe dos elemenos. Unindo as informações obtidas dos espectros de massas, RMN de ^1H e de ^{13}C (PND e DEPT 135°) foi possível chegar às estruturas do 1,3,11-elematrieno (β -elemeno) (11) e

1(10),4,7-humulatrieno (α -humuleno) (12) para os constituintes principais do grupo XVIII.

Tabela XX: Dados de RMN de ^{13}C do grupo XVIII.

CH ₃ ou CH		CH ₂		C	CH ₂ =		CH=		=C<
G	M	G	M		G	M	G	M	
16,4	15,2	26,6	23,6	37,8	108,4	106,3	124,5	123,8	149,7
21,0	17,9	32,1	37,8	42,1		107,6	139,3	124,7	152,8
22,9	20,6	40,5	39,4				148,2		
29,2	27,3		41,3						
45,2			41,6						
54,4			42,1						
			53,7						

Os espectros de RMN de ^{13}C (PND e DEPT 135⁰) estão mostrados nas figuras 49 e 50, p. 111 e 112, respectivamente. O 1(10),4,7-humulatrieno (12) foi identificado comparando os dados da tabela XX com a literatura (Randriamiharisoa, et al., 1986). O 1,3,11-elematrieno (11) foi confirmado através de comparação com dados do 11-hidroxi-1,3-elemadieno (20) (Elgamal and Wolff, 1987) e feitos os cálculos da supressão dos efeitos β nos carbonos 13 e 7 e os γ nos carbonos 6 e 8, provocados pela presença da hidroxila e somados os efeitos β e γ nos respectivos carbonos citados, provocados pela presença da ligação dupla (tabela XXI, p. 88).

As substâncias dos grupos XV, XVI e XVIII apresentaram variação dos deslocamentos químicos das ligações duplas em relação aos dados da literatura. Este fato deve-se provavelmente a uma complexação muito forte entre a prata e as ligações duplas, assim quando as substâncias foram eluídas devem ter arrastado prata complexada junto. Esta explicação é plausível visto que estas frações escureceram. Na tabela XXII, p. 89, estão mostrados os deslocamentos químicos para os carbonos das substâncias 7, 8, 9, 10 e 11.

20

11

Tabela XXI: Cálculos efetuados para a supressão dos efeitos β e γ da hidroxila e adição dos mesmos efeitos provocados pela ligação dupla.

	20	Calculado				11
		β e γ (OH)	resultado	β e γ (C=C)	resultado	
1	150,13					148,2
2	109,80					106,3
3	111,96					107,6
4	147,76					149,7
5	52,57					54,5
6	28,38	+5	33,38	-0,5	32,88	32,1
7	49,23	-8	41,23	+6	47,23	45,2
8	22,47	+5	27,47	-0,5	26,97	26,6
9	39,77					40,5
10	39,61					42,1
11	72,63					152,8
12	27,05					108,4
13	27,05	-10	17,05	+6	23,05	21,0
14	16,49					16,4
15	24,76					22,9

Tabela XXII: Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (ppm), em CDCl_3 , de 7, 8, 9, 10 e 11.

^{13}C										
Posição	7		8		9		10		11	
1	127,2	CH	43,5	CH	44,2	CH	129,9	C	148,2	CH
2	29,2	CH_2	25,3	CH_2	25,7	CH_2	26,8	CH_2	106,3	CH_2
3	34,1	CH_2	31,6	CH_2	32,8	CH_2	32,0	CH_2	107,6	CH_2
4	148,2	C	133,9	CH	134,7	CH	134,2	C	149,7	C
5	133,6	CH	124,5	CH	122,4	CH	124,5	CH	54,5	CH
6	135,0	CH	39,7	CH	45,1	CH	39,4	CH	32,1	CH_2
7	52,8	CH	44,7	CH	53,0	CH	45,4	CH	45,2	CH
8	26,4	CH_2	25,8	CH_2	26,5	CH_2	21,2	CH_2	26,6	CH_2
9	40,7	CH_2	30,8	CH_2	36,2	CH_2	32,3	CH_2	40,5	CH_2
10	135,3	C	154,3	C	153,4	C	124,5	C	42,1	C
11	32,6	CH	26,6	CH	28,7	CH	26,7	CH	152,8	C
12	20,6	CH_3	21,7	CH_3	21,7	CH_3	21,7	CH_3	108,4	CH_2
13	19,2	CH_3	15,5	CH_3	15,1	CH_3	15,7	CH_3	21,0	CH_3
14	16,3	CH_3	106,5	CH_2	103,1	CH_2	18,5	CH_3	16,4	CH_3
15	109,1	CH_2	23,9	CH_3	26,2	CH_3	23,6	CH_3	22,9	CH_3

Figura 28: Cromatograma a gás do grupo II.

Figura 29: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) do grupo II, em CDCl_3 .

Figura 31: Cromatograma a gás do grupo IV.

Figura 32: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) do grupo IV, em CDCl_3 .

Figura 33: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT 135 $^{\circ}$) do grupo IV, em CDCl_3 .

Figura 34: Cromatograma a gás do grupo V.

Figura 36: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) do grupo V, em CDCl_3 .

Figura 37: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT 135°) do grupo V, em CDCl_3 .

Figura 39: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT 135°) do grupo VI, em CDCl_3 .

Figura 40: Cromatograma a gás do grupo XIII.

Figura 41: Espectro de RMN de ^1H do grupo XIII, em CDCl_3 .

Figura 42: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) do grupo XIII, em CDCl_3 .

Figura 43: Cromatograma a gás do grupo XV.

Figura 45: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) do grupo XV, em CDCl_3 .

Figura 46: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT 135°) do grupo XV, em CDCl_3 .

Figura 47: Cromatograma a gás do grupo XVIII.

Figura 48: Espectro de RMN de ^1H do grupo XVIII, em CDCl_3 .

Figura 49: Espectro de RMN de ^{13}C (PND) do grupo XVIII, em CDCl_3 .

Figura 50: Espectro de RMN de ^{13}C (DEPT 135°) do grupo XVIII, em CDCl_3 .

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos químicos anteriores realizados com espécies da família Meliaceae não mostram a ocorrência de sesquiterpenos como metabólitos freqüentes nestas espécies. Uma das causas deste fato deve ser o trabalho dirigido para procura de meliacinas (Banerji and Nigam, 1984). Não foram encontrados relatos anteriores de sesquiterpenos na espécie *Guarea guidonia*, exceto em dois trabalhos (Garcez, 1993 e 1994) e naqueles isolados de outras espécies de Meliaceae predominam os cadinenos (Banerji and Nigam, 1984; Nagasampagi, et al., 1968).

Surpreendentemente, no extrato hexânico da casca do tronco da *Guarea guidonia* encontraram-se vários sesquiterpenos, apresentando esqueletos variados. Este fato, aliado ao forte aroma exalado pelas cascas em estudo, dirigiu o trabalho para a obtenção do óleo essencial.

Os cromatogramas dos óleos essenciais provenientes de espécimens localizados em Araraquara (SP) e Campo Grande (MS) mostraram que, além da composição química de ambos ser muito semelhante, havia uma altíssima predominância de sesquiterpenos. Esta dedução foi feita em função dos tempos de retenção dos constituintes do óleo, nas condições experimentais usadas.

A falta de padrões para análise através de cromatografia a gás fez com que se tentasse uma separação parcial dos sesquiterpenos através da cromatografia de adsorção em sílica impregnada com AgNO₃. A análise das frações desta coluna, por TR e pelas técnicas espectroscópicas de RMN de ¹H e de ¹³C e de espectrometria de massas, mostrou-se eficiente, levando à

identificação de onze sesquiterpenos no óleo. Estes pertencem a seis tipos de esqueletos: um germacrano, um elemmano, um aromadendrano, dois humulanos, três cariofilanos e três cadinanos. Percebe-se uma grande diversidade estrutural, porém, mais uma vez, há predominância dos cadinanos.

Como resultado deste trabalho, além da identificação de sesquiterpenos não encontrados freqüentemente em Meliaceae, obtiveram-se padrões de sesquiterpenos para futuras identificações por cromatografia a gás.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmad, V. U., Aliya, R., Perveern, S. and Shameel, M. (1992) *Phytochemistry* **31**, 1429.
- Banerji, B. and Nigam, S. K. (1984) *Fitoterapia* **LV**, 3.
- Barrero, A. F., Sánchez, J. F., and Ferrol, N. (1989) *Tetrahedron Letters* **30**, 247.
- Beechan, C., Djerassi, C. and Eggert, H. (1978) *Tetrahedron* **34**, 2503.
- Bohlmann, F., Zdero, C., Hoffmann, E., Mahanta, P. K. and Dorner, W. (1978a) *Phytochemistry* **17**, 1917.
- Bohlmann, F. and Zdero, C. (1978b) *Phytochemistry* **17**, 1135.
- Corrêa, M. P. (1926-1978) Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas, Rio de Janeiro, Imprensa Nacional, **II**, 77.
- Elgamal, M. H. and Wolff, P. (1987) *Planta Medica* **53**, 293.
- Faure, R., Ramanoelina, A. R. P., Rakotonirainy, O., Bianchini, J. P., Gaydou, E. M. (1991) *Magnetic Resonance in Chemistry* **29**, 969.

Furlan, M., Lopes, M. N. e Fernandes, J. B. (1992) 15^a Reunião Anual da S.B.Q, Livro de Rsumos: PN-59.

Furlan, M., Wolter Filho, W. e Roque, N. F. (1993) *Phytochemistry* **32**, 1519.

Gallegos Olea, R. S. e Roque, N. F. (1990) *Química Nova* **13**, 278.

Garcez, F. R., Garcez, W. S., Almeida, R. M., Tsutsumi, M. T., Roque, N. F. (1993) 16^a Reunião Anual da S.B.Q., Livro de Resumos: PN-18.

Garcez, F. R., Núñez, C. V., Almeida, R. M., Emerenciano, V. P., Roque, N. F. (1994) 17^a Reunião Anual da S.B.Q., Livro de Resumos: PN-24.

Goldsby, G. and Burke, B.A. (1987) *Phytochemistry* **26**, 1059.

Heymann, H., Tezuka, Y., Kikuchi, T. and Supriyatna, S. (1994) *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **42**, 138.

Köster, F. H., Wolf, H. and Kluge, H. (1986) *Liebigs Annalen der Chemie* **1**, 78.

Lidert, Z. (1985) *Journal of Natural Products* **48**, 843.

Lins, A. P., Felicio, J. D., Simoni, I. C e Munfford, V. (1991) 14^a Reunião Anual da S.B.Q, Livro de Resumos: PN-43.

- Lukacova, V., Polonsky, J., Moretti, C., Pettit, G. R. and Schimidt, J. M. (1982) *Journal of Natural Products* **45**, 288.
- Nagasampagi, B. A., Yankov, L. and Dev, S. (1968) *Tetrahedron Letters* **16**, 1913.
- Pizza, C. and Tommasi, N. (1988) *Phytochemistry* **27**, 2205.
- Randriamiharisoa, R., Gaydou, E. M. and Faure, R. (1986) *Magnetic Resonance in Chemistry* **24**, 275.
- Schneider, H.J. and Agrawal, P.K. (1986) *Magnetic Resonance in Chemistry* **24**, 718.
- Taylor, D.A.H. (1984) *Progress in Chemistry of Organic Natural Products* **45**, 1.
- Weener, H., Nkunya, M. H. H. and Mgani, Q. A. (1991) *Journal of Organic Chemistry* **56**, 5865.
- Wolter Filho, W, Wolter, E. L. A., Rocha, A. I., Gadelha, T. O., Cunha, E. V. L. e Barbosa Filho, J. M. (1991) 14^a Reunião Anual da S.B.Q., Livro de Resumos: PN-13.

Young, D. A. and Seigler, D. S. (1981) Phytochemistry and Angiosperm Phylogeny, Praeger Special Studies, Praeger Scientific, 126.

Zelnik, R. and Rosito, C. (1971) *Phytochemistry* **10**, 1166.

CURRICULUM VITAE

Nome: Cecilia Veronica Núñez.

Local de Nascimento: Morón, Buenos Aires, Argentina.

Data de Nascimento: 06 de dezembro de 1971.

EDUCAÇÃO

Colégio "Campos Salles".

Lapa, São Paulo.

Período: 1986-1988.

Universidade Mackenzie.

Higienópolis, São Paulo.

Período: de agosto de 1989 a junho de 1993.

Bacharelado em Química.

PARTICIPAÇÕES EM CONGRESSO

Sesquiterpeno e Esteróides de *Guarea guidonia*.

Autores: Cecilia Veronica Núñez e Nidia Franca Roque.

**Trabalho apresentado na 18ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de
Química.**

Caxambu - M.G. - de 30 de maio a 2 de junho de 1995.

Sesquiterpenos de *Guarea guidonia*.

**Autores: Cecilia Veronica Núñez, Fernanda Rodrigues Garcez, René Martins
de Almeida, Vicente de Paulo Emerenciano e Nidia Franca Roque.**

**Trabalho apresentado na 17ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de
Química.**

Caxambu - M.G. - de 24 a 27 de maio de 1994.