

CONSTITUINTES QUÍMICOS DE *GUSTAVIA AUGUSTA* L. (LECYTHIDACEAE)

Afonso Duarte Leão de Souza*, Arnaldo F. Imbiriba da Rocha, Maria Lúcia Belém Pinheiro, Carlos Humberto de S. Andrade, Ana Lúcia de A. Queiroz Galotta e Maria do Perpétuo Socorro S. dos Santos.

Departamento de Química, ICE, Universidade de Amazonas, Av. Gal. Rodrigo Otávio Jordão Ramos, 3000, 69077-000 Manaus - AM

Recebido em 4/10/99; aceito em 15/3/01

CHEMICAL CONSTITUENTS OF *GUSTAVIA AUGUSTA* L. (LECYTHIDACEAE). The *Gustavia augusta* is used in the folk medicine against leishmaniosis and showed anti-inflammatory action. The phytochemical studies of the plant stem bark have led to the isolation of (22E)-stigmasta-7,22-dien-3 β -ol, 24 α (S)-ethyl-5 α -colesta-7,trans-22-dien-3-one, D-friedoolean-14-en-3 β -ol, D-friedoolean-14-en-3-one and D-friedoolean-14-en-3 α -ol along with stigmasterol, α -amyrin, β -amyrin, lupeol, 3 α -hidroxi-lupeol and betulinic acid. The structures of these compounds were identified by IR, GC/MS, ^1H and ^{13}C NMR spectral analysis and comparison with literature data.

Keywords: *Gustavia augusta* L.; pentacyclic triterpenes; steroids.

INTRODUÇÃO

Considerada como a "família da castanha do Brasil"¹ a Lecythidaceae possui pelo menos 287 espécies tipicamente tropicais com cerca de 3/4 restringidas às regiões neotropicais²⁻⁴. O gênero *Gustavia*, totalmente neotropical, possui cerca de 40 espécies⁵, entre as quais a *Gustavia augusta* L. figura como uma das mais importantes por suas características botânicas e larga distribuição³. Poucas espécies da família foram estudadas quimicamente tendo sido identificados triterpenos pentacíclicos, esteróides, saponinas, cromanois, ácido elágico e alcalóide do tipo indolo [2,1-b]quinozonílicos⁶⁻¹¹. Da *Gustavia longifolia*, única espécie do gênero com estudo químico registrado na literatura, foram isolados esqualeno, estigmasterol, mistura de α -amirina, β -amirina e lupeol como ésteres C-3OH de ácidos graxos, ácidos graxos, ácido 3-oxo-12-oleanen-28-óico e seu éster metílico¹². Os extratos do caule e cascas de *G. augusta* possuem atividade antiinflamatória¹³. Entretanto, a principal atividade atribuída pelos índios da Guiana Francesa é no tratamento da leishmaniose¹⁴.

Este trabalho é uma contribuição ao estudo fitoquímico de Lecythidaceae. São apresentados os resultados das análises de frações do extrato etanólico da casca do caule de *G. augusta* em que foram identificados uma esteronona, dois esteróis e oito triterpenos pentacíclicos. Esterononas são raras em plantas, nunca foram isoladas antes de Lecythidaceae e a ocorrência em *G. augusta* pode justificar a ação antiinflamatória dos extratos da planta. Um preparado tópico contendo várias esteronas foi patenteado por um grupo japonês como inibidor da aceleração de queratinização e cicatrizante¹⁵.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fracionamento cromatográfico do extrato etanólico da casca do caule conduziu ao isolamento, da fração eluída com hexano, de espinasterona (**1**), taraxerona (**4**) e misturas de epitaraxerol (**5**) e epilupeol (**10**), estigmasterol (**2**) e espinasterol (**3**) e taraxerol (**7**), lupeol (**11**), α -amirina (**8**) e β -amirina (**9**) e, da fração eluída com clorofórmio, isolaram-se o ácido betulínico (**12**), e as misturas de **2** e **3** e de **7-9** e **11**. A substância **1**, de rara ocorrência em plantas, juntamente com **3**, **4**, **7** e **12** estão sendo identificadas pela primeira vez em Lecythidaceae.

O espectro no infravermelho de **1** apresentou banda intensa em 1717 cm^{-1} , típica de estiramento de carbonila não conjugada. O espectro de massas revelou o pico do íon molecular em m/z 410 (M^{+}) e os fragmentos em m/z 367 (M^{+} - C_3H_7), característico da perda de radical iso-propil de esteróides Δ^{22} insaturados, 271 (M^{+} - $\text{C}_{10}\text{H}_{19}$), indicativo da presença de grupo etil em C-24 e próprio de esteróides com duas insaturações na parte anelar e 269 (M^{+} - $\text{C}_{10}\text{H}_{21}$), entre outros, que reforçam estas características. O espectro de RMN ^1H mostrou sinais em δ 1,00 e 0,55 correspondentes a absorções de grupos metílicos de esteróides e sinais em δ 5,04 (1H, dd, $J=8,4$ e $15,0$ Hz) e δ 5,17 (2H, m) similares aos do espinasterol¹⁶. A comparação dos deslocamentos químicos registrados nos espectros de RMN ^{13}C (PND e DEPT 90° e 135°) com os da 3-colestanona (**15**)¹⁷ e dos acetatos de condrilasterol (**13**) e espinasterol (**14**)¹⁸ permitiram propor a estrutura da espinasterona para **1** (Tabela 1; Figura 1). Para o assinalamento do carbono C-5, levou-se em consideração que o 3 β -O-acetilcolestanol (**16**) tem $\delta_{\text{C-5}}=44,8$ e a 3-colestanona tem $\delta_{\text{C-5}}=46,7^{17}$, indicando para o grupo C=O uma desproteção sobre o C-5 ($\Delta\delta=1,9$). Observou-se um efeito de proteção da dupla olefínica em C-7 quando se comparou o $\delta_{\text{C-5}}$ de **16** com o de **13** e **14** ($\Delta\delta=-4,7$). Portanto, o valor de $\delta_{\text{C-5}}=43,0$ em **1** está compatível com a presença da carbonila e da dupla olefínica vizinhas a este carbono.

A mistura de **2** e **3** foi detectada em cromatoplasas de sílica e com injeção em CGAR/EM que apresentou dois picos cada um com íon molecular em m/z 412 (M^{+}). A sugestão oferecida pela biblioteca eletrônica NIST do sistema de injeção e a comparação dos dados dos espectros no infravermelho, de massas e RMN ^1H e ^{13}C (PND e DEPT 135°) com dados da literatura^{16,24-25} permitiram propor as estruturas do estigmasterol para **2** e do espinasterol para **3**.

O espectro no infravermelho de **4** apresentou bandas em 1709 cm^{-1} , compatível com carbonila de cetona não conjugada e em 3048 e 1640 cm^{-1} próprias de sistema olefínico. O espectro de massas registrou o pico do íon molecular em m/z 424 (M^{+}) e os fragmentos em m/z 300 (M^{+} - C_9H_{16}), 285 (M^{+} - $\text{C}_{10}\text{H}_{19}$), 204 (M^{+} - $\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$, pico base) e 189 (M^{+} - $\text{C}_{16}\text{H}_{27}\text{O}$) citados¹⁹ como característicos da taraxerona. Os deslocamentos químicos registrados nos espectros de RMN ^1H , COSY e RMN ^{13}C (PND e DEPT 135°) confirmaram a identificação da taraxerona, quando comparados com dados da literatura^{20,21}. Sakurai e colaboradores²⁰ atribuem ao C-12 o valor de $\delta=35,8$, ao C-10 $\delta=37,6$ e aos C-13 e C-17 $\delta=37,7$. Contudo a análise

*e-mail: afonsodlsouza@yahoo.com.br

Tabela 1. Deslocamentos químicos (δ)^a de RMN ¹³C (50 MHz) de **1** em CDCl₃ comparados com valores de padrões da literatura.

C	1	13	14	15
1	38,9	36,8		38,6
2	38,2	27,5		37,9
3	212,1	73,5		209,1
4	44,3	33,8		44,5
^b 5	43,0	40,1		46,7
6	30,1	29,5		29,1
7	117,1	117,3		31,9
8	139,6	139,5		35,7
9	49,0	49,3		54,1
10	34,5	34,2		35,6
11	21,8	21,5		21,6
12	39,4	39,4		28,3
13	43,3	43,3		42,7
14	55,1	55,1		56,5
15	23,1	23,0		24,3
16	28,6	28,4	28,5	40,2
17	56,0		55,9	56,6
18	12,2		12,1	12,0
19	12,5		13,0	11,2
20	40,9		40,8	35,9
21	21,2	21,0	21,1	18,7
22	138,1		138,1	36,4
23	129,6		129,4	24,0
24	51,3		51,2	39,6
25	32,0		31,9	28,0
26	21,5	19,0	21,5	22,5
27	19,1	21,5	19,0	22,7
28	25,5		25,4	-
29	12,3	12,5	12,3	-

^aNúmeros em negrito foram usados na atribuição dos sinais de **1**.

^bC-5 é discutido no texto.

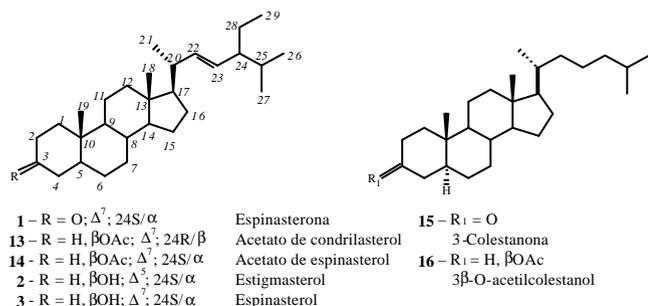


Figura 1. Esteróides de *Gustavia augusta* e modelos da literatura.

dos espectros de RMN ¹³C (PND e DEPT 135°) de **4** sugere a troca do valor atribuído pelos autores ao C-12 (CH₂) pelo do C-10, C-13 ou C-17 (todos C), pois é registrado um sinal de carbono dissubstituído em δ =37,5 e outro, de carbono quaternário, em campo mais alto, em δ =35,6. O assinalamento do taraxerano D-friedoolean-14-en-3 α -28-diol (isomiricadiol - **6**)²¹ sugere, ainda, a troca entre os valores atribuídos²⁰ ao C-7 e ao C-19. O reassinalamento da taraxerona (**4**) é, portanto, recomendável.

A análise da mistura de **5** e **10** em cromatoplaça de sílica revelou duas manchas. O espectro no infravermelho registrou absorções em 3417 cm⁻¹ próprias de hidroxilas de álcool e 3054, 1651 e 1634 cm⁻¹ de sistema olefínico. O espectro de massas registrou o pico do íon molecular em m/z 426 (M⁺) e fragmentos em m/z 408, 302, 269, 204 e 189 compatíveis com os do taraxerol e lupeol¹⁹. A oxidação com o reagente de Jones forneceu um sólido cujos espectros de massas e no infravermelho

assemelhavam-se aos da taraxerona (**4**). Entretanto os dois componentes da mistura foram identificados através dos espectros de RMN ¹H e ¹³C (PND e PENDANT). O espectro de RMN ¹H registrou um sinal em δ 5,52 (dd, J=3,2 e 8,1 Hz), atribuído ao H-15 do taraxerol (**7**) ou epitaraxerol (**5**) por comparação com os dados do isomiricadiol (**6**)²¹ e os sinais em δ 4,69 (sl) e 4,57 (sl) correspondentes aos dois H-29 do lupeol (**11**)²² ou epilupeol (**10**). A configuração α -OH em C-3 de **5** e **10** foi definida pelo registro do tripleto em δ 3,40 com constante de acoplamento (J=2,8 Hz) semelhante a do H-3 de **6**. A comparação dos dados de RMN ¹³C com os do taraxerol²⁰, lupeol²² e isomiricadiol²¹ associada as observações anteriores permitiram propor as estruturas do epitaraxerol para (**5**) e do epilupeol para (**10**) (Tabela 2; Figura 2).

Tabela 2. Deslocamentos químicos (δ) de RMN ¹³C (75 MHz) de **5** e **10** em CDCl₃ comparados com valores de modelos da literatura.

C	7	11	6	5	10
1	38,1	38,7	32,6^d	32,5	32,5
2	27,3	27,4	25,0	25,3	25,3
3	79,2	78,9	76,2	76,4	76,4
4	39,1	38,8	37,5^c	37,6 ^c	37,6 ^f
5	55,7	55,3	48,8^b	48,2 ^d	48,2
6	19,0	18,3	18,7	18,4	18,4
7	41,4[#]	34,2	41,2	41,5	34,4
8	38,9	40,8	40,3	38,6	41,1
9	48,9	50,4	49,2 ^b	49,2 ^d	50,5
10	37,9	37,1	37,3 ^c	37,3 ^c	37,3 ^f
11	17,7	20,9	17,3	17,6	21,2
12	35,9	25,1	32,2 ^a	36,9	25,3
13	37,9	38,0	38,0 ^c	37,7	38,0*
14	158,1	42,8	159,3	158,4	43,0
15	117,0	27,4	115,5	117,0	27,6
16	36,9	35,5	38,8	35,8	35,8
17	38,1	43,0	39,2	38,0	43,2
18	49,4	48,2	44,7	48,9	48,2
19	35,3[#]	47,9	35,8	35,3	48,2
20	29,0	150,9	28,6	29,0	151,2
21	33,9	29,8	33,5 ^a	34,0	29,9
22	33,2	40,0	27,9	33,3	40,2
23	28,1	28,0	28,2	28,4	28,2
24	15,6	15,4	22,2	22,4	22,4
25	15,6	16,1	15,2	15,4	16,4
26	30,1	15,9	29,9	30,1	16,2
27	26,0	14,5	26,2	26,3	14,7
28	30,1	18,0	65,4	30,1	18,2
29	33,5	109,3	21,5	33,6	109,6
30	21,5	19,3	33,5	21,5	19,5

*Valor não observado, atribuído com base nos dados do lupeol²². Sinais com a mesma letra podem ser trocados. [#]Valores trocados de acordo com sugestões da literatura^{21, 23}. Números em negrito foram usados na atribuição dos sinais de **5** e **10**.

A mistura de **7-9** e **11** revelou por injeção no sistema CGAR/EM três picos, todos com íons moleculares em m/z 426 (M⁺) e respectivos padrões de fragmentação compatíveis com taraxerol, β -amirina, α -amirina e lupeol, estes, possivelmente coeluídos²⁶, conforme sugestão da biblioteca NIST do sistema e dados da literatura¹⁹. O espectro de RMN ¹³C apresentou sinais em δ 117,1 e 158,1; 124,6 e 139,9; 121,9 e 145,0 próprios do taraxerol²⁰, α -amirina e β -amirina²³, respectivamente. O espectro de RMN ¹H confirmou as indicações destas substâncias e revelou a presença do lupeol, em menor escala, através dos sinais em δ 5,53 (dd, J=3,2 e 8,1 Hz) atribuído ao H-15 do taraxerol por comparação com os dados do isomiricadiol²¹;

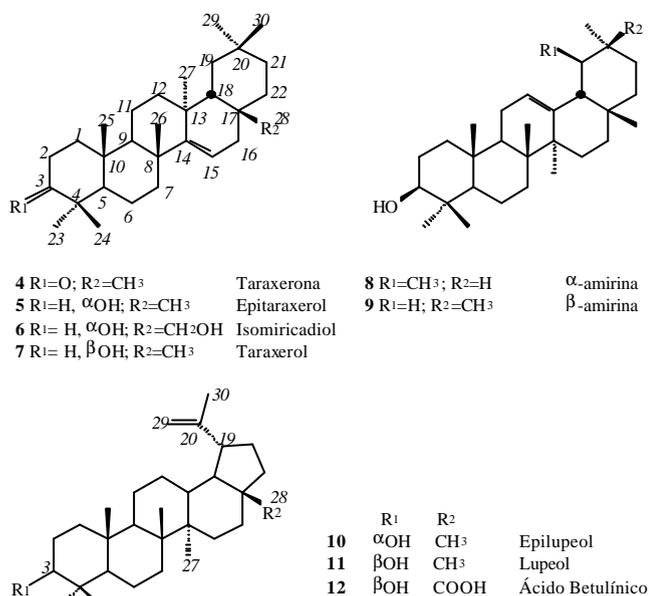


Figura 2. Triterpenos pentacíclicos de *Gustavia augusta* e *Isomircadiol*.

5,18 (m) e 5,13 (m) próprios do H-12 de α-amirina e β-amirina²⁷; 4,69 (sl) e 4,57 (sl) característicos dos dois H-29 do lupeol²²; e 3,20 (m) do H-3α, comum às quatro substâncias. A substância **12** foi identificada como ácido betulínico através do ponto de fusão misto e da comparação dos espectros no infravermelho e de massas com os de amostra autêntica.

PARTE EXPERIMENTAL

Condições gerais

Os espectros no infravermelho foram obtidos com o uso de pastilhas de KBr, em aparelho Perkin Elmer, modelo Spectrum 2000, FT-IR. Os espectros de RMN ¹H (200 ou 300 MHz) e de RMN ¹³C (50 ou 75 MHz), inclusive COSY, PENDANT²⁸ e DEPT foram obtidos em aparelhos Varian, com o uso de CDCl₃ como solvente e TMS como padrão de referência interno. Os deslocamentos químicos foram registrados em δ. Os espectros de massas foram obtidos por impacto eletrônico a 70 eV, em aparelho Finningan, Modelo 3200 ou em sistema CGAR/EM da Perkin Elmer (coluna capilar PE-2 - metil-5%-fenil-silicone, 30 m de comprimento, 0,25 μm de diâmetro interno; gás de arraste: hélio; pressão: 8 psi; taxa de divisão: 50:1; amostras diluídas em diclorometano; temperatura do forno - esteróides: 285 °C; - misturas e triterpenos: 250 °C, 1 °C/min., 290 °C). Os pontos de fusão foram obtidos em um bloco de Kofler adaptado a um microscópio. Os valores obtidos em °C não foram corrigidos. Convenções: i=intensa, m=média, f=fraca.

Material vegetal

A coleta botânica foi feita em Belém do Pará no Campus do Museu Paraense Emílio Goeldi, em cujo Herbário está depositada a exsicata número 7724.

Extração e isolamento dos constituintes

A casca do caule seca, moída e pesada (7,7 Kg) foi exaustivamente macerada com etanol. Após a evaporação do solvente, à pressão reduzida, em evaporador rotativo, o extrato (130 g) foi fracionado em coluna de sílica com diversos eluentes. Parte da fração eluída com hexano (10 g) foi cromatografada em coluna de gel de sílica com diversos solventes e combinações, em

ordem crescente de polaridade. Das frações eluídas com hexano/acetato de etila (99:1 – 95:5) foram obtidos **1**, **4** e as misturas de **2** e **3** e de **7-9** e **11**. O restante do material eluído com hexano (6 g) foi dissolvido em éter etílico, refrigerado e filtrado. O material retido foi fracionado em coluna de gel de sílica com diversos eluentes, em ordem crescente de polaridade. Da eluição com benzeno obteve-se a mistura de **5** e **10**. A fração eluída com clorofórmio do extrato etanol (19 g), submetida a diversas colunas de gel de sílica, forneceu **12**, além das misturas de **2** e **3** e de **7-9** e **11**.

Espinasterona (24α(S)-etil-5α-colesta-7,trans-22-dien-3-ona, **1**, 74 mg). p. f. 166-169 °C. IV(KBr) ν_{max} cm⁻¹: 1717_i, 1443_m, 1380_m e 972_m (C-22 *trans*). EM *m/z* 410 (M), 395, 367, 298, 283, 271, 269, 257, 244 e 229. RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): de acordo com dados da literatura¹⁶. RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃, Tabela 1).

Taraxerona (Friedoolean-14-en-3-ona, **4**, 31 mg). p. f. 218-221°C. IV(KBr) ν_{max} cm⁻¹: 3049_m, 1709_i, 1640_f, 995_m e 816_m. EM *m/z* 424 (M), 409, 300, 285, 272, 257, 218, 204, 189 e 133. RMN ¹H e COSY (200 MHz, CDCl₃): δ 5,5 (1H, dd, J=3,3 e 8,1 Hz, H-15); 2,5 (1H, ddd, J=7,1, 11,6 e 15,8 Hz, H-2); 2,3 (1H, ddd, J=3,2, 6,3, e 15,7 Hz, H-2'); e 1,11, 1,05(x2), 1,04, 0,93, 0,88(x2) e 0,80 (Todos 3H, s, H-23 a 30). RMN ¹³C (PND e DEPT 135°, 50 MHz, CDCl₃), vide texto.

Mistura de Epitaraxerol e Epilupeol (D-friedoolean-14-en-3α-ol, **5**, e 3α-OH-Lupeol, **10**, 9 mg). IV(KBr) ν_{max} cm⁻¹: 3417_m, 3054_f, 2937_i, 2869_i, 1651-1634_f, 1457_m e 1378_m. CGAR/EM (Um único pico cromatográfico) *m/z* 426 (M), 408 (M-H₂O), 302, 287, 284, 269, 204 e 189. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 5,52 (dd, J=3,2 e 8,1 Hz, H-15, **5**); 4,57 e 4,69 (2s, 2H-29, **10**); 3,40 (t, J=2,8 Hz, 3β-H, **5** e **10**); 2,38 (m, H-19, **10**); 1,68 (s, H-30, **10**); 1,09 (s, **5**); 1,03 (s, H-26, **10**) e 0,79 (s, H-28, **10**); todos determinados por comparação com dados do isomircadiol²¹ e do lupeol²². RMN ¹³C (PND e PENDANT; 75 MHz, CDCl₃, Tabela 2).

Mistura de Estigmasterol e Espinasterol [(22E)-estigmasta-5,22-dien-3β-ol, **2**, e (22E)-estigmasta-7,22-dien-3β-ol, **3**, 48 mg]. p. f. 148-153 °C. IV(KBr) ν_{max} cm⁻¹: 3401_m, 2957-2870_i, 1461_m, 1382_m, 1052_m e 970_m. CGAR/EM (tr **2**<**3**) *m/z* 412 (M), 397, 394, 379, 369, 351, 300, 273, 271, 255, 253 e 213. RMN ¹H: compatíveis com dados do estigmasterol²⁵ e do espinasterol¹⁶. RMN ¹³C (PND e DEPT 135°, 50 MHz, CDCl₃), de acordo com dados da literatura²⁴.

Mistura de Taraxerol, Lupeol, α-amirina e β-amirina (**7-9** e **11**, 18 mg). IV(KBr) ν_{max} cm⁻¹: 3426_m, 2933-2869_i, 1458_m, 1386_m e 1037_m. CGAR/EM (tr **7**<**9**<**11**=**8**), espectros de massas compatíveis com dados das respectivas substâncias^{19,27}. RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃)^{20,22,27}: δ 5,53 (dd, J=3,2 e 8,1 Hz, H-15, **7**), 5,18 e 5,13 (m, H-12, **8** e **9**), 3,20 (m, H-3α, **7-9** e **11**) e 4,69 e 4,57 (s, 2H-29, **11**). RMN ¹³C: compatíveis com dados das respectivas substâncias²⁰⁻²³.

Ácido betulínico (**12**, 7 mg). IV(KBr) ν_{max} cm⁻¹: 3600-2500_m (banda larga), 3072_f, 1688_i, 1643_m, 1235_m, 1191_m, 1020_m e 884_m. EM: de acordo com dados da literatura¹⁹.

AGRADECIMENTOS

À Central Analítica da Universidade do Amazonas, à UFC nas pessoas do Prof. Francisco Monte e do operador Daniel e à UFRJ nas pessoas dos Profs. Ângelo da Cunha Pinto e Jefferson Rocha de Andrade Silva e da operadora Cristiane pelos espectros recebidos. À Universidade do Amazonas e à CAPES pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Cronquist, A.; *An integrated System of Classification of*

- Flowering Plants*. Columbia University Press; New York. 1981.
2. Tsou, C. -H.; *Memoirs of the New York Botanical Garden*. **1994**, 71, 1.
 3. Prance, G. T.; Mori, S. A.; *Flora Neotropica*. **1979**, 21, 1.
 4. Mori, S. A.; Prance, G. T.; *Revta. brasil. Bot.* **1981**, 4, 31.
 5. Mori, S. A.; Prance, G. T.; Zeeuw, C. H. de.; *Flora Neotropica*. **1990**, 21 (II), 69.
 6. Pant, P.; Rastogi, R. P.; *Phytochemistry* **1979**, 18, 1095.
 7. Das, M. L.; Mahato, S. B.; *Phytochemistry* **1983**, 22, 1071.
 8. Bergmlan, J.; *Phytochemistry* **1984**, 18, 3547.
 9. Pal, B. C.; Achari, B.; Price, K. R.; *Phytochemistry* **1991**, 30, 4177.
 10. Massiot, G.; Chen, X.; Lavaud, C.; Le Men-Olivier, L.; Delaudo, C.; Viari, A.; Vigny, P.; Duval, J.; *Phytochemistry* **1992**, 31, 3571.
 11. Carvalho, M. G.; Velandia, J. R.; Oliveira, L. F.; Bezer-ra, F. B.; *Quim. Nova* **1998**, 21, 740.
 12. El-Seedi, H. R.; Zayed, M. F.; Morono, F. G.; Trossell, K. B. G.; *Rev. Latinoam. Quim.* **1999**, 27, 56.
 13. Rocha, A. F. I. da; Silva, E. A.; *Resumos da 38ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ci-ência*. 1986, 963.
 14. Grenand, P.; Moretti, C.; Jacquemin, H.; *Pharmacopées traditionnelles en Guyane. (Créoles, Palikur, Wayãpi)*; Éditions de l'ORSTOM; Institut François de Recherche Scientifique Pour Le Développement en Coopération; Paris. 1987.
 15. http://stneasy.cas.org/cgi-bin_sdcgi?APP=...1&ANSSET=AN003&P=3412-0482326421-2001712
 16. Garg, V. K.; Nes, W. R.; *Phytochemistry* **1984**, 23, 2919.
 17. Breitmaier, E.; Volter, W.; *Methods and Applications in Organic Chemistry*; 2^a Ed. Erlag; Chimie, 1978, p 225.
 18. Itoh, T.; Kikuchi, Y.; Tamura, T.; Matsumoto, T.; *Phytochemistry* **1981**, 20, 761.
 19. Budzikiewicz, H.; Wilson, J. M.; Djerassi, C.; *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 3688.
 20. Sakurai, N.; Yaguchi, Y.; Inoue, T.; *Phytochemistry* **1987**, 26, 217.
 21. Merfort, I.; Buddrus, J.; Nawwar, M. A. M.; Lambert, J.; *Phytochemistry* **1992**, 31, 4031.
 22. Reynolds, W. F.; Mclean, S.; Poplawski, J.; Enriquez, R.G.; Escobar, L. I.; Leon, I.; *Tetrahedron* **1986**, 42, 3419.
 23. Mahato, S. B.; Kundu, A. P.; *Phytochemistry* **1994**, 37, 1517.
 24. Goad, L. J. Phytosterols. In *Methods in Plant Biochemistry*. Charlwood, B. V. & Banthorpe, D.V., Eds.; Academic Press; London, 1991; p 399.
 25. Garg, V. K.; Nes, W. R.; *Phytochemistry* **1984**, 23, 2925.
 26. Guimarães, A. C.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade do Amazonas, Manaus - AM, 1997.
 27. Aragão, P. C.; Toledo, J. B.; Morais, A. A.; Braz, R. F.; *Quim. Nova* **1990**, 13, 254.
 28. Braun, S.; Kalinowski, H.-O.; Berger, S.; *100 and More Basic NMR Experiments*. VCH, 1996; p.154.