



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**ESTUDO QUÍMICO EM ALCALOIDES DE *Hippeastrum reginae* (L.)
HERB. (AMARYLLIDACEAE)**

MARCOS VINÍCIUS LACERDA DE OLIVEIRA

VITÓRIA

2017



Marcos Vinícius Lacerda de Oliveira

**ESTUDO QUÍMICO EM ALCALOIDES DE *Hippeastrum reginae* (L.)
HERB. (AMARYLLIDACEAE)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal do Espírito Santo,
como requisito para a obtenção do título
de Mestre em Ciências Farmacêuticas,
do Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Dr. Warley de Souza Borges

VITÓRIA

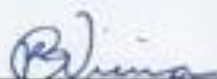
2017

Marcos Vinícius Lacerda de Oliveira

**ESTUDO QUÍMICO EM ALCALOIDES DE HIPPEASTRUM
REGINAE (L.) HERB. (AMARYLLIDACEAE)**

Trabalho de Dissertação de Mestrado aprovado em 20/03/2017 para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, área de concentração Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Espírito Santo

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Paulo Cezar Vieira / UFSCar



Prof. Dr. Alvaro Cunha Neto / UFES



Prof. Dr. Warley de Souza Borges (orientador) / UFES

Vitória

2017

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)

(Biblioteca Setorial do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

Oliveira, Marcos Vinícius Lacerda de, 1990 -

O48e Estudo químico em alcaloides de *Hippeastrum reginae* (L.) Herb.

(Amaryllidaceae) / Marcos Vinícius Lacerda de Oliveira – 2017.

140 f. : il.

Orientador: Warley de Souza Borges.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Alcaloides. 2. Liliaceae. I. Borges, Warley de Souza. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 615

AGRADECIMENTOS

Inicialmente a Deus.

Aos meus pais, por me conceder todo o apoio e amor necessário para concluir essa etapa e nunca medir esforços para me dar a oportunidade de aprimorar os estudos.

Aos meus irmãos por me apoiarem e me incentivarem nessa etapa.

À minha noiva, Carol, por todo apoio, amor, cumplicidade e companheirismo nessa etapa.

Ao meu orientador, prof. Dr. Warley de Souza Borges, pela oportunidade e confiança na realização desse trabalho e todo o conhecimento transmitido.

Ao prof. Dr. Pedro Moraes pelo incentivo e ajuda na coleta da planta. À pousada águas de pinon por ceder a planta a ser coletada e a Dra. Renata S. de Oliveira pela identificação da espécie.

Aos amigos do laboratório, Eduardo, Karla, Jean, Andressa, David, Carol, Letícia, Vanessa, Amanda, Maria Helena, Maria, Natalie, Raphael e Carlani por todo aprendizado transmitido e todos os momentos de descontração.

Ao prof. Dr. Jaume Bastida pelas análises de CG/EM realizadas e a comparação com a biblioteca de alcaloides de Amaryllidaceae.

Ao Prof. Dr. Álvaro Cunha Neto e ao Prof. Dr. Rodrigo Rezende Kitagawa pela disponibilidade e conhecimento passado na qualificação.

Ao laboratório de RMN do NCQP-UFES e a Júlia pela ajuda, amizade e realização das análises.

A CAPES pelo apoio com a bolsa de mestrado.

Ao Prof. Dr. Reginaldo Bezerra dos Santos pelos conhecimentos e disponibilidade de utilizar o laboratório de pesquisa em química orgânica.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de realizar o mestrado e todo conhecimento passado pelos professores.

RESUMO

Objetivos: O presente trabalho teve como principal objetivo realizar o estudo químico em alcaloides da espécie *Hippeastrum reginae*, promovendo o isolamento e caracterização destes compostos. **Métodos:** A planta foi separada em bulbos e folhas para a realização da extração com metanol. Após esta etapa foi feita a extração ácido-base e em seguida a partição com solventes de diferentes polaridades para a obtenção das frações enriquecidas em alcaloides. As frações enriquecidas foram inicialmente analisadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) e em seguida fracionadas através de técnicas cromatográficas, como coluna de exclusão Sephadex, cromatografia em coluna e cromatografia em camada delgada preparativa. Para o isolamento de alguns alcaloides foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e para a identificação a técnica de ressonância magnética nuclear (RMN). **Resultados:** A análise de CG/EM dos extratos evidenciou a presença de 11 alcaloides, sendo que destes compostos, quatro não apresentaram padrão de fragmentação compatível com a biblioteca de alcaloides do professor Dr. Jaume Bastida, podendo ser inéditos na literatura. Foram isolados 18 alcaloides de Amaryllidaceae, sendo a maioria pertencente à classe das homolicorinas. Destes compostos, foram identificados seis novos alcaloides de Amaryllidaceae, dos quais quatro foram completamente elucidados (2- α -metoxi-7-hidroxi homolicorina, 2- α -7-dihidroxi homolicorina, 2- α -metoxi homolicorina e 2- α -hidroxialbomaculina), enquanto para dois (7-hidroxi homolicorina e albomaculina *N*-óxido) foram feitas as análises de RMN de ^1H e massas de alta resolução. **Conclusão:** A planta *H. reginae* apresentou um alto teor de alcaloides, sendo isolados 18 compostos. Os alcaloides albomaculina e 2- α -7-dimetoxi homolicorina foram os mais abundantes na análise de CG/EM. Seis alcaloides não encontrados na literatura foram identificados neste trabalho e evidenciam um grande potencial para a descoberta de novos compostos ativos.

Palavras-chave: Alcaloides, Amaryllidaceae, *Hippeastrum reginae*, homolicorina.

ABSTRACT

Objectives: The main objective of the present work was to carry out a chemical study on alkaloids of the species *Hippeastrum reginae*, promoting the isolation and characterization of these compounds. **Methods:** The plant was separated in bulbs and leaves for the extraction with methanol. After this step, the acid-base extraction and then the partition with solvents of different polarities were made to obtain the fractions enriched in alkaloids. The enriched fractions were initially analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC/MS) and then fractionated by chromatographic techniques such as Sephadex exclusion column, column chromatography and preparative thin layer chromatography. For the isolation of some alkaloids, high performance liquid chromatography (HPLC) and for the identification of the nuclear magnetic resonance (NMR) technique were used. **Results:** The CG/MS analyze of the extracts evidenced the presence of 11 alkaloids, of which four had no fragmentation pattern compatible with the alkaloid library, and may be unpublished in the literature. Eighteen alkaloids of Amaryllidaceae were isolated, most of them belonging to the homolycorine class. Of these compounds, six new alkaloids of Amaryllidaceae were identified, four of which were fully elucidated (2- α -methoxy-7-hydroxyhomolycorine, 2- α -7-dihydroxyhomolycorine, 2- α -methoxyhomolycorine and 2- α -hydroxyalbomaculine), while Two (7-hydroxy-homolycorine and N-oxide albomaculine) analyzes were performed for $^1\text{H-NMR}$ and high resolution masses. **Conclusion:** The *H. reginae* plant had a high alkaloid content and 18 compounds were isolated. Albomaculine and 2- α -7-dimethoxyhomolycorine alkaloids were the most abundant in GC / MS analysis. Six alkaloids not found in the literature were identified in this work and show a great potential for the discovery of new active compounds.

Key words: Alkaloids, Amaryllidaceae, *Hippeastrum reginae*, homolycorine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Gráfico de representação dos medicamentos de origem natural e sintética aprovados entre os anos de 1981 e 2014.	12
Figura 2: Esquema de formação do intermediário norbeladina por fusão dos aminoácidos <i>L</i> -fenilalanina e <i>L</i> -tirosina.	14
Figura 3: Acoplamentos fenol oxidativos em alcaloides de Amaryllidaceae.	15
Figura 4: Representação dos nove núcleos fundamentais dos alcaloides de Amaryllidaceae.	16
Figura 5: Estrutura química dos alcaloides licorina e galantamina.	18
Figura 6: Imagem da espécie <i>Hippeastrum reginae</i>	20
Figura 7: Esquema de extração ácido-base do extrato bruto de folhas.	24
Figura 8: Esquema de extração ácido-base do extrato bruto de bulbos.	25
Figura 9: Fracionamento da amostra BAcAc por CC.	26
Figura 10: Esquema de união das subfrações similares e posterior isolamento por CLAE.	27
Figura 11: Esquema de fracionamento da fração BAcMe por CC.	28
Figura 12: Fluxograma do fracionamento da fração BHex.	29
Figura 13: Esquema de frações descartadas a partir do fracionamento de BHex.	29
Figura 14: Esquema de fracionamento da subfração BHex-3.	30
Figura 15: Esquema de fracionamento da fração BAcEt.	31
Figura 16: Fracionamento da subfração BAcEt-3 por cromatografia de exclusão.	32
Figura 17: Esquema de fracionamento da subfração BAcEt-3A.	33
Figura 18: Esquema de fracionamento da subfração BAcEt-3A.4 via CCDP.	34
Figura 19: Esquema de fracionamento da fração FHex.	35
Figura 20: Esquema de fracionamento inicial da fração FAcEt.	36
Figura 21: Fracionamento cromatográfico de FAcEt-2.	37
Figura 22: Estrutura química dos compostos isolados da planta <i>H. reginae</i>	40
Figura 23: Espectro de RMN de ¹ H do composto 1 (CDCl ₃ , 400 MHz).	43
Figura 24: Estrutura química do alcaloide homolicorina (1).	44
Figura 25: Espectro de RMN de ¹ H do composto 2 (CDCl ₃ , 400 MHz).	46
Figura 26: Fórmula estrutural do composto 2	47
Figura 27: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 2 (CDCl ₃ , 100 MHz).	48
Figura 28: Espectro de COSY ¹ H- ¹ H do composto 2 (CDCl ₃ , 400 MHz).	49
Figura 29: Espectro de NOESY do composto 2 (CDCl ₃ , 400 MHz).	50
Figura 30: Mapa de contornos HSQC do composto 2 (CDCl ₃ , 400 MHz).	51
Figura 31: Mapa de contornos HMBC do composto 2 (CDCl ₃ , 400 MHz).	52
Figura 32: Espectro de massas de alta resolução do alcaloide 2- α -metoxi-7-hidroxi-homolicorina (2).	53
Figura 33: Espectro de RMN de ¹ H do composto 3 (CDCl ₃ , 400 MHz).	56
Figura 34: Fórmula estrutural do composto 3	57
Figura 35: Espectro de RMN de ¹³ C do composto 3 (CDCl ₃ , 100 MHz).	58
Figura 36: Espectro de COSY ¹ H- ¹ H do composto 3 (CDCl ₃ , 400 MHz).	59
Figura 37: Espectro de NOESY do composto 3 (CDCl ₃ , 400 MHz).	60
Figura 38: Mapa de contornos HSQC do composto 3 (CDCl ₃ , 400 MHz).	61
Figura 39: Mapa de contornos HMBC do composto 3 (CDCl ₃ , 400 MHz).	62
Figura 40: Espectro de massas de alta resolução do alcaloide 2- α -7-dihidroxi-homolicorina (3).	63
Figura 41: Espectro de RMN de ¹ H do composto 4 (CDCl ₃ , 400 MHz).	66
Figura 42: Fórmula estrutural do composto 4	67

Figura 43: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 4 .	68
Figura 44: Espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 4 (CDCl_3 , 400 MHz).	69
Figura 45: Espectro de NOESY do composto 4 (CDCl_3 , 400 MHz).	70
Figura 46: Mapa de contornos HSQC do composto 4 (CDCl_3 , 400 MHz).	71
Figura 47: Mapa de contornos HMBC do composto 4 (CDCl_3 , 400 MHz).	72
Figura 48: Espectro de massas de alta resolução do alcaloide 2- α -metoxihomolicorina (4).	73
Figura 49: Espectro de RMN de ^1H do composto 5 (CDCl_3 , 400 MHz).	76
Figura 50: Fórmula estrutural dos compostos 5 .	77
Figura 51: Espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 5 (CDCl_3 , 400 MHz).	78
Figura 52: Espectro de NOESY do composto 5 (CDCl_3 , 400 MHz).	79
Figura 53: Mapa de contornos HSQC do composto 5 (CDCl_3 , 400 MHz).	80
Figura 54: Mapa de contornos HMBC do composto 5 (CDCl_3 , 400 MHz).	81
Figura 55: Espectro de massas de alta resolução do alcaloide 2- α -hidroxialbomaculina (5).	82
Figura 56: Fórmula estrutural proposta para o composto 6 .	84
Figura 57: Espectro de RMN de ^1H do composto 6 (CDCl_3 , 400 MHz).	85
Figura 58: Espectro de massas de alta resolução do composto 6 .	86
Figura 59: Espectro de RMN de ^1H do composto 7 (CDCl_3 , 400 MHz).	88
Figura 60: Espectro de NOESY do composto 7 (CD_3OD , 400 MHz).	89
Figura 61: Fórmula estrutural do composto 7 .	90
Figura 62: Fórmula estrutural proposta para o composto 8 .	91
Figura 63: Espectro de RMN de ^1H do composto 8 (CDCl_3 , 400 MHz).	92
Figura 64: Espectro de massas de alta resolução do composto 8 .	93
Figura 65: Espectro de RMN de ^1H do composto 9 (CDCl_3 , 400 MHz).	95
Figura 66: Fórmula estrutural do composto 9 .	96
Figura 67: Espectro de RMN de ^1H do composto 10 (CDCl_3 , 400 MHz).	98
Figura 68: Fórmula estrutural do composto 10 .	99
Figura 69: Espectro de RMN de ^1H do composto 11 (CDCl_3 , 400 MHz).	101
Figura 70: Estrutura química da 7-metoxi-O-metillicorenina e nerinina.	102
Figura 71: Espectro de RMN de ^1H do composto 12 (CDCl_3 , 400 MHz).	104
Figura 72: Fórmula estrutural do composto 12 .	105
Figura 73: Espectro de RMN de ^1H do composto 13 (CDCl_3 , 400 MHz).	107
Figura 74: Fórmula estrutural do composto 13 .	108
Figura 75: Espectro de RMN de ^1H do composto 14 (CD_3OD , 400 MHz).	110
Figura 76: Fórmula estrutural do composto 14 .	111
Figura 77: Espectro de RMN de ^1H do composto 15 (CDCl_3 , 400 MHz).	113
Figura 78: Fórmula estrutural do composto 15 .	114
Figura 79: Espectro de RMN de ^1H do composto 16 (CDCl_3 , 400 MHz).	116
Figura 80: Resultado do teste de Dicroísmo Circular do composto 16 .	117
Figura 81: Fórmula estrutural do composto 16 .	117
Figura 82: Espectro de RMN de ^1H do composto 17 (CD_3OD , 400 MHz).	119
Figura 83: Fórmula estrutural do composto 17 .	120
Figura 84: Espectro de RMN de ^1H do composto 18 (CDCl_3 , 400 MHz).	122
Figura 85: Fórmula estrutural do composto 18 .	123

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados de CG/EM das frações <i>n</i> -hexano e acetato de etila.	39
Tabela 2: Identificação dos alcaloides isolados de <i>H. reginae</i>	40
Tabela 3: Dados de RMN de ¹ H do composto 1 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	44
Tabela 4: Dados de RMN de ¹ H, COSY, NOESY, HSQC e HMBC do composto 2 (400 MHz, CDCl ₃).....	54
Tabela 5: Dados de RMN de ¹ H, COSY, NOESY, HSQC e HMBC do composto 3 (400 MHz, CDCl ₃).....	64
Tabela 6: Dados de RMN de ¹ H, COSY, NOESY, HSQC e HMBC do composto 4 (400 MHz, CDCl ₃).....	65
Tabela 7: Dados de RMN de ¹ H, COSY, NOESY, HSQC e HMBC do composto 5 (400 MHz, CDCl ₃).....	83
Tabela 8: Dados de RMN de ¹ H do composto 6 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	86
Tabela 9: Dados de RMN de ¹ H do composto 7 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	90
Tabela 10: Deslocamento químico dos hidrogênios do composto 8 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	93
Tabela 11: Dados de RMN de ¹ H do composto 9 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	96
Tabela 12: Dados de RMN de ¹ H do composto 10 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	99
Tabela 13: Dados de RMN de ¹ H do composto 11 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	102
Tabela 14: Dados de RMN de ¹ H do composto 12 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	105
Tabela 15: Dados de RMN de ¹ H do composto 13 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	108
Tabela 16: Dados de RMN de ¹ H do composto 14 (CD ₃ OD, 400 MHz).....	111
Tabela 17: Dados de RMN de ¹ H do composto 15 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	114
Tabela 18: Dados de RMN de ¹ H do composto 16 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	118
Tabela 19: Dados de RMN de ¹ H do composto 17 (CD ₃ OD, 400 MHz).....	120
Tabela 20: Dados de RMN de ¹ H do composto 18 (CDCl ₃ , 400 MHz).....	123

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

δ – deslocamento químico

AcOEt – acetato de etila

l – largo

CC – cromatografia em coluna

CCD – cromatografia em camada delgada

CCDP – cromatografia em camada delgada preparativa

CDCl₃ – clorofórmio deuterado

CD₃OD – metanol deuterado

CG/EM – cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

CLAE – cromatografia líquida de alta eficiência

DCM – diclorometano

DMSO-d₆ – dimetilsulfóxido deuterado

d – dubleto

dd – duplo dubleto

ddd – duplo duplo dubleto

Fe – fase estacionária

Fm – fase móvel

H₂SO₄ – ácido sulfúrico

n-hex – *n*-hexano

Hz – hertz

J – constante de acoplamento

m – multiplete

Me – metil

OMe – metoxila

MeOH – metanol

MHz – megahertz

NH₄OH – hidróxido de amônio

pH – potencial hidrogeniônico

q – quadruplete

RMN de ¹³C – ressonância magnética nuclear de carbono

RMN de ¹H – ressonância magnética nuclear de hidrogênio

s – singleto

td – triplo dubleto

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	9
2 – OBJETIVOS	21
2.1 – GERAL.....	21
2.2 – ESPECÍFICOS.....	21
3 – MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
3.1 – MATERIAIS E EQUIPAMENTOS.....	22
3.2 – COLETA DA PLANTA.....	23
3.3 – PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS	23
3.4 – EXTRAÇÃO ÁCIDO-BASE	24
3.4.1 – Folhas.....	24
3.4.2 – Bulbos.....	25
3.5 – FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO	26
3.5.1 – Bulbos.....	26
3.5.2 – Folhas.....	35
4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
4.1 – COMPOSTOS ISOLADOS	41
4.1.1 – Compostos com esqueleto do tipo homolicorina	41
4.1.2 – Compostos com esqueleto do tipo galantamina	105
4.1.2 – Composto com esqueleto do tipo tazetina	112
4.1.3 – Composto com esqueleto do tipo haemantamina.....	115
4.1.3 – Composto com esqueleto do tipo montanina.....	118
4.1.3 – Composto com outro tipo de esqueleto	120
5 – CONCLUSÃO.....	123
6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	125

1 – INTRODUÇÃO

De acordo com estudos antropológicos, o ser humano utiliza há milhares de anos recursos naturais para auxiliar em sua sobrevivência e/ou para aliviar os sintomas de alguma enfermidade (KINGHORN et al., 2011; NEWMAN e CRAGG, 2012; GURIB-FAKIM, 2006). Entre os recursos naturais essenciais mais utilizados pelo homem encontram-se os recursos biológicos, uma vez que engloba todo o universo presente em florestas e oceanos. Estes recursos são utilizados, na maioria das vezes, para amenizar sintomas de determinadas patologias, em rituais festivos e religiosos, venenos para caça, entre outras finalidades (NOGUEIRA; MONTANARI; DONNICI, 2009; BARREIRO e BOLZANI, 2009). Com relação às plantas, um exemplo histórico de sua utilização para fins medicinais pode ser encontrado ainda no ano de 4000 a.C, com a utilização de *Papaver somniferum* para o tratamento de insônia e dores (PINTO et al., 2002; THEIS e LERDAU, 2003). Além disso, tribos do Equador utilizavam há mais de 5000 anos folhas de coca para o alívio de dores (PINTO et al., 2002; BARREIRO e BOLZANI, 2009; VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006). Porém, o primeiro documento relacionado a utilização de plantas medicinais data de 2600 a.C, reportando a existência de um sistema medicinal sofisticado na Mesopotâmia, com aproximadamente 1000 derivados de plantas medicinais. A medicina egípcia data de 2900 a.C a utilização de plantas medicinais, entretanto, o primeiro documento escrito foi o papiro de Ebers, com aproximadamente 700 drogas oriundas de plantas (NEWMAN e CRAGG, 2012).

Compostos com atividade biológica já foram isolados de plantas, como a quinina, um antimalárico isolado das cascas de *Cinchona*. O paclitaxel, isolado de *Taxus brevifolia*, é utilizado na atualidade contra o câncer (VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006; DEWICK, 2002). Os alcaloides vincristina e vimblastina, isolados de *Catharanthus roseus* (conhecida como vinca), são fármacos de escolha no tratamento de linfoma de Hodgkin, sarcoma de Kaposi, câncer de ovário e testículos e leucemia linfoblástica aguda infantil. Além desses, o composto artemisinina, isolado de *Artemisia annua*, apresentou atividade antimalárica e antitumoral (CARVALHO, 2016).

Mediante numerosos relatos bem-sucedidos do uso de plantas no combate e prevenção de doenças, a comunidade científica, das distintas épocas, sempre buscou desenvolver métodos para o estudo destes vegetais, no sentido de identificar a substância (ou o grupo de substâncias) responsável pelo efeito documentado pelo conhecimento empírico. A partir disso, as técnicas de isolamento cromatográfico foram também impulsionados pela progressão tecnológica (VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006; AGUIAR, 2010). Mesmo com todos os esforços, foi apenas a partir do século XIX, especialmente com o desenvolvimento da química farmacêutica e do isolamento de morfina por Friedrich Wilhelm Sertürner, que as plantas foram vistas como fontes de fitofármacos e a pesquisa foi substancialmente direcionada no intuito de isolar compostos ativos e, posteriormente, confirmar o seu perfil de ação biológica (HOSTETTMANN; QUEIROZ; VIEIRA, 2003; PINTO et al., 2002; VIEGAS JR; BOLZANI; BARREIRO, 2006).

Entretanto, apesar das inúmeras técnicas utilizadas para a extração, purificação e caracterização dos princípios ativos disponíveis atualmente, o trabalho com plantas medicinais ainda se depara com uma série de barreiras que dificultam a pesquisa. Um dos principais problemas gira em torno da coleta de plantas, especialmente devido a necessidade de coleção de uma quantidade expressiva de material vegetal para a elucidação estrutural de compostos minoritários. Em uma grande porcentagem dos casos, os compostos minoritários são os responsáveis ou principais responsáveis pelas atividades biológicas observadas para a espécie. Além disso, o tempo gasto na purificação e caracterização de moléculas-alvo também é um fator intrínseco limitante no desenvolvimento da pesquisa com plantas (GURIB-FAKIM, 2006; STROHL, 2000; ORTHOLAND e GANESAN, 2004).

Uma das alternativas a isso, desenvolvida principalmente pelos trabalhos realizados ao longo dos anos por químicos orgânicos e inorgânicos, são os processos de síntese total e/ou semi-síntese. Não obstante, os processos de obtenção de moléculas-alvo também permitem a realização de modificações estruturais em moléculas “cabeças de série”, potencializando estudos de relação estrutura-atividade. Ainda assim, rotas sintéticas complexas ou baixo rendimento de moléculas de interesse são problemas importantes a serem superados (PATERSON e ANDERSON, 2005).

Com tantos empecilhos, era de se esperar um retrocesso nas pesquisas relacionadas a produtos naturais, porém, com os amparos da química medicinal e o empenho de cientistas das indústrias farmacêuticas, têm-se inúmeros medicamentos onde o princípio ativo é obtido diretamente de plantas, derivados sintéticos e compostos que mimetizam a ação do princípio ativo de origem natural (BENNANI, 2011; ORTHOLAND e GANESAN, 2004; COSTA-LOTUFO et al., 2010; COSTA, 2009). Um marco para a pesquisa envolvendo produtos naturais deu-se com o desenvolvimento do fármaco ácido acetilsalicílico (Aspirina[®]), que utilizou como protótipo a salicilina, um produto natural isolado de *Salix alba* (BRAGA e CASTILHO, 2011)

Grande parte dos compostos orgânicos conhecidos na atualidade são produzidos pela natureza, sendo que o reino vegetal é o principal contribuinte para o fornecimento de metabólitos secundários de grande valor agregado (BRUNETON, 2001; PINTO et al., 2002; SILVA, 2002; BARREIRO e BOLZANI, 2009).

Neste sentido, tanto de maneira direta, com o produto obtido diretamente de fonte natural, ou indireta, partindo-se do conhecimento obtido de fitoquímica e aplicado em processos de síntese parcial ou total, os estudos de moléculas advindas de fontes naturais representam uma expressiva porcentagem no desenvolvimento de medicamentos aprovados para uso clínico nos dias de hoje. Segundo Newman e Cragg (2016) 65% dos medicamentos aprovados entre 1981 e 2014 são considerados de origem natural por serem obtidos diretamente de fonte natural ou produzidos através de biossíntese, como mostra a Figura 1.

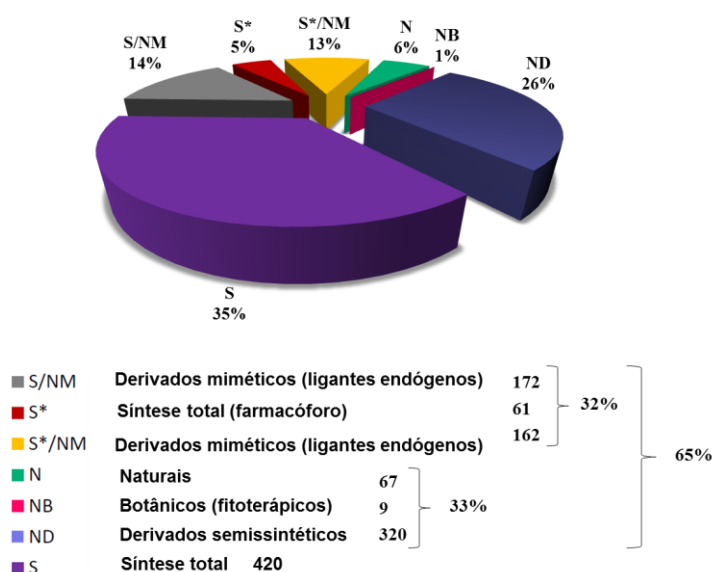


Figura 1: Gráfico de representação dos medicamentos de origem natural e sintética aprovados entre os anos de 1981 e 2014.

Fonte: Adaptado de Newman e Cragg (2016).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, denomina-se planta medicinal todo e qualquer vegetal que possua em seus órgãos substâncias que possam ser utilizadas para fins terapêuticos ou como precursores de fármacos semi-sintéticos (WHO, 1998). O Brasil é o país com maior biodiversidade mundial (BRASIL, 2016; KATO, 2001), especialmente por encontrar-se dentro de várias zonas climáticas, criando assim diversos biomas. Dentre estes biomas podemos citar a Floresta Amazônica, o Cerrado, a Caatinga, a Mata Atlântica, os Manguezais, entre outros (BRASIL, 2016; COSTA-LOTUFO et al., 2010). Mesmo com o avanço dos estudos sobre produtos naturais, existe ainda uma imensurável área de biodiversidade inexplorada o que pode levar a um número imensurável de princípios ativos desconhecidos (ORTHOLAND e GANESAN, 2004).

O Brasil apresenta mais de 20% do total de plantas conhecidas no planeta (KATO, 2001; ROMÃO et al., 2015; DUTILH e OLIVEIRA, 2016). Dentre essas, pode-se destacar a família Amaryllidaceae, conhecida desde a antiguidade pela utilização de suas espécies para fins medicinais e ainda hoje empregados em regiões africanas e americanas (de ANDRADE et al., 2012). Em inúmeros países, principalmente na Holanda, essas plantas são utilizadas também para fins de ornamentação, devido a beleza de suas hastes florais (da SILVA, 2006; de ANDRADE et al., 2012).

A família Amaryllidaceae pertence à classe das monocotiledôneas e encontra-se largamente distribuída em regiões temperadas e quentes do mundo, possuindo grande diversidade na África do Sul e na região dos Andes (JIN, 2011; BASTIDA et al., 2011; BERKOV et al., 2011). Esta família apresenta plantas bulbosas e é muito utilizada devido à beleza das flores. Suas espécies são comumente chamadas de “estrela do norte”, “bastão do imperador”, “açucena” e “lírio” (MARTINELLI; MESSINA; SANTOS FILHO, 2013; HOFMANN JÚNIOR et al., 2004). Amaryllidaceae representa três subfamílias, 73 gêneros e 1605 espécies, sendo que no Brasil encontra-se distribuída por todo território, onde foram identificados 18 gêneros e 135 espécies (CANDIDO et al., 2013; DUTILH e OLIVEIRA, 2016). Estudos de filogenética apontam os continentes africano e americano como berços de diversificações primária e secundária desta família (JIN, 2013).

As Amaryllidaceae também se encontram entre as 20 famílias de plantas mais utilizadas para fins terapêuticos (JIN, 2013) e sua atividade se deve à substâncias como os alcaloides. Extratos de *Lycoris radiata* eram utilizados na medicina popular chinesa como tratamento de poliomielite e *Crinum zeylanicum* L. era utilizado como medicamento para o tratamento de reumatismo e dor de ouvido (FENG et al., 2011; BERKOV et al., 2011). Na medicina popular brasileira é utilizada na forma de suco para o tratamento de doenças respiratórias e como emético (CORRÊA, 1984; LORENZI e MATOS, 2002). *Hippeastrum psitaccinum*, por exemplo, foi utilizada como antitussígeno e como estimulante sexual (ALBUQUERQUE et al., 2007).

Alcaloides são reconhecidos metabólitos secundários, porém com suas funções ainda não totalmente esclarecidas no vegetal. A teoria mais aceita afirma que alcaloides são produtos biossintetizados pelos vegetais em detrimento a algum aspecto ecológico e/ou evolutivo, tendo como uma de suas principais funções a proteção do espécime vegetal e a defesa contra possíveis predadores (SEIGLER, 1977; BU'LOCK, 1965; MULLER, 1969; SEIGLER, 1977; DEMAÏN e FANG, 2000; MANACH et al., 2004). Tendo em vista que muitos desses produtos têm apresentado significativa atividade biológica, seu estudo tornou-se alvo importante para a descoberta de novos fármacos (NEWMAN e CRAGG, 2012; STICHER, 2008; VERPOORTE, 2000).

Segundo definição, alcaloides são substâncias que possuem um átomo (ou mais de um) de nitrogênio na molécula, geralmente em um estado de oxidação negativo, e que provém direta ou indiretamente do metabolismo de aminoácidos. Além disso, os alcaloides apresentam-se em baixa quantidade nos organismos vivos. São facilmente encontrados nas angiospermas dicotiledôneas e também nas monocotiledôneas, como as famílias Colchicaceae e Amaryllidaceae (GURIB-FAKIM, 2006).

A família Amaryllidaceae apresenta um exclusivo grupo de alcaloides que foram encontrados em todos os gêneros até então estudados (BASTIDA et al., 2011). Os alcaloides de Amaryllidaceae são formados através da união entre os aminoácidos *L*-fenilalanina (*L*-Phe) e *L*-tirosina (*L*-Tyr). Porém, isto não ocorre de forma direta, uma vez que há a formação de um intermediário precursor. Nos alcaloides de Amaryllidaceae, *L*-Phe serve como um precursor primário do fragmento C6-C1, correspondente ao anel A e a posição benzílica (C-6), e *L*-Tyr é o precursor do anel C, a cadeia lateral de dois carbonos (C-11 e C-12) e de azoto, C2-C6-N (Figura 2).

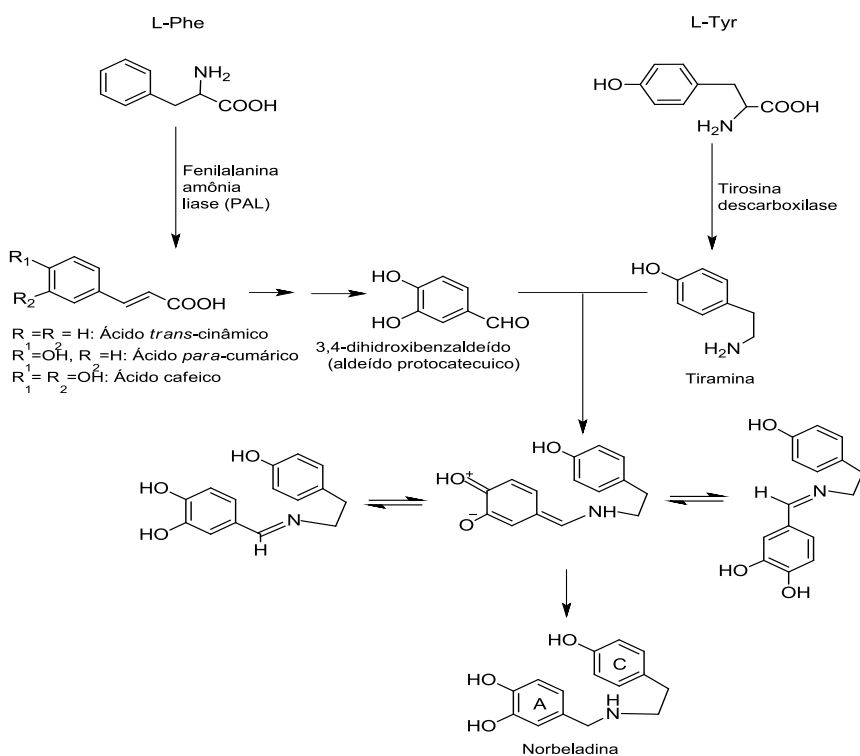


Figura 2: Esquema de formação do intermediário norbeladina por fusão dos aminoácidos *L*-fenilalanina e *L*-tirosina.

Fonte: Bastida; Lavilla; Viladomat (2006).

No ano de 1957, Barton e Cohen propuseram que a norbeladina e os alcaloides relacionados poderiam sofrer acoplamentos oxidativos em plantas da família Amaryllidaceae, uma vez que o anel A tinha sido protegido por metilação, resultando em diferentes esqueletos dos alcaloides desta família. As estruturas desse grupo de alcaloides podem variar consideravelmente, ainda que consideradas biogeneticamente relacionadas. Estes alcaloides são classificados em nove tipos de esqueletos derivados de diferentes tipos de acoplamentos fenol oxidativos do intermediário

O-metilnorbeladina, como mostra a Figura 3 (BU'LOCK, 1965; HOSHINO, 1998; UNVER et al., 1999; UNVER et al., 2003; BASTIDA; LAVILLA; VILADOMAT, 2006; HE et al., 2015).

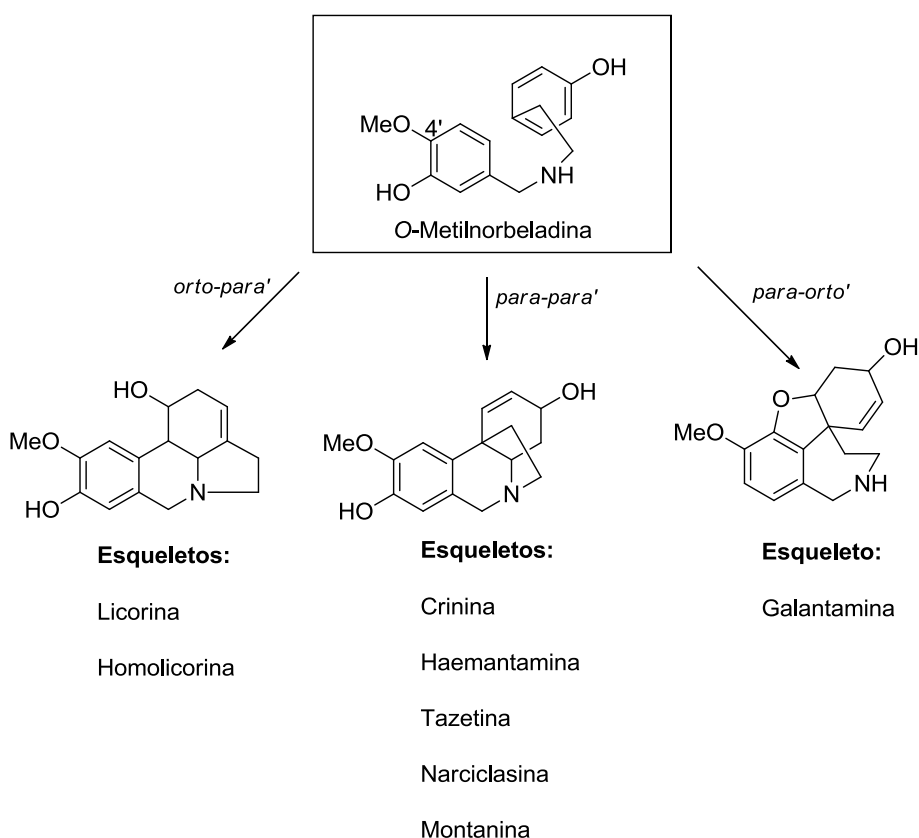


Figura 3: Acoplamentos fenol oxidativos em alcaloides de Amaryllidaceae.

Fonte: Bastida; Lavilla; Viladomat (2006).

O acoplamento fenol oxidativo *orto-para'* origina os esqueletos do tipo licorina e homolicorina, o *para-para'* origina os esqueletos do tipo crinina, haemantamina, tazetina, narciclasina e montanina, enquanto o acoplamento *para-orto'* origina o esqueleto do tipo galantamina (UNVER, 2007; BASTIDA; LAVILLA; VILADOMAT,

2006). O sistema de numeração utilizado para esses alcaloides segue o proposto por Ghosal; Saini; Razdan (1985).

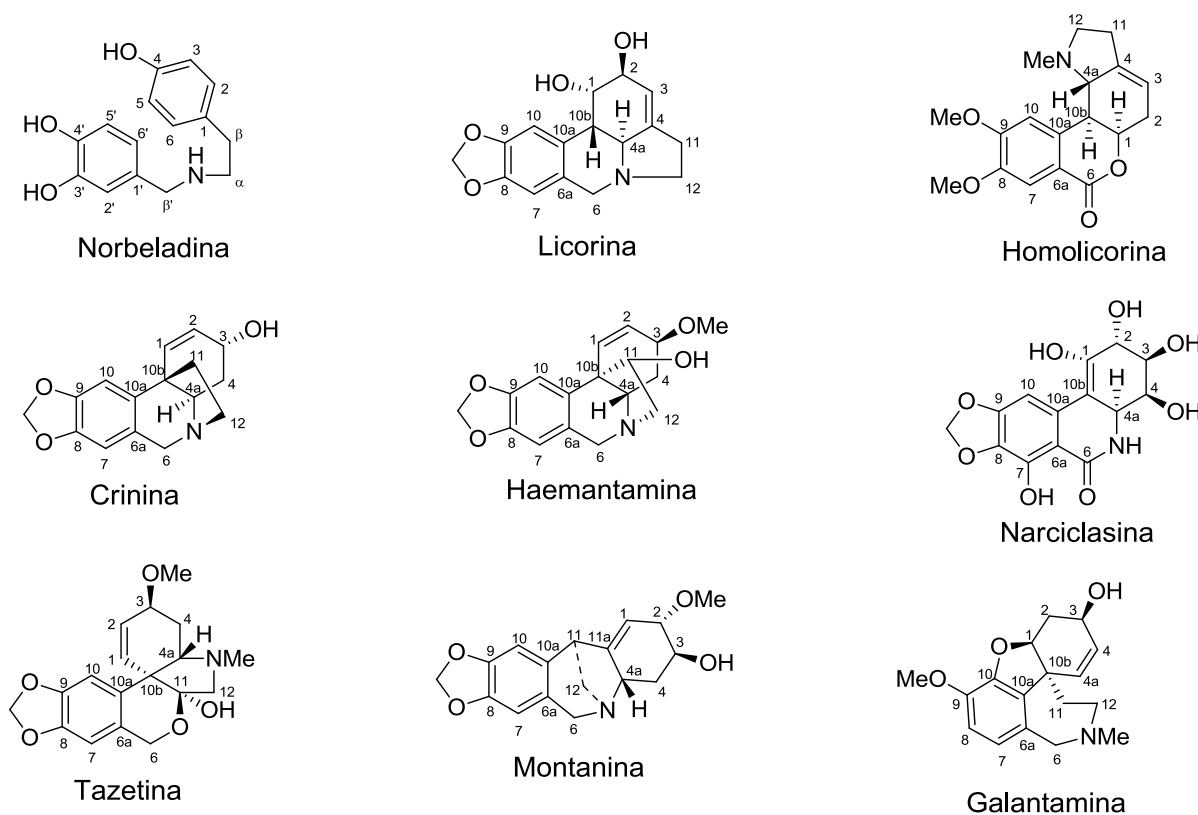


Figura 4: Representação dos nove núcleos fundamentais dos alcaloides de Amaryllidaceae.
Fonte: Adaptado de Bastida; Lavilla; Viladomat (2006).

Inúmeros relatos desde a antiguidade manifestam a importância medicinal das espécies de Amaryllidaceae. Hipócrates (século 4 a.C), considerado o pai da medicina, utilizava o óleo de *Narcissus poeticus* L. no tratamento de sintomatologias que, atualmente, se consideram como casos de câncer (ZUPKÓ et al., 2009; PETTIT et al., 1986). Há também relatos de tribos africanas que utilizavam espécies de Amaryllidaceae para o tratamento de dor de cabeça, doenças venéreas, urinárias, inchaços, artrites e contusões em geral (HUTCHINGS et al., 1996). Ainda hoje espécies de Amaryllidaceae são empregadas na medicina popular, das quais podemos destacar: *Crinum glaucum*, utilizada como agente antiespasmódico; espécies de *Cyrtanthus*, usadas para dor de cabeça, tosse crônica, cistite e até lepra e espécies de *Gethyllis*, indicadas para casos de flatulências e indigestão (ELGORAGHI e STADEN, 2004; KOORBANALLY; MULHOLLAND; CROUCH, 2000; OKPO e ADEYEMI, 1998; GUDE et al., 1988).

Os estudos químicos e, especialmente, quimiotaxonômicos, iniciaram-se depois de 1805, quando as espécies de Amaryllidaceae começaram a ser catalogadas por Jaime St. Hilaire. O primeiro isolamento deu-se apenas em 1877, através de *Lycoris radiata*; sendo este alcaloide completamente caracterizado quase 100 anos depois, confirmando-se tratar do composto licorina, um dos alcaloides mais comumente encontrados dentro de Amaryllidaceae (BASTIDA; LAVILLA; VILADOMAT, 2006) (Figura 5). Desde então, os estudos químicos foram intensificados, sendo já conhecidos cerca de 500 alcaloides desta família. Em conjunto com estes estudos, avaliações biológicas e de biossíntese foram também desenvolvidos. Confirmou-se o amplo espectro de atividades destes compostos, especialmente as atividades antitumorais, antiparasitárias e de inibição da enzima acetilcolinesterase (HE et al., 2015).

No que tange os estudos de atividade biológica, um dos alcaloides mais importantes atualmente é a galantamina (Figura 5). Este composto foi isolado inicialmente em 1952 de *Galanthus woronowii*, espécie nativa da Turquia, e foi constatada sua capacidade de inibição da enzima acetilcolinesterase. Foi utilizada clinicamente nos antigos países do bloco comunista, para casos de *miastenia gravis*, paralisia infantil, entre outras enfermidades relacionadas com a transmissão colinérgica. Nos anos 90, este composto passou a ser um forte candidato para a terapia de doenças neurodegenerativas, especialmente a doença de Alzheimer. Estudos subsequentes confirmaram sua segurança clínica e sua habilidade de potencializar a transmissão colinérgica por modulação alostérica positiva de receptores nicotínicos pré-sinápticos (BRINE et al., 2002). Em 2001, o Food and Drug Administration (FDA) aprovou galantamina como um dos fármacos de escolha nos estágios leve a moderado da doença de Alzheimer, sendo comercializado sob a forma de bromidrato de galantamina (Razydine[®] e Reminyl[®]).

A confirmação da galantamina no tratamento da Doença de Alzheimer provocou um aumento nas pesquisas de espécies de Amaryllidaceae, uma vez que sua propriedade farmacológica é ligada à estrutura. Consequentemente, outros alcaloides já demonstraram atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase igual ou até superior à galantamina (IC₅₀ 1,07 µM, *in vitro*), como a sanguinina (IC₅₀ 0,10 µM), a 11-hidroxicgalantamina (IC₅₀ 1,61 µM) e 1-O-acetillicorina (IC₅₀ 0,96 µM) (HOUGHTON; REN; HOWES, 2006)

Não obstante, outros esqueletos foram também bastante estudados com relação ao perfil de atividade biológica. O esqueleto narciclasina parece ser um dos mais promissores como possível agente antiproliferativo. Da mesma forma, haemantamina e licorina apresentaram atividade para este mesmo alvo farmacêutico (BASTIDA; LAVILLA; VILADOMAT, 2006; BASTIDA et al., 2011). Montanina demonstrou atividade de inibição da enzima acetilcolinesterase, embora inferior à da galantamina (PAGLIOSA et al., 2010), porém apresentou atividade anti-inflamatória e antimicrobiana *in vitro* (CASTILHOS et al., 2007), gerando inclusive uma patente para seu processo de extração (PCT/BR2014/000053). Neste contexto, é grande o interesse no estudo de plantas da família Amaryllidaceae, visando a caracterização completa de seus alcaloides e, conseqüentemente, a avaliação de suas atividades biológicas (COOK et al., 1952; BASTIDA et al., 2011; DAHLGREN et al., 1985; ELGORAGHI; STAFFORD; VAN STADEN, 2004).

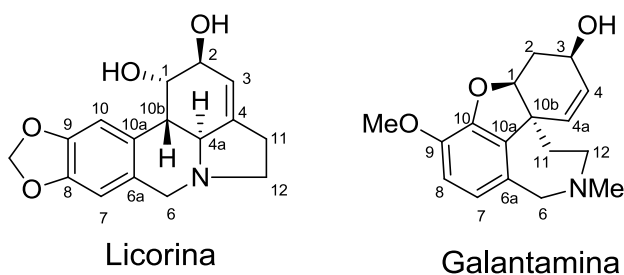


Figura 5: Estrutura química dos alcaloides licorina e galantamina.
Fonte: Adaptado de Bastida; Lavilla; Viladomat (2006).

Dentre os gêneros da família Amaryllidaceae, um que merece destaque é o gênero *Hippeastrum*. Este gênero apresenta diversas espécies ornamentais no Brasil, com ampla variação de cor das suas flores (DUTILH, 2005). O nome do gênero provém do grego *Hippos* = cavalo + *Aston* = estrela, devido ao aspecto característico de suas flores (AMARAL, 2006). Este gênero é endêmico da América do Sul e encontra-se amplamente distribuído no Brasil, apresentando cerca de 30 espécies, das quais 21 são endêmicas (de ANDRADE et al., 2011; DUTILH e OLIVEIRA, 2016). As espécies desse gênero estão presentes nos mais diferentes biomas brasileiros, como o cerrado, a caatinga, a Mata Atlântica e os campos de altitude (DUTILH, 2005; OLIVEIRA; SEMIR; DUTILH, 2013). Essas espécies apresentam-se como plantas robustas, com folhas achatadas, dísticas e escapo com duas brácteas livres. Além disso, possuem grandes flores afuniladas, ligeiramente

zigomórficas e coloridas e ainda, pétalas livres ou ligadas à base e curvadas para cima (JOLY, 2002; DAHLGREN; CLIFFORD; YEO, 1985).

Apesar dos poucos estudos fitoquímicos e farmacológicos envolvendo as espécies do gênero *Hippeastrum*, quando comparados aos demais de ocorrência europeia (GIORDANI et al., 2008), alguns alcaloides importantes já foram descritos em espécies do Sul do Brasil. A candimina, isolada de *Hippeastrum morelianum*, apresentou atividade citotóxica para o parasita *Trichomonas vaginalis*, enquanto montanina, isolada de *H. vittatum*, apresentou atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase e atividades psicofarmacológicas, como antidepressiva, anticonvulsivante e ansiolítica (GIORDANI et al., 2010; PAGLIOSA et al., 2010; da SILVA et al., 2006). A licorina, um dos alcaloides mais encontrados na família Amaryllidaceae, também foi isolada de *Hippeastrum* e apresentou ação antioxidante (GIORDANI et al., 2008). Os alcaloides narciclasina e pseudolicorina, isolados de *Hippeastrum solandriflorum*, apresentaram atividade citotóxica frente a diversas linhagens de células tumorais (CARVALHO et al., 2015). Estudo realizado por Bessa e colaboradores (2016) obteve pela primeira vez o alcaloide *N*-óxido haemantamina a partir de fonte natural e outros 31 alcaloides de Amaryllidaceae foram identificados na espécie *Hippeastrum aulicum*.

Tendo em vista a vasta gama de atividades biológicas que os alcaloides presentes na família Amaryllidaceae apresentam, estudos fitoquímicos vêm sendo realizados no âmbito de caracterização de novos alcaloides e/ou na avaliação de suas propriedades biológicas. Levando-se em conta que a espécie *Hippeastrum reginae* (L.) HERB. nunca foi estudada, este trabalho se justifica como o primeiro estudo químico em alcaloides de Amaryllidaceae da espécie em questão.



Figura 6: Imagem da espécie *Hippeastrum reginae*.
Fonte: Autoria própria.

2 – OBJETIVOS

2.1 – GERAL

Realizar o estudo químico em alcaloides de Amaryllidaceae da espécie *Hippeastrum reginae* (L.) Herb., baseado em processos de purificação, isolamento e identificação destes compostos.

2.2 – ESPECÍFICOS

- Obter o extrato bruto metanólico das partes aéreas e bulbos da planta *Hippeastrum reginae* (L.) Herb.;
- Extrair e purificar os alcaloides presentes na respectiva espécie, baseado no método de extração ácido-base para alcaloides e nos diversos processos cromatográficos de purificação;
- Identificar os alcaloides conhecidos por análises de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas;
- Identificar os alcaloides conhecidos por outras técnicas espectroscópicas, como a Ressonância Magnética Nuclear (RMN);
- Caracterizar os alcaloides inéditos por métodos espectroscópicos baseados principalmente em experimentos de RMN uni e bidimensional.

3 – MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 – MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- O material vegetal foi triturado em liquidificador.
- Foi utilizado rotaevaporador Buchi R-3, acoplado à bomba de vácuo Vacuum pump V-700 Buchi, com controlador de pressão Vacuum Controller V-850 Buchi.
- Os solventes utilizados no fracionamento foram *n*-hexano, acetato de etila, metanol, acetona, clorofórmio e diclorometano, todos de grau P.A. Os solventes utilizados na Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foram de grau HPLC e os solventes usados para a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) eram deuterados.
- O isolamento dos alcaloides por CLAE preparativo foram realizadas em equipamento Agilent de bomba binária modelo G1361A-1260 prep pump, coluna Agilent Eclipse XDB-C18, 5µm, 9,4 x 250 mm (semi-prep.), acoplado a um detector 1260 MWD VL, G1365D e coletor de frações 1260 FC-PS, modelo G1364B. Foi utilizada como fase móvel uma mistura isocrática de água:metanol:acetonitrila (80:10:10+0,1% ácido trifluoracético) e como fase estacionária coluna Agilent Eclipse XDB-C18, com tamanho de partícula de 5 µm e dimensões de 9,4 x 250 mm (semi-prep), com fluxo de 7 mL min⁻¹ e leitura no comprimento de onda de 270 e 290 nm.
- Cromatografia em Camada Delgada (CCD): Foram utilizadas placas de alumínio encobertas com Sílica gel 60 F₂₅₄ da marca Macherey-Nagel e analisadas sob radiação ultravioleta em câmara UV da Camag, nos comprimentos de onda de 254 nm e 366 nm e reveladas com reagente de Dragendorff.
- Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP): Foram utilizadas placas de vidro, com dimensões de 20 x 20 cm e encobertas com Sílica gel 60 F₂₅₄ da marca Macherey-Nagel.
- Cromatografia em Coluna (CC): Foi utilizada como fase estacionária Sílica gel 60, 70-90 µm da marca Agela Technologies (KAUFMAN et al., 2006).

- Ressonância Magnética Nuclear (RMN): Foi utilizado equipamento da marca Varian 400 MHz, com sonda 5 mm ATB BroaBand $^1\text{H}/^{19}\text{F}/\text{X}$.
- Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM): Foi usado cromatógrafo CG-17A Shimadzu, modelo GC-EM QP 5000, operando no modo EI a 70 eV usando coluna apolar DB-1 (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm). Programação da temperatura: 100-180°C a 15°C min^{-1} , 1 min. em 180°C, 180-300°C a 5°C min^{-1} e 40 min. a 300°C. Temperatura no injetor: 280°C. Fluxo de gás: 0,8 mL min^{-1} com gás hélio.
- Espectrometria de massas de alta resolução: foi realizada em equipamento 9,4 T FT-ICRMS Solarix por injeção direta da amostra solubilizada em metanol.

3.2 – COLETA DA PLANTA

A planta *Hippeastrum reginae* foi identificada pela botânica Dra. Renata S. de Oliveira e coletada no dia 28 de Julho de 2014, nos jardins da pousada Águas de Pinon, situada no distrito de Matilde, no município de Alfredo Chaves, Espírito Santo (coordenadas: lat. -20.6360937, long. -40.7477706). Foram coletados 1,8 kg de bulbos e 800 g de folhas. Uma exsicata (Nº 35308) foi depositada no Herbário da Universidade Federal do Espírito Santo, aos cuidados da Dra. Luciana Dias Thomaz.

3.3 – PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS

Folhas e bulbos foram, separadamente, triturados e secos em estufa de ar circulante a 40°C. O material seco foi macerado com metanol, por 48 horas, e submetido à filtração. Após esse processo, o material filtrado foi submetido a uma nova maceração com metanol e filtrado novamente. Os filtrados metanólicos foram combinados e evaporados com auxílio de evaporador rotatório, dando origem ao extrato bruto de bulbos e o extrato bruto de folhas.

3.4 – EXTRAÇÃO ÁCIDO-BASE

3.4.1 – Folhas

Foram adicionados ao extrato bruto de folhas solução aquosa de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 2% (v/v) até pH 2. Em seguida, a solução ácida foi particionada com éter etílico (3 x 150 mL) e posteriormente particionada com acetato de etila (9 x 150 mL). A fração etérea foi desprezada e a fração acetato de etila em pH ácido (FACAc) foi armazenada para posterior confirmação de presença de alcaloides. A fase aquosa remanescente foi alcalinizada com solução aquosa de hidróxido de amônio (NH_4OH) 25% até pH 10. A fase aquosa básica foi particionada com *n*-hexano (9 x 150 mL), seguido de acetato de etila (9 x 150 mL) e, finalmente, uma mistura de acetato de etila:metanol (3:1) (3 x 150 mL), dando origem às frações FHex, FAcEt e FAcMe, respectivamente. Cabe ressaltar que as extrações cessaram a partir do momento que a última fração orgânica apresentou resultado negativo para o reagente de Dragendorff. A Figura 7 ilustra o procedimento de extração ácido-base descrito acima.

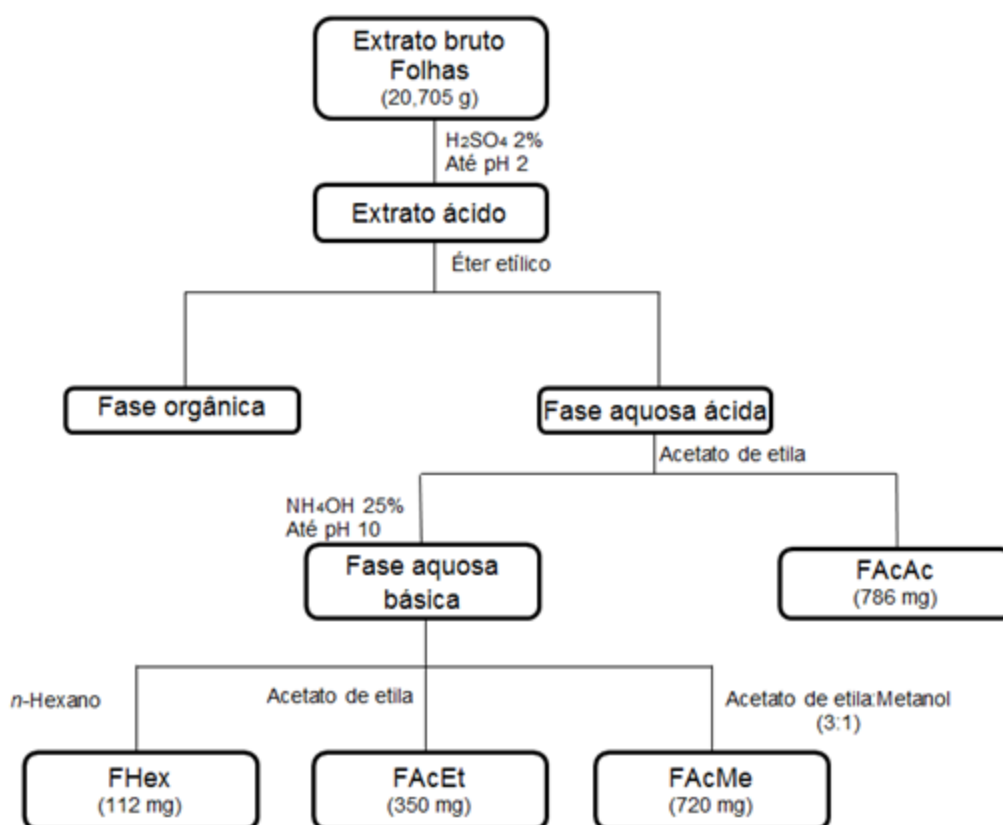


Figura 7: Esquema de extração ácido-base do extrato bruto de folhas.

3.4.2 – Bulbos

Foram adicionados ao extrato bruto de bulbos solução aquosa de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a 2% (v/v) até pH 2. Em seguida, a solução ácida foi particionada com éter etílico (3 x 150 mL) e posteriormente particionada com acetato de etila (9 x 150 mL) dando origem a fração bulbo acetato de etila ácido (BACAc). A fase aquosa remanescente foi alcalinizada com solução aquosa de hidróxido de amônio (NH_4OH) 25% até pH 10. A fase aquosa básica foi particionada com *n*-hexano (9 x 150 mL), seguido de acetato de etila (9 x 150 mL) e, finalmente, uma mistura de acetato de etila:metanol (3:1) (3 x 150 mL), dando origem as frações BHex, BAcEt e BAcMe, respectivamente. Cabe ressaltar que as extrações cessaram a partir do momento que a última fração orgânica apresentou resultado negativo para o reagente de Dragendorff. O processo acima segue esquematizado na Figura 8.

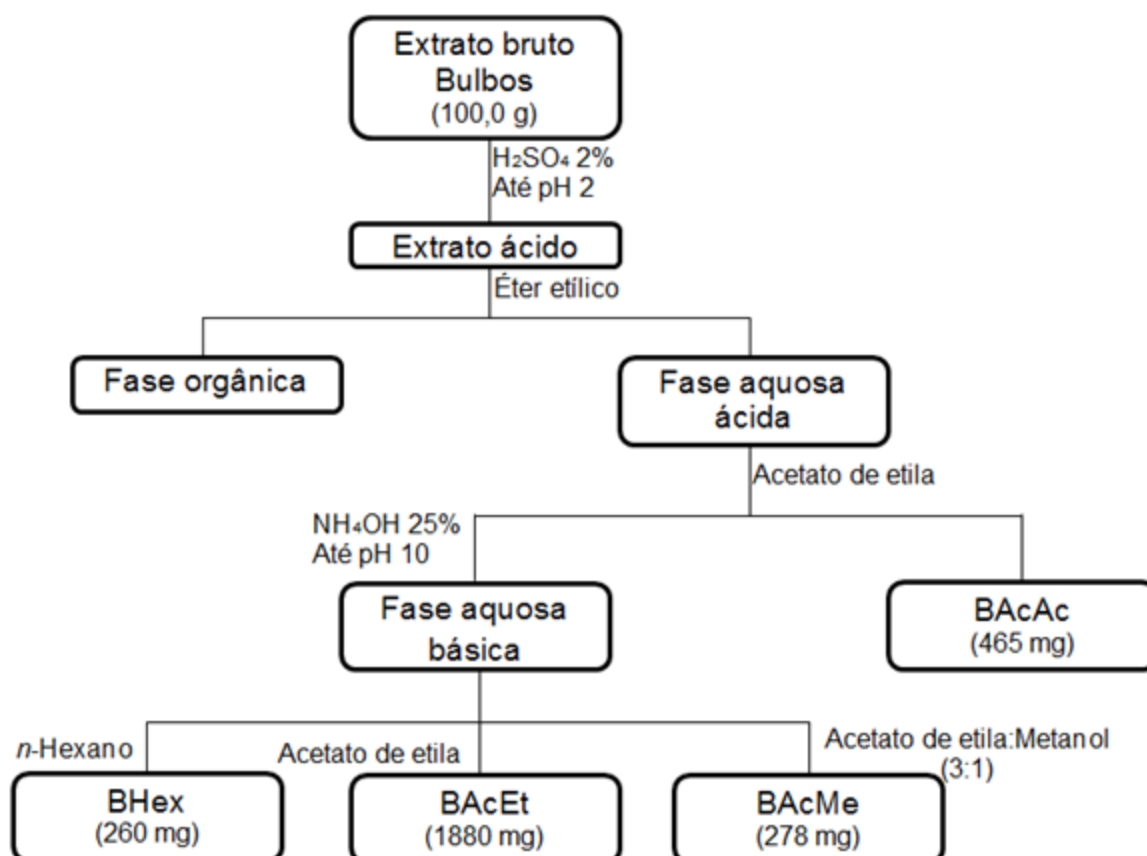


Figura 8: Esquema de extração ácido-base do extrato bruto de bulbos.

3.5 – FRACIONAMENTO CROMATOGRÁFICO

Os extratos *n*-hexano e acetato de etila das frações de bulbos e folhas foram submetidos à CG/EM para identificação prévia dos alcaloides. Os resultados foram comparados com uma biblioteca de alcaloides específicos de Amaryllidaceae de propriedade do professor Dr. Jaume Bastida da Universidade de Barcelona - Espanha. Complementarmente, todas as frações foram submetidas à CCD, utilizando *n*-hexano, acetato de etila e metanol (5:2:1) como solução eluente. A fração FAcAc não apresentou reação positiva para o reagente de Dragendorff e por isso não foi dada continuidade em seu estudo. De acordo com a CCD e a massa do extrato enriquecido foi decidido o procedimento cromatográfico a ser realizado com as demais frações.

3.5.1 – Bulbos

3.5.1.1 – Fracionamento de BAcAc

A fração bulbo acetato de etila ácido (BAcAc) foi, inicialmente, fracionada por uma coluna de exclusão Sephadex LH-20 utilizando como eluente somente metanol. Em seguida, esse concentrado de alcaloides foi submetido à CC utilizando sílica como fase estacionária e como fase móvel uma mistura de *n*-hexano, acetato de etila, acetona e metanol (4:3:2:1). As frações coletadas foram reunidas por similaridade, através de CCD, resultando em sete subfrações (Figura 9).

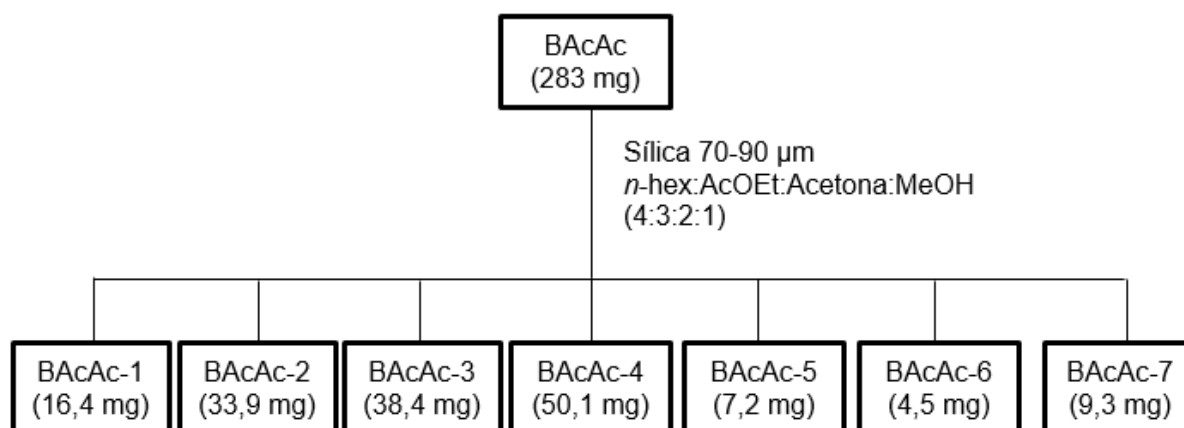


Figura 9: Fracionamento da amostra BAcAc por CC.

As subfrações foram analisadas por CCD, sendo apenas as subfrações BAcAc-1, BAcAc-2 e BAcAc-3 positivas para alcaloide no teste de Dragendorff. Cabe ressaltar que as alíquotas coletadas que apresentaram resultado negativo quando testadas com o reagente de Dragendorff foram descartadas.

A subfração BAcAc-1 foi submetida a uma CCDP, utilizando como fase móvel a mistura de solventes *n*-hexano, acetato de etila, acetona, diclorometano e metanol (10:3:4:1:1). A partir desse procedimento, foram originadas três novas subfrações: BAcAc-1A (3,9 mg), BAcAc-1B (7,9 mg) e BAcAc-1C (1,9 mg).

A subfração BAcAc-2 foi também submetida a uma CCDP, utilizando como fase móvel *n*-hexano, acetato de etila, acetona, diclorometano e metanol (10:3:4:1:1) e foram obtidas as subfrações BAcAc-2A (0,5 mg), BAcAc-2B (6,1 mg), BAcAc-2C (1,2 mg), BAcAc-2D (0,5 mg), BAcAc-2E (1,1 mg), BAcAc-2F (2,2 mg), BAcAc-2G (2,3 mg), BAcAc-2H (0,7 mg) e BAcAc-2I (7,2 mg).

A subfração BAcAc-3 foi submetida a uma CCDP, utilizando a seguinte mistura de solventes: *n*-hexano, acetato de etila, acetona, diclorometano e metanol (10:3:4:1:1). Foram originadas as subfrações BAcAc-3A (2,2 mg), BAcAc-3B (1,0 mg) e BAcAc-3C (18,6 mg).

Após análise por CCD foi constatado que mais de uma subfração apresentava o mesmo composto, sendo assim foram reunidas para posterior isolamento por CLAE. A Figura 10 abaixo ilustra as subfrações reunidas.

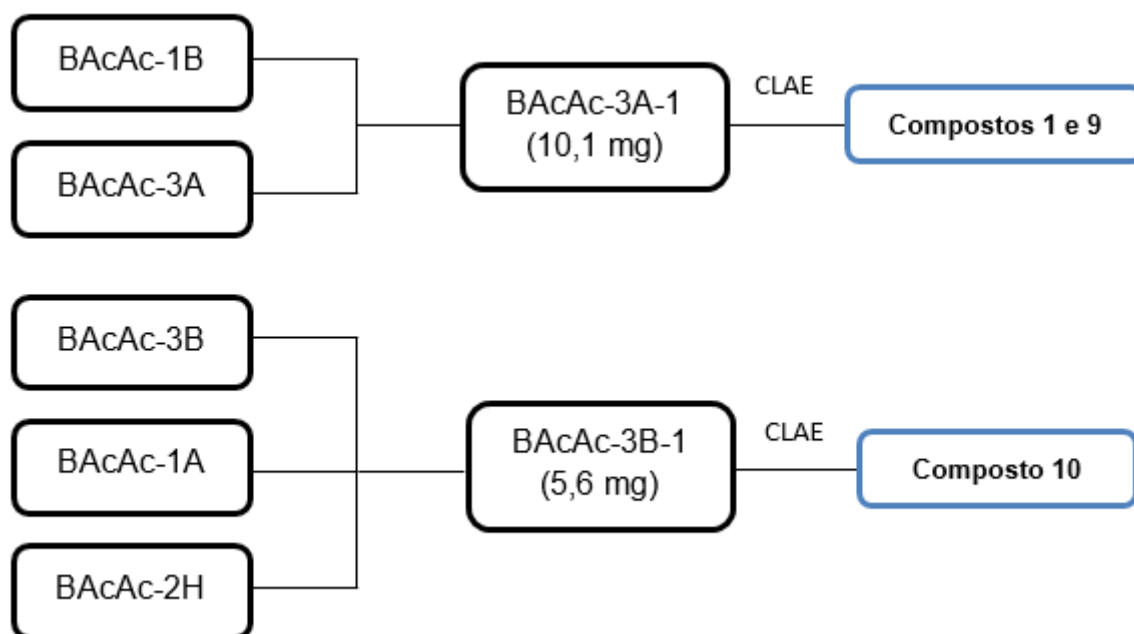


Figura 10: Esquema de união das subfrações similares e posterior isolamento por CLAE.

Os produtos encontrados na subfração BAcAc-3A-1 foram isolados pela técnica de CLAE. Os produtos foram analisados por RMN de ^1H e denominados composto **1** e composto **9**.

A subfração BAcAc-3B-1 foi fracionada utilizando os mesmos parâmetros descritos acima e o produto analisado por RMN de ^1H foi denominado composto **10**.

As demais subfrações não foram estudadas devido a sucessivos resultados negativos frente ao reagente de Dragendorff.

3.5.1.2 – Fracionamento de BAcMe

A fração bulbo acetato de etila/metanol foi fracionada através de CC usando sílica (70-90 μm) como fase estacionária e como fase móvel uma mistura de *n*-hexano, acetato de etila, acetona e metanol (3:2:2:1). As frações coletadas foram unidas por similaridade, usando como método a CCD.

Após a união das frações foi realizada uma CCD para confirmação da presença de alcaloides. Somente a subfração BAcMe-1 apresentou resultado positivo frente ao reagente de Dragendorff. O produto encontrado na subfração BAcMe-1 foi analisado por RMN de ^1H e denominado de composto **14**.

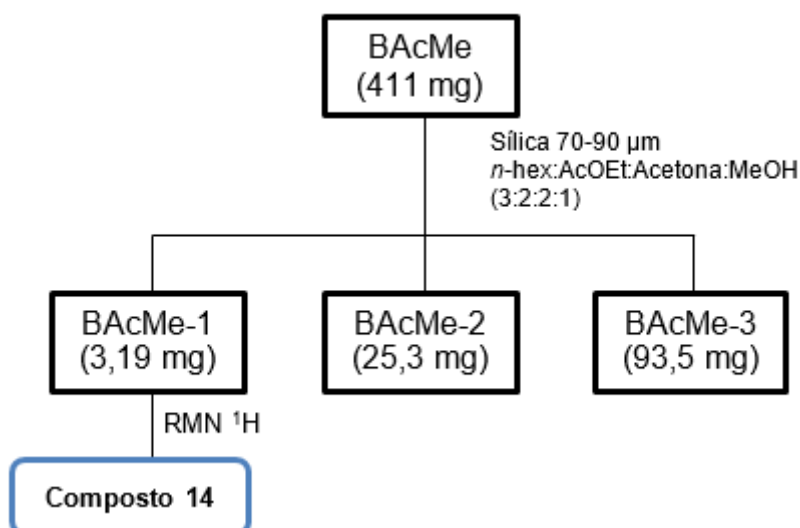


Figura 11: Esquema de fracionamento da fração BAcMe por CC.

Cabe ressaltar que a coluna cromatográfica apresentou coloração escura após o término do procedimento, o que sugere a retenção de impurezas.

3.5.1.3 – Fracionamento de BHex

A fração bulbo hexano foi fracionada por CC, utilizando sílica (70-90 μm) como fase estacionária e como solução eluente uma mistura de *n*-hexano, acetato de etila, acetona, diclorometano e metanol nas proporções de 3:2:1:2:1, respectivamente. As frações coletadas foram reunidas por comparação de CCD. O produto isolado na CCDP da subfração BHex-1 foi analisado por RMN de ^1H e denominado composto **18**. A subfração BHex-2 foi submetida à técnica de CLAE e os produtos foram analisados por RMN de ^1H e denominados composto **1** e composto **9**.

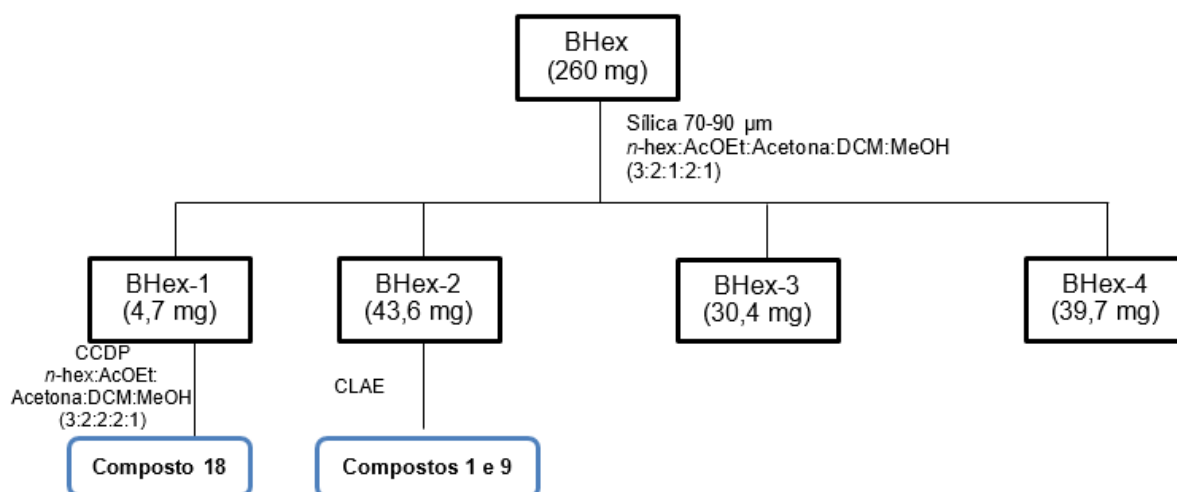


Figura 12: Fluxograma do fracionamento da fração BHex.

As subfrações BHex-4, BHex-5 e BHex-6 apresentaram sucessivos resultados negativos frente ao reagente de Dragendorff e foram descartadas.

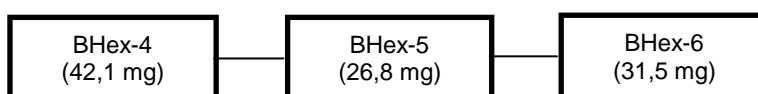


Figura 13: Esquema de frações descartadas a partir do fracionamento de BHex.

Para a subfração BHex-3 foi realizada uma CCDP utilizando como fase móvel a mistura de solventes *n*-hexano, acetato de etila, acetona, diclorometano e metanol nas proporções de 3:2:1:2:1 e cinco novas subfrações foram originadas, conforme ilustrado na Figura 14 abaixo. O produto isolado na subfração BHex-3A foi analisado por RMN de ^1H e denominado de composto **11**. Os produtos encontrados na subfração BHex-3C foram isolados por CLAE e submetidos à técnica de RMN de ^1H e após análise denominados composto **4**, composto **10** e composto **13**. O produto

encontrado na subfração BHex-3D foi analisado por RMN de ^1H e denominado composto **2**. As subfrações BHex-3B e BHex-3E foram analisadas por CCD e apresentaram resultado negativo frente ao reagente de Dragendorff.

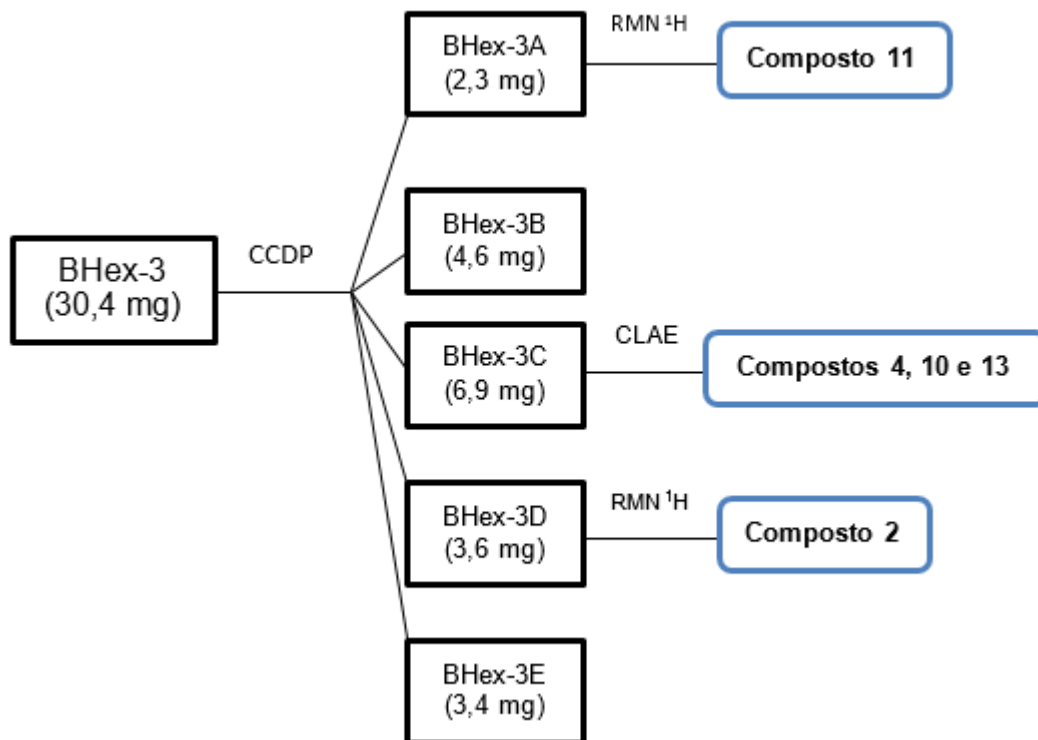


Figura 14: Esquema de fracionamento da subfração BHex-3.

3.5.1.4 – Fracionamento de BAcEt

A fração bulbo acetato de etila foi inicialmente fracionada por CC de Sílica (70-90 μm), utilizando como fase móvel uma mistura de *n*-hexano, acetato de etila, acetona, diclorometano e metanol nas proporções de 3:2:1:1:1. As alíquotas coletadas foram então reunidas por similaridade em CCD. O esquema de fracionamento segue abaixo na Figura 15.

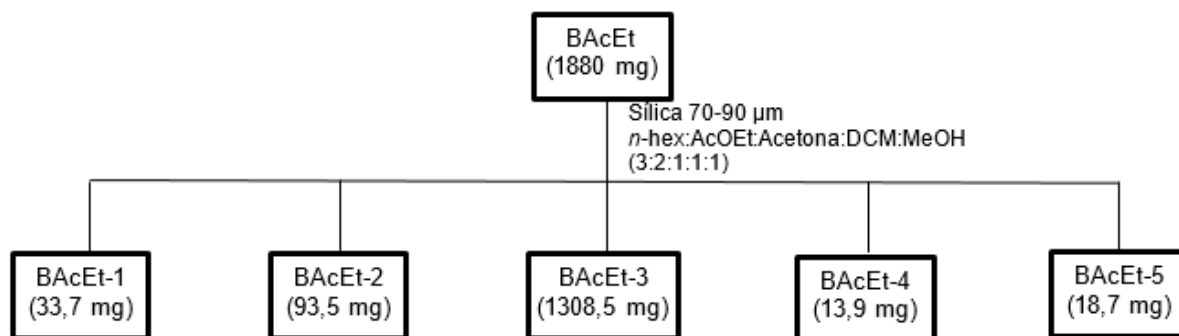


Figura 15: Esquema de fracionamento da fração BAcEt.

Após análise das CCDs, as subfrações BAcEt-1, BAcEt-2 e BAcEt-4 foram descartadas, uma vez que apresentaram sucessivos resultados negativos frente ao reagente de Dragendorff. A subfração BAcEt-5 foi seca e deu origem a um corpo de fundo escurecido que apresentou resultado negativo frente ao reagente de Dragendorff. A subfração BAcEt-3 foi submetida a uma cromatografia em coluna de exclusão, utilizando como fase estacionária Sephadex LH-20 e como fase móvel apenas metanol P.A. Foi evidenciada a separação das impurezas e as subfrações foram definidas de acordo com o perfil na CCD.

A subfração BAcEt-3E foi submetida a uma CCDP utilizando como fase móvel a mistura de *n*-hexano, acetato de etila, acetona e metanol (3:2:1:1) e os produtos encontrados foram identificados por RMN de ^1H , tratando-se do composto **2** e do composto **13**.

Devido à massa e às características apresentadas pela subfração BAcEt-3C frente a CCD, a mesma foi submetida a uma CC de Sílica (70-90 μm), utilizando como eluente a mistura de solventes *n*-hexano, acetato de etila, acetona e metanol (3:2:1:1), dando origem a seis novas subfrações. As subfrações BAcEt-3C.1, BAcEt-3C.2, BAcEt-3C.3 e BAcEt-3C.4 apresentaram resultado negativo frente ao reagente de Dragendorff, sendo assim, não foi dada continuidade em seus fracionamentos. A subfração BAcEt-3C.6 foi submetida a uma nova CC, utilizando como fase estacionária Sílica (70-90 μm) e como fase móvel a mistura de solventes *n*-hexano, acetato de etila, acetona e metanol (3:2:1:1) e três novas subfrações foram originadas. Após testes de CCD, as subfrações BAcEt-3C.6A e a subfração BAcEt-3C.5 foram reunidas por apresentarem grande similaridade. Assim como as anteriores, as subfrações BAcEt-3C.6B e BAcEt-3A foram agrupadas para um melhor desenvolvimento deste trabalho.

A subfração BAcEt-3C.5 foi fracionada utilizando a CCDP e como fase móvel uma mistura de *n*-hexano, acetato de etila, acetona e metanol (3:1:1:1), dando origem a três novas subfrações: a) BAcEt-3C.5A (3,6 mg); b) BAcEt-3C.5B (5,8 mg); e c) BAcEt-3C.5C (9,4 mg). Os produtos encontrados na subfração BAcEt-3C.5C foram isolados por CLAE. Os produtos foram submetidos à técnica de RMN de ¹H e após análise denominados composto **1** e composto **9**. As subfrações BAcEt-3C.5A e BAcEt-3C.5B apresentaram resultado negativo frente ao reagente de Dragendorff e foram descartadas.

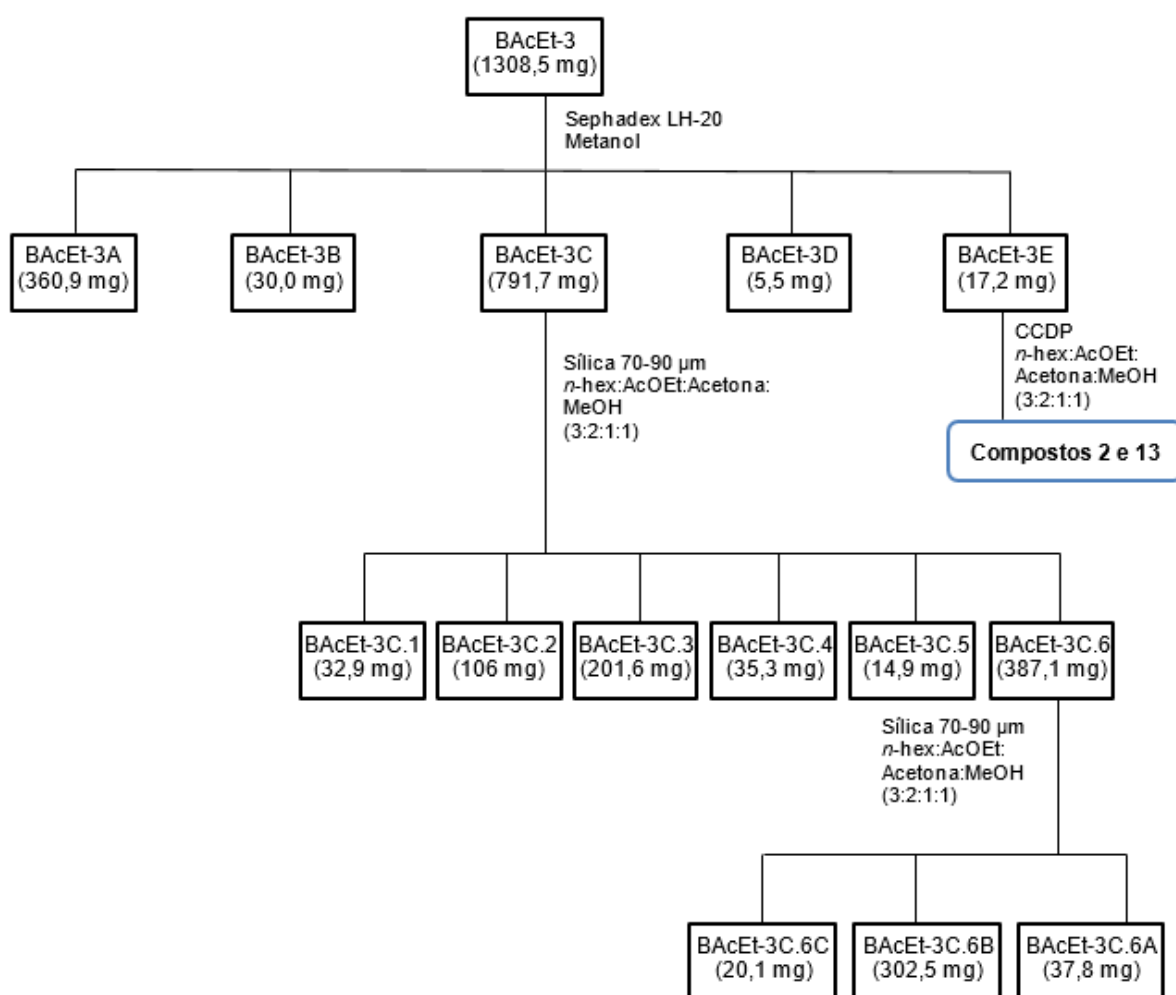


Figura 16: Fracionamento da subfração BAcEt-3 por cromatografia de exclusão.

A subfração BAcEt-3A foi inicialmente fracionada pela técnica de CC, utilizando Sílica (70-90µm) e como fase móvel uma mistura composta por *n*-hexano, acetato de etila, acetona, diclorometano e metanol, nas proporções de 3:3:1:1:1. A sequência de fracionamento segue abaixo na Figura 17.

A subfração BAcEt-3A.2 apresentou resultado negativo frente ao reagente de Dragendorff e seu estudo não foi continuado. A subfração BAcEt-3A.1B foi descartada, uma vez que apresentou sucessivos resultados negativos frente ao reagente de Dragendorff. O mesmo se deu com a subfração BAcEt-3A.3B. Os produtos encontrados na subfração BAcEt-3A.3A.1 foram isolados através da técnica de CLAE. Os produtos isolados foram submetidos à técnica de RMN de ^1H e após análise denominados composto **1** e composto **9**. A subfração BAcEt-3A.3A.3 foi submetida diretamente a RMN de ^1H e o produto encontrado foi denominado composto **12**. A subfração BAcEt-3A.3A.2 apresentou resultado positivo quando testada com o reagente de Dragendorff e seu isolamento se deu pela técnica de CLAE. O composto isolado foi analisado por RMN de ^1H , sendo denominado composto **6**. A subfração BAcEt-3A.3A.4 apresentou resultado positivo quando testada com o reagente de Dragendorff e seu isolamento se deu pela técnica de CLAE. Os compostos isolados foram analisados por RMN de ^1H , sendo denominados composto **2** e composto **15**.

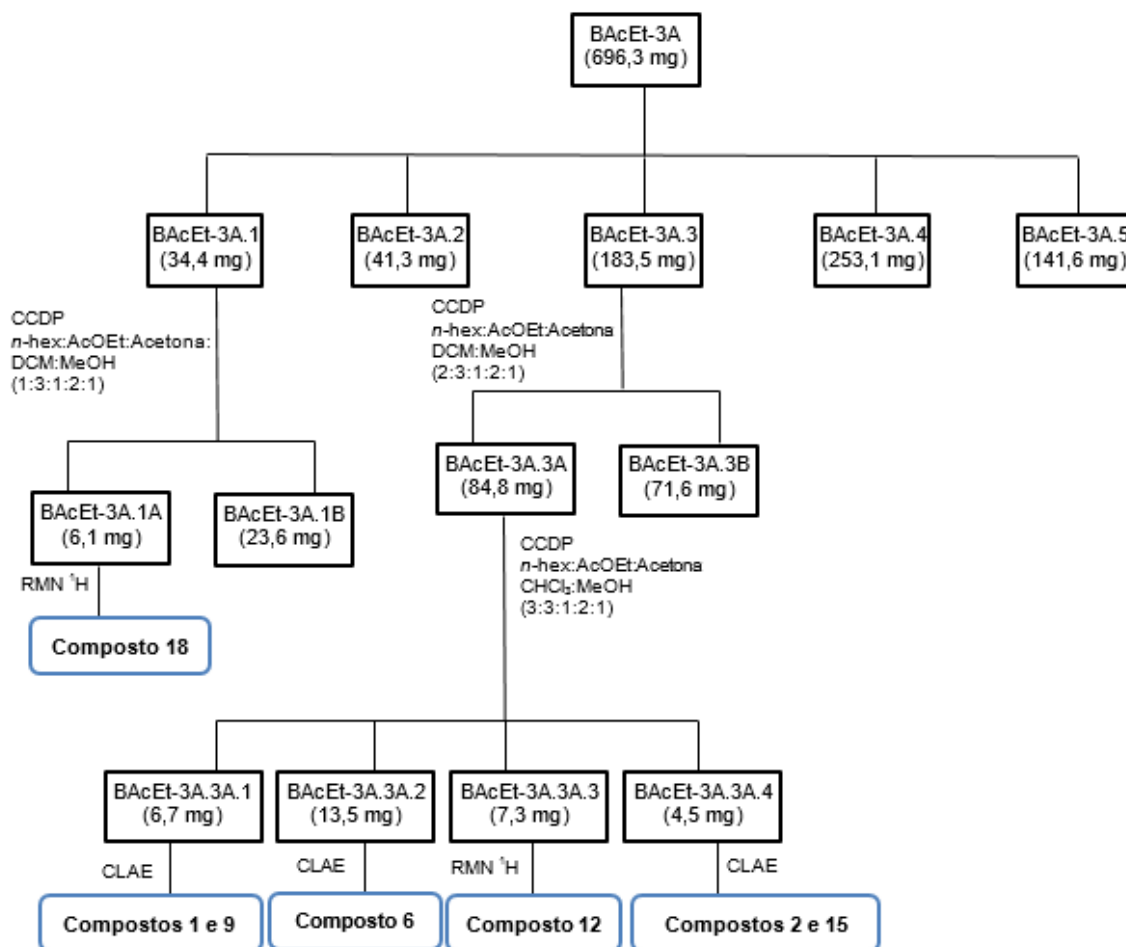


Figura 17: Esquema de fracionamento da subfração BAcEt-3A.

A subfração BAcEt-3A.4 foi fracionada pela técnica de CCDP e deu origem a sete novas subfrações. Os produtos encontrados na subfração BAcEt-3A.4A foram isolados através da técnica de CLAE. Os produtos isolados foram submetidos à técnica de RMN de ^1H e após análise denominados composto **1** e composto **9**. Diferentemente da subfração anterior, as subfrações BAcEt-3A.4D, BAcEt-3A.4F e BAcEt-3A.4G apresentaram resultado negativo e foram descartadas. Os produtos encontrados nas subfrações BAcEt-3A.4B e BAcEt-3A.4C foram submetidos à técnica de RMN de ^1H e denominados composto **2** e composto **7**, respectivamente. O produto encontrado na subfração BAcEt-3A.4E foi isolado pela técnica de CLAE e submetido a análise de RMN de ^1H , sendo caracterizado como composto **14**.

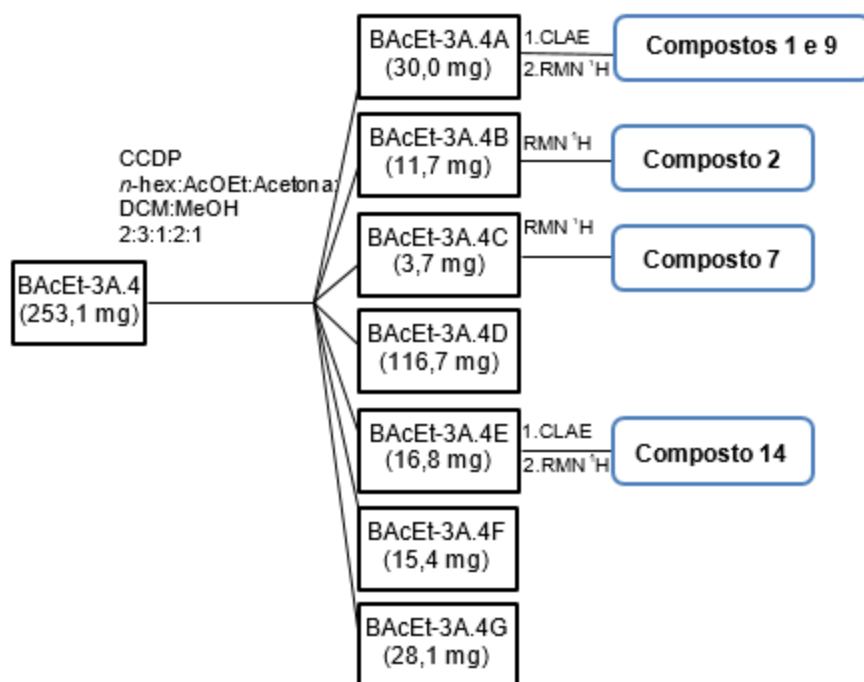


Figura 18: Esquema de fracionamento da subfração BAcEt-3A.4 via CCDP.

A subfração BAcEt-3A.5 foi fracionada utilizando a técnica de CCDP (Fm: *n*-hexano, acetato de etila, acetona e metanol (3:1:1:1)) e foram obtidas três subfrações: a) BAcEt-3A.5A (53,6 mg), que apresentou resultado negativo para alcaloides em CCD; b) BAcEt-3A.5B (50,8 mg), apresentou resultado negativo para alcaloide em CCD; c) BAcEt-3A.5C (9,4 mg), esta subfração foi submetida à técnica de RMN de ^1H e após análise denominada composto **16**; e d) BAcEt-3A.5D (2,5 mg) apresentou resultado positivo para alcaloide em CCD, foi submetido à técnica de RMN de ^1H e após análise denominado composto **17**.

3.5.2 – Folhas

3.5.2.1 – Fracionamento de FHex

A fração folha hexano foi, inicialmente, submetida à CC utilizando como fase estacionária Sílica (70-90 μm) e como fase móvel uma mistura de solventes contendo *n*-hexano, acetato de etila e metanol (3:5:1). Este fracionamento inicial rendeu quatro novas subfrações, conforme ilustrado na Figura 19.

As subfrações FHex-1 e FHex-2 apresentaram sucessivos resultados negativos frente ao reagente de Dragendorff e foram descartadas. A subfração FHex-3 foi submetida a técnica de CCDP (Fm: *n*-hex:AcOEt:Acetona:Metanol (5:4:1:1)), sendo obtidas quatro novas subfrações. A subfração FHex-3A foi submetida a técnica de CLAE e após análise de RMN de ^1H os produtos foram identificados como composto **6** e composto **9**. A subfração FHex-3B foi submetida a técnica de RMN de ^1H e identificado como composto **9**. A subfração FHex-3C foi submetida a técnica de RMN de ^1H e identificado como composto **2**, e a subfração FHex-3D foi submetida a técnica de RMN de ^1H e identificado como composto **10**. A subfração FHex-4 foi submetida a uma CCDP (Fm: *n*-hex:AcOEt: Acetona:Metanol (3:4:2:1)) e duas subfrações foram obtidas. A subfração FHex-4B foi submetida a técnica de RMN de ^1H e identificado como composto **17**.

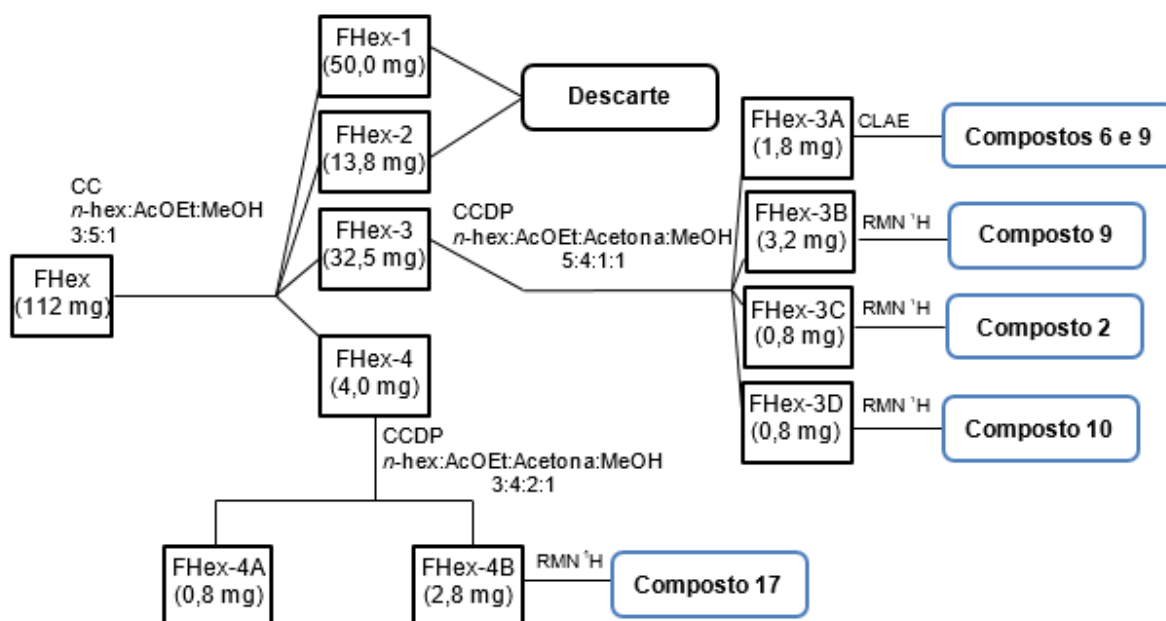


Figura 19: Esquema de fracionamento da fração FHex.

3.5.2.2 – Fracionamento de FAcEt

A fração folha acetato de etila foi fracionada através de uma CC (Fe: Sílica 70-90 μm ; Fm: *n*-hex:AcOEt:MeOH (5:5:1)) dando origem a cinco novas subfrações.

As subfrações FAcEt-4 e FAcEt-5 foram testadas e apresentaram sucessivos resultados negativos frente ao reagente de Dragendorff, sendo, portanto, descartadas. A subfração FAcEt-3 foi submetida a uma CCDP, utilizando como solvente uma mistura de *n*-hexano, acetato de etila, acetona, diclorometano e metanol (4:3:1:1:1), dando origem a cinco novas subfrações. A subfração FAcEt-3B foi submetida a técnicas de RMN de ^1H e denominada composto **3**.

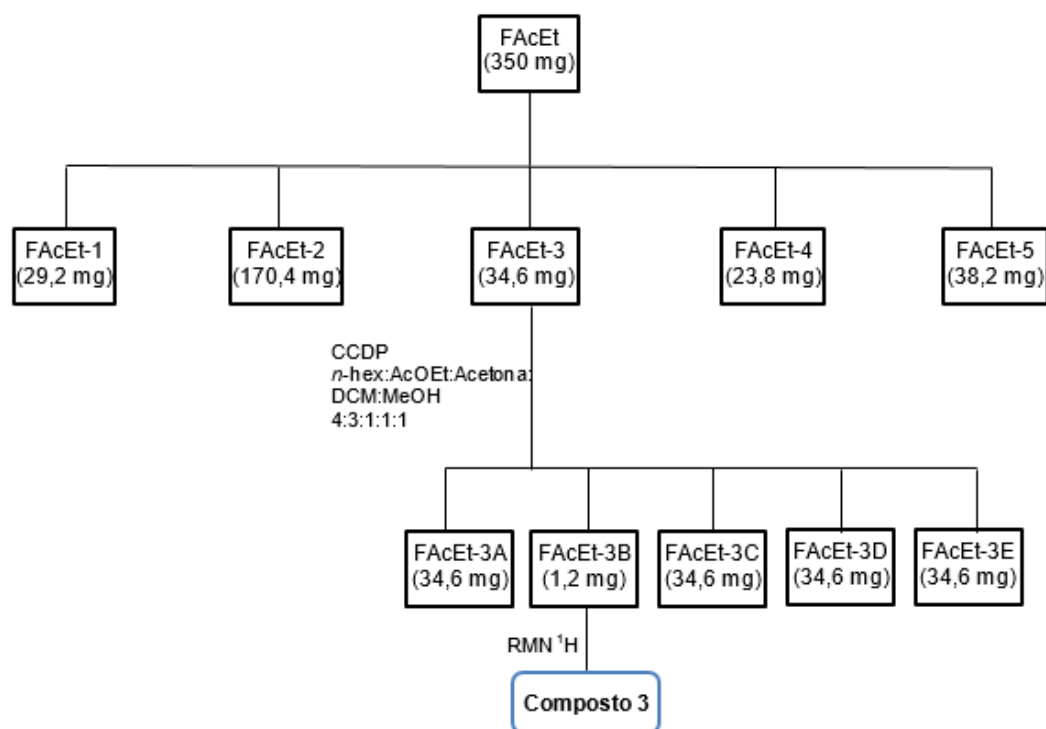


Figura 20: Esquema de fracionamento inicial da fração FAcEt.

A subfração FAcEt-2 foi inicialmente fracionada pela técnica de CC (Fe: Sílica 70-90 μm ; Fm: *n*-hex:AcOEt:Acetona:DCM:MeOH (4:3:1:1:1)), sendo originadas cinco novas subfrações. A subfração FAcEt-2A apresentou sucessivos resultados negativos frente ao reagente de Dragendorff e foi descartada. A subfração FAcEt-2B foi fracionada pela técnica de CCDP. Após essa etapa, os produtos foram analisados por RMN de ^1H e denominados composto **10** e composto **13**. Assim como

a anterior, a subfração FAcEt-2D foi submetida a uma CCDP e seus produtos enviados para análise de RMN de ^1H , sendo caracterizados como composto **3**, composto **5** e composto **8**. A subfração FAcEt-2C foi fracionada pela técnica de CCDP, sendo obtidas sete novas subfrações. A subfração FAcEt-2C.3 foi, inicialmente, submetida a uma CLAE e os produtos isolados foram submetidos à técnica de RMN de ^1H e após análise denominados composto **1**, composto **2** e composto **10**. A subfração FAcEt-2C.4 foi submetida as técnicas de RMN de ^1H e classificada como composto **7**. As demais subfrações apresentaram resultado negativo frente ao reagente de Dragendorff e foram descartadas.

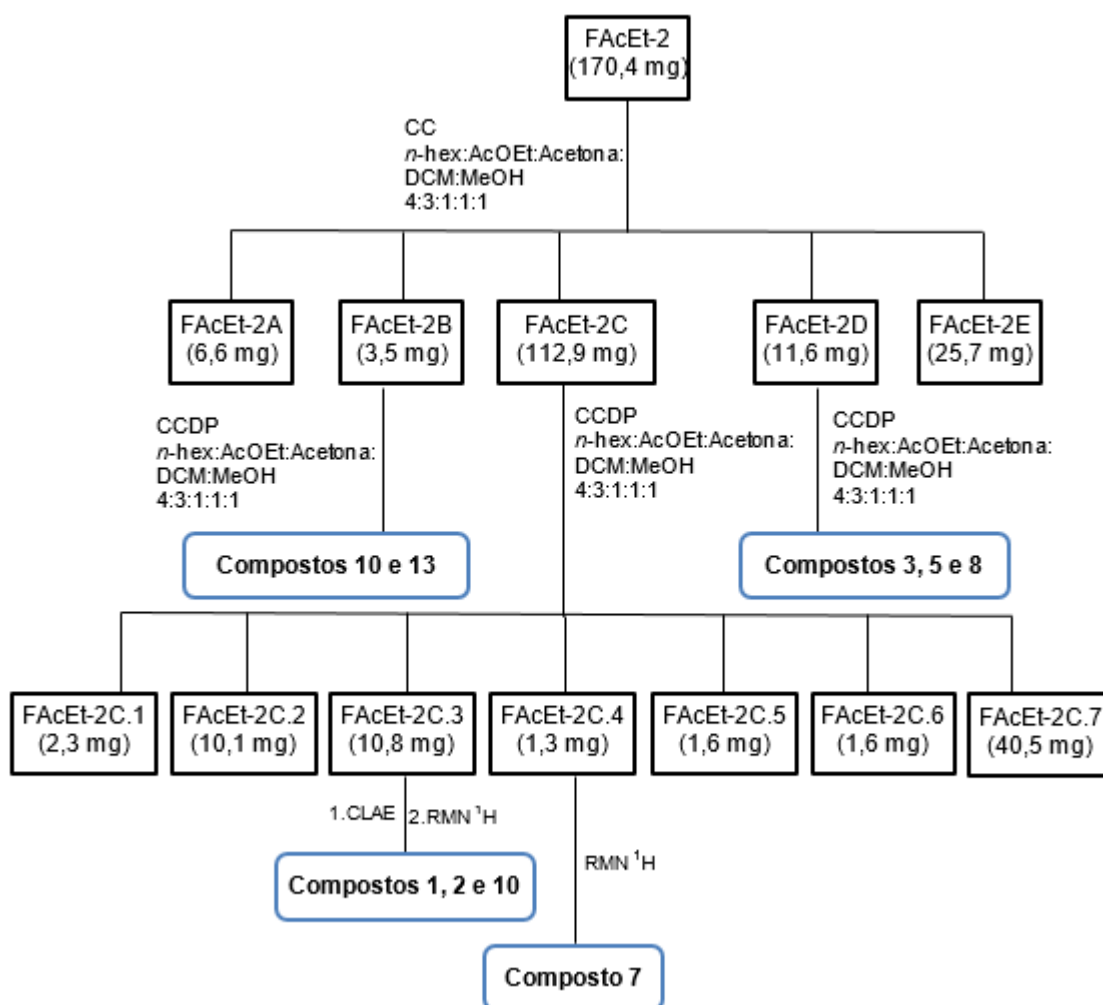


Figura 21: Fracionamento cromatográfico de FAcEt-2.

4 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise de CG/EM foram identificados 11 alcaloides nas frações hexano e acetato de etila de folhas e bulbos, sendo que quatro não tiveram padrão de fragmentação identificado pela biblioteca. Albomaculina foi o alcaloide mais abundante na fração *n*-hexano, enquanto o alcaloide 2- α -7-dimetoxihomolicorina foi o mais abundante na fração acetato de etila.

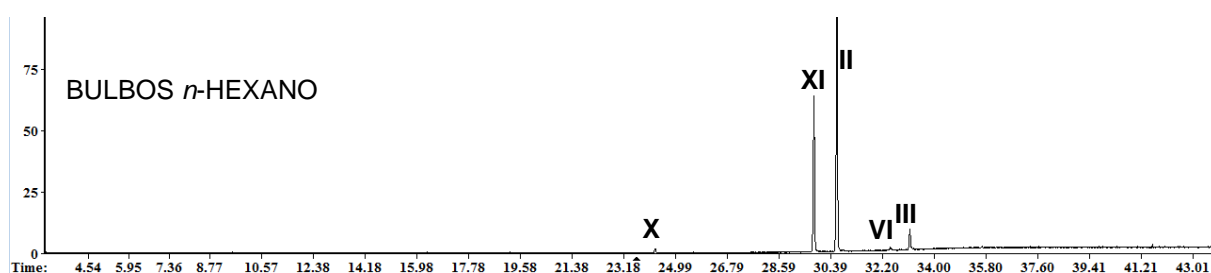
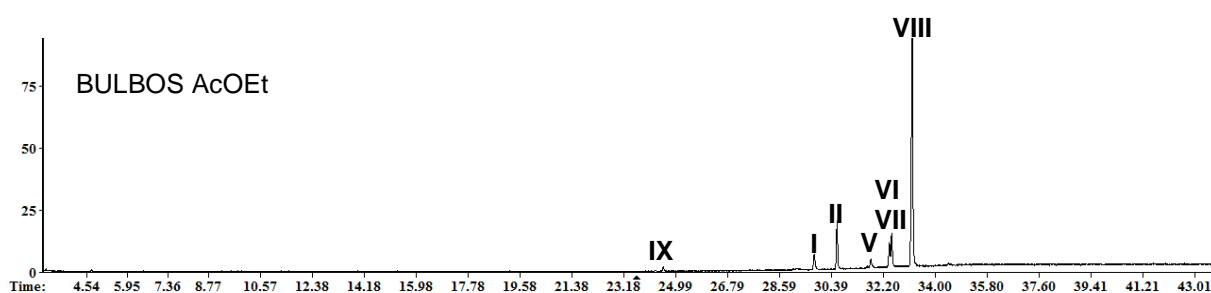
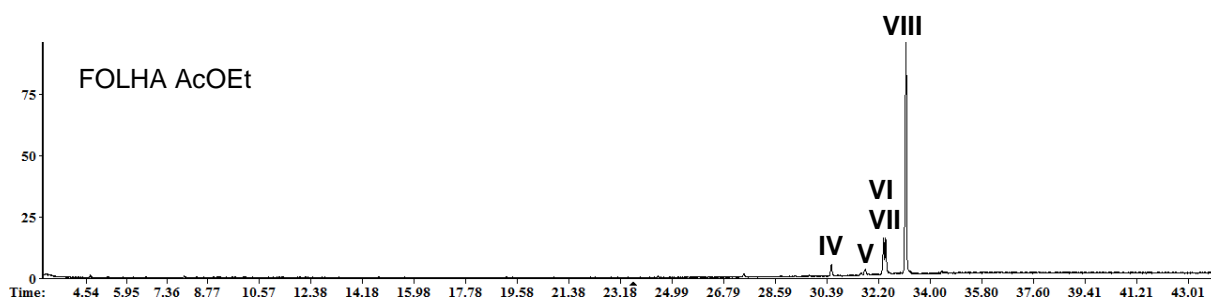
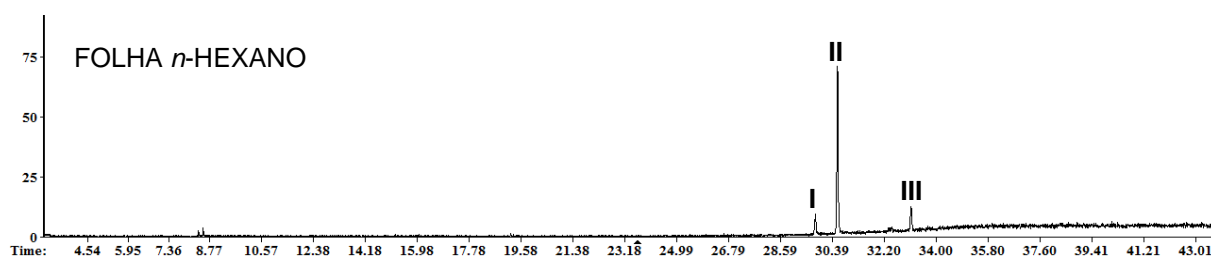


Tabela 1: Dados de CG/EM das frações *n*-hexano e acetato de etila.

FOLHA <i>n</i> -HEXANO				
Alcaloides	TR	%	M ⁺	EM
I - TIPO-HOMOLICORINA	29.82	8.42	(<1)	110(11), 109(100), 108(26), 94(4), 82(4), 81(6), 67(3)
II - ALBOMACULINA	30.58	81.45	345(<1)	221(1),193(1),165(1),110(10),109(100),108(25),94(2),82(3)
III - TIPO-HOMOLICORINA–Subst. 2-OMe	33.13	10.13	(<1)	140(10), 139(100), 125(5), 124(63), 94(7), 65(2)
TOTAL		100.00		

FOLHA AcOEt				
Alcaloides	TR	%	M ⁺	EM
IV - 8-O-DESMETILHOMOLICORINA	30.55	2.77	301(<1)	195(0.5),164(2),109(100),108(25),94(3),82(3)
V - TIPO-HOMOLICORINA – Subst. 2-OH	31.74	1.24	(<1)	126(8), 125(100), 96(36), 107(3), 52(4)
VI - TIPO-HOMOLICORINA – Subst. 2-OMe	32.38	9.26	(<1)	140(7), 139(100), 124(69), 96(14), 94(5), 82(4), 77(3), 67(3)
VII - 2- α -METOXIHOMOLICORINA	32.45	7.70	345(<1)	206(<1),178(2),150(1),139(100),124(64),96(5),94(5),81(3)
VIII - 2- α -7-DIMETOXIHOMOLICORINA	33.16	79.03	374(<1)	221(1),193(1),139(100),124(75),96(5)
TOTAL		100.00		

BULBOS AcOEt				
Alcaloides	TR	%	M ⁺	EM
IX - SANGUININA	24.57	0.15	273 (100)	272(83),256(22),212(23),202(54),160(77)
I - TIPO-HOMOLICORINA	29.81	3.73	(<1)	110(8), 109(100), 108(22), 94(3), 82(4), 79(2), 67(2), 53(2)
II - ALBOMACULINA	30.59	11.21	345(<1)	221(1),193(1),165(1),110(10),109(100),108(25),94(2),82(3)
V - TIPO-HOMOLICORINA – Subst. 2-OH	31.77	1.71	(<1)	125(100), 124(14), 123(4), 96(56), 76(3), 67(5)
VI - TIPO-HOMOLICORINA – Subst. 2-OMe	32.41	5.24	(<1)	140(10),139(100),125(22),124(70),96(12),94(5),81(4),67(3)
VII - 2- α -METOXIHOMOLICORINA	32.49	6.23	345(<1)	206(<1),178(2),150(1),139(100),124(64),96(5),94(5),81(3)
VIII - 2- α -7-DIMETOXIHOMOLICORINA	33.22	71.73	374(<1)	221(1),193(1),139(100),124(75),96(5)
TOTAL		100.00		

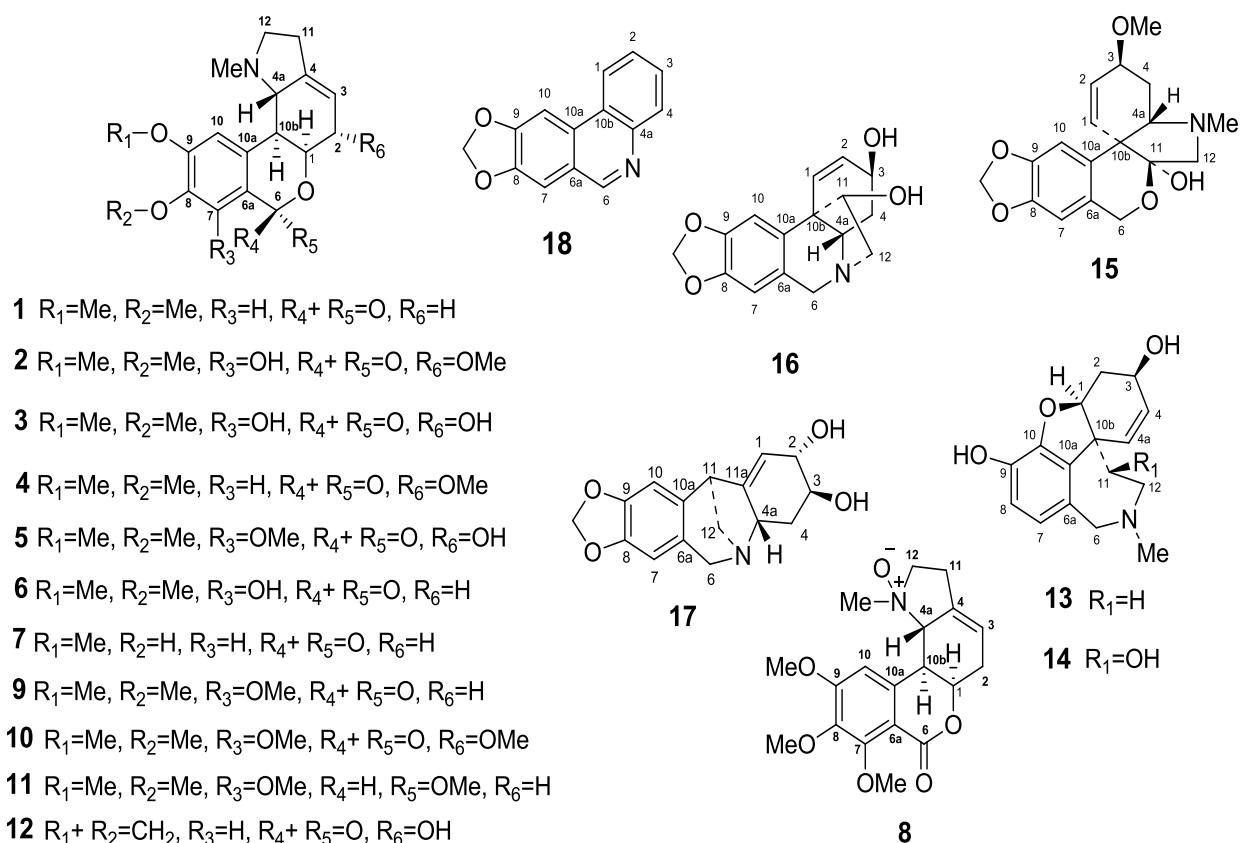
BULBOS <i>n</i> -HEXANO				
Alcaloides	TR	%	M ⁺	EM
X - GALANTAMINA	24.29	0.62	287(83)	286(100),270(13),244(24),230(12),216(33),174(27),115(12)
XI - HOMOLICORINA	29.82	36.73	315(<1)	206(<1),178(2),109(100),150(1),108(22),94(3),82(3)
II - ALBOMACULINA	30.62	57.86	345(<1)	221(1),193(1),165(1),110(10),109(100),108(25),94(2),82(3)
VI - TIPO-HOMOLICORINA – Subst. 2-OMe	32.48	0.43	(<1)	140(11), 139(100), 124(68)
III - TIPO-HOMOLICORINA – Subst. 2-OMe	33.16	4.35	(<1)	140(9), 139(100), 124(63), 96(6), 94(6), 81(3), 77(2), 67(2)
TOTAL		100.00		

Todas as subfrações obtidas na extração foram testadas por CCD, utilizando como revelador o reagente de Dragendorff. As subfrações Folha acetato de etila ácido (FAcAc) e Folha acetato de etila metanol (FAcMe) apresentaram resultado negativo na CCD anteriormente descrita e por isso não foram trabalhadas.

Foram obtidos neste trabalho 18 compostos, todos pertencentes à classe dos alcaloides isoquinolínicos. A identificação se deu através de comparação de resultados de RMN com a literatura e análise de RMN bidimensionais (Tabela 2).

Tabela 2: Identificação dos alcaloides isolados de *H. reginae*.

Número	Alcaloide	Massa (mg)
1	homolicorina	10,4
2	2- α -metoxi-7-hidroxihomolicorina	17,7
3	2- α -7-dihidroxihomolicorina	1,5
4	2- α -metoxihomolicorina	2,3
5	2- α -hidroxialbomaculina	0,7
6	7-hidroxihomolicorina	0,5
7	8-O-desmetilhomolicorina	2,1
8	albomaculina N-óxido	1,0
9	albomaculina	15,0
10	2- α -7-dimetoxihomolicorina	8,2
11	7-metoxi-O-metillicorena	0,7
12	hippeastrina	7,3
13	sanguinina	1,0
14	11- β -hidroxisanguinina	2,0
15	tazetina	2,1
16	11-hidroxitatina	8,5
17	pancracina	1,8
18	trisfaeridina	0,4

**Figura 22:** Estrutura química dos compostos isolados da planta *H. reginae*.

4.1 – COMPOSTOS ISOLADOS

Neste trabalho, foram isolados 18 compostos pertencentes a classe dos alcaloides isoquinolínicos com esqueletos dos tipos homolicorina, galantamina, tazetina, haemantamina e montanina, conforme ilustrado na Figura 22.

4.1.1 – Compostos com esqueleto do tipo homolicorina

O fracionamento dos extratos das folhas e bulbos da espécie *Hippeastrum reginae* levou ao isolamento e identificação de 12 alcaloides derivados do núcleo homolicorina. Cabe ressaltar que a ferramenta de RMN foi utilizada para todos os compostos purificados, e as análises de ultravioleta (UV), rotação específica (α -D) e espectrometria de massas de alta resolução foram realizadas apenas para substâncias inéditas.

O esqueleto do tipo homolicorina apresenta características específicas para esse tipo de alcaloide, sendo elas: a) a presença de dois hidrogênios singletos aromáticos *para*-orientados, com deslocamentos químicos entre 6,90 e 7,50 ppm. Nos alcaloides da série lactona, o hidrogênio da posição 7 (H-7) apresenta-se mais desblindado que o hidrogênio H-10 devido à proximidade com o grupo *peri*-carbonil da lactona; b) os alcaloides com o grupo hemiacetal sempre apresentam o substituinte em C-6 *alfa*-orientado; c) grande parte desses alcaloides provém de uma única série enantiomérica que apresenta uma junção *cis* entre os anéis B/C, que pode ser comprovada pela pequena constante de acoplamento $J_{1,10b}$ (~ 2,0 Hz). A única exceção encontrada para este esqueleto é o alcaloide hippapiline, isolado por Guo e colaboradores (2016), que apresenta grande constante de acoplamento ($J=4,5$ Hz); d) uma constante de acoplamento grande entre os hidrogênios H-4a e H-10b ($J_{4a,10b}$ ~ 10Hz) que evidenciam uma relação *trans*-diaxial; e) no geral, o anel C apresenta um hidrogênio vinílico, e caso haja uma substituição na posição C-2 por um grupo hidroxila (OH), metoxila (OMe) ou acetil (OAc) este deve sempre encontrar-se *alfa*-orientado; f) o singlete correspondente ao grupo N-metil (NMe) apresenta-se na faixa de deslocamento químico entre 2,0 e 2,2 ppm; e g) o H-12 α apresenta-se mais

desblindado que o hidrogênio H-12 β devido a relação *cis* com o par de elétrons do nitrogênio do grupo NMe (Bastida; Lavilla; Viladomat, 2006).

O composto **1** foi obtido nas subfrações BAcAc-3A-1, BHex-2, BAcEt-3C.5C, BAcEt-3A.3A.1, BAcEt-3A.4A e FAcEt-2C.3, apresentando-se como um sólido branco. O composto foi solubilizado em CDCl₃ para análise de RMN de ¹H.

As principais características do espectro de RMN de ¹H do composto **1** (CDCl₃, 25°C) encontradas foram dois sinais de hidrogênios singletos aromáticos *p*-orientados em 7,49 e 6,97 ppm, referente aos hidrogênios das posições 7 e 10 respectivamente; um hidrogênio singlete olefínico em 5,45 ppm, referente ao hidrogênio da posição 3; um hidrogênio tripleto em 4,73 (*J* = 2,0 Hz) ppm atribuído ao hidrogênio da posição 1; dois singletos, integrando para 3 hidrogênios cada, referente aos grupos OMe das posições 8 e 9 em 3,88 e 3,87 ppm; um hidrogênio singlete largo, com deslocamento químico de 3,11 ppm, atribuído ao hidrogênio da posição 12 α ; um hidrogênio multiplete em 2,59 – 2,70 ppm, com integração de 2H, atribuído as posições H-4a e H-10b; um sinal multiplete, com deslocamento químico entre 2,52 – 2,58 ppm, com integração de 2H, referente aos hidrogênios da posição 2; um sinal multiplete, com deslocamento químico entre 2,42 – 2,48 ppm, com integração de 2H, referente aos hidrogênios da posição 11; um hidrogênio quadruplete (q) com δ 2,20 ppm (*J* = 9,6 Hz), referente ao hidrogênio da posição 12 β ; e um singlete referente ao grupo NMe em δ 1,95 ppm, apresentando integração para três hidrogênios.

O composto **1** apresenta características condizentes com o esqueleto do tipo homolicorina pertence à série das lactonas, uma vez que apresenta um grupo éster cíclico na posição seis. Essa informação pode ser confirmada pela ausência de hidrogênios na posição 6, e ainda à atribuição por RMN de ¹³C do carbono 6 como uma carbonila.

A estereoquímica do esqueleto mantém-se preservada, pois provém da fusão *cis* entre os anéis B e C do esqueleto que o origina. Além disso, pode-se destacar também que o hidrogênio α orientado da posição 12 apresenta-se mais desblindado que o hidrogênio β da posição 12, devido à relação *cis* com o par de elétrons livre do átomo de nitrogênio do grupo NMe, conforme descrito por Bastida; Lavilla; Viladomat (2006).

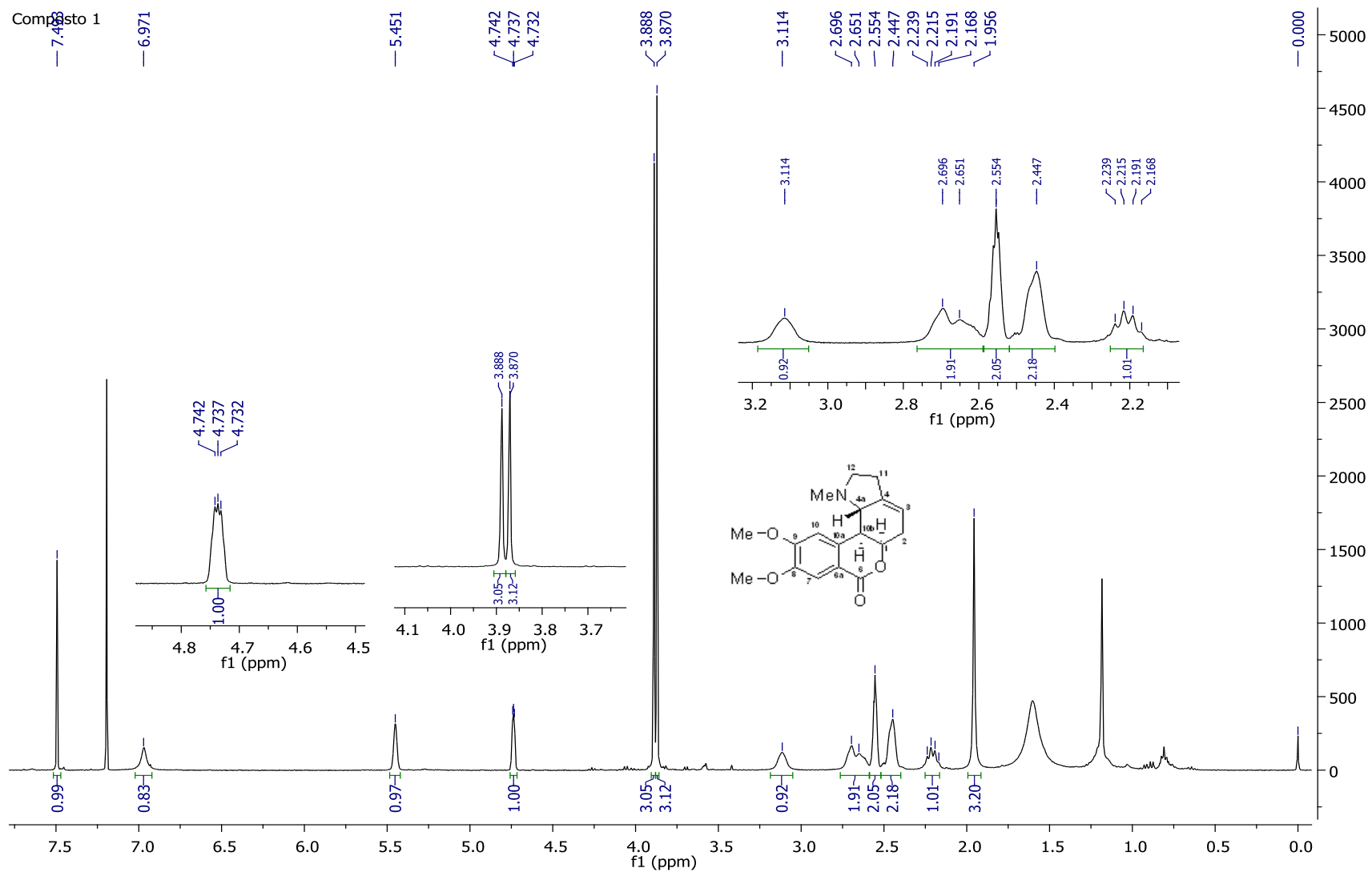


Figura 23: Espectro de RMN de ^1H do composto 1 (CDCl_3 , 400 MHz).

Após análise do espectro de RMN de ^1H foi proposto que o composto **1** seja o alcaloide homoliorina. Foi realizada uma pesquisa na literatura para a comprovação da hipótese, e após a comparação dos deslocamentos químicos e multiplicidade dos sinais determinou-se o composto **1** como o alcaloide homoliorina.

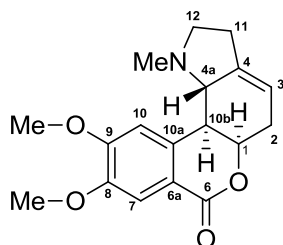


Figura 24: Estrutura química do alcaloide homoliorina (**1**).

Tabela 3: Dados de RMN de ^1H do composto **1** (CDCl_3 , 400 MHz) em comparação com a literatura (CDCl_3 , 200 MHz) (BASTIDA et al., 1987).

Posição	δ_{H} (J em Hz) Composto 1	δ_{H} (J em Hz) Literatura
H-1	4,73 <i>tl</i> (2,0)	4,81 <i>ddd</i> (4,2; 1,8; 1,7)
H-2 (2H)	2,52 – 2,58 <i>m</i>	2,49 <i>m</i>
H-3	5,45 <i>s</i>	5,50 <i>m</i>
H-4a	2,59 – 2,70 <i>m</i>	2,72 <i>dd</i> (9,6; 2,0)
H-7	7,49 <i>s</i>	7,57 <i>s</i>
H-10	6,97 <i>sl</i>	6,99 <i>s</i>
H-10b	2,59 – 2,70 <i>m</i>	2,64 <i>dd</i> (9,6; 1,8)
H-11 (2H)	2,42 – 2,48 <i>m</i>	2,61 – 2,67 <i>m</i>
H-12 α	3,11 <i>sl</i>	3,14 <i>ddd</i> (9,2; 5,3; 4,1)
H-12 β	2,20 <i>q</i> (9,6)	2,24 <i>dd</i> (18,0; 9,2)
8-OMe	3,88 <i>s</i>	3,96 <i>s</i>
9-OMe	3,87 <i>s</i>	3,95 <i>s</i>
NMe	1,95 <i>s</i>	2,00 <i>s</i>

4.1.1.1 – Composto **2**

O composto **2** foi obtido nas subfrações BHex-3D, BAcEt-3E, BAcEt-3A.3A.4, BAcEt-3A.4B, FAcEt-2C.3 e FHex-3C, apresentando-se como um sólido branco. O composto foi solubilizado em CDCl_3 para análise de RMN de ^1H .

Foi identificado no espectro de RMN de ^1H um hidrogênio singlete na região de hidrogênios aromáticos (δ 6,58 ppm), indicando uma possível substituição na posição H-7 ou H-10. Um singlete largo com deslocamento químico de 5,64 ppm,

característico da posição H-3 olefínica. Um hidrogênio singlete, com δ 4,88 ppm, atribuído a posição H-1. Um singlete largo, com deslocamento químico de 4,21 ppm e integração para 1H, atribuído ao hidrogênio da posição H-2 substituída. Dois sinais singletos na região de metoxilas aromáticas (δ 3,90 e 3,91 ppm), com integração de 3H e um sinal singlete em δ 3,50 ppm, com integração para 3H, característico de metoxila não aromática. Esses dois últimos fatores indicam que a posição C-2 encontra-se substituída por um grupo metoxila, uma vez que há a presença de um sinal de metoxila não aromática e o hidrogênio da posição 2 encontra-se desblindado com relação ao alcaloide homolicorina. Foi observado um sinal multipletto, com deslocamento químico de 3,16 ppm, atribuído a posição H-12 α . Foram observados dois sinais de hidrogênios dubletos, com δ 2,83 e 2,89 ppm, integração de 1H cada, e constante de acoplamento de aproximadamente 9,2 Hz, característico das posições H-4a e H-10b, respectivamente. Esse valor de constante de acoplamento é característico de uma relação *trans*-diaxial entre esses hidrogênios e segue o descrito por Bastida; Lavilla; Viladomat (2006) para o esqueleto homolicorina. Foi observado também, um sinal de hidrogênio multipletto, com δ entre 2,40 – 2,60 ppm e integração de 2H, atribuído aos hidrogênios da posição H-11. Um sinal de hidrogênio quadrupletto foi observado com deslocamento químico de 2,28 ppm ($J = 9,2$ Hz) e atribuído a posição H-12 β . Cabe ressaltar que os hidrogênios da posição C-12 apresentaram-se conforme descrito por Bastida; Lavilla; Viladomat (2006), onde o 12 α encontra-se mais desblindado que o 12 β , devido à relação *cis* com o par de elétrons livre do átomo de nitrogênio do grupo NMe. Por fim, foi observado um sinal singlete com deslocamento químico de 2,07 ppm e integração de 3H, atribuído aos hidrogênios do grupo NMe.

Após a análise do espectro de RMN de ^1H foi proposto que o composto **2** pertença ao esqueleto do tipo homolicorina com um substituinte metoxila na posição C-2 e deficiente de um hidrogênio aromático. Para a completa elucidação da estrutura química foram realizados os ensaios de RMN de ^{13}C e RMN bidimensionais, como NOESY, COSY, HMBC, HSQC, além da análise de espectrometria de massas de alta resolução.

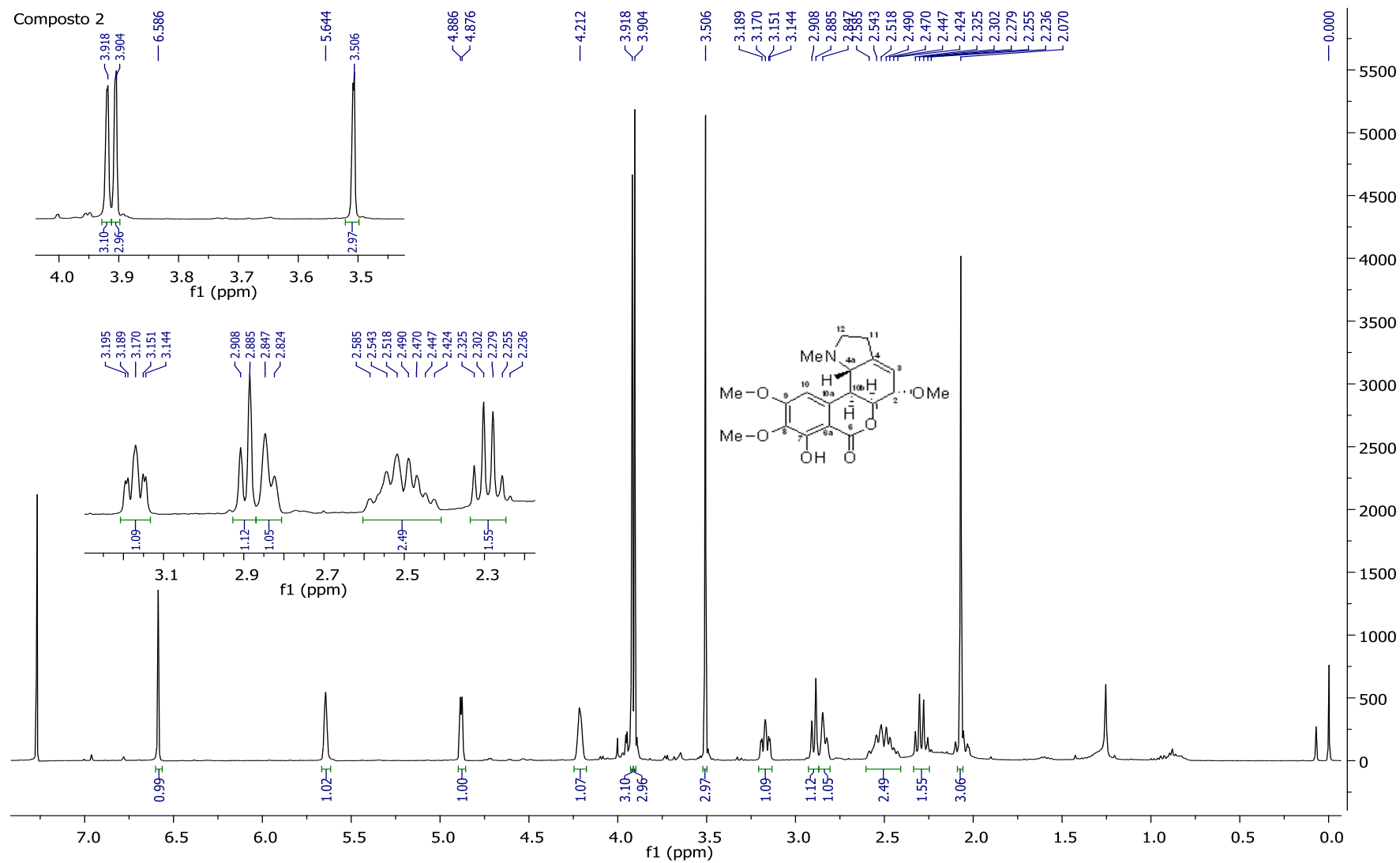


Figura 25: Espectro de RMN de ^1H do composto 2 (CDCl_3 , 400 MHz).

O espectro de RMN de ^{13}C em associação com os mapas de contornos HSQC e HMBC permitiu a atribuição de dezenove sinais e suas correlações com seus respectivos hidrogênios. O sinal em δ 169,2 ppm é característico de carbono carboxílico, o que comprova a presença do grupo lactona no esqueleto homolicorina. A análise do espectro de COSY apresentou uma importante correlação entre o hidrogênio aromático e a metoxila da posição C-9 (9-OMe), o que sugere a presença do hidrogênio aromático na posição H-10. Essa hipótese é confirmada pela correlação de NOESY do hidrogênio aromático (H-10) com o grupo 9-OMe e o grupo NMe e a ausência de correlações de NOESY e COSY entre o hidrogênio da posição C-7 e outro hidrogênio da molécula, indicando sua substituição por um grupo hidroxila (essa hipótese pode ser confirmada pela técnica de massas de alta resolução). Foi observado uma intensa correlação de COSY entre os hidrogênios das posições H-4a e H-10b e a ausência de uma correlação de NOESY entre eles, o que reafirma a orientação *trans* entre esses hidrogênios. Foi observado uma correlação de NOESY entre os hidrogênios da metoxila da posição C-2 (2-OMe) com o hidrogênio H-1, confirmando assim o local de substituição e a orientação *alfa* da metoxila. Com o mapa de contornos HSQC foi possível diferenciar os carbonos CH/CH₃ dos carbonos CH₂, e com isso determinar as correlações C/H das posições C-11 e C-12, além das demais correlações da estrutura.

Após análise dos espectros de RMN e comparação com os dados da literatura, foi proposto que o composto **2** pertence ao esqueleto do tipo homolicorina, com um substituinte metoxila não aromática *alfa*-orientado e desprovido de um hidrogênio aromático, que pode ter sido substituído por um grupo hidroxila. Sendo assim, foi proposto que o composto **2** seja o alcaloide 2- α -metoxi-7-hidroxihomolicorina.

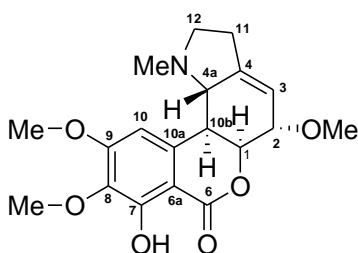


Figura 26: Fórmula estrutural do composto **2**.

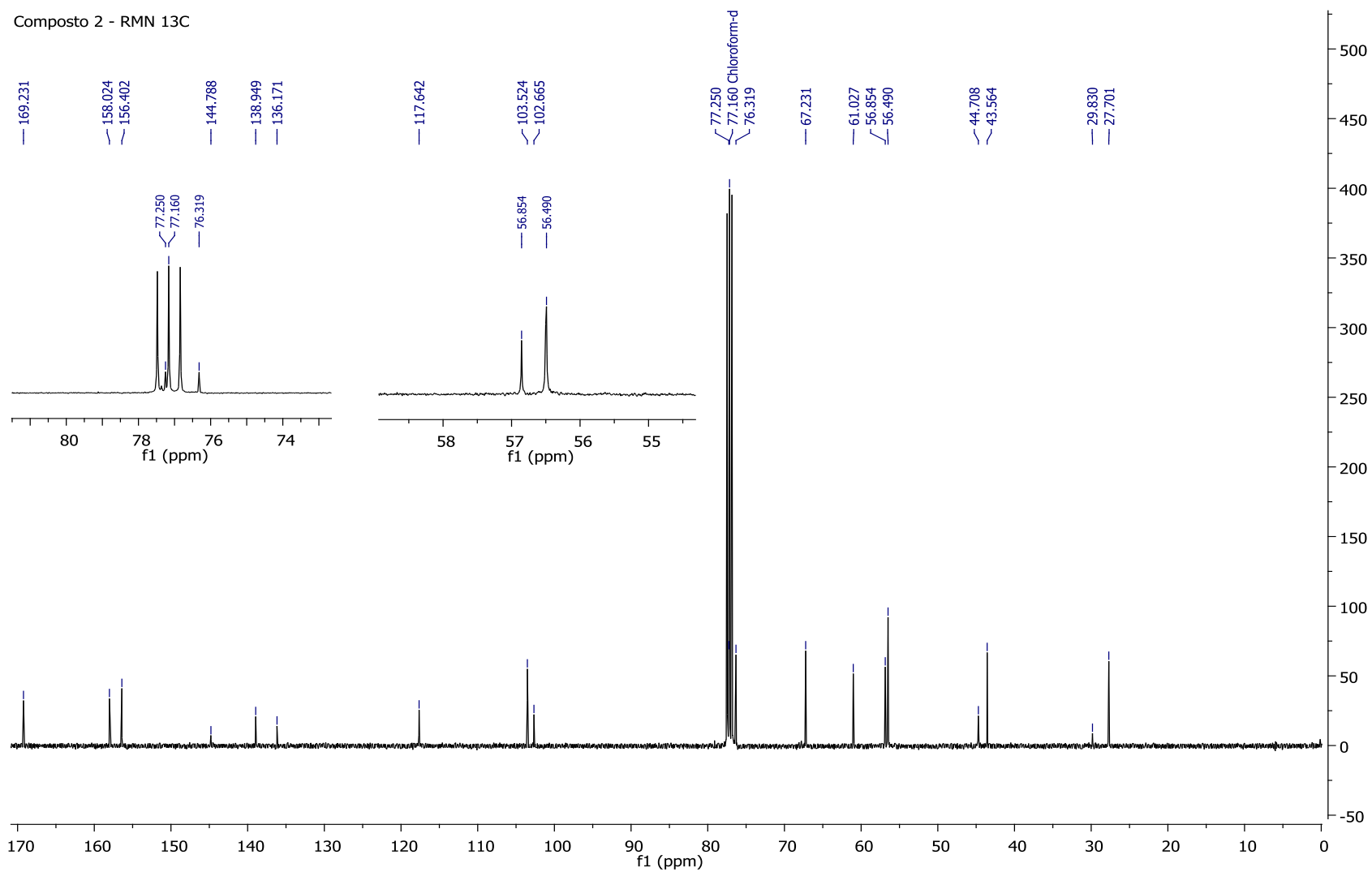


Figura 27: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 2 (CDCl_3 , 100 MHz).

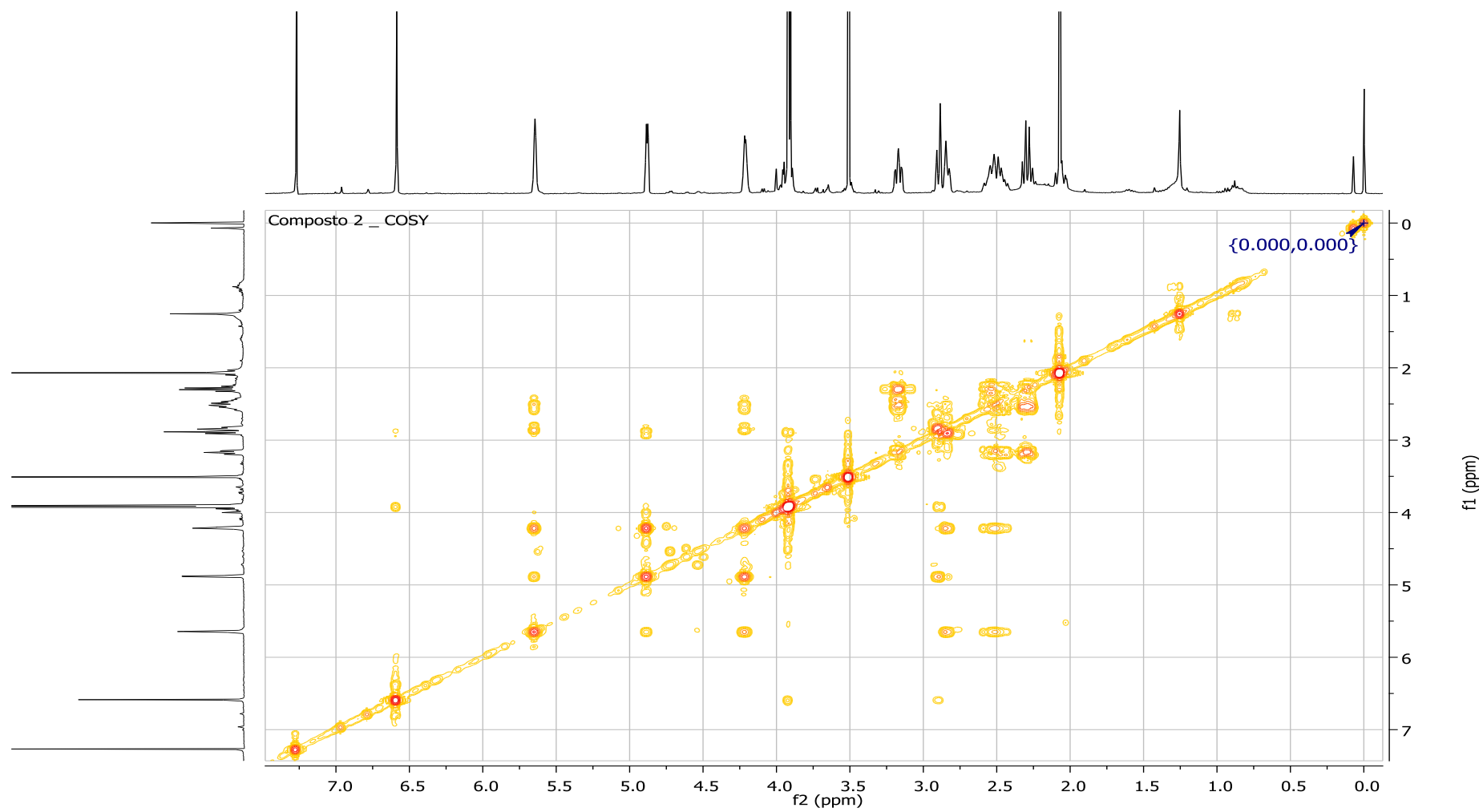


Figura 28: Espectro de COSY ¹H-¹H do composto 2 (CDCl₃, 400 MHz).

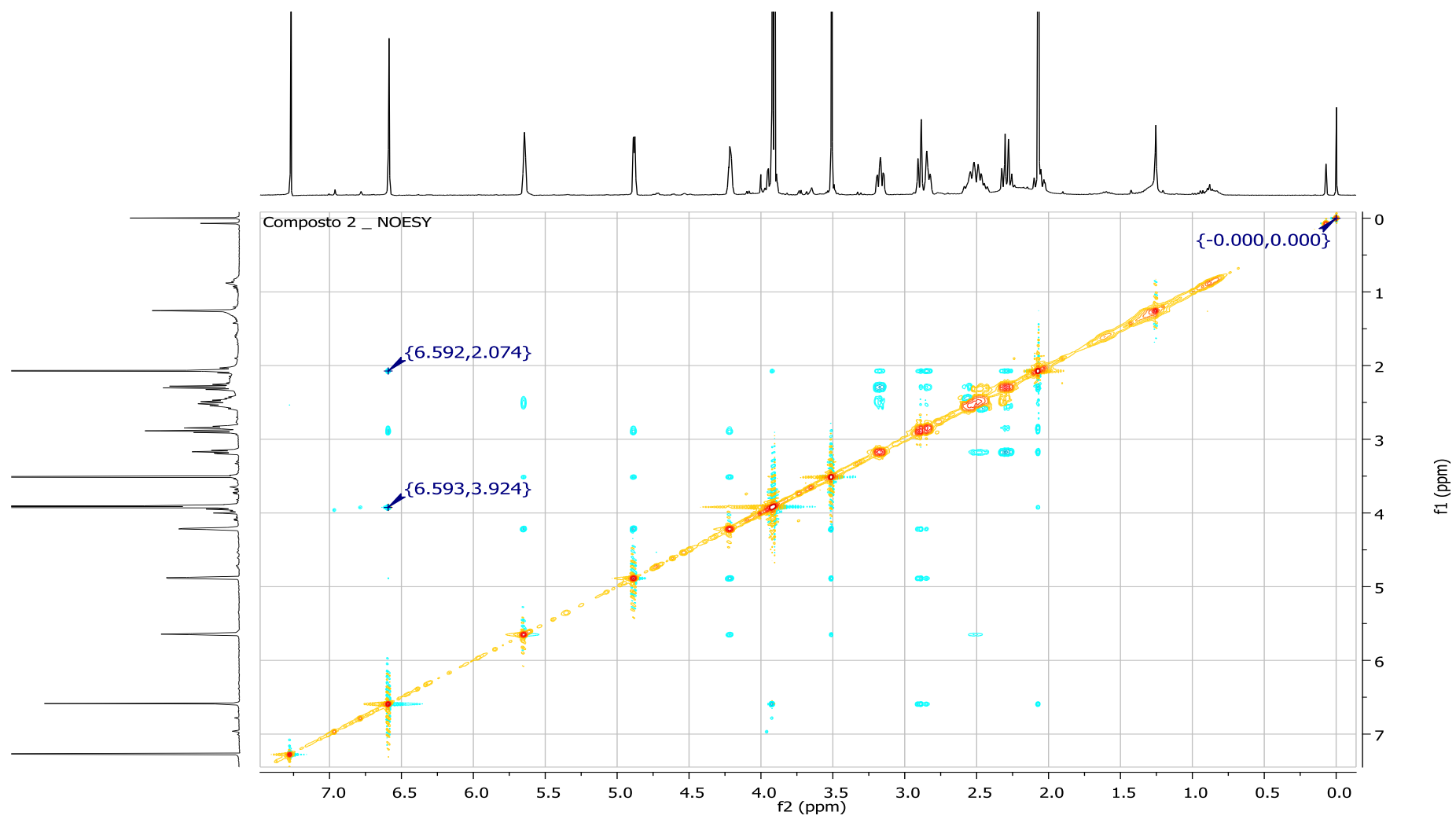


Figura 29: Espectro de NOESY do composto 2 (CDCl_3 , 400 MHz).

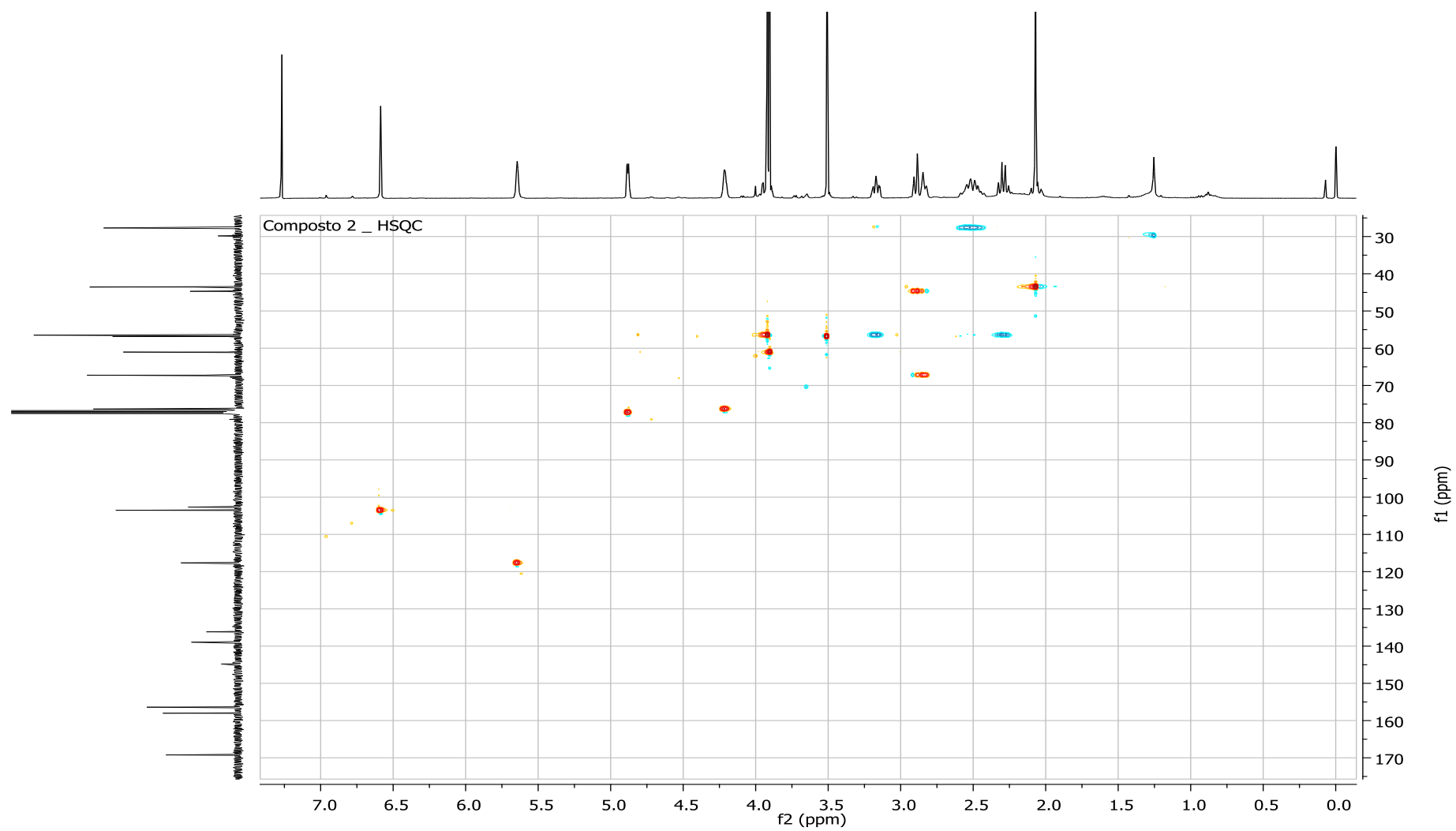


Figura 30: Mapa de contornos HSQC do composto 2 (CDCl_3 , 400 MHz).

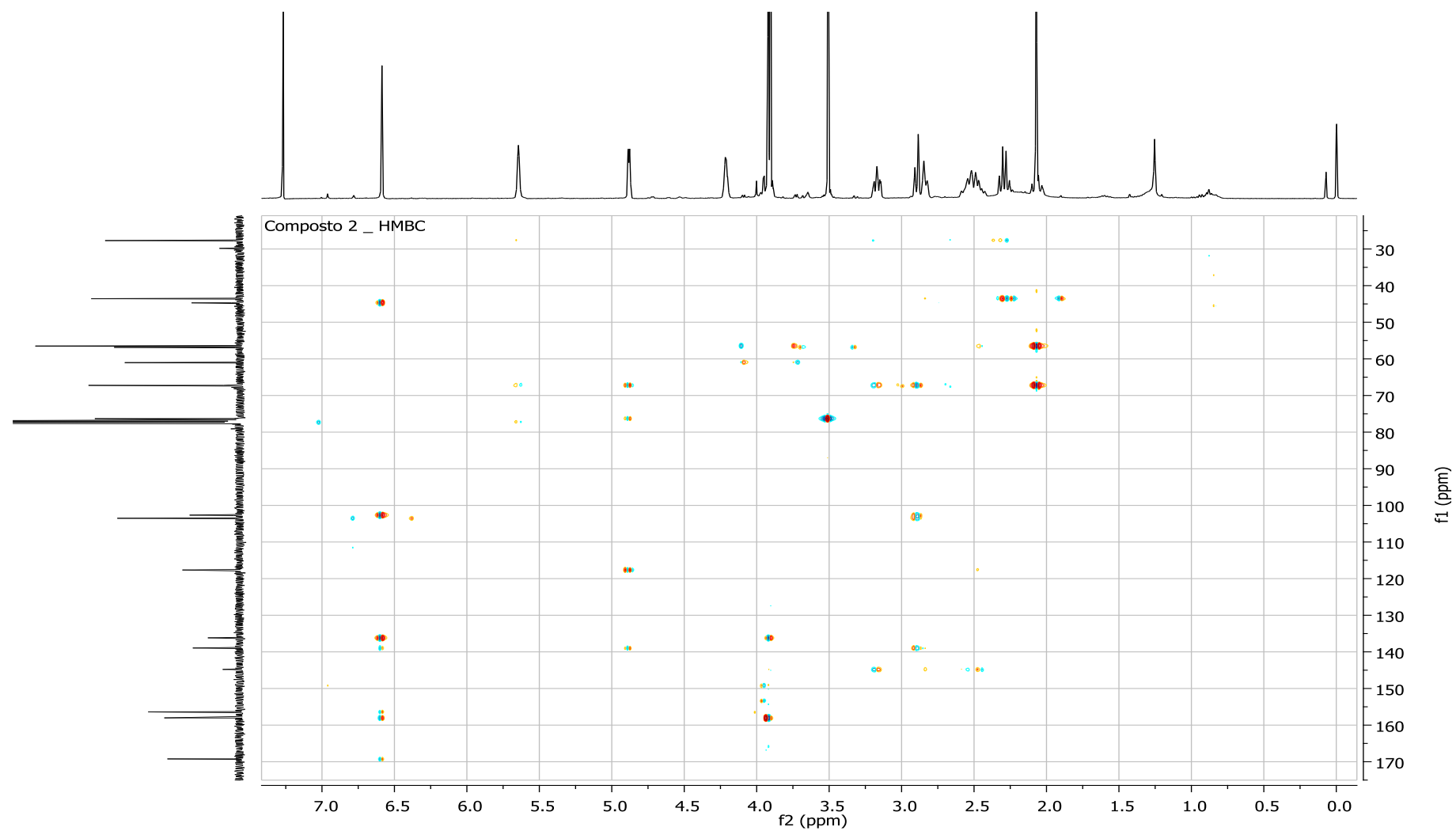


Figura 31: Mapa de contornos HMBC do composto 2 (CDCl_3 , 400 MHz).

Para a confirmação da estrutura proposta foi realizada a análise de espectrometria de massas de alta resolução. Foram observados os íons com m/z $[M+H]^+$ 362,16171 (calculado $C_{19}H_{24}NO_6^+$ 362,15982), $[2M+H]^+$ 723,31714 (calculado $C_{38}H_{47}N_2O_{12}^+$ 723,31235) como representado na Figura 32.

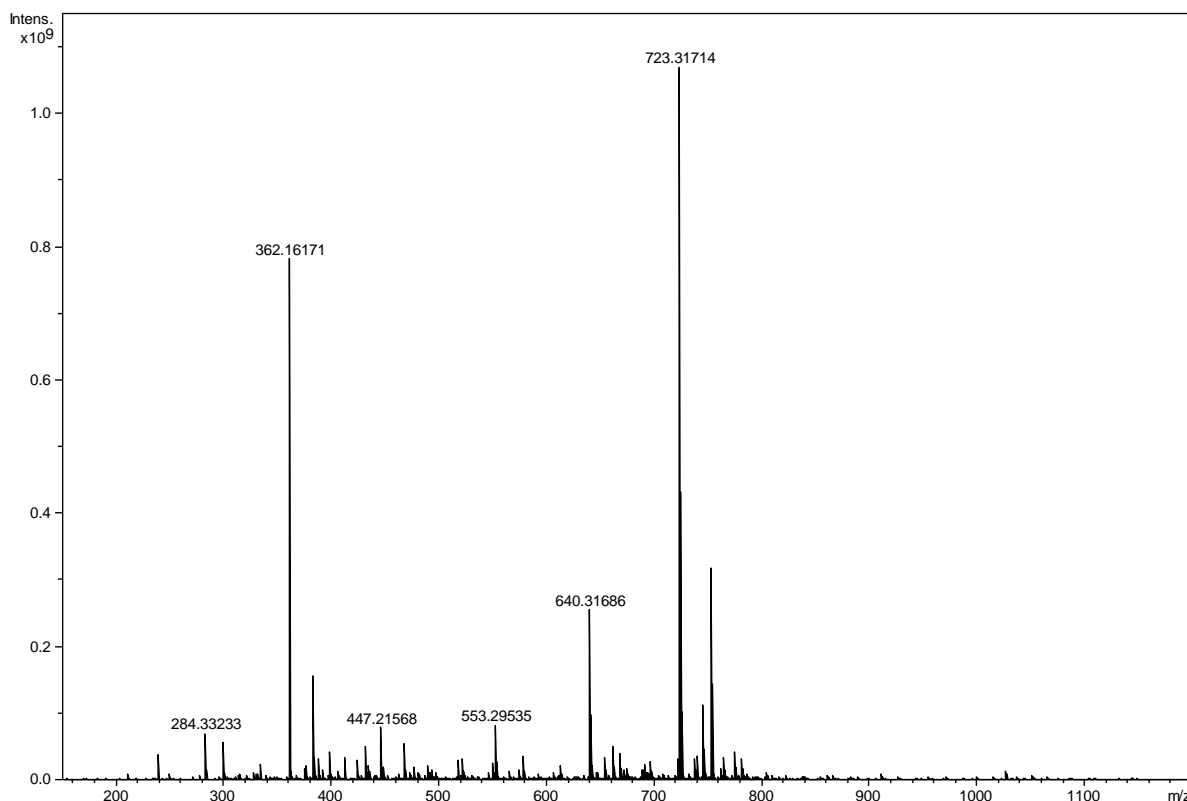


Figura 32: Espectro de massas de alta resolução do alcaloide 2- α -metoxi-7-hidroxi-homolitorina (**2**).

Após pesquisa em literatura científica, não foram encontrados dados com relação ao isolamento, elucidação estrutural e atividade biológica para o alcaloide 2- α -metoxi-7-hidroxi-homolitorina. Por tratar-se de um composto inédito, foi realizada análise de ultravioleta ($UV_{(MeOH)}$ (0,02706 mg mL⁻¹), $\lambda_{max}(\log \epsilon)$ 221 (1,28), 275 (0,93) nm) e rotação específica ($[\alpha]_D^{25} + 50,620$ (c 0,11, MeOH)).

Tabela 4: Dados de RMN de ^1H , COSY, NOESY, HSQC e HMBC do Composto **2** (400 MHz, CDCl_3).

Posição	δ_{H} (J em Hz)	COSY	NOESY	$^{13}\text{C}/\text{HSQC}$	HMBC
H-1	4,88 s	H-2, H-3, H-10b	H-2, H-10b, 2-OMe	77,2 d	C-3, C-4a, C-10a, C-2, C-10b
H-2	4,21 <i>sl</i>	H-1, H-3, H-11 α/β , H-4a	H-1, H-3, 2-OMe, H-10b	76,3 d	
H-3	5,64 s	H-1, H-2, H-4a, H-11 α/β	H-2, H-11 α/β , 2-OMe	117,6 d	C-1, C-4a, C-11
H-4				144,7 s	
H-4a	2,83 d (9.1)	H-2, H-3, H-10b	NMe, H-12 β	67,2 d	NMe, C-4, C-10a
H-6				169,2 s	
H-6a				102,6 s	
H-7				156,4 s	
H-8				136,1 s	
H-9				158,0 s	
H-10	6,58 s	9-OMe, H-10b	H-10b, 9-OMe, NMe	103,5 d	C-6, C-7, C-8, C-9, C-6a, C-10a, C-10b
H-10a				138,9 s	
H-10b	2,89 d (9,2)	H-1, H-4a, H-10	H-1, H-2, H-10	44,7 d	
H-11 α/β	2,40-2,60 <i>m</i>	H-2, H-3, H-12 α , H-12 β	H-3, H-12 α , H-12 β , NMe	27,7 t	C-3, C-4, C-12
H-12 α	3,16 <i>m</i>	H-11 α/β , H-12 β	H-11 α/β , H-12 β , NMe	56,5 t	C-4, C-4a, C-11
H-12 β	2,28 <i>q</i> (9,2)	H-11 α/β , H-12 α	H-4a, NMe, H-11 α/β , H-12 α		C-11, NMe
2-OMe	3,50 s (3H)		H-1, H-2, H-3	56,8 <i>q</i>	C-2
8-OMe	3,90 s (3H)			61,0 <i>q</i>	C-8, C-9
9-OMe	3,91 s (3H)	H-10	H-10, NMe	56,5 <i>q</i>	C-8, C-9, C-10
NMe	2,07 s (3H)		H-4a, H-10, H-11 α/β , H-12 α , H-12 β , 9-OMe	43,5 <i>q</i>	C-4a, C-12

4.1.1.2 – Composto **3**

O composto **3** foi isolado nas subfrações FAcEt-3B e FAcEt-2D, apresentando-se como um sólido branco. O composto foi solubilizado em CDCl_3 para a realização das análises de RMN.

Foi identificado no espectro de RMN de ^1H um hidrogênio singleto na região de hidrogênios aromáticos (δ 6,59 ppm), indicando uma possível substituição na posição H-7 ou H-10. Um singleto com deslocamento químico de 5,62 ppm, característico da posição H-3 olefínica. Um hidrogênio singleto, com δ 4,74 ppm, atribuído a posição H-1. Um multipletto, com deslocamento químico de 4,54 ppm e integração para 1H, atribuído ao hidrogênio da posição H-2 substituída. Dois sinais

singletos na região de metoxilas aromáticas (δ 3,91 e 3,92 ppm), com integração de 3H. Foi observado um sinal multipletto, com deslocamento químico de 3,17 ppm, atribuído a posição H-12 α . Foram observados dois sinais de hidrogênios dubletos, com δ 2,75 e 2,94 ppm, integração de 1H cada, e constante de acoplamento de aproximadamente 9,2 Hz, característico das posições H-4a e H-10b, respectivamente. Esse valor de constante de acoplamento é característico de uma relação *trans*-diaxial entre esses hidrogênios e segue o descrito por Bastida; Lavilla; Viladomat (2006) para o esqueleto homolicorina. Foi observado também, um sinal de hidrogênio multipletto, com δ entre 2,44 – 2,54 ppm e integração de 2H, atribuído aos hidrogênios da posição H-11. Um sinal de hidrogênio quadrupletto foi observado com deslocamento químico de 2,28 ppm ($J = 9,2$ Hz) e atribuído a posição H-12 β . Cabe ressaltar que os hidrogênios da posição C-12 apresentaram-se conforme descrito por Bastida; Lavilla; Viladomat (2006), onde o 12 α encontra-se mais desblindado que o 12 β , devido à relação *cis* com o par de elétrons livre do átomo de nitrogênio do grupo NMe. Por fim, foi observado um sinal singletto com deslocamento químico de 2,07 ppm e integração de 3H, atribuído aos hidrogênios do grupo NMe.

Após a análise do espectro de RMN de ^1H foi proposto que o composto **3** pertença ao esqueleto do tipo homolicorina com um substituinte na posição C-2 e deficiente de um hidrogênio aromático. Para a completa elucidação da estrutura química foram realizados os ensaios de RMN de ^{13}C e RMN bidimensionais, como NOESY, COSY, HMBC, HSQC, além da análise de massas de alta resolução.

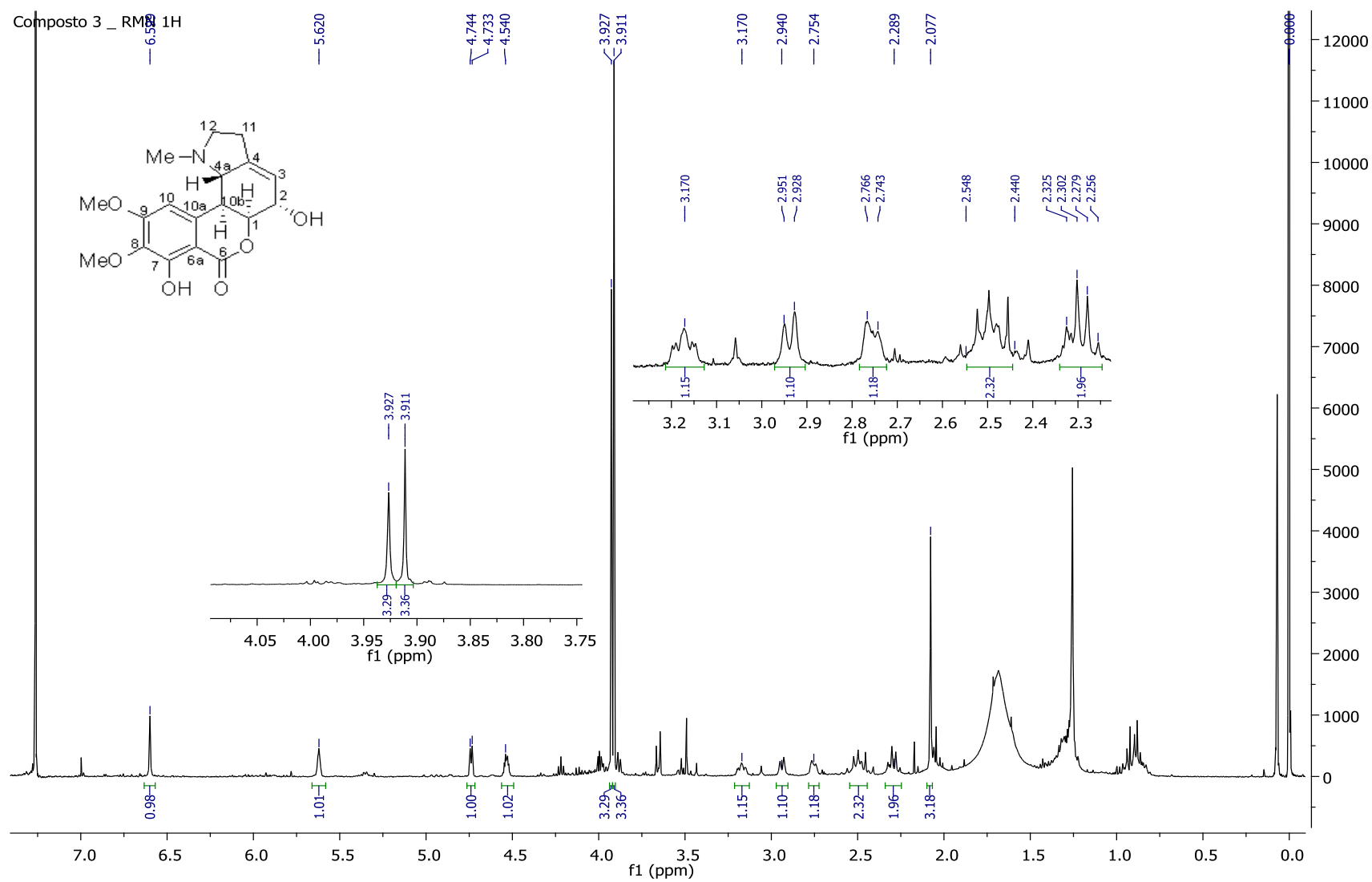


Figura 33: Espectro de RMN de ^1H do composto 3 (CDCl_3 , 400 MHz).

O espectro de RMN de ^{13}C em associação com os mapas de contornos HSQC e HMBC permitiu a atribuição de dezoito sinais e suas correlações com seus respectivos hidrogênios. O sinal em δ 169,0 ppm é característico de carbono carbonílico, o que comprova a presença do grupo lactona no esqueleto homolicorina. A análise do espectro de COSY apresentou uma importante correlação entre o hidrogênio aromático e a metoxila da posição C-9 (9-OMe), o que sugere a presença do hidrogênio aromático na posição H-10. Essa hipótese é confirmada pela correlação de NOESY do hidrogênio aromático (H-10) com o grupo 9-OMe e o grupo NMe e a ausência de correlações de NOESY e COSY entre o hidrogênio da posição C-7 e outro hidrogênio da molécula, indicando sua substituição por um grupo hidroxila (essa hipótese pode ser confirmada pela técnica de massas de alta resolução). Foi observado uma intensa correlação de COSY entre os hidrogênios das posições H-4a e H-10b e a ausência de uma correlação de NOESY entre eles, o que reafirma a orientação *trans* entre esses hidrogênios. Não foi observada nenhuma correlação de COSY ou NOESY com o substituinte *alfa*-orientado da posição C-2, o que sugere uma substituição por um grupo hidroxila. Além disso, foi observado uma correlação de NOESY entre os hidrogênios H-2 e hidrogênio H-4a, confirmando assim o local de substituição e a orientação *alfa* do substituinte. Com o mapa de contornos HSQC diferenciou-se os carbonos CH/CH₃ dos carbonos CH₂, e com isso determinar as correlações C/H das posições C-11 e C-12, além das demais correlações da estrutura.

Após análise dos espectros de RMN e comparação com os dados da literatura, foi proposto que o composto **3** pertence ao esqueleto do tipo homolicorina, com um substituinte hidroxila *alfa*-orientado e desprovido de um hidrogênio aromático, que pode ter sido substituído por um grupo hidroxila. Sendo assim, foi proposto que o composto **3** seja o alcaloide 2- α -7-dihidroxi-homolicorina.

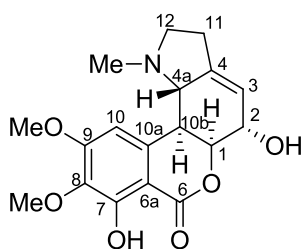


Figura 34: Fórmula estrutural do composto **3**.

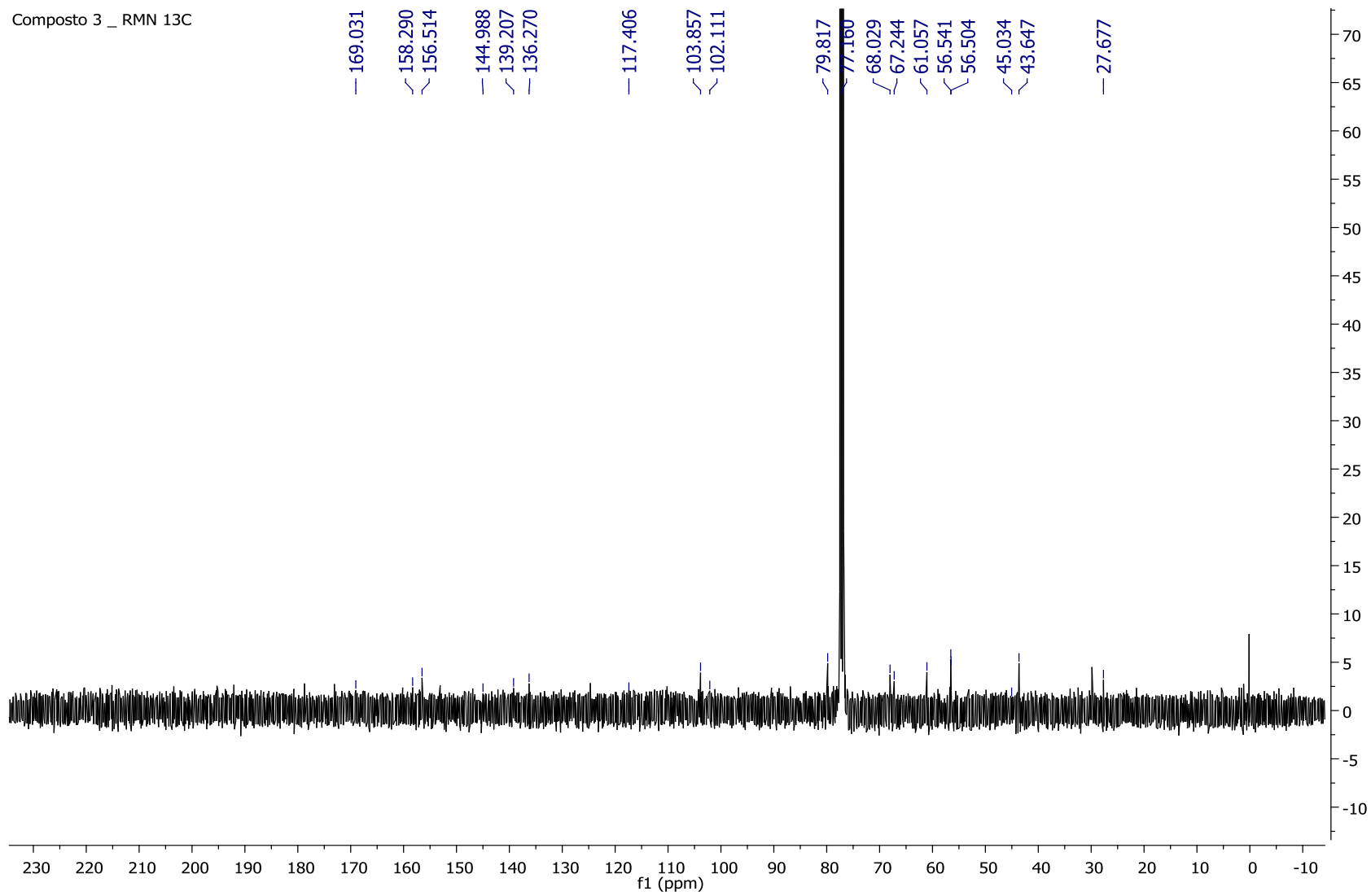


Figura 35: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 3 (CDCl_3 , 100 MHz).

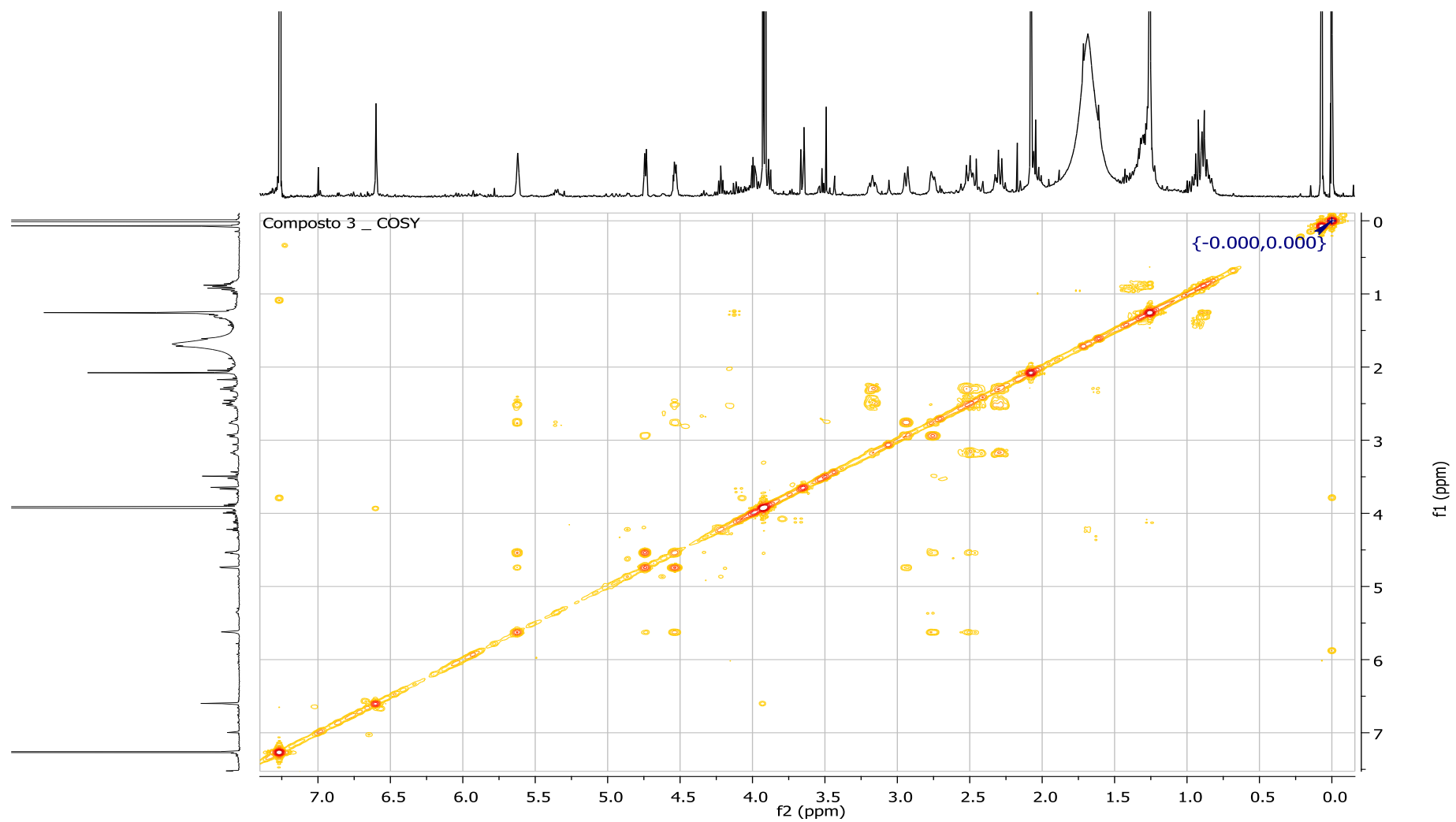


Figura 36: Espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 3 (CDCl_3 , 400 MHz).

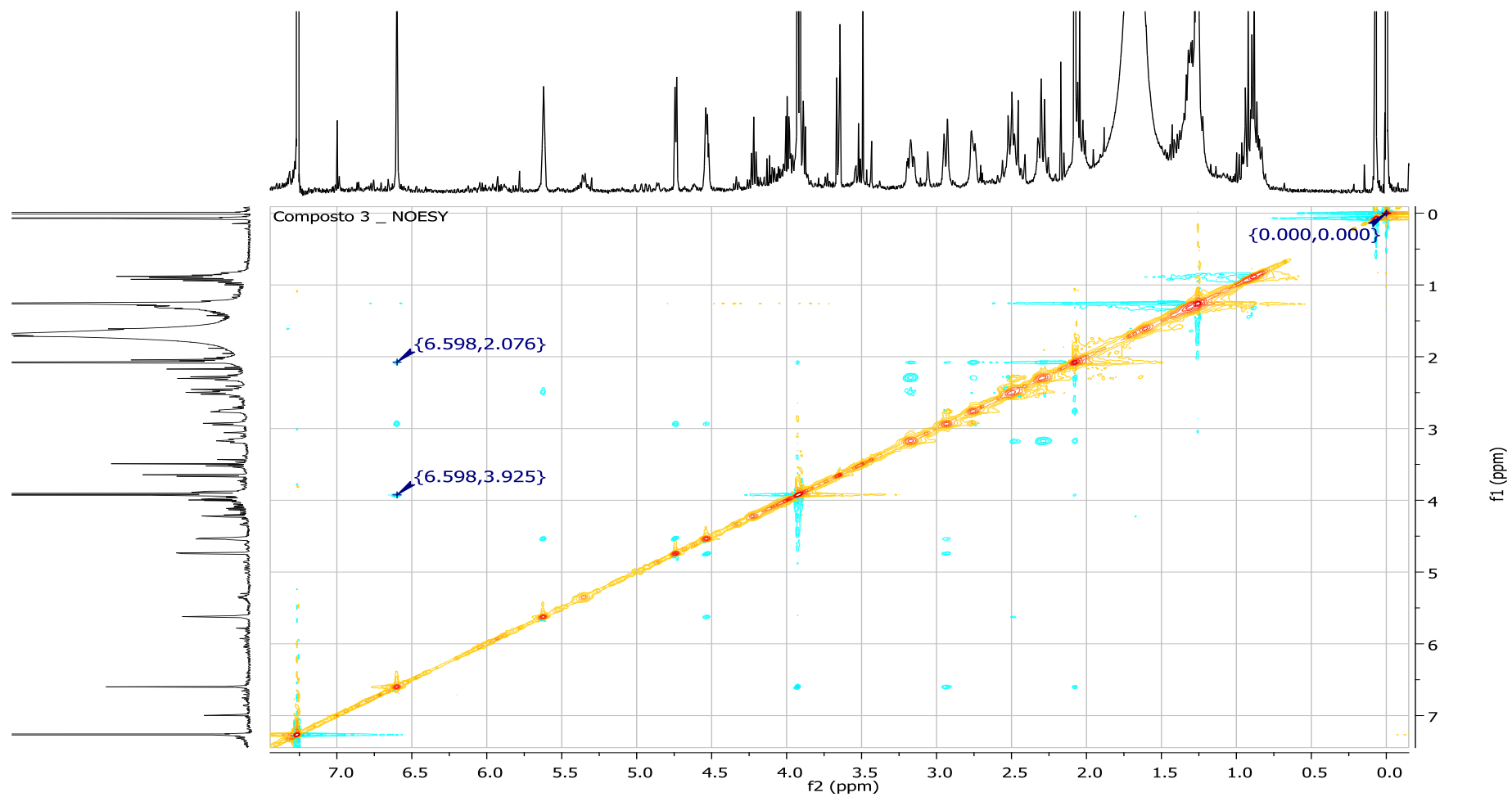


Figura 37: Espectro de NOESY do composto **3** (CDCl_3 , 400 MHz).

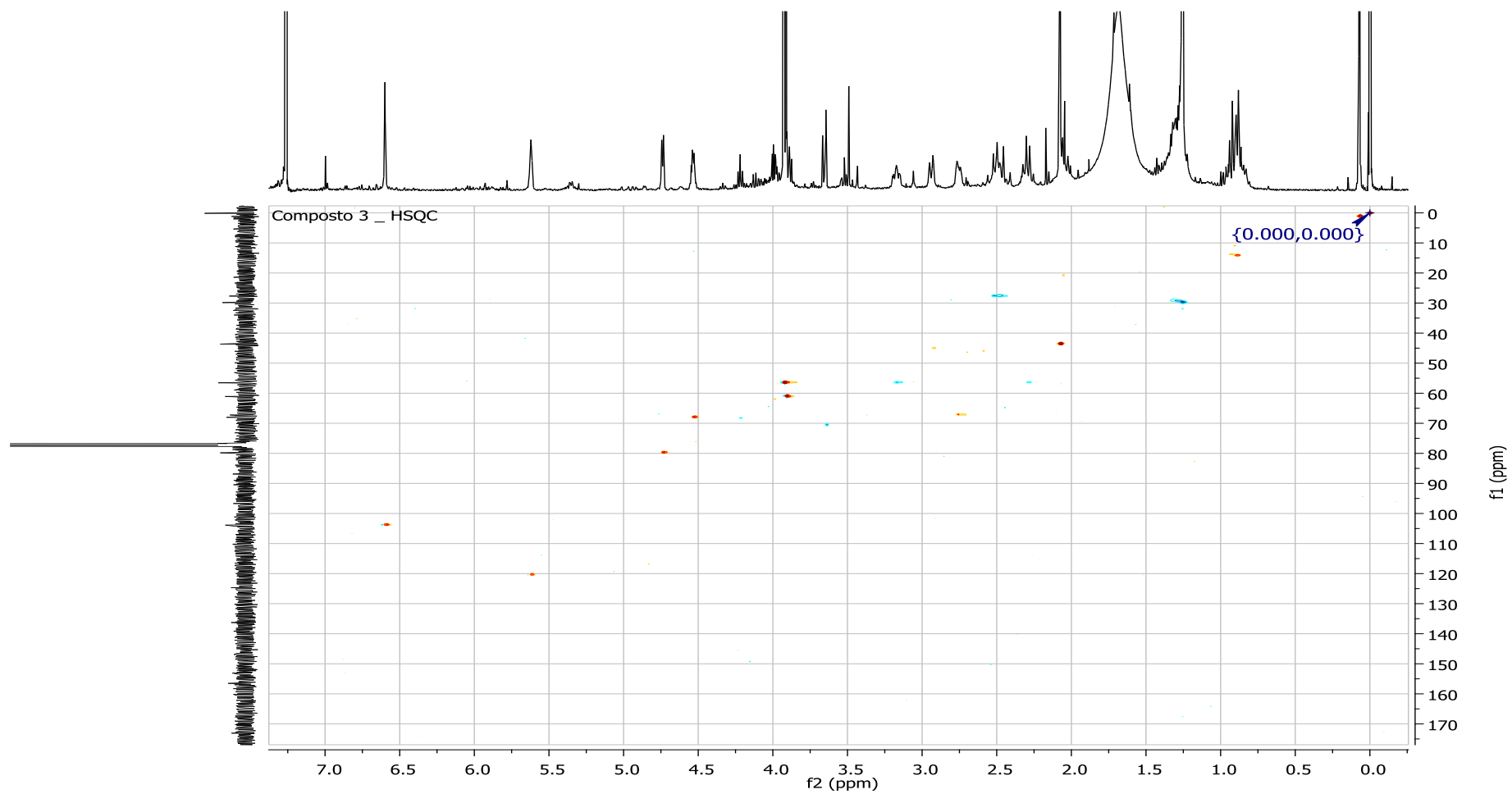


Figura 38: Mapa de contornos HSQC do composto **3** (CDCl_3 , 400 MHz).

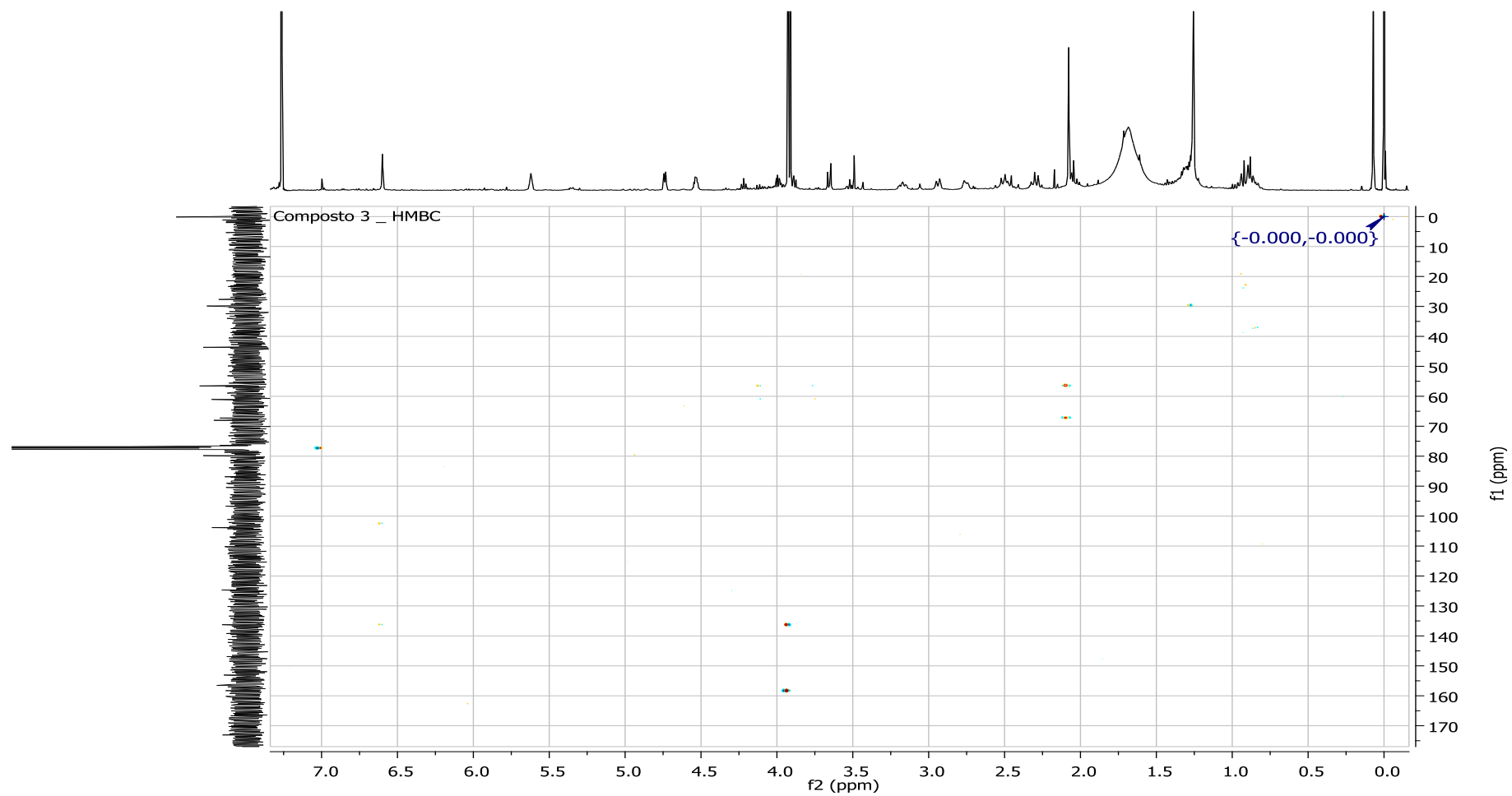


Figura 39: Mapa de contornos HMBC do composto **3** (CDCl₃, 400 MHz).

Para a confirmação da estrutura proposta foi realizada a análise de espectrometria de massas de alta resolução. Foi observado o íon com m/z $[M+H]^+$ 348,14594 (calculado $C_{18}H_{22}NO_6^+$ 348,14417), como representado na Figura 40.

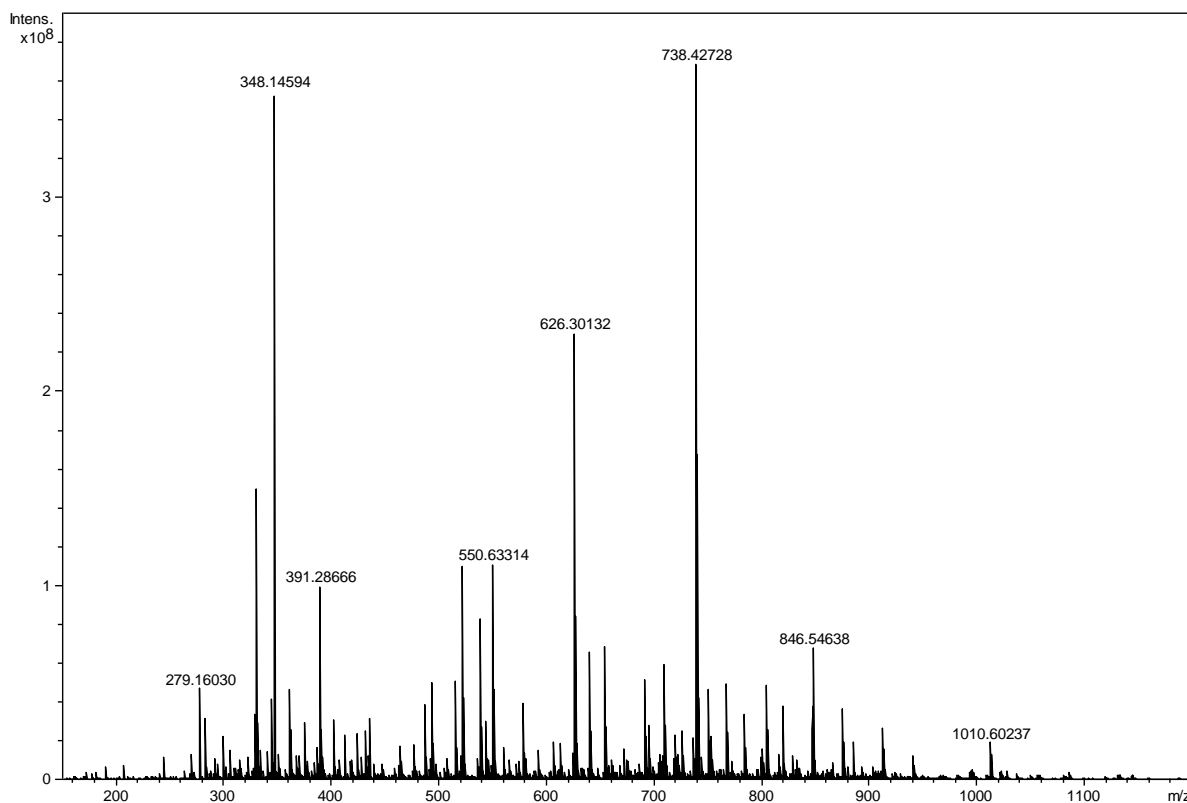


Figura 40: Espectro de massas de alta resolução do alcaloide 2- α -7-dihidroxi-homolicorina (**3**).

Após pesquisa em literatura científica, não foram encontrados dados com relação ao isolamento, elucidação estrutural e atividade biológica para o alcaloide 2- α -7-dihidroxi-homolicorina. Por tratar-se de um composto inédito, foi realizada análise de ultravioleta ($UV_{(MeOH)}(0,01975 \text{ mg mL}^{-1})$, $\lambda_{max}(\log \epsilon)$ 222 (1,18), 274 (0,76) nm) e rotação específica ($[\alpha]_D^{25} + 46,308$ (c 0,9, MeOH).

Tabela 5: Dados de RMN de ^1H , COSY, NOESY, HSQC e HMBC do Composto **3** (400 MHz, CDCl_3).

Posição	δ_{H} (J em Hz)	COSY	NOESY	$^{13}\text{C}/\text{HSQC}$	HMBC
H-1	4,74 s	H-2, H-3, H-10b	H-2, H-10b	79,8 d	
H-2	4,54 m	H-1, H-3, H-11 α/β , H-4a	H-1, H-3, H-10b	68,0 d	
H-3	5,62 s	H-1, H-2, H-4a, H-11 α/β	H-2, H-11 α/β	117,4 d	
H-4				144,9 s	
H-4a	2,75 d (9,2)	H-2, H-3, H-10b	NMe, H-12 β	67,2 d	
H-6				169,0 s	
H-6a				102,1 s	
H-7				156,5 s	
H-8				136,2 s	
H-9				158,2 s	
H-10	6,59 s	9-OMe	H-10b, 9-OMe, NMe	103,8 d	C-6a, C-8
H-10a				139,2 s	
H-10b	2,94 d (9,2)	H-1, H-4a	H-1, H-2, H-10	45,0 d	
H-11 α/β	2,44-2,54 m	H-2, H-3, H-12 α , H-12 β	H-3, H-12 α	27,6 t	
H-12 α	3,17 m	H-11 α/β , H-12 β	H-11 α/β , H-12 β , NMe	56,5 t	
H-12 β	2,28 q (9,2)	H-11 α/β , H-12 α	H-4a, H-12 α		
8-OMe	3,91 s (3H)			61,0 q	C-8
9-OMe	3,92 s (3H)	H-10	H-10, NMe	56,5 q	C-9
NMe	2,07 s (3H)		H-4a, H-10, H-12 α , 9-OMe	43,6 q	C-4a, C-12

4.1.1.3 – Composto **4**

O composto **4** obtido na subfração BHex-3C apresentou-se como um sólido branco e foi facilmente solubilizado em CDCl_3 para análise de RMN de ^1H .

Foi identificado no espectro de RMN de ^1H dois hidrogênios singletos na região de hidrogênios aromáticos (δ 7,50 e 6,87 ppm), atribuídos aos hidrogênios das posição H-7 ou H-10. Um singlete largo com deslocamento químico de 5,57 ppm, característico da posição H-3 olefínica. Um hidrogênio dubleto, com δ 4,78 ppm ($J = 4,8$ Hz), atribuído a posição H-1. Um singlete largo, com deslocamento químico de 4,14 ppm e integração para 1H, atribuído ao hidrogênio da posição H-2 substituída. Dois sinais singletos na região de metoxilas aromáticas (δ 3,86 e 3,87 ppm), com integração de 3H e um sinal singlete em δ 3,44 ppm, com integração para 3H, característico de metoxila não aromática. Esses dois últimos fatores indicam que a posição C-2 encontra-se substituída por um grupo metoxila, uma vez que há a presença de um sinal de metoxila não aromática e o hidrogênio da posição 2

encontra-se desblindado com relação ao alcaloide homolicorina. Foi observado um sinal multipletto, com deslocamento químico de 3,06 – 3,13 ppm, atribuído a posição H-12 α . Foi observado um sinal singletto largo, com δ 2,79 ppm, integração de 2H, que foi atribuído as posições H-4a e H-10b. Foi observado também, um sinal de hidrogênio multipletto, com δ entre 2,34 – 2,53 ppm e integração de 2H, atribuído aos hidrogênios da posição H-11. Um sinal de hidrogênio quadrupletto foi observado com deslocamento químico de 2,20 ppm ($J = 9,2$ Hz) e atribuído a posição H-12 β . Cabe ressaltar que os hidrogênios da posição C-12 apresentaram-se conforme descrito por Bastida; Lavilla; Viladomat (2006), onde o 12 α encontra-se mais desblindado que o 12 β , devido à relação *cis* com o par de elétrons livre do átomo de nitrogênio do grupo NMe. Por fim, foi observado um sinal singletto com deslocamento químico de 1,97 ppm e integração de 3H, atribuído aos hidrogênios do grupo NMe.

Após a análise do espectro de RMN de ^1H foi proposto que o composto **4** pertença ao esqueleto do tipo homolicorina com um substituinte metoxila na posição C-2. Para a completa elucidação da estrutura química foram realizados os ensaios de RMN de ^{13}C e RMN bidimensionais, como NOESY, COSY, HMBC, HSQC, além da análise de massas de alta resolução.

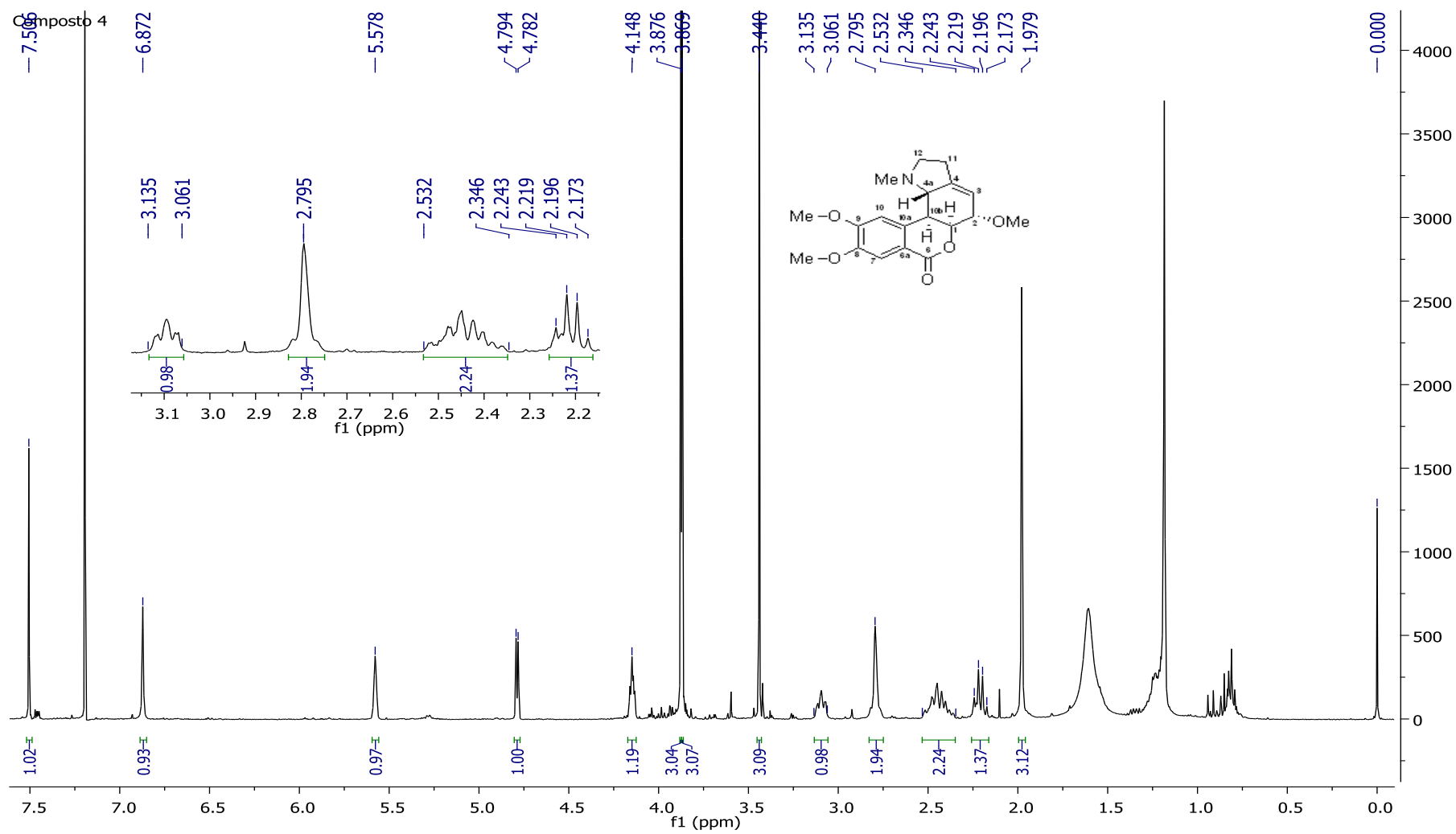


Figura 41: Espectro de RMN de ^1H do composto 4 (CDCl_3 , 400 MHz).

O espectro de RMN de ^{13}C em associação com os mapas de contornos HSQC e HMBC permitiu a atribuição de dezenove sinais e suas correlações com seus respectivos hidrogênios. O sinal em δ 164,2 ppm é característico de carbono carbonílico, o que comprova a presença do grupo lactona no esqueleto homolicorina. A análise do espectro de COSY apresentou uma importante correlação entre o hidrogênio aromático com deslocamento de 6,87 ppm e a metoxila da posição C-9 (9-OMe), o que sugere a presença do hidrogênio aromático na posição H-10. Essa hipótese é confirmada pela correlação de NOESY do hidrogênio aromático (H-10) com o grupo 9-OMe e o grupo NMe e as correlações de NOESY e COSY entre o hidrogênio da posição H-7 e a metoxila da posição C-8 (8-OMe). Devido as características químicas da molécula, não foi possível diferenciar os hidrogênios das posições H-4a e H-10b e a constante de acoplamento entre esses hidrogênios. Foi observado uma correlação de NOESY entre os hidrogênios da metoxila da posição C-2 (2-OMe) com o hidrogênio H-1, confirmando assim o local de substituição e a orientação *alfa* da metoxila. Com o mapa de contornos HSQC foi diferenciou-se os carbonos CH/CH₃ dos carbonos CH₂, e com isso determinar as correlações C/H das posições C-11 e C-12, além das demais correlações da estrutura.

Após análise dos espectros de RMN e comparação com os dados da literatura, foi proposto que o composto **4** pertence ao esqueleto do tipo homolicorina, com um substituinte metoxila não aromática *alfa*-orientado. Sendo assim, foi proposto que o composto **4** seja o alcaloide 2- α -metoxihomolicorina. Apesar de constar dados de CG/EM deste composto em alguns trabalhos, não foi encontrado nenhum dado relacionado ao isolamento e caracterização desta substância.

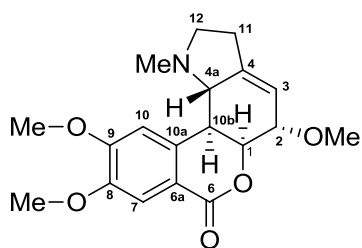


Figura 42: Fórmula estrutural do composto **4**.

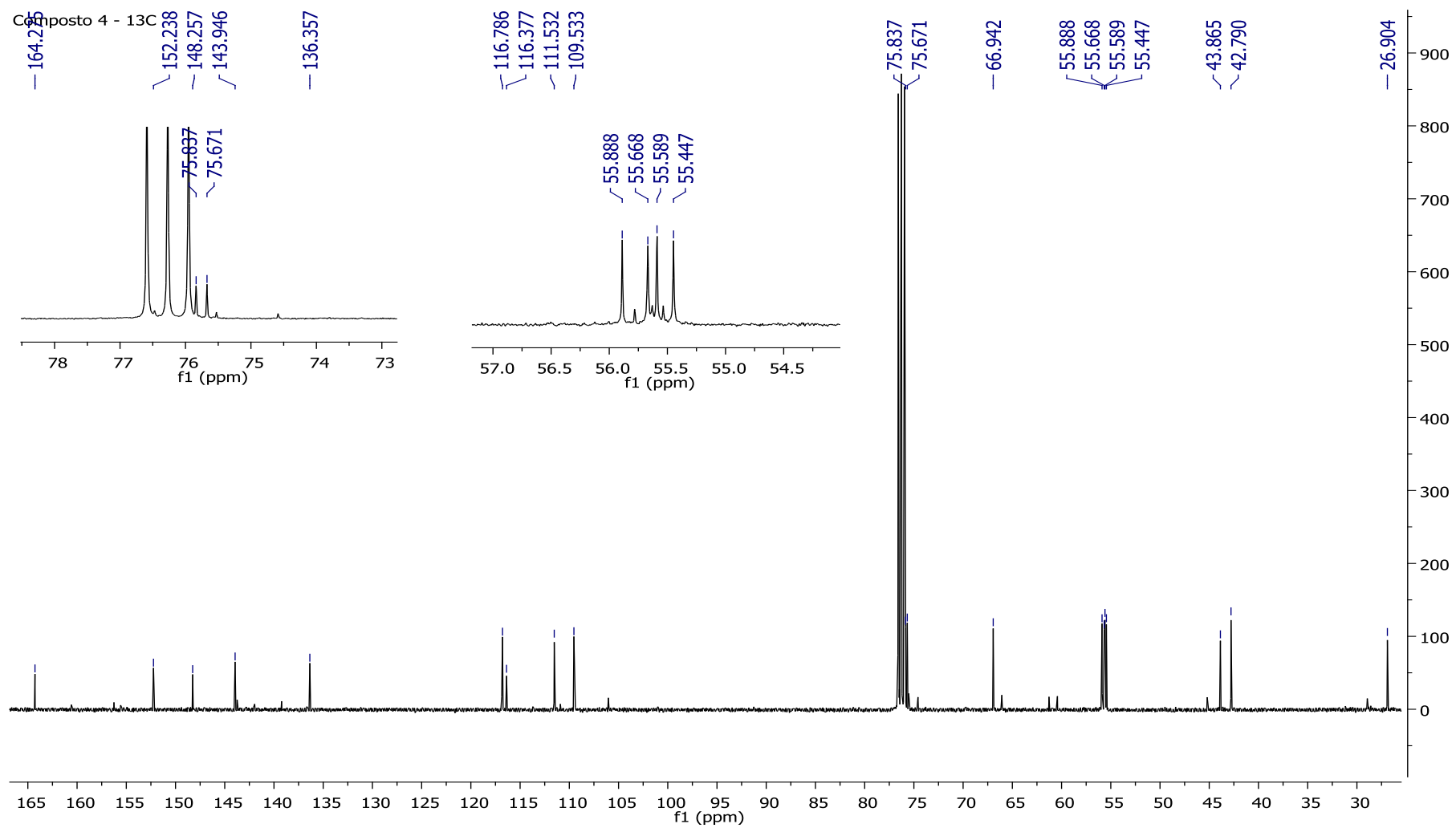


Figura 43: Espectro de RMN de ^{13}C do composto 4.

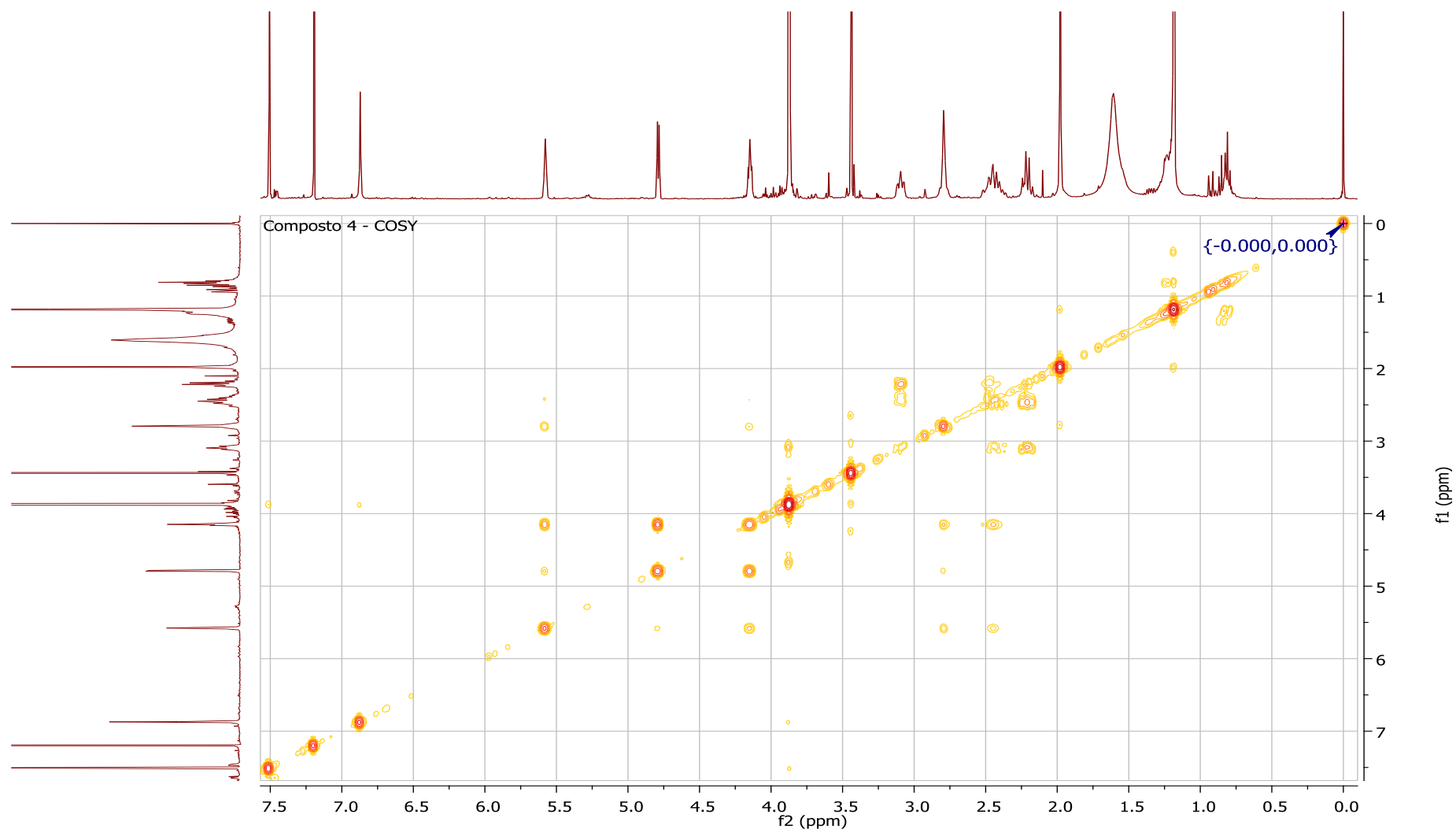


Figura 44: Espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 4 (CDCl_3 , 400 MHz).

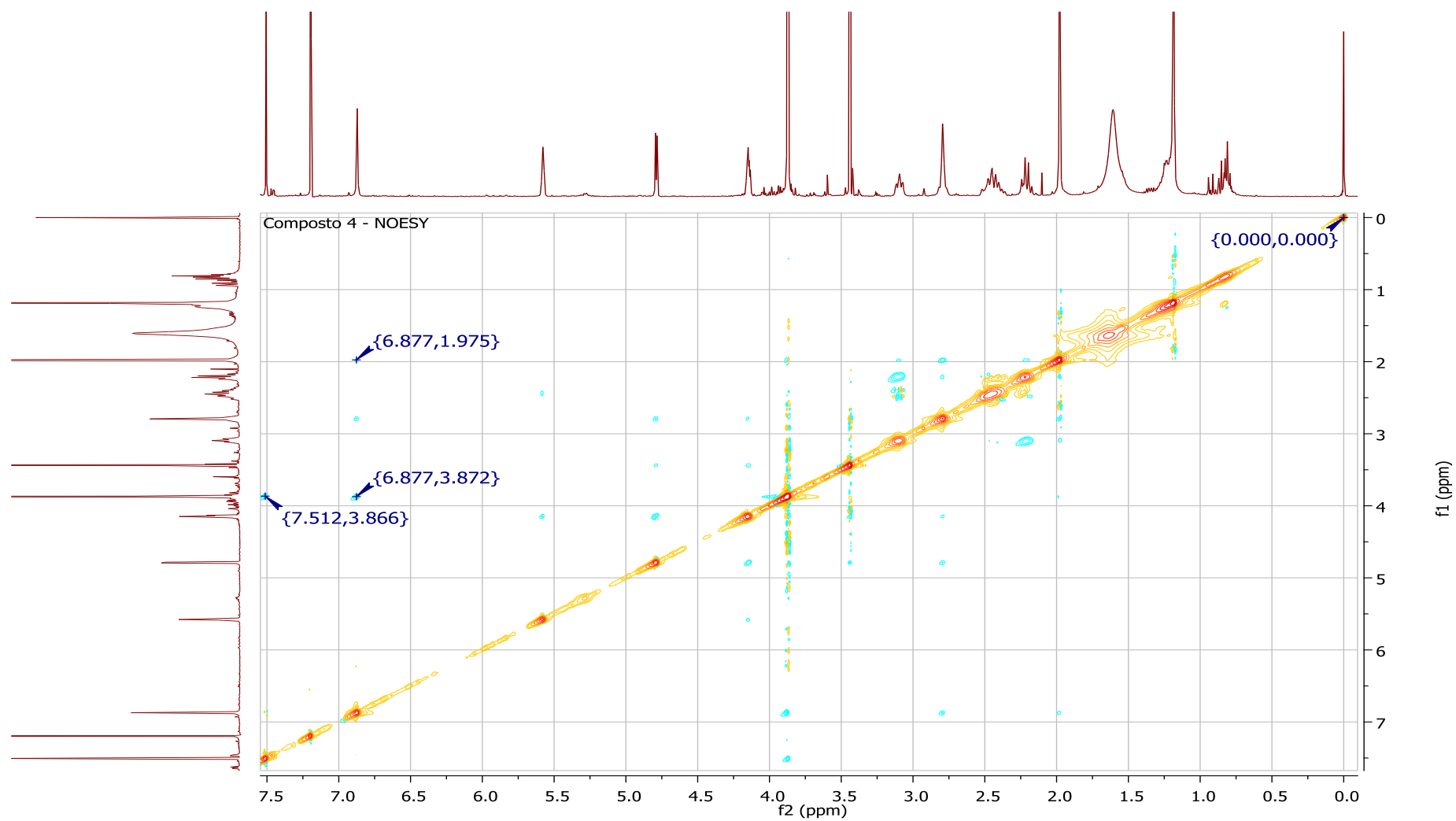


Figura 45: Espectro de NOESY do composto 4 (CDCl_3 , 400 MHz).

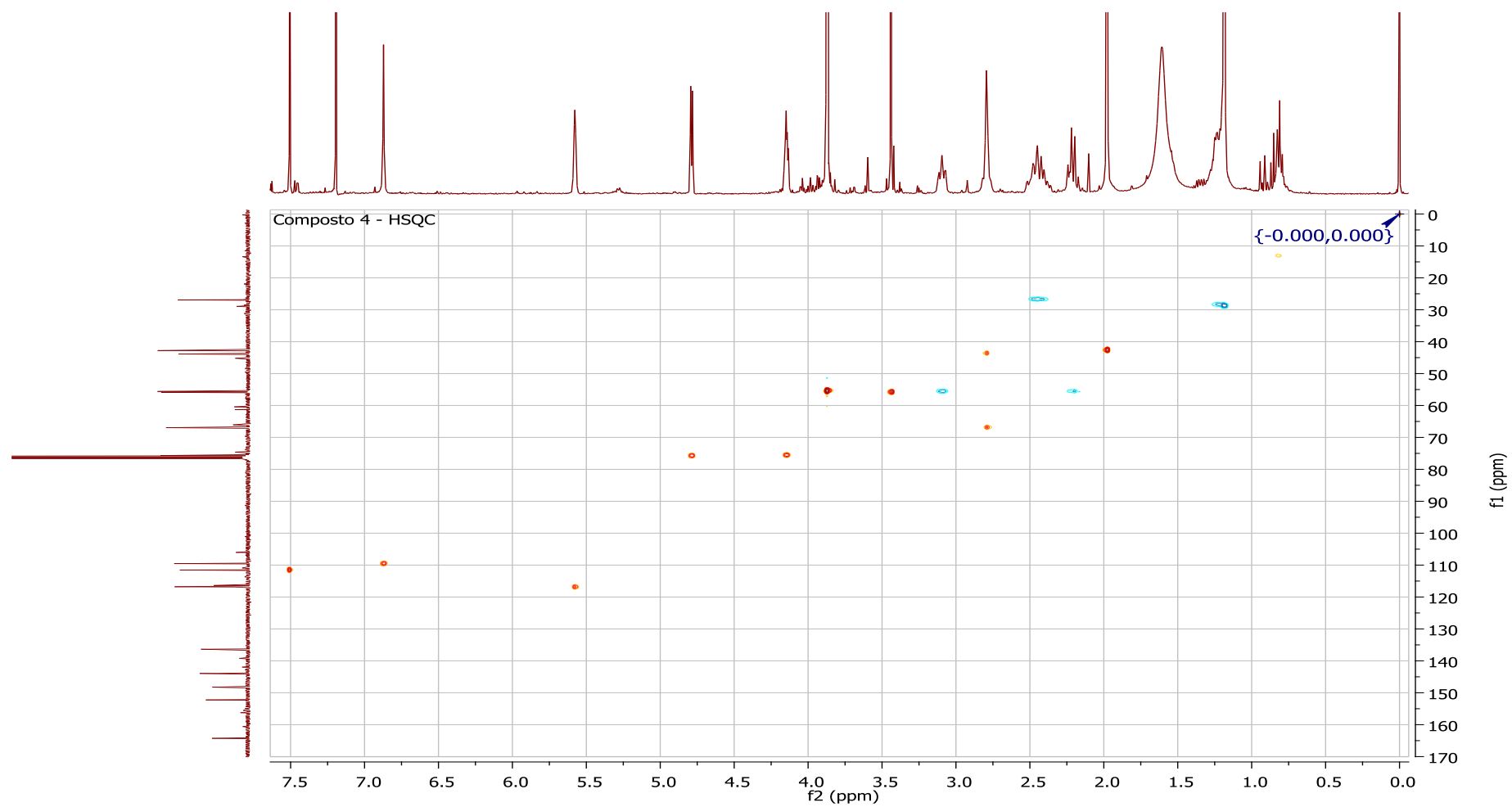


Figura 46: Mapa de contornos HSQC do composto 4 (CDCl_3 , 400 MHz).

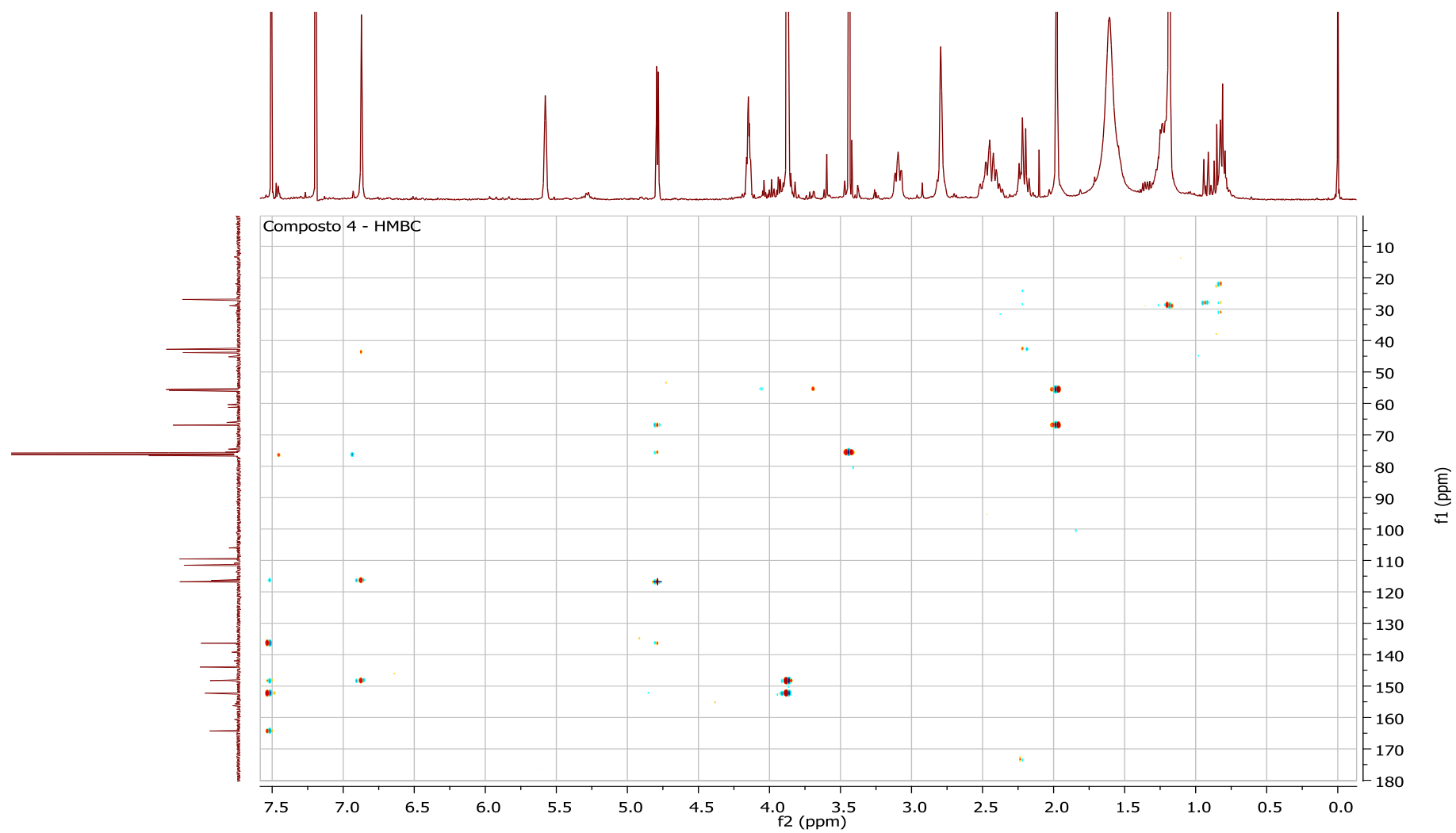


Figura 47: Mapa de contornos HMBC do composto 4 (CDCl_3 , 400 MHz).

Para a confirmação da estrutura proposta foi realizada a análise de espectrometria de massas de alta resolução. Foi observado o íon com m/z $[M+H]^+$ 346,16506 (calculado $C_{19}H_{24}NO_5^+$ 346,16490), o íon m/z $[M+Na]^+$ 368,14705 (calculado $C_{19}H_{23}NNaO_5^+$ 368,14684), e o íon m/z $[M+K]^+$ 384,29580 (calculado $C_{19}H_{23}KNO_5^+$ 384,12078) como representado na Figura 48.

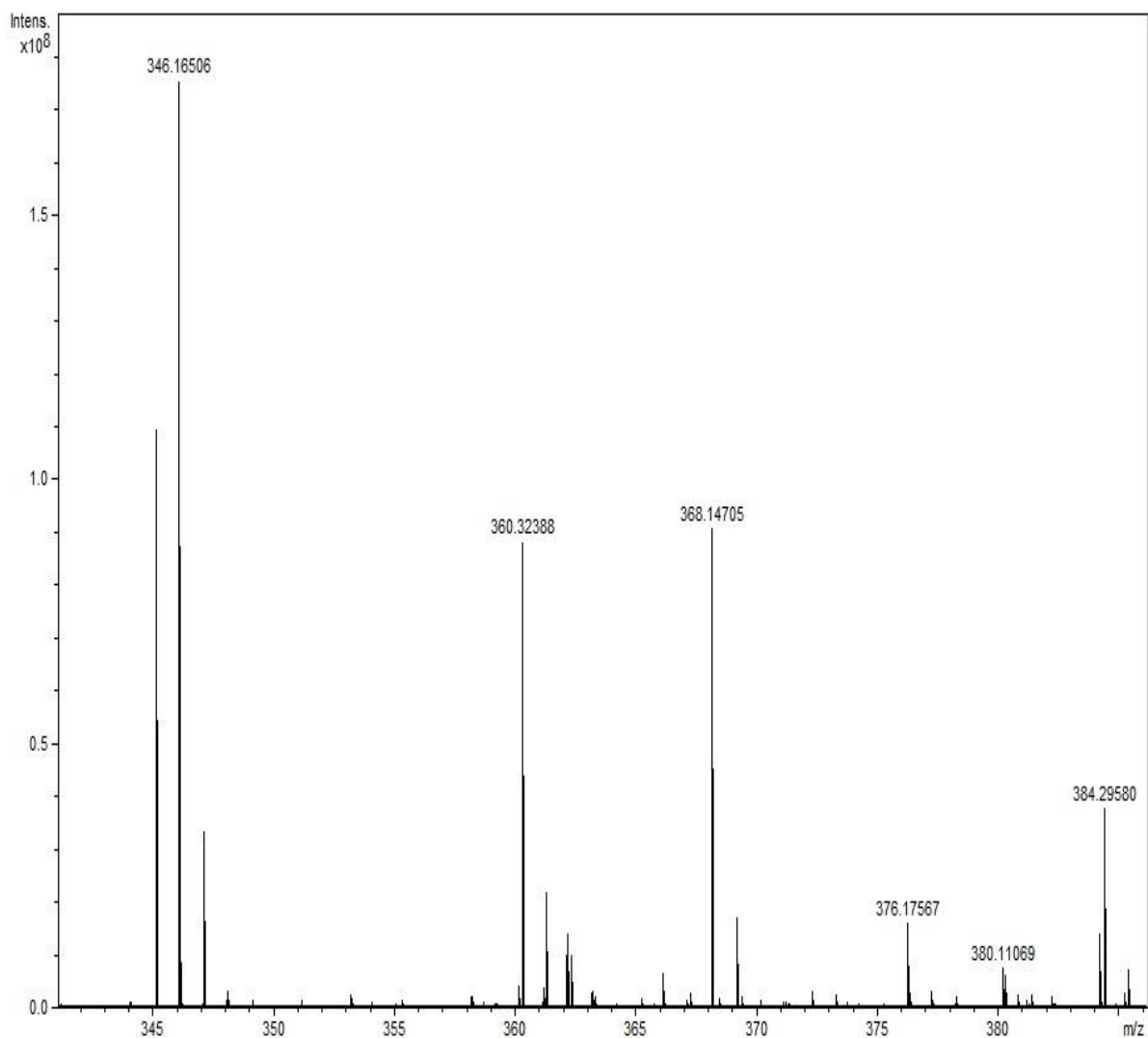


Figura 48: Espectro de massas de alta resolução do alcaloide 2- α -metoxihomolitorina (**4**).

Após análise dos espectros de RMN e massas de alta resolução, identificou-se o composto **4** como o alcaloide 2- α -metoxihomolitorina.

Tabela 6: Dados de RMN de ^1H , COSY, NOESY, HSQC e HMBC do Composto **4** (400 MHz, CDCl_3)

Posição	δ_{H} (J em Hz)	COSY	NOESY	$^{13}\text{C}/\text{HSQC}$	HMBC
H-1	4,78 <i>d</i> (4,8)	H-2, H-3, H-4a, H-10b	H-2, H-4a, H-10b, 2-OMe	75,6 <i>d</i>	C-2, C-3, C-4a, C-10a
H-2	4,14 <i>sl</i>	H-1, H-3, H-4a, H-10b, H-11 α/β	H-1, H-3, H-4a, H-10b, 2-OMe	75,4 <i>d</i>	
H-3	5,57 <i>s</i>	H-1, H-2, H-4a, H-10b, H-11 α/β	H-2, H-11 α/β	116,7 <i>d</i>	C-1, C-4a, C-11
H-4				143,9 <i>s</i>	
H-4a	2,79 <i>sl</i>	H-1, H-2, H-3, H-7, H-10, NMe	H-1, H-2, H-10, H-12 β , NMe	66,7 <i>d</i>	NMe, C-4, C-10a
H-6				164,2 <i>s</i>	
H-6a				116,3 <i>s</i>	
H-7	7,50 <i>s</i>	H-4a, H-10b, 8-OMe	8-OMe	111,3 <i>s</i>	C-6, C-6a, C-8, C-9, C-10a
H-8				148,2 <i>s</i>	
H-9				152,2 <i>s</i>	
H-10	6,87 <i>s</i>	H-4a, H-10b, 9-OMe	H-4a, H-10b, 9-OMe, NMe	109,5 <i>d</i>	C-6a, C-8, C-10b
H-10a				136,2 <i>s</i>	
H-10b	2,79 <i>sl</i>	H-1, H-2, H-3, H-7, H-10, NMe	H-1, H-2, H-10, H-12 β , NMe	43,5 <i>d</i>	
H-11 α/β	2,34-2,53 <i>m</i>	H-2, H-3, H-12 α , H-12 β	H-3, H-12 α , H-12 β	26,6 <i>t</i>	C-4
H-12 α	3,06-3,13 <i>m</i>	H-11 α/β , H-12 β	H-11 α/β , H-12 β , NMe		C-4
H-12 β	2,20 <i>q</i> (9,2)	H-11 α/β , H-12 α	H-4a, H-10b, H-11 α/β , H-12 α , NMe	55,5 <i>t</i>	NMe
2-OMe	3,44 <i>s</i> (3H)		H-1, H-2	55,7 <i>q</i>	C-2
8-OMe	3,86 <i>s</i> (3H)	H-7	H-7	55,3 <i>q</i>	C-9
9-OMe	3,87 <i>s</i> (3H)	H-10	H-10	55,3 <i>q</i>	C-8
NMe	1,97 <i>s</i> (3H)	H-4a, H-10b	H-4a, H-10b, H-10, H-12 α , H-12 β	42,5 <i>q</i>	C-4a, C-12

4.1.1.4 – Composto **5**

O composto **5** foi isolado na subfração FAcEt-2D, porém seu rendimento foi baixo. A subfração foi solubilizada em CDCl_3 e submetida a análise de RMN de ^1H .

Foi identificado no espectro de RMN de ^1H um hidrogênio singlete na região de hidrogênios aromáticos (δ 6,70 ppm), indicando uma possível substituição na posição H-7 ou H-10. Um singlete com deslocamento químico de 5,53 ppm, característico da posição H-3 olefínica. Um hidrogênio dubleto, com δ 4,54 ppm ($J = 4,8$ Hz), atribuído a posição H-1. Um singlete largo, com deslocamento químico de 4,42 ppm e integração para 1H, atribuído ao hidrogênio da posição H-2 substituída. Três sinais singletos na região de metoxilas aromáticas (δ 3,93, 3,85 e 3,82 ppm), com integração de 3H cada. Foi observado um sinal multipletos, com deslocamento

químico entre 3,04 - 3,13 ppm, atribuído a posição H-12 α . Foram observados dois sinais de hidrogênios dubletos, com δ 2,68 e 2,83 ppm, integração de 1H cada, e constante de acoplamento de aproximadamente 9,2 Hz, característico das posições H-4a e H-10b, respectivamente. Esse valor de constante de acoplamento é característico de uma relação *trans*-diaxial entre esses hidrogênios e segue o descrito por Bastida; Lavilla; Viladomat (2006) para o esqueleto homolicorina. Foi observado também, um sinal de hidrogênio multipletos, com δ entre 2,36 – 2,46 ppm e integração de 2H, atribuído aos hidrogênios da posição H-11. Um sinal de hidrogênio quadrupletos foi observado com deslocamento químico de 2,20 ppm ($J = 9,2$ Hz) e atribuído a posição H-12 β . Cabe ressaltar que os hidrogênios da posição C-12 apresentaram-se conforme descrito por Bastida; Lavilla; Viladomat (2006), onde o 12 α encontra-se mais desblindado que o 12 β , devido à relação *cis* com o par de elétrons livre do átomo de nitrogênio do grupo NMe. Por fim, foi observado um sinal singletos com deslocamento químico de 2,02 ppm e integração de 3H, atribuído aos hidrogênios do grupo NMe.

Após a análise do espectro de RMN de ^1H foi proposto que o composto **5** pertença ao esqueleto do tipo homolicorina com um substituinte na posição C-2 e três metoxilas aromáticas. Para a completa elucidação da estrutura química foram realizados os ensaios de RMN bidimensionais, como NOESY, COSY, HMBC, HSQC, além da análise de massas de alta resolução.

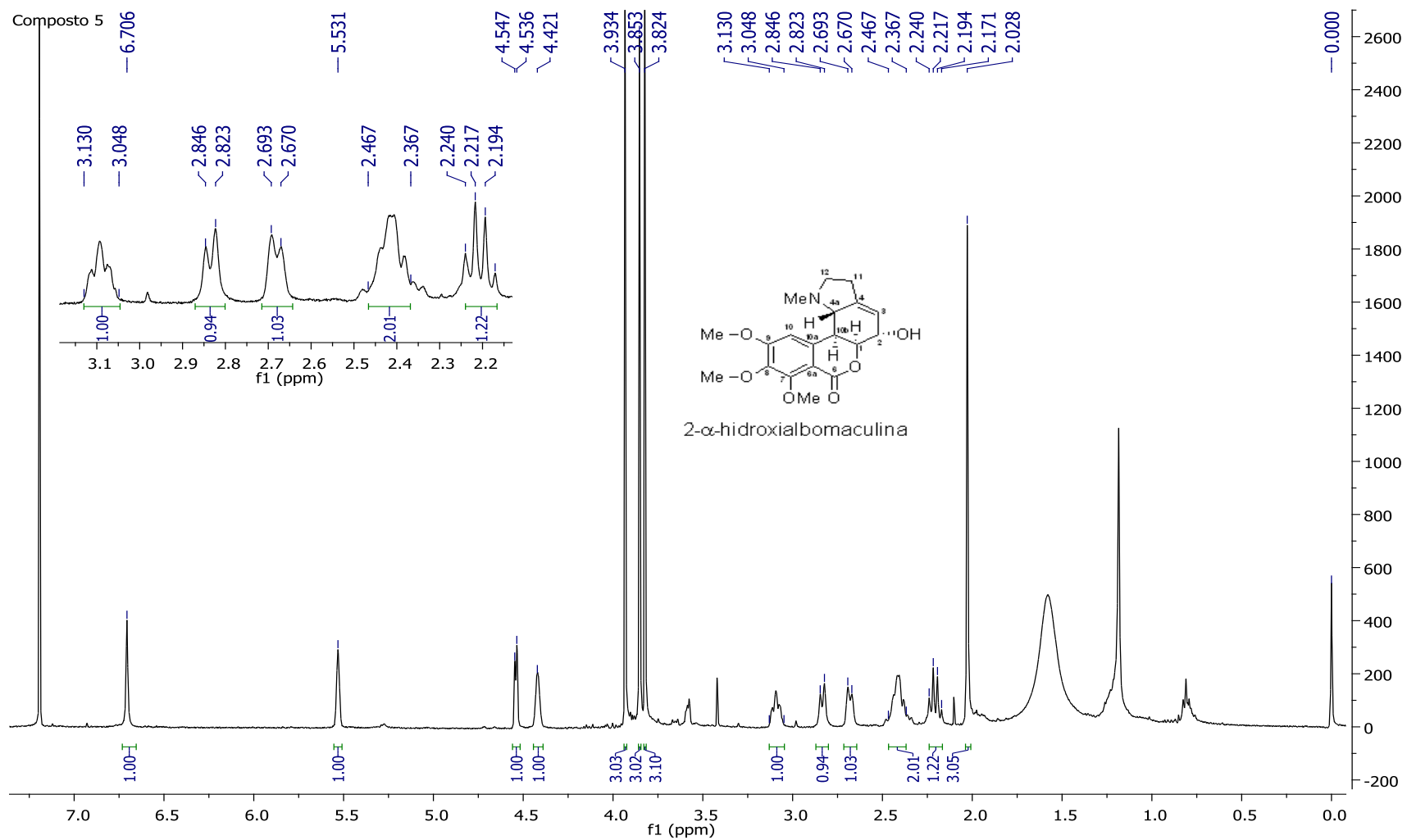
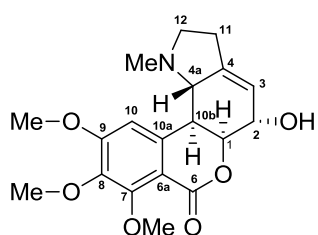


Figura 49: Espectro de RMN de ^1H do composto 5 (CDCl_3 , 400 MHz).

Os mapas de contornos HSQC e HMBC permitiram a atribuição de dezenove sinais e suas correlações com seus respectivos hidrogênios. O sinal em δ 169,4 ppm é característico de carbono carbonílico, o que comprova a presença do grupo lactona no esqueleto homolicorina. A análise do espectro de COSY apresentou uma importante correlação entre o hidrogênio aromático e a metoxila da posição C-9 (9-OMe), o que sugere a presença do hidrogênio aromático na posição H-10. Essa hipótese é confirmada pela correlação de NOESY do hidrogênio aromático (H-10) com o grupo 9-OMe e o grupo NMe e a ausência de correlações de NOESY e COSY entre o hidrogênio da posição C-7 e outro hidrogênio da molécula, indicando sua substituição por um grupo metoxila. A confirmação do substituinte metoxila na posição C-7 (7-OMe) se dá pela correlação de HMBC dos hidrogênios da metoxila com o carbono da posição C-6. Foi observado uma intensa correlação de COSY entre os hidrogênios das posições H-4a e H-10b e a ausência de uma correlação de NOESY entre eles, o que reafirma a orientação *trans* entre esses hidrogênios. Não foi observado correlação de COSY e NOESY com o substituinte da posição C-2, indicando a substituição por um grupo hidroxila. Entretanto, foi observada uma correlação de NOESY entre o hidrogênio H-2 e o H-4a, confirmando assim o local de substituição e a orientação *alfa* da hidroxila. O mapa de contornos HSQC diferenciou os carbonos CH/CH₃ dos carbonos CH₂, e com isso determinou-se as correlações C/H das posições C-11 e C-12, além das demais correlações da estrutura.

Após análise dos espectros de RMN e comparação com os dados da literatura, foi proposto que o composto **5** pertence ao esqueleto do tipo homolicorina, com um substituinte hidroxila *alfa*-orientado na posição C-2 e três metoxilas aromáticas. Sendo assim, foi proposto que o composto **5** seja o alcaloide 2- α -hidroxialbomaculina.



2- α -hidroxialbomaculina

Figura 50: Fórmula estrutural dos compostos **5**.

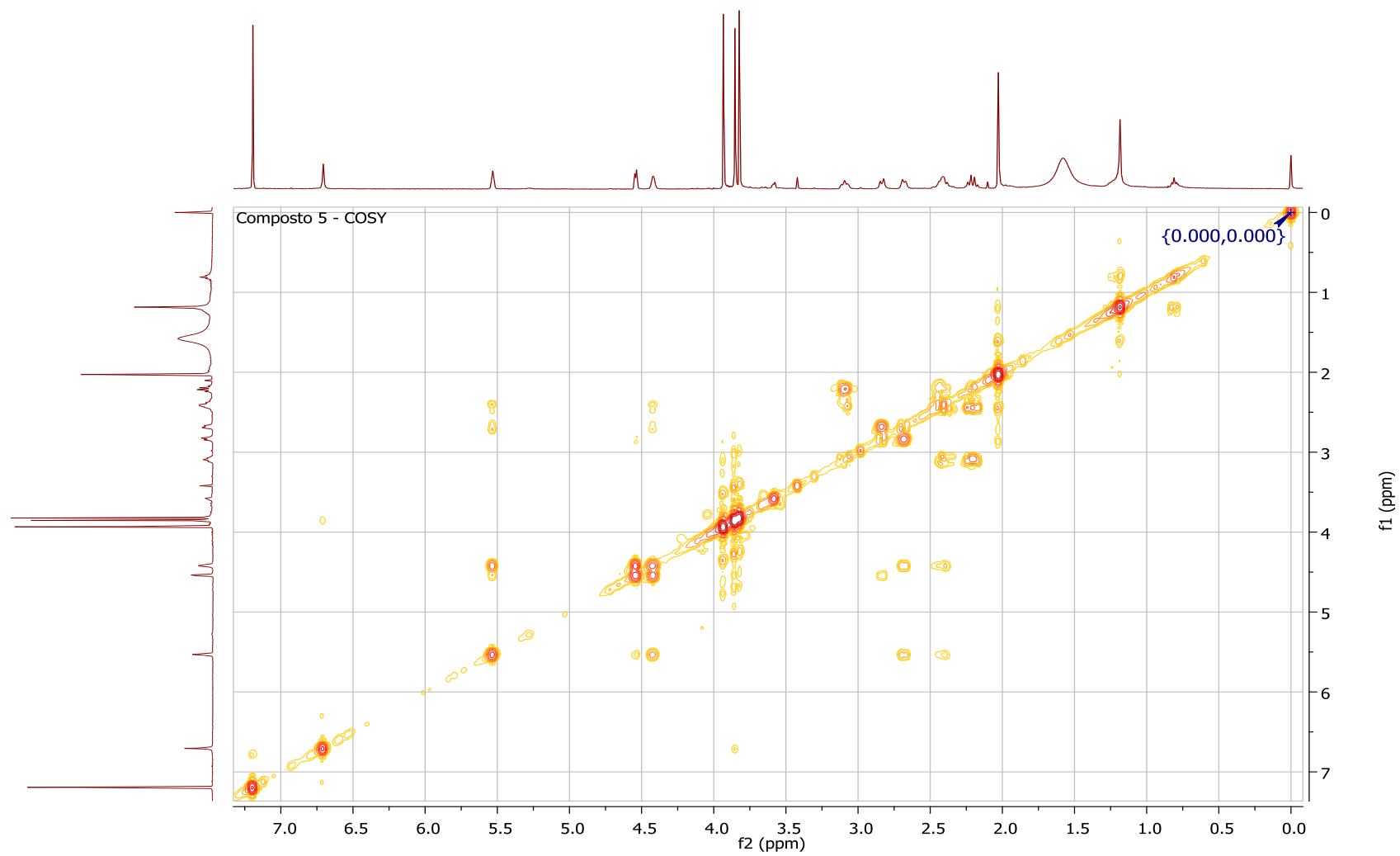


Figura 51: Espectro de COSY ^1H - ^1H do composto 5 (CDCl_3 , 400 MHz).

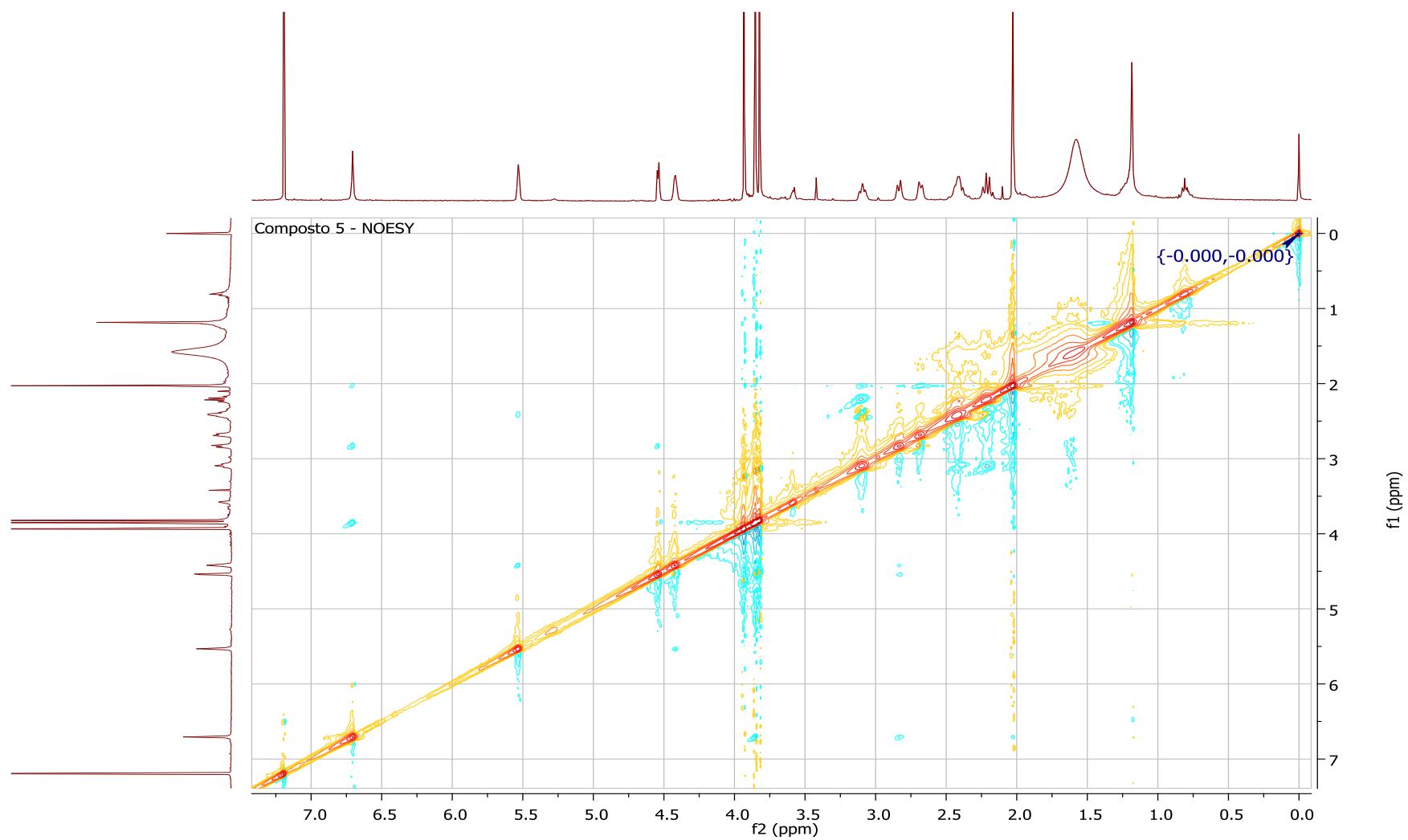


Figura 52: Espectro de NOESY do composto 5 (CDCl_3 , 400 MHz).

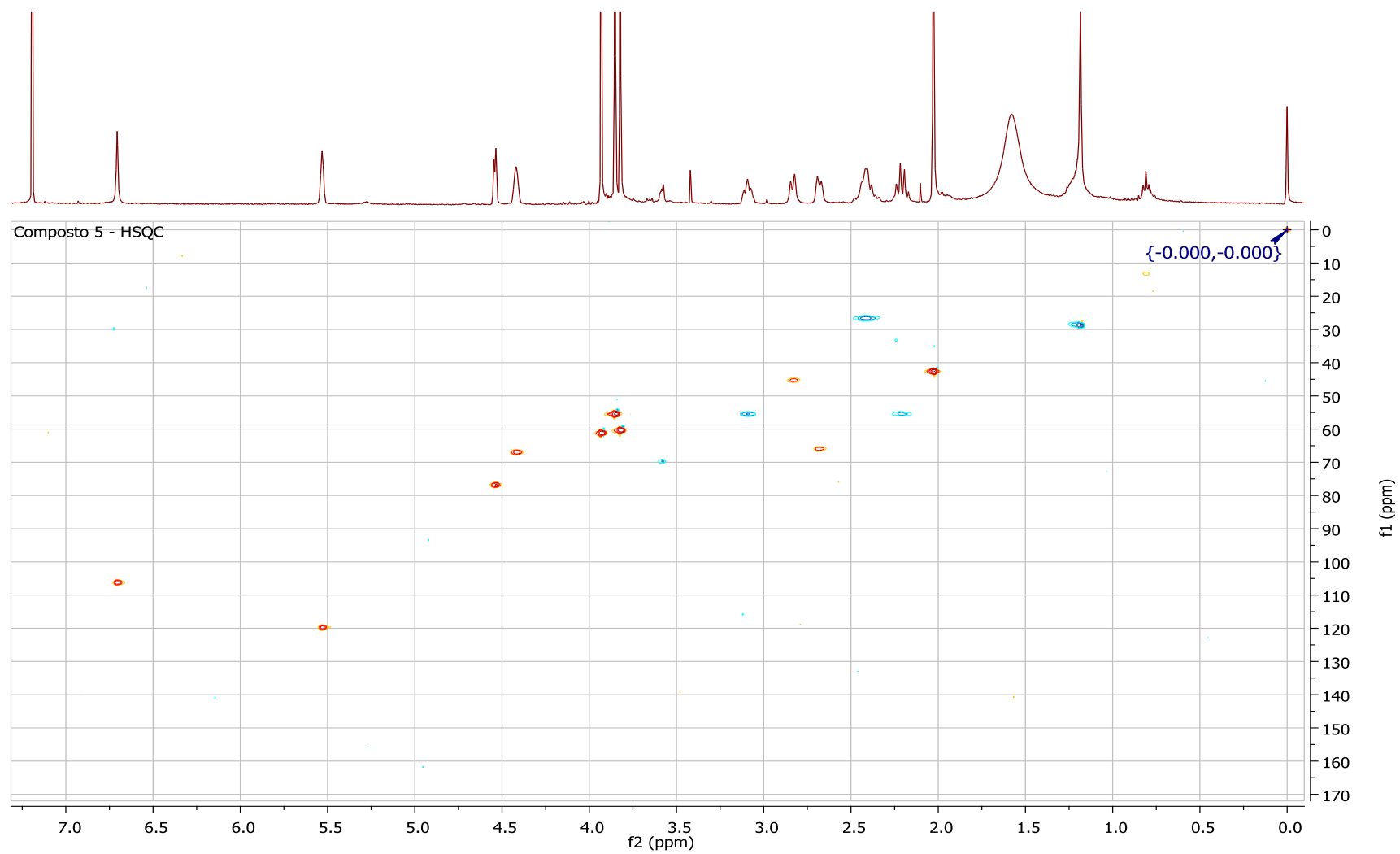


Figura 53: Mapa de contornos HSQC do composto **5** (CDCl₃, 400 MHz).

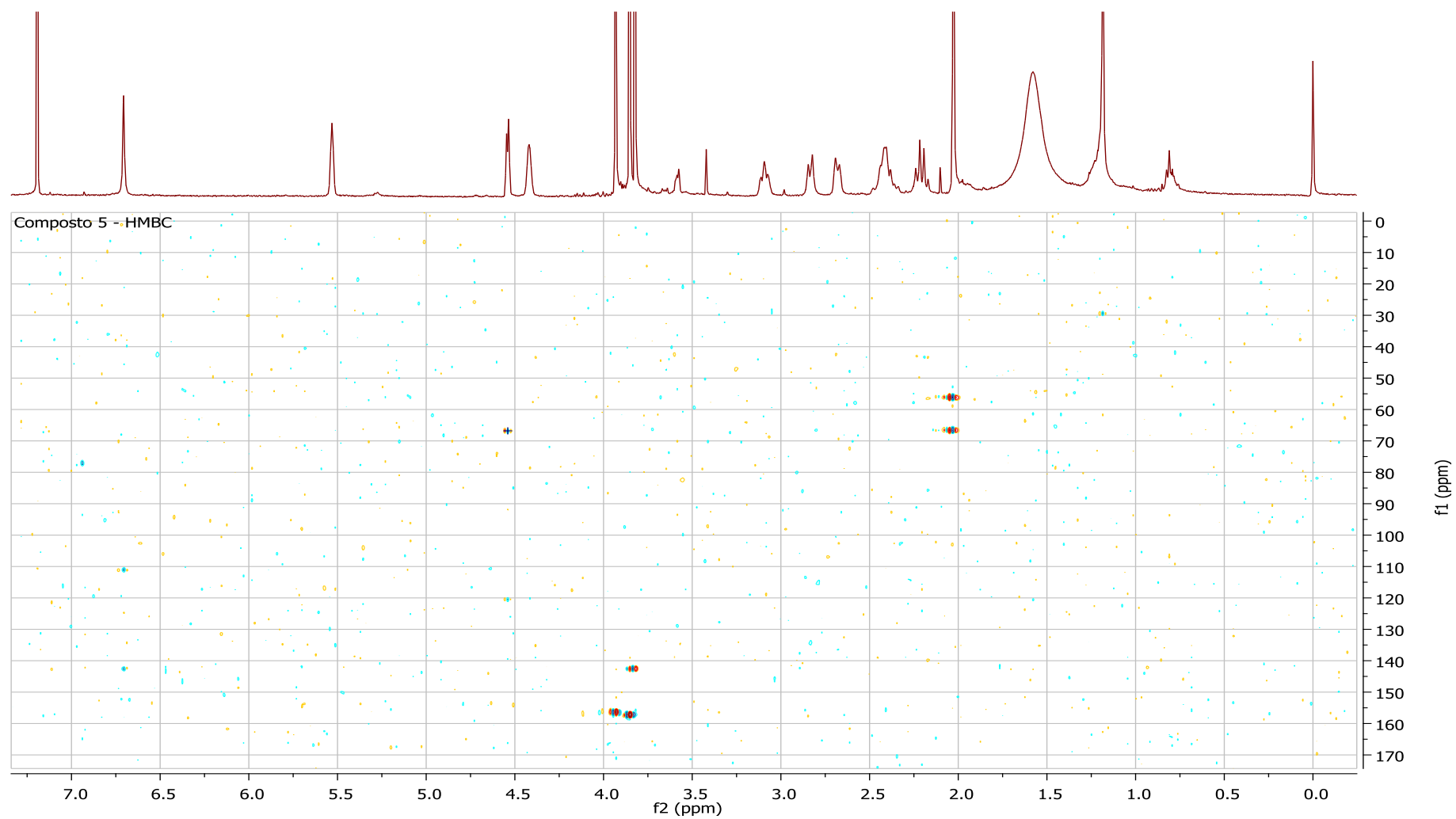


Figura 54: Mapa de contornos HMBC do composto **5** (CDCl₃, 400 MHz).

A estrutura do alcaloide 2- α -hidroxialbomaculina (**5**) foi confirmada pela análise de espectrometria de massas de alta resolução. Foi observado o íon com m/z $[M+Na]^+$ 384,14206 (calculado $C_{19}H_{23}NNaO_6^+$ 384,14176), o íon com m/z $[2M+Na]^+$ 745,29556 (calculado $C_{38}H_{46}N_2NaO_{12}^+$ 745,29430) e o íon com m/z $[3M+Na]^+$ 1106,45007 (calculado $C_{57}H_{69}N_3NaO_{18}$ 1106,44684), como representado na Figura 55.

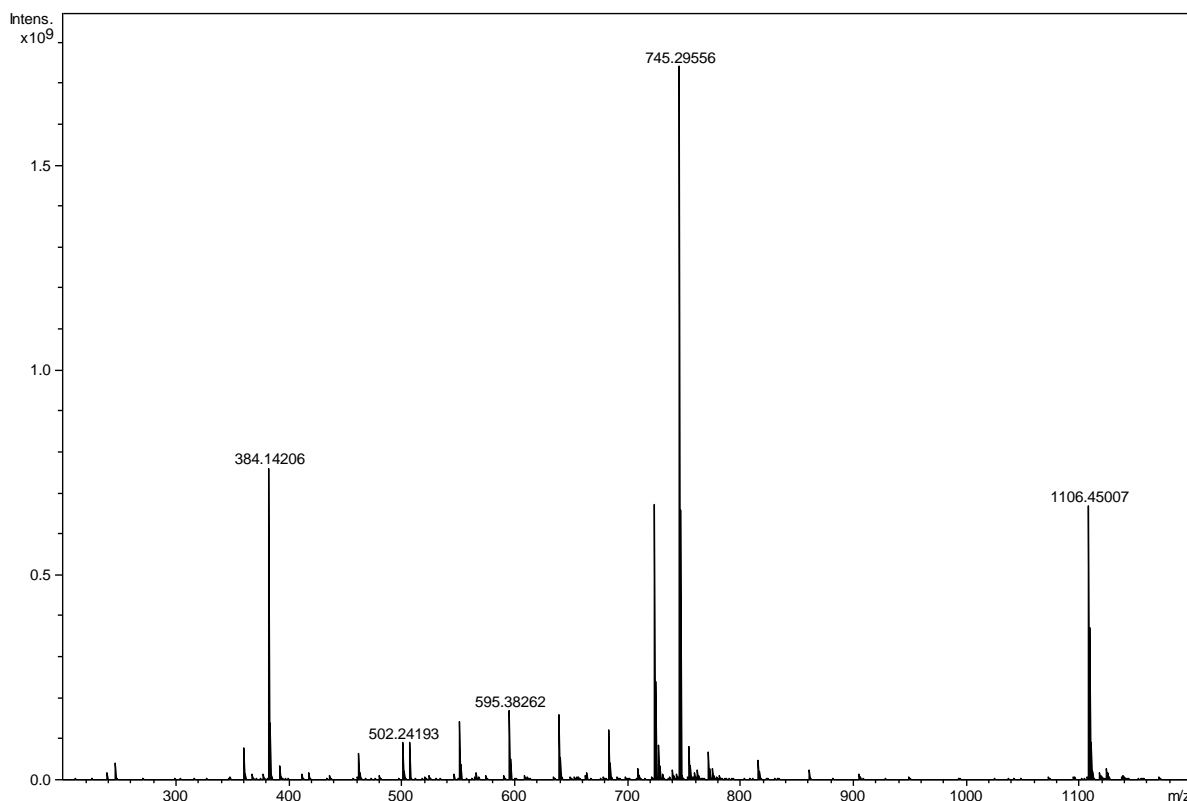


Figura 55: Espectro de massas de alta resolução do alcaloide 2- α -hidroxialbomaculina (**5**).

Após pesquisa em literatura científica, não foram encontrados dados com relação ao isolamento, elucidação estrutural e atividade biológica para o alcaloide 2- α -hidroxialbomaculina (**5**).

Tabela 7: Dados de RMN de ^1H , COSY, NOESY, HSQC e HMBC do Composto **5** (400 MHz, CDCl_3).

Posição	δ_{H} (J em Hz)	COSY	NOESY	δ_{C} /HSQC	HMBC
H-1	4,54 <i>d</i> (4,8)	H-2, H-3, H-10b	H-10b	76,7 <i>d</i>	C-2, C-3, C-4, C-6
H-2	4,42 <i>sl</i>	H-1, H-3, H-4a, H-11 α/β	H-3, H-4a	66,8 <i>d</i>	C-1
H-3	5,53 <i>s</i>	H-1, H-2, H-4a, H-11 α/β	H-2, H-11 α/β	119,7 <i>d</i>	
H-4				139,7 <i>s</i>	
H-4a	2,68 <i>d</i> (9,2)	H-2, H-3, H-10b	NMe, H-2	65,9 <i>d</i>	
H-6				169,4 <i>s</i>	
H-6a				111,1 <i>s</i>	
H-7				156,3 <i>s</i>	
H-8				142,4 <i>s</i>	
H-9				157,2 <i>s</i>	
H-10	6,70 <i>s</i>	9-OMe	H-10b, 9-OMe, NMe	106,0 <i>d</i>	C-6a, C-10a
H-10a				142,6 <i>s</i>	
H-10b	2,83 <i>d</i> (9,2)	H-1, H-4a	H-1, H-10	45,0 <i>d</i>	
H-11 α/β	2,36-2,46 <i>m</i>	H-2, H-3, H-12 α , H-12 β	H-3, H-12 α	26,5 <i>t</i>	C-4
H-12 α	3,04-3,13 <i>m</i>	H-11 α/β , H-12 β	H-11 α/β , H-12 β , NMe	55,5 <i>t</i>	C-4
H-12 β	2,20 <i>q</i> (9,2)	H-11 α/β , H-12 α	H-12 α		NMe, C-4
7-OMe	3,93 <i>s</i> (3H)			61,1 <i>q</i>	C-6
8-OMe	3,82 <i>s</i> (3H)			60,2 <i>q</i>	
9-OMe	3,85 <i>s</i> (3H)	H-10	H-10	55,3 <i>q</i>	
NMe	2,02 <i>s</i> (3H)		H-4a, H-10, H-12 α	42,4 <i>q</i>	

4.1.1.5 – Composto **6**

O composto **6** foi identificado nas subfrações FHex-3A e BAcEt-3A.3A.2 em mistura com o alcaloide albomaculina. O produto foi solubilizado em CDCl_3 para análise de RMN de ^1H .

Foi identificado no espectro de RMN de ^1H um hidrogênio singlete na região de hidrogênios aromáticos (δ 6,62 ppm), indicando uma possível substituição na posição H-7 ou H-10. Um singlete com deslocamento químico de 5,50 ppm, característico da posição H-3 olefínica. Um hidrogênio singlete, com δ 4,82 ppm, atribuído a posição H-1. Dois sinais singletos na região de metoxilas aromáticas (δ 3,90 e 3,92 ppm), com integração de 3H cada. Foi observado um sinal singlete largo, com deslocamento químico entre 3,15 ppm, atribuído a posição H-12 α . Foi observado um multipeto com deslocamento químico entre 2,45 – 2,77 ppm, atribuído aos hidrogênios das posições H-2, H-4a, H-10b e H-11 α/β . Um sinal de hidrogênio multipeto foi observado com deslocamento químico entre 2,21 – 2,31

ppm atribuído a posição H-12 β . Cabe ressaltar que os hidrogênios da posição C-12 apresentaram-se conforme descrito por Bastida; Lavilla; Viladomat (2006), onde o 12 α encontra-se mais desblindado que o 12 β , devido à relação *cis* com o par de elétrons livre do átomo de nitrogênio do grupo NMe. Por fim, foi observado um sinal singlete com deslocamento químico de 2,02 ppm e integração de 3H, atribuído aos hidrogênios do grupo NMe.

Após a análise do espectro de RMN de ^1H foi proposto que o composto **6** pertença ao esqueleto do tipo homolicorina com um substituinte no anel aromático. A ausência de sinais de hidrogênio para o substituinte aromático indica a substituição por um grupo hidroxila, que pode ser comprovado pela técnica de massas de alta resolução. A posição da hidroxila foi atribuída a posição C-7, uma vez que o deslocamento químico do hidrogênio aromático condiz com o deslocamento do H-10 do esqueleto homolicorina (Bastida; Lavilla; Viladomat, 2006). Para a completa elucidação da estrutura química faz-se necessário realizar os ensaios de RMN de ^{13}C e RMN bidimensionais, como NOESY, COSY, HMBC e HSQC.

Após análise do espectro de RMN de ^1H e comparação com os alcaloides do tipo homolicorina classificou-se o composto **6** como o alcaloide 7-hidroxihomolicorina. Após pesquisa em literatura específica, não foram encontrados dados referentes ao isolamento ou atividades biológicas deste composto.

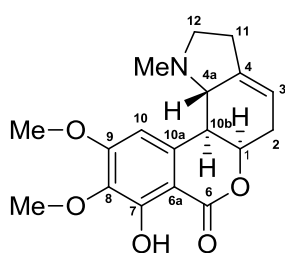


Figura 56: Fórmula estrutural proposta para o composto **6**.

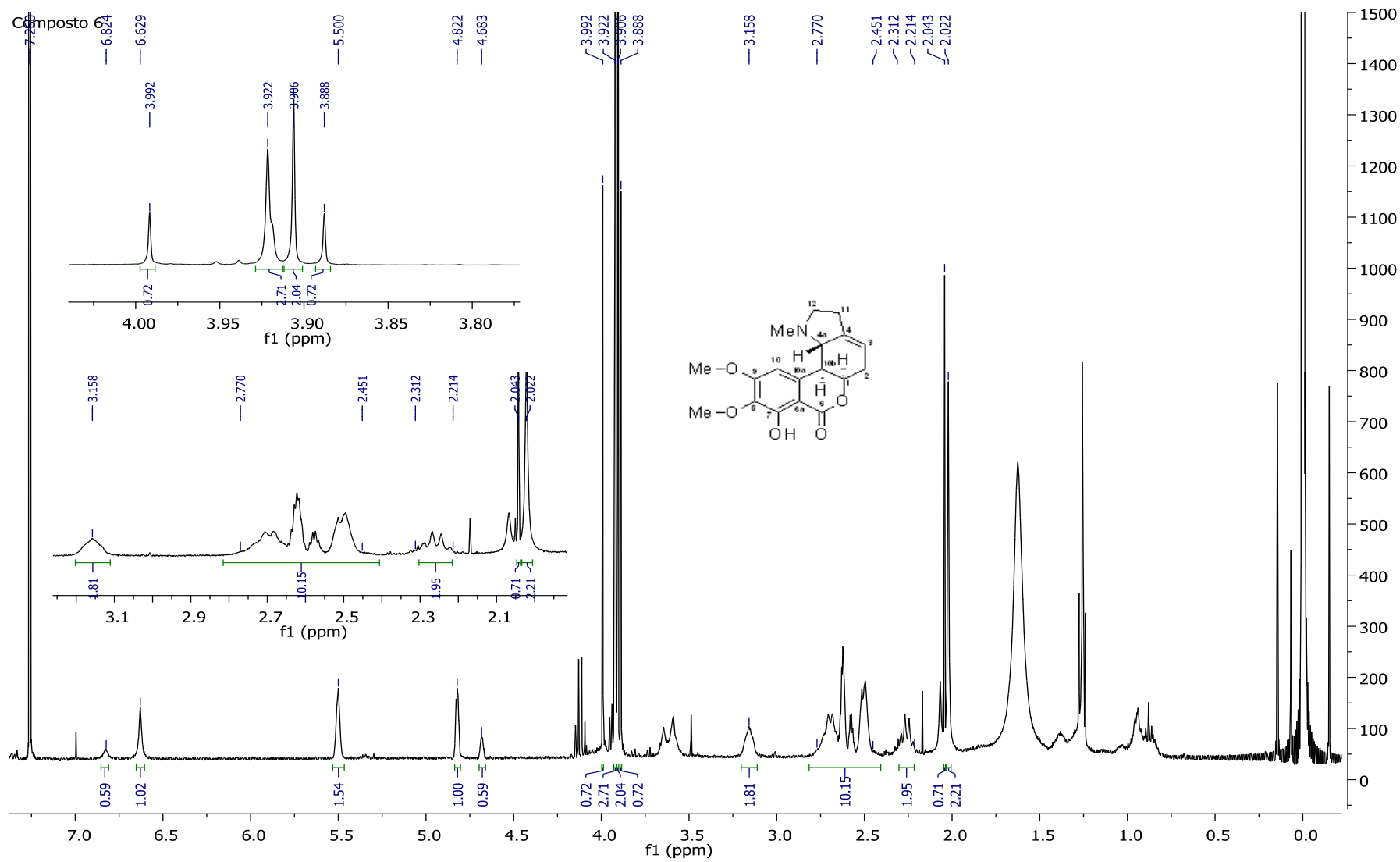


Figura 57: Espectro de RMN de ^1H do composto 6 (CDCl_3 , 400 MHz).

A estrutura química proposta para o alcaloide 7-hidroxihomolicorina (**6**) pôde ser confirmada pela análise de espectrometria de massas de alta resolução. Foi observado o íon com m/z $[M+H]^+$ 332,14942 (calculado $C_{18}H_{22}NO_5^+$ 332,14925) e o íon com m/z $[2M+H]^+$ 663,29225 (calculado $C_{36}H_{43}N_2O_{10}^+$ 663,29122), como representado na Figura 58.

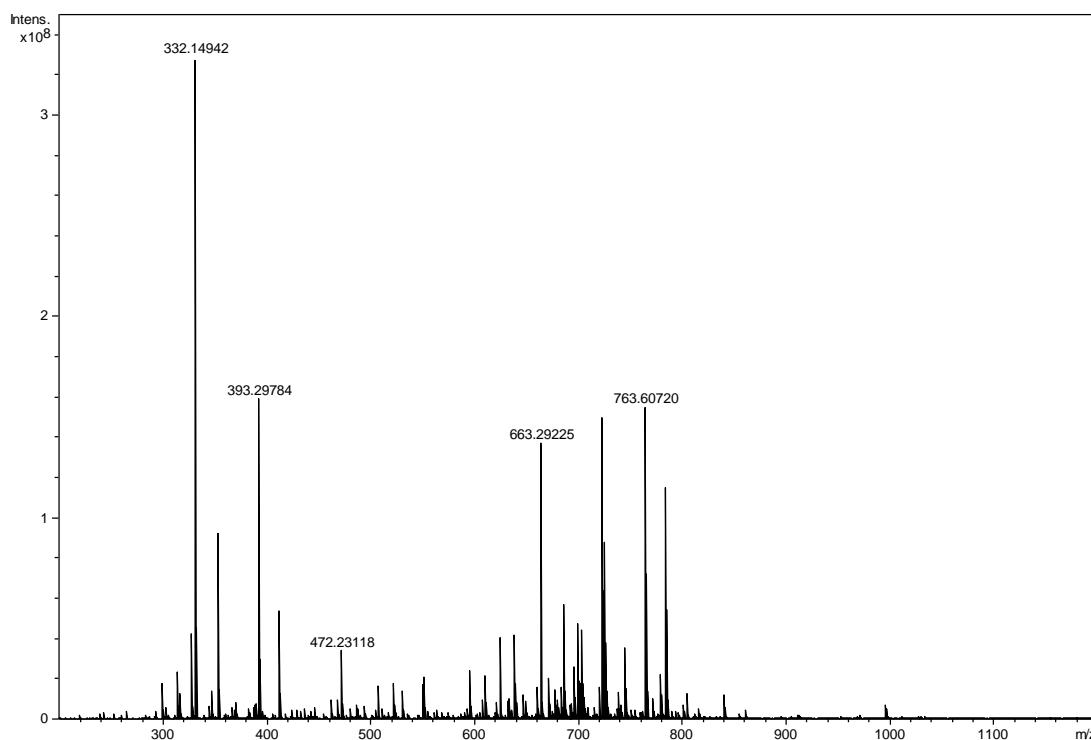


Figura 58: Espectro de massas de alta resolução do composto **6**.

Tabela 8: Deslocamento químico dos hidrogênios do composto **6** ($CDCl_3$, 400 MHz).

Posição	δ_H Composto 6
H-1	4,82 s
H-2 (2H)	2,77 – 2,45 m
H-3	5,50 s
H-4a	2,77 – 2,45 m
H-10	6,62 s
H-10b	2,77 – 2,45 m
H-11 α	2,77 – 2,45 m
H-11 β	2,77 – 2,45 m
H-12 α	3,15 s/
H-12 β	2,31 – 2,21 m
8-OMe	3,90 s
9-OMe	3,92 s
NMe	2,02 s

4.1.1.6 – Composto 7

O composto **7** foi isolado nas subfrações BAcEt-3A.4C e FAcEt-2C.4. O composto foi solubilizado em CDCl_3 para a análise de RMN de ^1H .

As principais características do espectro de RMN de ^1H do composto **7** encontradas foram dois sinais de hidrogênios singletos aromáticos *p*-orientados em 7,61 e 7,00 ppm, referente aos hidrogênios das posições 7 e 10 respectivamente, uma vez que a literatura diz que o H-7 deve apresentar-se mais desblindado que H-10; um hidrogênio dubleto olefínico com deslocamento químico de 5,50 ppm ($J=2,8$ Hz), referente ao hidrogênio da posição 3; um hidrogênio singlete em δ 4,77 ppm atribuído ao hidrogênio da posição 1; um sinal singletos na região de metoxilas aromáticas, com deslocamento químico de 3,96 ppm e integração de 3H; um hidrogênio multiplete, com deslocamento químico entre 3,13 – 3,21 ppm, atribuído ao hidrogênio da posição 12 α ; Foram observados dois sinais de hidrogênios dubletos, com δ 2,76 e 2,67 ppm, integração de 1H cada, e constante de acoplamento de aproximadamente 9,6 Hz, característico das posições H-4a e H-10b, respectivamente. Esse valor de constante de acoplamento é característico de uma relação *trans*-diaxial entre esses hidrogênios e segue o descrito por Bastida; Lavilla; Viladomat (2006) para o esqueleto homolicorina.; um sinal multiplete, com deslocamento químico entre 2,58 – 2,63 ppm, com integração de 2H, referente aos hidrogênios da posição 2; um sinal multiplete, com deslocamento químico entre 2,46 – 2,54 ppm, com integração de 2H, referente aos hidrogênios da posição 11; um hidrogênio quadrupeto (q) com δ 2,26 ppm ($J = 9,6$ Hz), referente ao hidrogênio da posição 12 β ; e um singlete referente ao grupo NMe em δ 2,01 ppm, apresentando integração para três hidrogênios.

Nota-se que o composto apresenta as características típicas do alcaloide homolicorina, porém destaca-se que o anel aromático encontra-se deficiente de um grupo metoxila. Esta constatação leva à possibilidade de dois isômeros de posição, sendo esses os alcaloides 8-*O*-desmetilhomolicorina e 9-*O*-desmetilhomolicorina. Para a correta atribuição da posição da metoxila aromática foi realizada a técnica de NOESY.

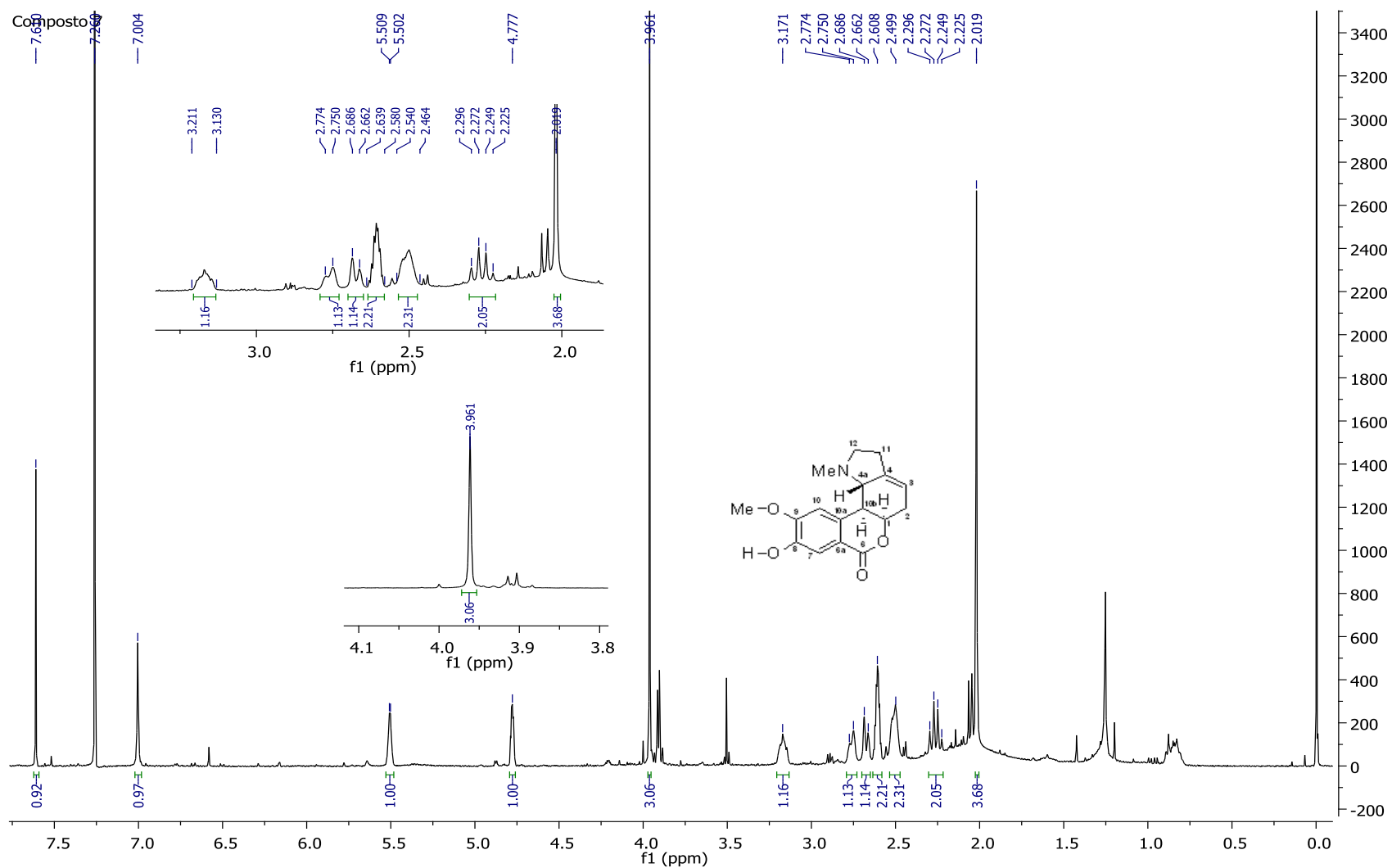


Figura 59: Espectro de RMN de ^1H do composto 7 (CDCl_3 , 400 MHz).

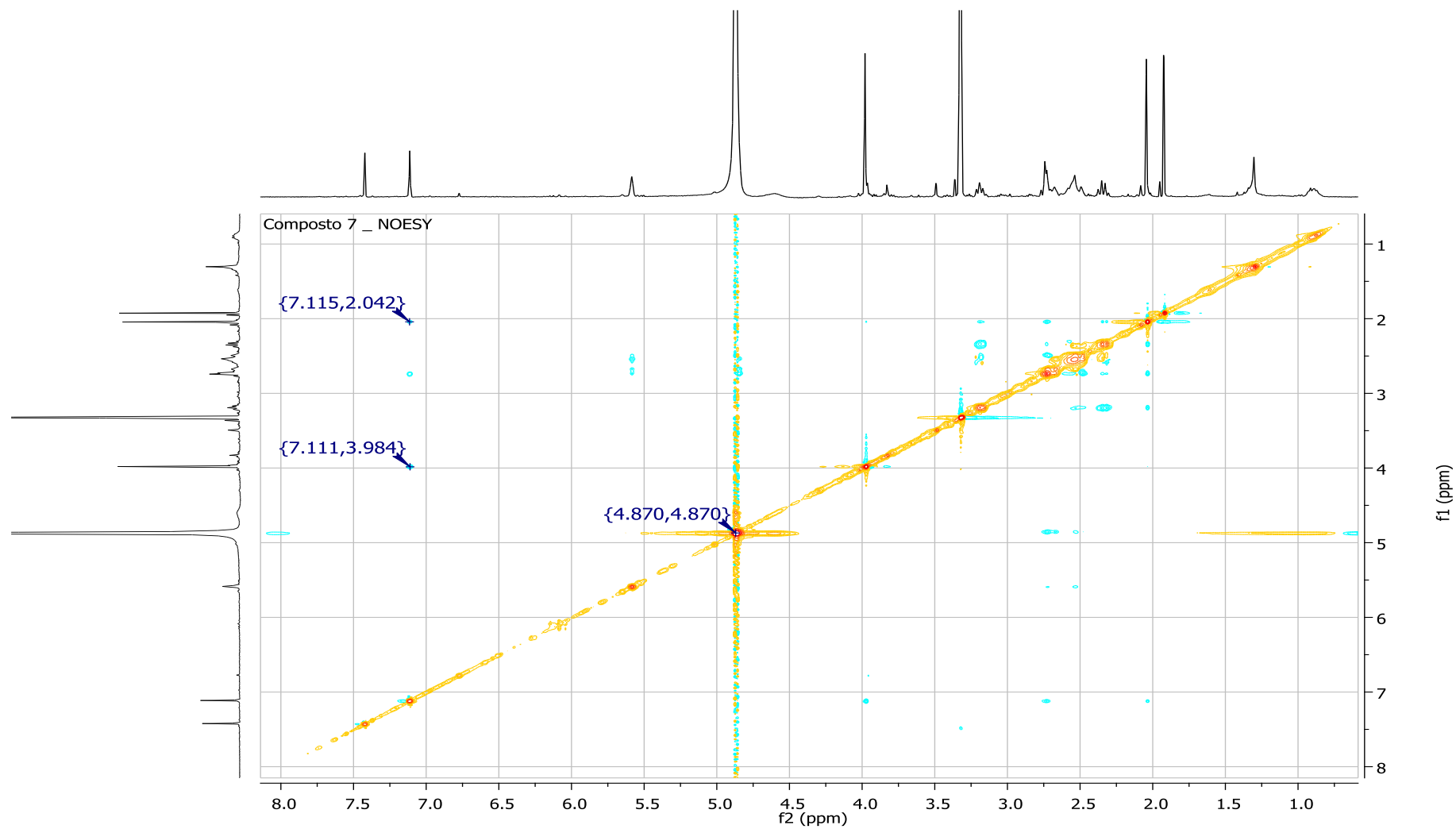


Figura 60: Espectro de NOESY do composto 7 (CD₃OD, 400 MHz).

O espectro de NOESY demonstra uma correlação entre o H-10 e o sinal do grupo NMe, corroborando a presença do hidrogênio nessa posição. Porém, a principal correlação se dá entre o H-10 e os hidrogênios da metoxila aromática, uma vez que comprova a proximidade entre ambos. Após análise dos espectros de RMN e comparação a literatura, pode-se concluir que o composto **7** é o alcaloide 8-O-desmetilhomolicorina.

Foi relatado que a 8-O-desmetilhomolicorina apresenta atividade citotóxica contra células fibroblásticas não-tumorais e desempenha uma boa atividade de ligação ao ácido desoxirribonucleico (ADN), sendo comparada à vimblastina, além de desempenhar um bom efeito hipotensor em ratos normotensos (WENIGER et al., 1995; SCHEMEDA-HIRSCHMANN et al., 2000a).

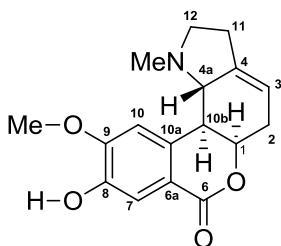


Figura 61: Fórmula estrutural do composto **7**.

Tabela 9: Dados de RMN de ^1H do composto **7** (CDCl_3 , 400 MHz) em comparação com a literatura (CDCl_3 , 400 MHz) (LATVALA et al., 1995; BASTIDA et al., 1987).

Posição	δ_{H} (J em Hz) Composto 7	δ_{H} (J em Hz) Literatura
H-1	4,77 s	4,80 <i>ddd</i> (4,2; 1,7; 1,6)
H-2 (2H)	2,63 – 2,58 <i>m</i>	2,51 <i>m</i>
H-3	5,50 <i>d</i> (2,8)	5,55 <i>m</i>
H-4a	2,76 <i>d</i> (9,6)	2,73 <i>dl</i> (10,0)
H-7	7,61 s	7,54 s
H-10	7,00 s	6,91 s
H-10b	2,67 <i>d</i> (9,6)	2,60 <i>dd</i> (10,0; 1,6)
H-11 (2H)	2,54 – 2,46 <i>m</i>	2,50 <i>m</i>
H-12 α	3,21 – 3,13 <i>m</i>	3,15 <i>ddd</i> (10,0; 7,0; 3,5)
H-12 β	2,26 <i>q</i> (9,6)	2,30 <i>dd</i> (18,3; 9,2)
OMe	3,96 s	3,95 s
NMe	2,01 s	2,00 s

4.1.1.7 – Composto **8**

O composto **8** foi obtido na subfração FAcEt-2D. O composto exibiu coloração branca e foi solubilizado em CDCl_3 para análise de RMN de ^1H .

O espectro de RMN de ^1H do composto **8** apresentou características peculiares de compostos pertencentes aos alcaloides do tipo homolicorina (BASTIDA; LAVILLA; VILADOMAT, 2006), porém com sinais característicos mais desblindados que o normal. Foi identificado um hidrogênio singlete com deslocamento químico de 7,23 ppm, atribuído a posição H-10. Foram identificados três sinais na região de metoxilas aromáticas, com δ de 3,99; 3,98 e 3,88 ppm. Os alcaloides de Amaryllidaceae que apresentam o grupo hemiacetal-lactona, como as homolicorinas, corriqueiramente apresentam dois ou três substituintes oxigenados no anel aromático. Duas metoxilas aromáticas devem estar nas posições C-8 e C-9, característico do esqueleto homolicorina, enquanto a outra deve estar localizada na posição C-7 e o hidrogênio aromático na posição C-10, conforme descrito por Hawksworth e colaboradores (1965).

Foi identificado no espectro de RMN de ^1H a presença do grupo NMe com deslocamento de 3,00 ppm. Este fato ocorre quando o nitrogênio do grupo NMe encontra-se protonado, ou seja, o composto pode estar na forma de sal ou na forma de *N*-óxido. Foi observado os hidrogênios das posições H-4a e H-10b, assim como as constantes de acoplamento $J_{4a,10b} = 9,6$ Hz (relação *trans*-diaxial) e a constante $J_{1,10b} = 2$ Hz (fusão *cis* do anel B-C). Baseado no espectro de RMN de ^1H e os deslocamentos/multiplicidades do esqueleto homolicorina, foi proposto que o composto **8** seja o alcaloide albomaculina *N*-óxido.

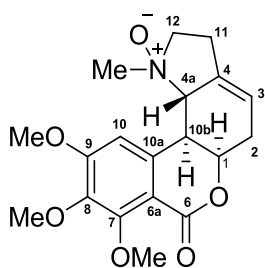


Figura 62: Fórmula estrutural proposta para o composto **8**.

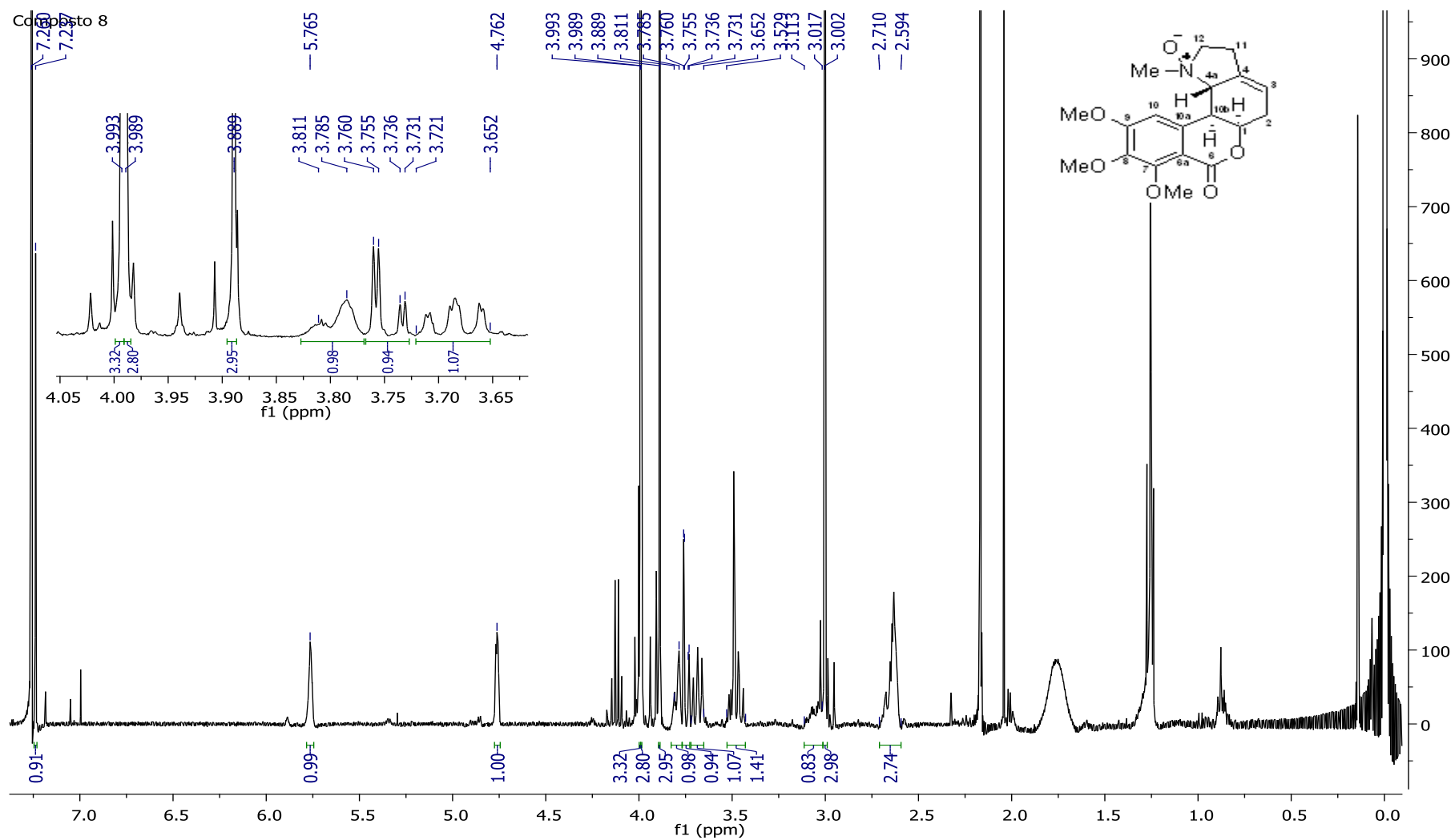


Figura 63: Espectro de RMN de ^1H do composto **8** (CDCl_3 , 400 MHz).

A estrutura do alcaloide albomaculina *N*-óxido (**8**) pôde ser comprovada pela análise de espectrometria de massas de alta resolução. Foi observado o íon com m/z $[M+H]^+$ 362,16008 (calculado $C_{19}H_{24}NO_6^+$ 362,15982) e o íon com m/z $[M+Na]^+$ 384,14204 (calculado $C_{19}H_{23}NNaO_6^+$ 384,14176), como representado na Figura 64.

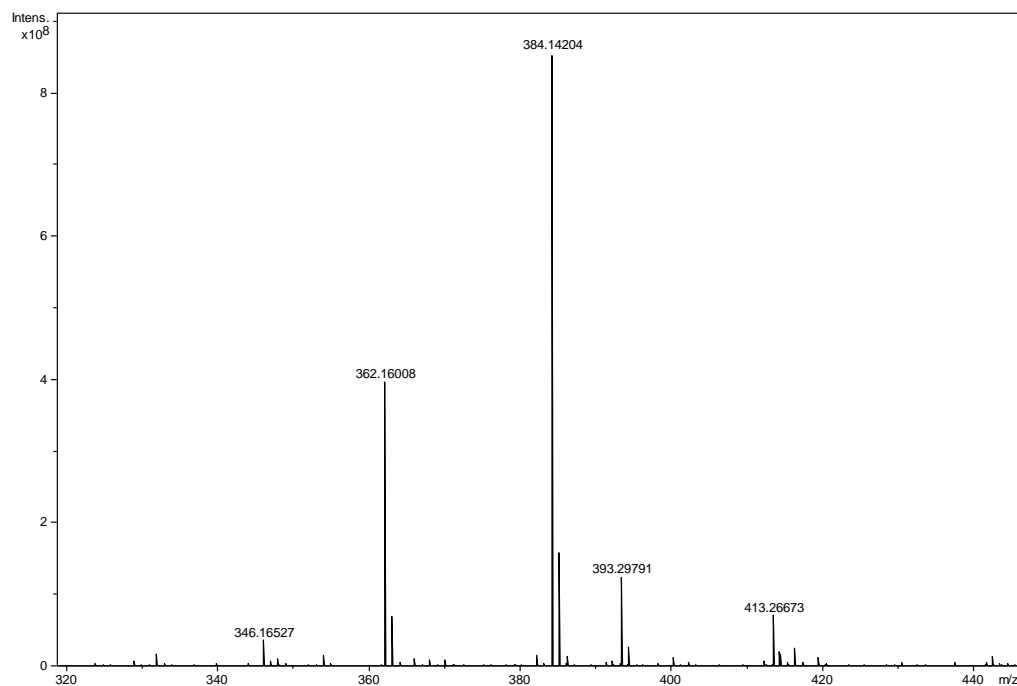


Figura 64: Espectro de massas de alta resolução do composto **8**.

Tabela 10: Deslocamento dos hidrogênios do composto **8** ($CDCl_3$, 400 MHz).

Posição	δ_H (J em Hz) Composto 8
H-1	4,76 s
H-2 α	2,71 – 2,59 m
H-2 β	2,71 – 2,59 m
H-3	5,76 s
H-4a	3,80 l d
H-10	7,23 s
H-10b	3,74 dd (9,6;2,0)
H-11 α	3,11 – 3,01 m
H-11 β	2,71 – 2,59 m
H-12 α	3,72 – 3,65 m
H-12 β	3,52 – 3,42 m
7-OMe	3,99 s
8-OMe	3,88 s
9-OMe	3,98 s
NMe	3,00 s

Para a completa elucidação da estrutura química faz-se necessário realizar os ensaios de RMN de ^{13}C e RMN bidimensionais, como NOESY, COSY, HMBC e HSQC.

4.1.1.8 – Composto **9**

O composto **9** foi obtido nas subfrações BAcAc-3A-1, BHex-2, BAcEt-3C.5C, BAcEt-3A.3A.1, BAcEt-3A.4A, FHex-3A e FHex-3B, sendo este um dos compostos mais abundantes encontrados na planta. O composto exibia coloração branca e foi facilmente solubilizado em CDCl_3 para análise de RMN de ^1H .

O espectro de RMN de ^1H do composto **9** apresentou características peculiares de compostos pertencentes aos alcaloides do tipo homolicorina (BASTIDA; LAVILLA; VILADOMAT, 2006). Foram identificados três sinais na região de metoxilas aromáticas, com δ de 3,92; 3,85 e 3,82 ppm e apenas um sinal na região de hidrogênios aromáticos, com δ de 6,79 ppm. Os alcaloides de Amaryllidaceae que apresentam o grupo hemiacetal-lactona, como as homolicorinas, corriqueiramente apresentam dois ou três substituintes oxigenados no anel aromático. Duas metoxilas aromáticas devem estar nas posições C-8 e C-9, característico do esqueleto homolicorina, enquanto a outra deve estar localizada na posição C-7 e o hidrogênio aromático na posição C-10, conforme descrito por Hawksworth e colaboradores (1965). Além disso, o deslocamento químico do hidrogênio aromático condiz com o valor relatado na literatura para o hidrogênio H-10.

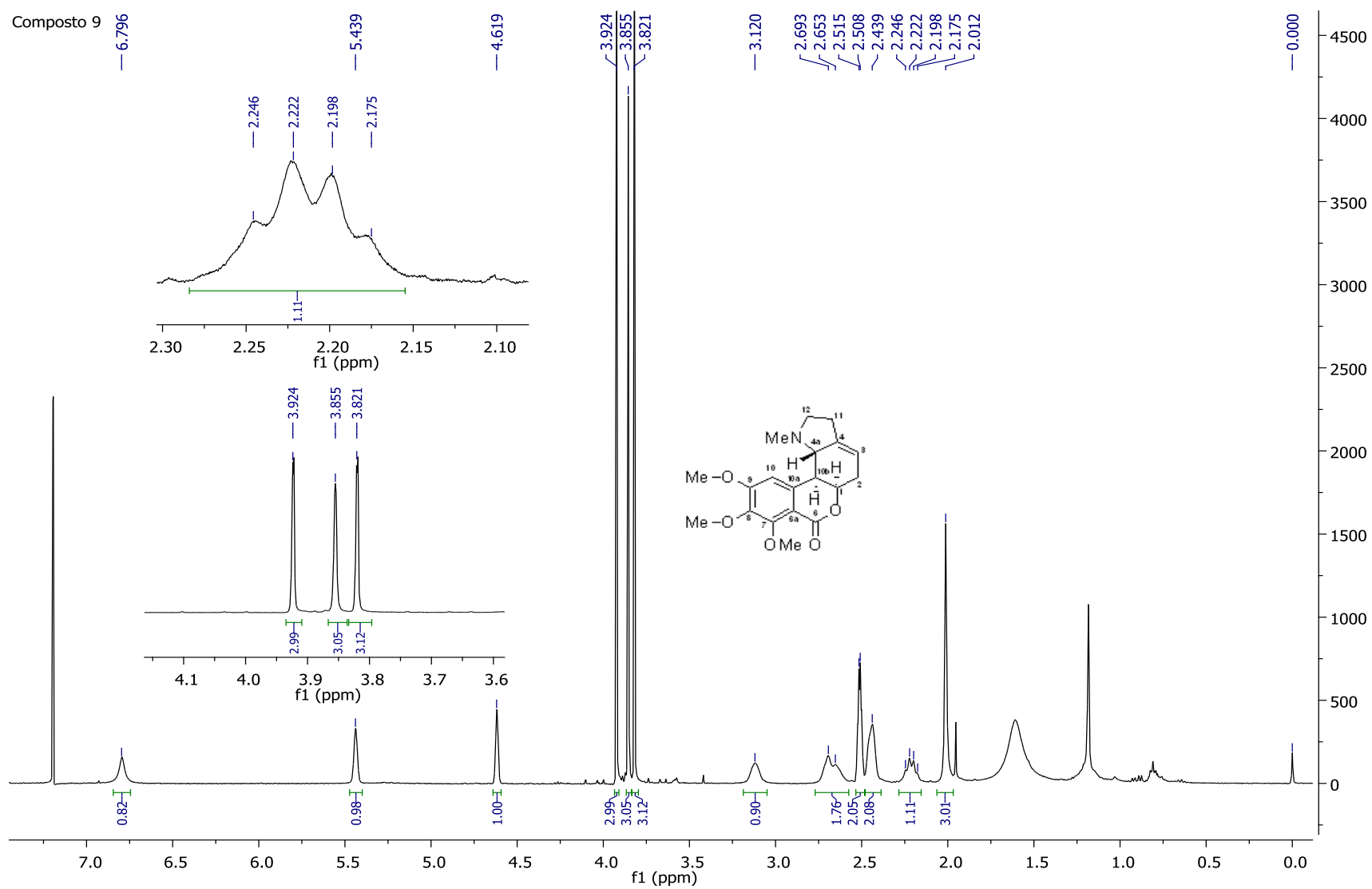


Figura 65: Espectro de RMN de ^1H do composto 9 (CDCl_3 , 400 MHz).

Após análise do espectro de RMN de ^1H e a comparação com os dados descritos na literatura identificou-se o composto **9** como o alcaloide albomaculina. Este alcaloide foi isolado pela primeira vez em 1956, a partir da planta *Haemanthus albomaculatus* (BRIGGS et al., 1956).

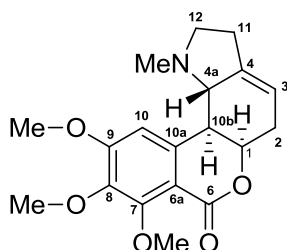


Figura 66: Fórmula estrutural do composto **9**.

Tabela 11: Dados de RMN de ^1H do composto **9** (CDCl_3 , 400 MHz) em comparação com a literatura (CDCl_3 , 400 MHz) (de ANDRADE et al., 2014).

Posição	δ_{H} (J em Hz) Composto 9	δ_{H} (J em Hz) Literatura
H-1	4,61 s	4,68 m
H-2 α	2,48 – 2,53 m	2,55 – 2,60 m
H-2 β	2,48 – 2,53 m	2,55 – 2,60 m
H-3	5,43 s	5,48 m
H-4a	2,67 m	2,72 d (10,0)
H-10	6,79 sl	6,78 s
H-10b	2,67 m	2,63 d (10,0)
H-11 α	2,40 – 2,48 sl	2,45 – 2,53 m
H-11 β	2,40 – 2,48 sl	2,45 – 2,53 m
H-12 α	3,12 sl	3,13 ddd (9,6; 7,2; 3,6)
H-12 β	2,21 q (9,6)	2,23 q (9,6)
7-OMe	3,92 s	3,99 s
8-OMe	3,82 s	3,89 s
9-OMe	3,85 s	3,91 s
NMe	2,01 s	2,05 s

4.1.1.9 – Composto **10**

O composto **10** foi obtido nas subfrações FAcEt-2B, FHex-3D, BAcAc-3B-1, BHex-3C e FAcEt-2C.3. Foi feita a solubilização do composto em CDCl₃ e este foi encaminhado para análise de RMN de ¹H.

Foi identificado no espectro um hidrogênio singlete na região de hidrogênios aromáticos (δ 6,76 ppm), com integração de 1H. Três sinais singletos na região de metoxilas aromáticas (δ 4,00; 3,91 e 3,88 ppm) com integração de 3H cada e um sinal singlete de metoxila não aromática, com deslocamento de 3,49 ppm e integração para 3H. Os alcaloides de Amaryllidaceae que apresentam o grupo hemiacetal-lactona, como as homolicorinas, corriqueiramente apresentam dois ou três substituintes oxigenados no anel aromático. Duas metoxilas aromáticas devem estar nas posições C-8 e C-9, característico do esqueleto homolicorina, enquanto a outra deve estar localizada na posição C-7 e o hidrogênio aromático na posição C-10, conforme descrito por Hawksworth e colaboradores (1965). O sinal multipletto com deslocamento entre 4,17 - 4,18 ppm e integração de 1H indica a existência de um grupo substituinte na posição C-2, atribuído à metoxila não aromática *alfa*-orientada. Os demais sinais de hidrogênio apresentaram características peculiares de compostos pertencentes aos alcaloides do tipo homolicorina (BASTIDA; LAVILLA; VILADOMAT, 2006).

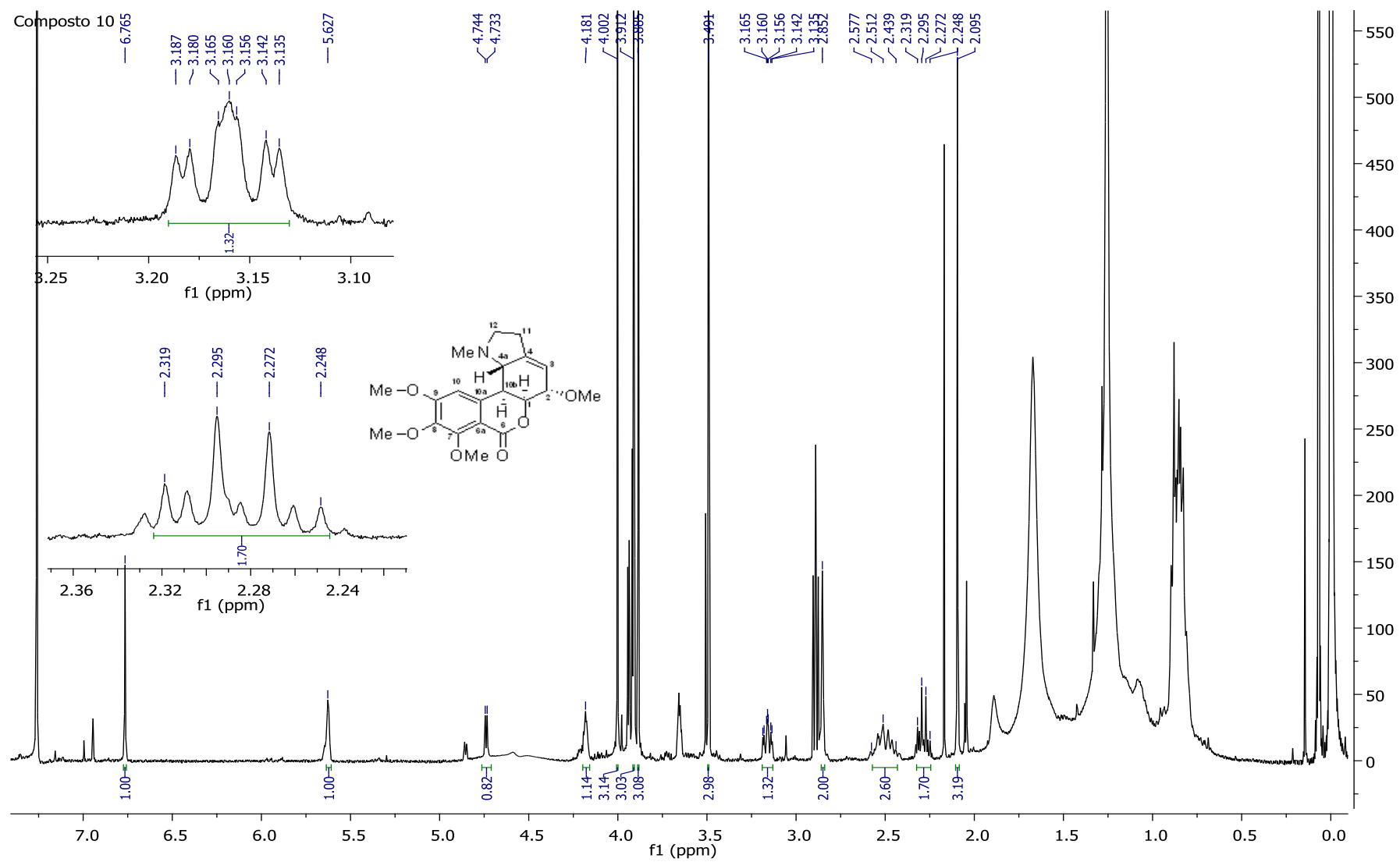


Figura 67: Espectro de RMN de ^1H do composto **10** (CDCl_3 , 400 MHz).

Após análise do espectro de RMN de ^1H e a comparação com os dados encontrados na literatura identificou-se o composto **10** como o alcaloide 2- α -7-dimetoxihomolicorina. Não foram encontrados dados na literatura sobre atividades biológicas atribuídas a esse alcaloide.

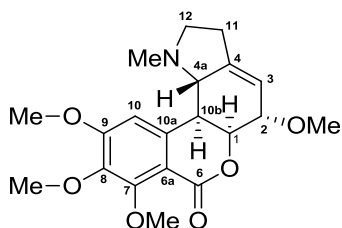


Figura 68: Fórmula estrutural do composto **10**.

Tabela 12: Dados de RMN de ^1H do composto **10** (CDCl_3 , 400 MHz) em comparação com a literatura (CDCl_3 , 500 MHz) (GIORDANI et al., 2011).

Posição	δ_{H} (J em Hz) Composto 10	δ_{H} (J em Hz) Literatura
H-1	4,73 <i>d</i> (4,4)	4,73 <i>d</i> (4,5)
H-2 β	4,17 – 4,18 <i>m</i>	4,18 <i>m</i>
H-3	5,62 <i>sl</i>	5,62 <i>sl</i>
H-4a	2,85 <i>s</i>	2,83 <i>s</i>
H-10	6,76 <i>s</i>	6,74 <i>s</i>
H-10b	2,85 <i>s</i>	2,83 <i>s</i>
H-11 α	2,43 – 2,57 <i>m</i>	2,52 <i>ddl</i> (9,0; 2,0)
H-11 β	2,43 – 2,57 <i>m</i>	2,46 <i>dl</i> (9,0)
H-12 α	3,16 <i>ddd</i> (9,6; 8,8; 2,8)	3,14 <i>ddd</i> (9,2; 8,0; 2,5)
H-12 β	2,28 <i>q</i> (9,6)	2,27 <i>q</i> (9,5)
2-OMe	3,49 <i>s</i>	3,49 <i>s</i>
7-OMe	4,00 <i>s</i>	4,00 <i>s</i>
8-OMe	3,88 <i>s</i>	3,88 <i>s</i>
9-OMe	3,91 <i>s</i>	3,90 <i>s</i>
NMe	2,09 <i>s</i>	2,08 <i>s</i>

4.1.1.10 – Composto **11**

O composto **11** foi isolado somente da fração BHex-3A, apresentando coloração amarelada. O mesmo foi solubilizado em CDCl_3 para análise de RMN de ^1H .

No espectro de RMN de ^1H foi observado um sinal singlete em δ 6,70 ppm (correspondente ao hidrogênio aromático), três singletos integrando para 3H, na região de metoxilas aromáticas (δ 3,86; 3,80; 3,78 ppm), um singlete referente ao grupo metoxila não aromático (δ 3,47 ppm) e um singlete integrando para 3H em 2,00 ppm, característico do grupo NMe. O hidrogênio singlete presente em 5,52 ppm é típico dos compostos do tipo homolicorina, que pertencem a classe dos hemiacetais, sugerindo a presença do grupo metoxila não aromático na posição 6.

Foram encontradas três metoxilas aromáticas no composto **11**, sendo que duas devem estar nas posições C-8 e C-9, que é característico dos alcaloides pertencentes ao tipo homolicorina e a terceira metoxila aromática foi atribuída à posição C-7, uma vez que a literatura relata que caso haja uma terceira metoxila aromática em alcaloides do tipo homolicorina, esta deve encontrar-se na posição C-7 e o hidrogênio aromático na posição C-10 (HAWKSWORTH et al., 1965). Os demais sinais de hidrogênio apresentaram características peculiares de compostos pertencentes aos alcaloides do tipo homolicorina (BASTIDA; LAVILLA; VILADOMAT, 2006).

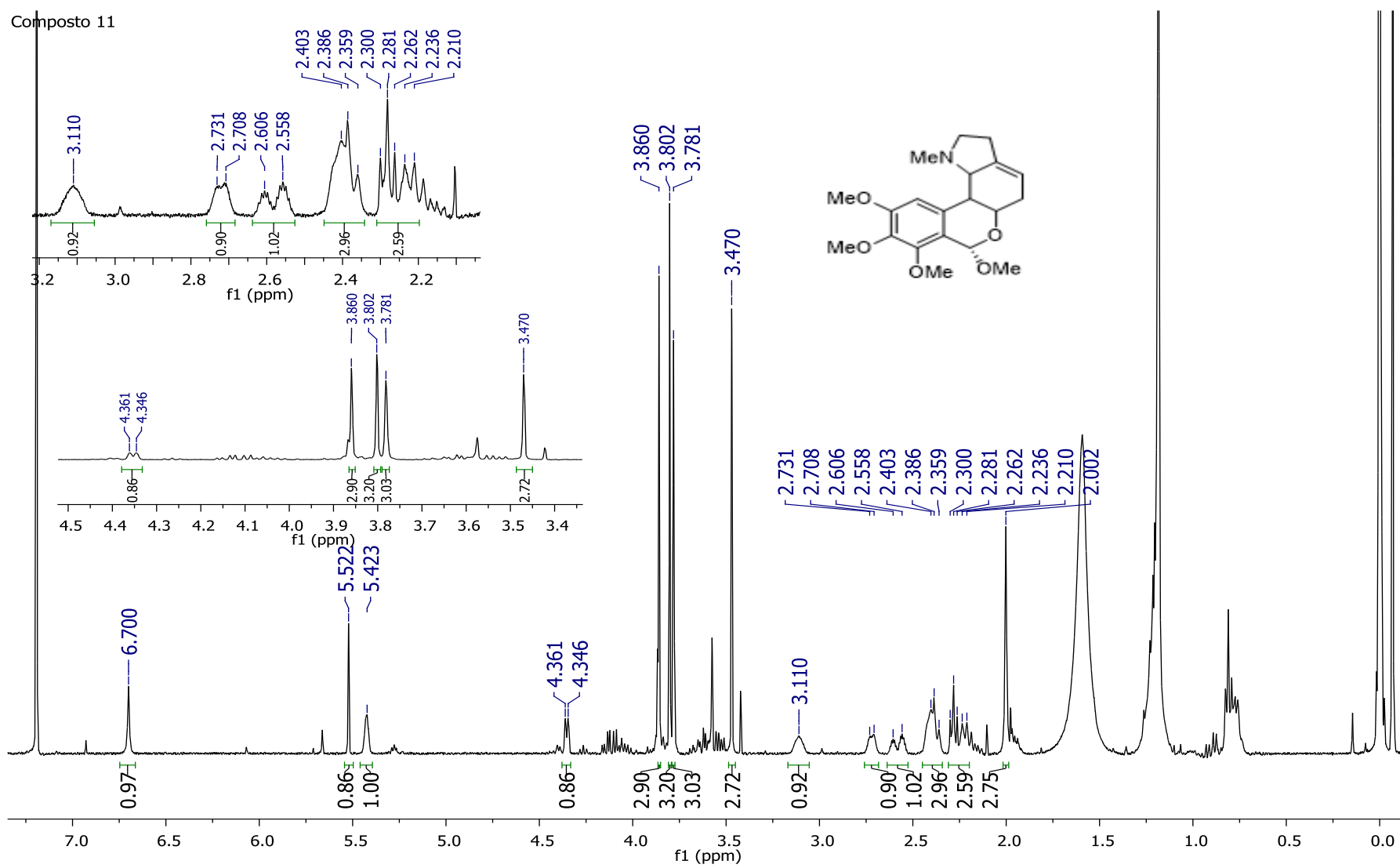


Figura 69: Espectro de RMN de ^1H do composto 11 (CDCl_3 , 400 MHz).

Os dados obtidos no espectro de RMN de ^1H , quando comparados à literatura, evidenciam o composto **11** como o alcaloide 7-metoxi-O-metillicorenina. A diferença nos deslocamentos químicos ocorre devido a utilização de solventes diferentes. Este composto foi isolado pela primeira vez a partir de *Zephyranthes candida*, onde foi observado a semelhança estrutural com o alcaloide nerinina, diferindo apenas na existência de uma metoxila na posição 6. No trabalho citado acima (LUO et al., 2012), o composto foi denominado O-metilnerinina e demonstrou baixa atividade citotóxica contra células cancerosas e saudáveis. No ano de 2014 o composto foi novamente isolado a partir de *Hippeastrum aulicum* (de ANDRADE et al., 2014), onde a nomenclatura foi mudada para 7-metoxi-O-metillicorenina.

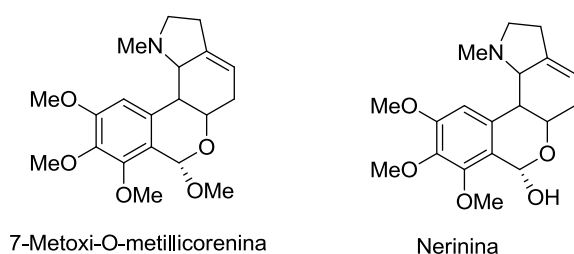


Figura 70: Estrutura química da 7-metoxi-O-metillicorenina e nerinina.

Tabela 13: Dados de RMN de ^1H do composto **11** (CDCl_3 , 400 MHz) em comparação com a literatura (CD_3OD , 500 MHz) (de ANDRADE et al., 2014).

Posição	δ_{H} (J em Hz) Composto 11	δ_{H} (J em Hz) literatura
H-1	4,35 <i>dl</i> (6,0)	4,40 <i>dl</i> (6,5)
H-2 α	2,53 – 2,62 <i>m</i>	2,67 <i>ddt</i> (19,0; 6,5; 3,0)
H-2 β	2,19 – 2,30 <i>m</i>	2,29 <i>dt</i> (19,5; 3,0)
H-3	5,42 <i>sl</i>	5,55 <i>sl</i>
H-4a	2,72 <i>dl</i> (9,2)	2,92 <i>dl</i> (10,0)
H-6	5,52 <i>s</i>	5,52 <i>s</i>
H-10	6,70 <i>s</i>	6,85 <i>s</i>
H-10b	2,34 – 2,44 <i>m</i>	2,47 <i>dd</i> (10,0; 2,0)
H-11 α	2,34 – 2,44 <i>m</i>	2,49 – 2,58 <i>m</i>
H-11 β	2,34 – 2,44 <i>m</i>	2,49 – 2,58 <i>m</i>
H-12 α	3,11 <i>sl</i>	3,22 <i>ddd</i> (10,5; 7,5; 3,0)
H-12 β	2,19 – 2,30 <i>m</i>	2,42 <i>m</i>
6-OMe	3,47 <i>s</i>	3,51 <i>s</i>
7-OMe	3,86 <i>s</i>	3,89 <i>s</i>
8-OMe	3,78 <i>s</i>	3,82 <i>s</i>
9-OMe	3,80 <i>s</i>	3,87 <i>s</i>
N-Me	2,00 <i>s</i>	2,11 <i>s</i>

4.1.1.11 – Composto **12**

O composto **12** foi isolado na subfração BAcEt-3A.3A.3 e apresentou-se como um sólido amarelado. O composto foi solubilizado em CDCl_3 para análise de RMN de ^1H .

Foi detectado no espectro de RMN de ^1H a existência de dois hidrogênios singletos *p*-orientados na região de hidrogênios aromáticos (δ 7,48 e 6,95 ppm) com integração de 1H. Dois dubletos, integrando para 2H, com deslocamento de 6,07 ppm ($J = 1,2$ Hz), característico do grupo metilenodioxifenila. Foi observado um sinal de hidrogênio multipletos, com deslocamento químico entre 5,65 – 5,67 ppm, atribuído a posição olefínica H-3. Um sinal de hidrogênio singletos, com deslocamento químico de 4,60 ppm, atribuído a posição H-1. Um sinal de hidrogênio multipletos com deslocamento entre 4,41 - 4,38 ppm, que indica substituição na posição C-2, fazendo com que o hidrogênio fique mais desblindado quando comparado com a homolicorina. Foi observado um sinal de hidrogênio duplo duplo dupletos, com δ 3,16 ppm ($J = 10,0; 7,2; 3,2$ Hz), atribuído ao hidrogênio da posição H-12 α . Um dubletos, com deslocamento químico de 2,64 e integração de 1H, atribuído a posição H-4a. Um duplo dupletos, com deslocamento químico de 2,88 e integração de 1H, atribuído a posição H-10b. O espectro demonstrou também, uma constante de acoplamento grande ($J = 9,2$ Hz) entre H-4a e H-10b, confirmando assim uma relação *trans*-di axial entre eles. Um sinal de hidrogênio multipletos, com δ 2,48 – 2,56 ppm, atribuído aos hidrogênios da posição H-11. Um sinal de hidrogênio quadrupletos, com deslocamento de 2,26 ppm ($J = 9,6$ Hz), atribuído a posição H-12 β . Os hidrogênios da posição C-12 apresentaram-se conforme descrito por Bastida; Lavilla; Viladomat (2006), onde o 12 α (δ 3,16 ppm) mostrou-se mais desblindado que o 12 β (δ 2,26 ppm), devido à relação *cis* com o par de elétrons livre do átomo de nitrogênio do grupo NMe (δ 2,06 ppm).

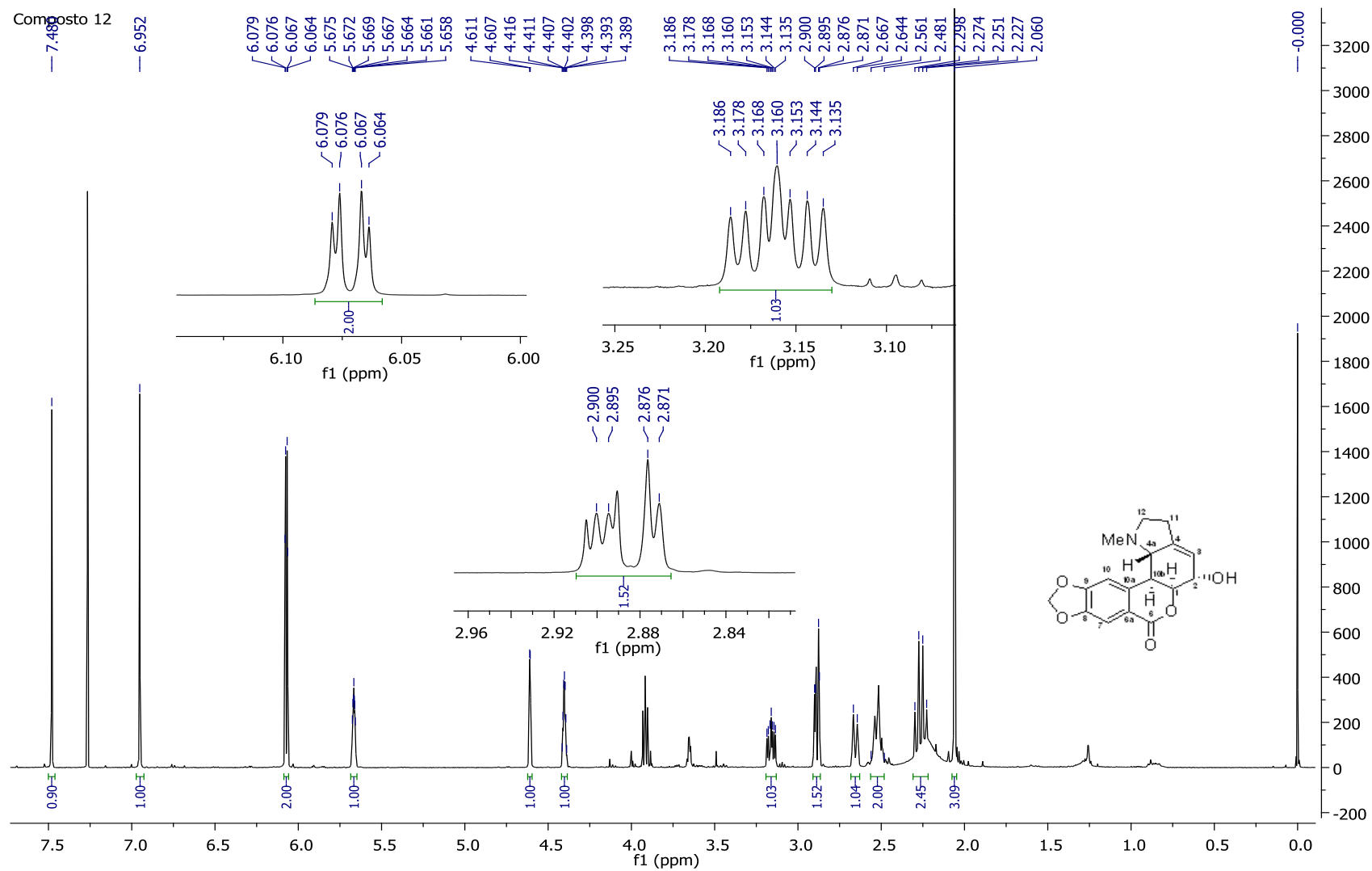


Figura 71: Espectro de RMN de ^1H do composto 12 (CDCl_3 , 400 MHz).

Após análise do espectro de RMN de ^1H e a comparação com a literatura classificou-se o composto **12** como o alcaloide hippeastrina, um alcaloide pertencente ao esqueleto tipo homolicorina.

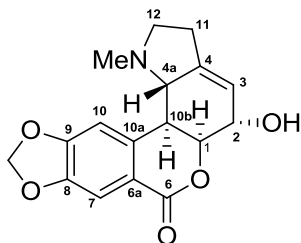


Figura 72: Fórmula estrutural do composto **12**.

Há relatos na literatura que o alcaloide hippeastrina apresenta atividade citotóxica contra células fibroblásticas não-tumorais (WENIGER et al., 1995). Foi evidenciado também que a hippeastrina é ativa como agente antiviral contra *Herpes simplex* tipo 1 e desempenha boa atividade antifúngica contra *Candida albicans* (RENARD-NOZAKI et al., 1989; EVIDENTE et al., 2004; IEVEN, et al., 1982).

Tabela 14: Dados de RMN de ^1H do composto **12** (CDCl_3 , 400 MHz) em comparação com a literatura (CDCl_3 , 500 MHz) (ALMANZA et al., 1996).

Posição	δ_{H} (J em Hz) Composto 12	δ_{H} (J em Hz) Literatura
H-1	4,60 s	4,58 s
H-2	4,41 – 4,38 m	4,38 s
H-3	5,67 – 5,65 m	5,63 s
H-4a	2,64 d (9,2)	2,62 d (9,5)
H-7	7,48 s	7,45 s
H-10	6,95 s	6,92 s
H-10b	2,88 dd (9,6; 2,0)	2,85 dd (9,5; 2,5)
H-11 (2H)	2,56 – 2,48 m	2,48 m
H-12 α	3,16 ddd (10,0; 7,2; 3,2)	3,13 ddd (10,0; 8,0; 3,0)
H-12 β	2,26 q (9,6)	2,23 ddd (10,0; 9,0; 9,0)
OCH ₂ O	6,07 2d (1,2)	6,04 2d (1,5)
NMe	2,06 s	2,03 s

4.1.2 – Compostos com esqueleto do tipo galantamina

4.1.2.1 – Composto 13

O composto **13** foi isolado na subfração BAcEt-3E, BHex-3C e FAcEt-2B e apresentava coloração amarelada. O composto foi solubilizado em CDCl_3 para análise de RMN de ^1H .

Foram identificados dois hidrogênios dubletos na região de hidrogênios aromáticos (δ 6,60 e 6,50 ppm), com constante de acoplamento de 8 Hz, indicando orientação *orto* entre eles. Dois sinais de hidrogênios olefínicos com deslocamento de 6,00 e 5,92 ppm. Um sinal de hidrogênio singleto largo, com deslocamento de 4,53 ppm, atribuído a posição H-1. Um tripleto largo, com deslocamento de 4,10 ppm ($J = 4,0$ Hz) e dois hidrogênios dubletos com constante de acoplamento de 14,8 Hz, indicando os hidrogênios da posição C-6 (H-6 α = 3,62 ppm; H-6 β = 4,01 ppm). Um tripleto largo, com deslocamento químico de 3,20 ppm ($J = 12,0$ Hz), atribuído ao hidrogênio da posição H-12 β . Um sinal de hidrogênio multipletto, com deslocamento entre 2,98 – 3,02 ppm, atribuído ao hidrogênio H-12 α . Um sinal de hidrogênio multipletto, com δ entre 2,55 – 2,59 ppm, atribuído ao H-2 β . Um sinal de hidrogênio com deslocamento entre 1,99 – 2,07 ppm, atribuído ao H-2 α e um sinal singleto com deslocamento químico de 2,34 ppm e integração de 3H, atribuído aos hidrogênios do grupo NMe.

Após análise do espectro de RMN de ^1H e a comparação com os dados de alcaloides de Amaryllidaceae descritos por Bastida; Lavilla; Viladomat (2006), classificou-se o composto **13** como um alcaloide que apresenta o esqueleto do tipo galantamina deficiente de uma metoxila aromática.

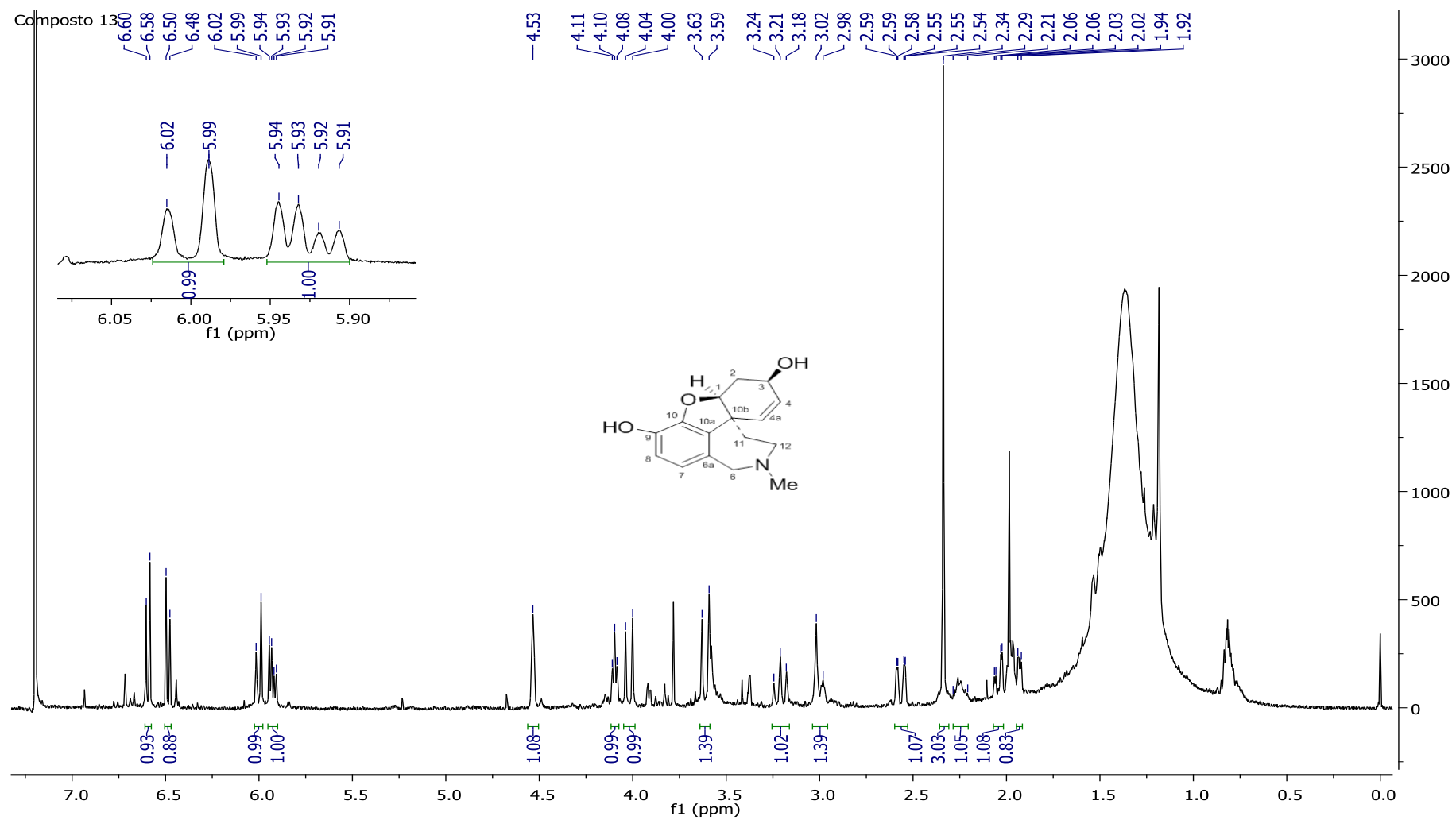


Figura 73: Espectro de RMN de ^1H do composto 13 (CDCl_3 , 400 MHz).

A análise do espectro de RMN de ^1H e a comparação com a literatura levam a identificação do composto **13** como o alcaloide sanguinina.

A sanguinina é um dos alcaloides de Amaryllidaceae mais promissores na atualidade, uma vez que, assim como a galantamina, apresenta grande atividade inibitória frente à enzima acetilcolinesterase. Testes realizados por Houghton; Ren; Howes (2006) determinaram o potencial de inibição da enzima acetilcolinesterase, sendo a sanguinina o mais potente entre os alcaloides testados (sanguinina (IC_{50} 0,10 μM); galantamina (IC_{50} 1,07 μM); 11-hidroxisanguinina (IC_{50} 1,61 μM)), sendo a sanguinina dez vezes mais potente que a galantamina, que é utilizada na atualidade para o tratamento da Doença de Alzheimer.

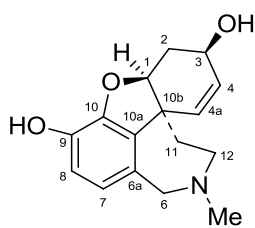


Figura 74: Fórmula estrutural do composto **13**.

Tabela 15: Dados de RMN de ^1H do composto **13** (CDCl_3 , 400 MHz) em comparação com a literatura (CD_3OD , 250 MHz) (MARY et al., 1998).

Posição	δ_{H} (J em Hz) Composto 13	δ_{H} (J em Hz) Literatura
H-1	4,53 <i>s</i> /	4,52 <i>s</i> /
H-2 α	2,07 – 1,99 <i>m</i>	2,10 <i>ddd</i> (16,0; 5,0; 3,0)
H-2 β	2,59 – 2,55 <i>m</i>	2,49 <i>m</i>
H-3	4,10 <i>tl</i> (4,0)	4,15 <i>tl</i> (4,5)
H-4	5,92 <i>dd</i> (4,8; 0,8)	5,91 <i>dd</i> (10,5; 5,0)
H-4a	6,00 <i>d</i> (12,0)	6,11 <i>d</i> (10,5)
H-6 α	3,62 <i>d</i> (14,8)	3,64 <i>d</i> (15,0)
H-6 β	4,01 <i>d</i> (14,8)	4,06 <i>d</i> (15,0)
H-7	6,60 <i>d</i> (8,0)	6,57 <i>d</i> (8,0)
H-8	6,50 <i>d</i> (8,0)	6,52 <i>d</i> (8,0)
H-11 α	1,60 – 1,59 <i>m</i>	1,65 <i>m</i>
H-11 β	2,07 – 1,99 <i>m</i>	2,05 <i>m</i>
H-12 α	2,98 – 3,02 <i>m</i>	3,01 <i>m</i>
H-12 β	3,20 <i>tl</i> (12,0)	3,22 <i>tl</i> (12,5)
NMe	2,34 <i>s</i>	2,38 <i>s</i>

4.1.2.2 – Composto **14**

O composto **14** foi isolado nas subfrações BAcMe-1 e BAcEt-3A.4E. O composto foi solubilizado em CD₃OD para a análise de RMN de ¹H.

Foram obtidos no espectro de RMN de ¹H dois hidrogênios dubletos na região de hidrogênios aromáticos, com constante de acoplamento de 8,0 Hz, característico de acoplamento *orto* entre os hidrogênios aromáticos. Foram encontrados dois sinais na região de hidrogênios olefínicos (δ 6,09 e 6,03 ppm) e sinais de hidrogênios dubletos em 3,90 ppm e 3,55 ppm, com constante de acoplamento de 14,8 Hz, característico dos hidrogênios da posição C-6. Os demais sinais de hidrogênios condizem com o descrito para o composto **13** anteriormente descrito e com a base de dados relatada por Bastida; Lavilla; Viladomat (2006) para o esqueleto do tipo galantamina e o alcaloide sanguinina, porém foi identificado somente um hidrogênio para a posição H-11, indicando a presença de um grupo hidroxila na posição C-11.

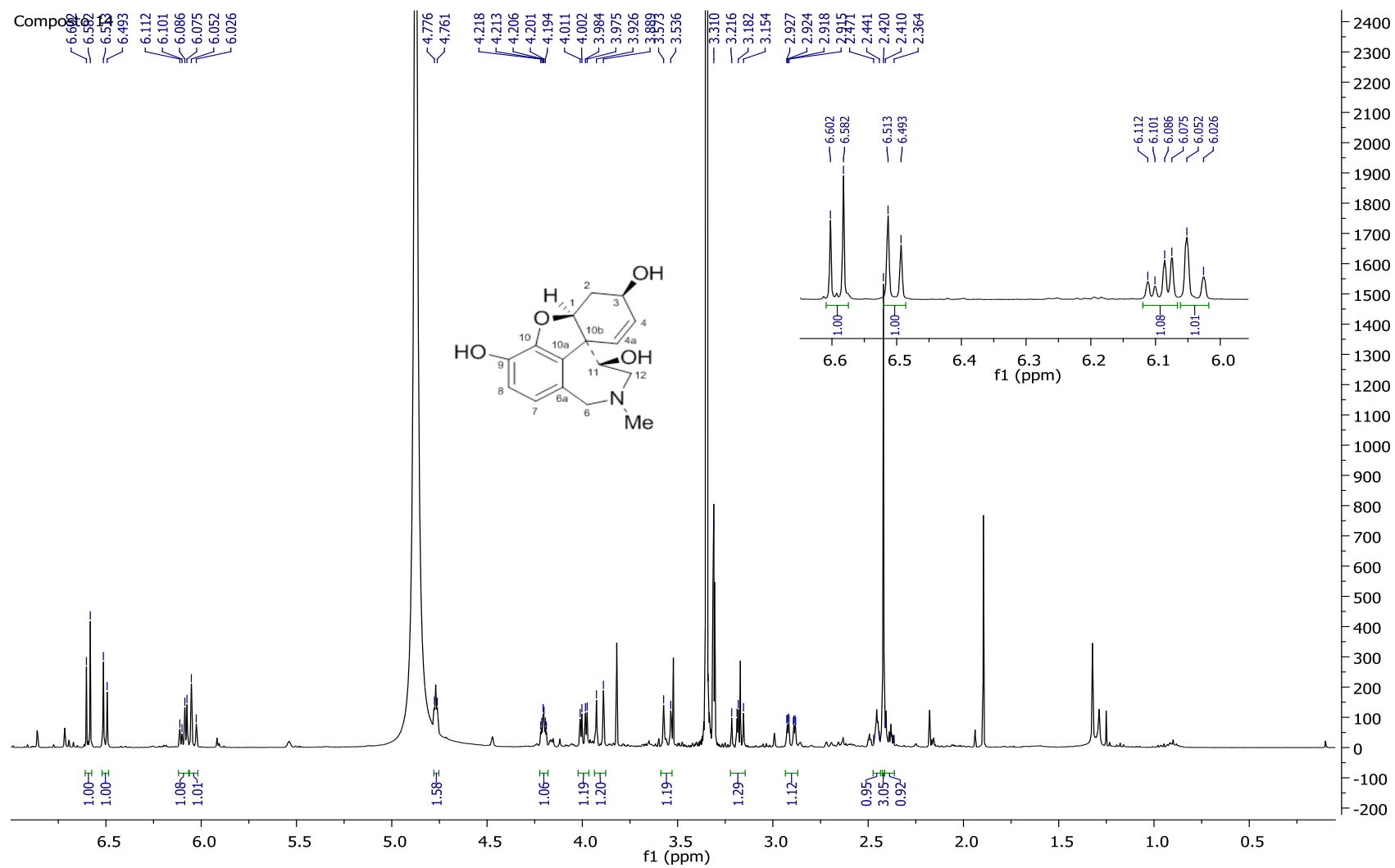


Figura 75: Espectro de RMN de ^1H do composto 14 (CD_3OD , 400 MHz).

Após análise dos dados de RMN de ^1H e a comparação com a literatura, pôde-se determinar o composto **14** como o alcaloide 11- β -hidroxisanguinina. Em estudo realizado por Zhan e colaboradores (2016), este alcaloide apresentou baixa atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase (IC_{50} 168,7 μM), quando comparada com a galantamina (IC_{50} 1,07 μM), com a sanguinina (IC_{50} 0,10 μM) e a 11-hidroxisanguinina (IC_{50} 1,61 μM) (HOUGHTON; REN; HOWES, 2006). Tamanha diferença no valor da IC_{50} dos alcaloides do tipo galantamina pôde ser confirmada pelo estudo de relação estrutura-atividade desenvolvido por Zhan e colaboradores (2016), onde se concluiu que a dupla ligação entre C-4 e C-4a e a substituição na posição C-9 por uma hidroxila são essenciais para a atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase. Porém, a presença de um grupo hidroxila na posição C-11 reduz drasticamente a atividade do composto frente à enzima.

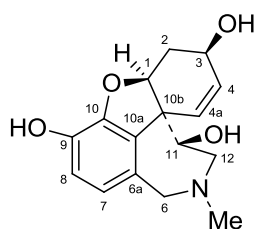


Figura 76: Fórmula estrutural do composto **14**.

Tabela 16: Dados de RMN de ^1H do composto **14** (CD_3OD , 400 MHz) em comparação com a literatura (CD_3OD , 400 MHz) (ZHAN et al., 2016).

Posição	δ_{H} (J em Hz) Composto 14	δ_{H} (J em Hz) Literatura
H-1	4,76 – 4,77 <i>m</i>	4,77 <i>dd</i> (3,3; 2,7)
H-2 α	2,41 – 2,36 <i>m</i>	2,40 <i>ddd</i> (15,4; 2,9; 2,1)
H-2 β	2,47 – 2,44 <i>m</i>	2,48 <i>ddd</i> (15,4; 5,0; 3,3)
H-3	4,20 <i>td</i> (4,8; 2,0)	4,20 <i>ddd</i> (5,0; 4,6; 2,1)
H-4	6,09 <i>dd</i> (10,4; 4,4)	6,09 <i>dd</i> (10,5; 4,6)
H-4a	6,03 <i>d</i> (10,4)	6,04 <i>d</i> (10,5)
H-6 α	3,55 <i>d</i> (14,8)	3,57 <i>dl</i> (14,8)
H-6 β	3,90 <i>d</i> (14,8)	3,92 <i>d</i> (14,8)
H-7	6,50 <i>d</i> (8,0)	6,51 <i>d</i> (8,2)
H-8	6,59 <i>d</i> (8,0)	6,59 <i>d</i> (8,2)
H-11	3,99 <i>dd</i> (10,8; 3,6)	3,99 <i>dd</i> (11,1; 3,5)
H-12 α	2,90 <i>dd</i> (3,6; 1,2)	2,91 <i>ddd</i> (13,7; 3,5; 1,1)
H-12 β	3,18 <i>dd</i> (13,6; 11,2)	3,19 <i>dd</i> (13,7; 11,1)
NMe	2,42 <i>s</i>	2,43 <i>s</i>

4.1.2 – Composto com esqueleto do tipo tazetina

4.1.2.1 – Composto 15

O composto **15** foi isolado na subfração BAcEt-3A.3A.4 e apresentou-se como um sólido amarelado. O composto foi solubilizado em CDCl_3 para análise de RMN de ^1H .

No espectro de RMN de ^1H foram identificados dois hidrogênios singletos referentes a hidrogênios aromáticos (δ 6,85 e 6,50 ppm) *p*-orientados, atribuídos as posições H-10 e H-7, respectivamente. Um sinal de hidrogênio duplo triplete, com deslocamento químico de 6,14 ppm ($J = 10,8; 1,5$ Hz), atribuído a posição H-2. Um singlete largo em 5,90 ppm, integrando para 2H, característico do grupo metilenodioxifenila. Um sinal de hidrogênio duplo triplete, com deslocamento químico de 5,61 ppm ($J = 10,4; 1,6$ Hz), atribuído a posição H-1. Um sinal de hidrogênio duplo dubleto, com δ 4,96 ppm ($J = 14,8; 0,8$ Hz), atribuído a posição H-6' e um sinal de hidrogênio dubleto, com deslocamento químico de 4,64 ppm ($J = 14,8$ Hz), atribuído a posição H-6. Um hidrogênio multiplete, com deslocamento químico entre 4,10 – 4,16 ppm, atribuído ao hidrogênio da posição H-3. Um singlete na região de metoxilas aromáticas (δ 3,46 ppm) integrando para 3H. Dois hidrogênio dubletos, com δ 3,31 e 2,68 ppm ($J = 10,4$ Hz) e integração de 1H cada, característico das posições H-12' e H-12 respectivamente. Um sinal de hidrogênio multiplete entre 2,85 – 2,89 ppm, atribuído a posição H-4a. Um singlete com deslocamento de 2,40 ppm e integração para 3H, característico do grupo NMe. Um hidrogênio multiplete entre 2,19 – 2,27 ppm, atribuído a posição H-4 α e um sinal de hidrogênio duplo duplo dubleto, com deslocamento químico de 1,63 ppm ($J = 13,6; 10,0; 2,4$ Hz) característico da posição H-4 β .

Os dados observados no espectro de RMN de ^1H condizem com o descrito por Bastida; Lavilla; Viladomat (2006) para o esqueleto do tipo tazetina.

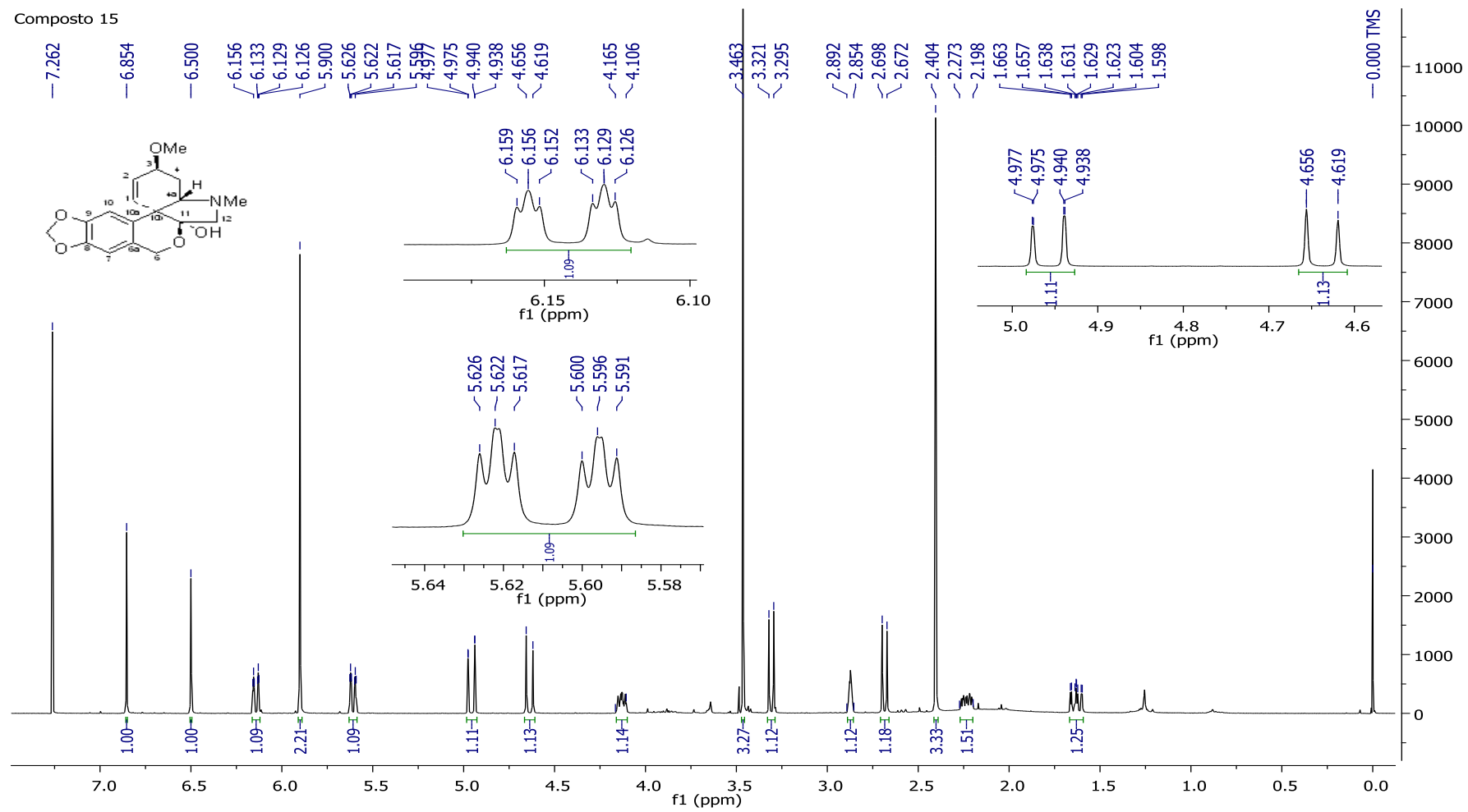


Figura 77: Espectro de RMN de ^1H do composto **15** (CDCl_3 , 400 MHz).

Os dados obtidos pelo espectro de RMN de ^1H , quando comparados à literatura, evidenciam o composto **15** como o alcaloide tazetina. Ensaios biológicos realizados com a tazetina demonstraram uma média atividade contra determinados tipos de células tumorais, com leve citotoxicidade quando testada em linhagens de fibroblastos (ANTOUN et al., 1993; FURUSAKA et al., 1980). Foi constatada também uma fraca atividade hipotensora, uma leve interação com o ácido desoxirribonucleico (ADN) humano e baixa atividade como agente antimalárico (LUO et al., 2012; SCHEMEDA-HIRSSCHMANN et al., 2000b). Estudos realizados por Szlavik e colaboradores (2004) indicam que alcaloide tazetina apresenta alta atividade antirretroviral e baixo índice terapêutico.

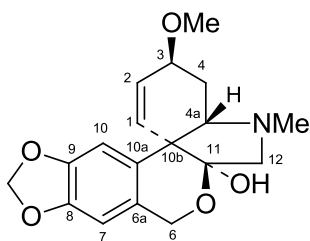


Figura 78: Fórmula estrutural do composto **15**.

Tabela 17: Dados de RMN- ^1H do composto **15** (CDCl_3 , 400 MHz) em comparação com a literatura (CDCl_3 , 90 MHz) (GHOSAL; KUMAR; SINGH, 1984).

Posição	δ_{H} (J em Hz) Composto 15	δ_{H} (J em Hz) literatura
H-1	5,61 <i>dt</i> (10,4; 1,6)	5,60 <i>ddd</i> (10,5; 2,0; 1,5)
H-2	6,14 <i>dt</i> (10,8; 1,6)	6,15 <i>ddd</i> (10,5; 2,0; 1,2)
H-3	4,16 – 4,10 <i>m</i>	4,13 <i>m</i>
H-4 α	2,27 – 2,19 <i>m</i>	2,20 <i>m</i>
H-4 β	1,63 <i>ddd</i> (13,6; 10,0; 2,4)	1,60 <i>m</i>
H-4a	2,89 – 2,85 <i>m</i>	2,83 <i>m</i>
H-6	4,64 <i>d</i> (14,8)	4,65 <i>d</i> (14,7)
H-6'	4,96 <i>dd</i> (14,8; 0,8)	4,95 <i>dd</i> (14,7; 0,5)
H-7	6,50 <i>s</i>	6,50 <i>sl</i>
H-10	6,85 <i>s</i>	6,85 <i>s</i>
H-12	2,68 <i>d</i> (10,4)	2,65 <i>d</i> (10,5)
H-12'	3,31 <i>d</i> (10,4)	3,30 <i>d</i> (10,5)
OCH ₂ O	5,90 <i>s</i>	5,90 <i>s</i>
OMe	3,46 <i>s</i>	3,45 <i>s</i>
NMe	2,40 <i>s</i>	2,40 <i>s</i>

4.1.3 – Composto com esqueleto do tipo haemantamina

4.1.3.1 – Composto **16**

O composto **16** foi isolado na subfração BAcEt-3A.5C e apresentou-se como um sólido branco. O composto foi solubilizado em CDCl_3 para análise de RMN de ^1H .

Foram identificados no espectro de RMN de ^1H dois hidrogênios singletos na região de hidrogênios aromáticos (δ 6,83 e 6,46 ppm), dois sinais de hidrogênios olefínicos e um duplo dubleto com integração de 2H e deslocamento de 5,90 ppm, característico do grupo metilenodioxifenila. Foram detectados hidrogênios dubletos em 4,32 ppm e 3,69 ppm, com constante de acoplamento de 16,8 Hz, característico dos hidrogênios da posição C-6. Os dados principais obtidos no espectro de RMN de ^1H do composto **16**, quando comparados a base de dados de alcaloides de Amaryllidaceae, indicam a existência do esqueleto haemantamina ou crinina, diferindo unicamente na orientação da ponte. Para identificação correta do esqueleto faz-se necessário a análise de dicroísmo circular (DC).

Os espectros de DC dos alcaloides da série fenantridina, os quais apresentam transições de UV (ultravioleta) e DC dominadas pelo cromóforo metilenodioxifenila, são caracterizados por duas bandas de DC antipodais em cerca de 294 e 245 nm, ambas correspondentes aos valores máximos observados no UV (WAGNER; PHAM; DÖPKE, 1996). A forma do espectro de DC está relacionada à estereoquímica da junção dos anéis B e C e, no caso de enantiômeros, o que se observa é que um espectro é a imagem especular do outro, ocorrendo a inversão do efeito Cotton de positivo para negativo e vice-versa.

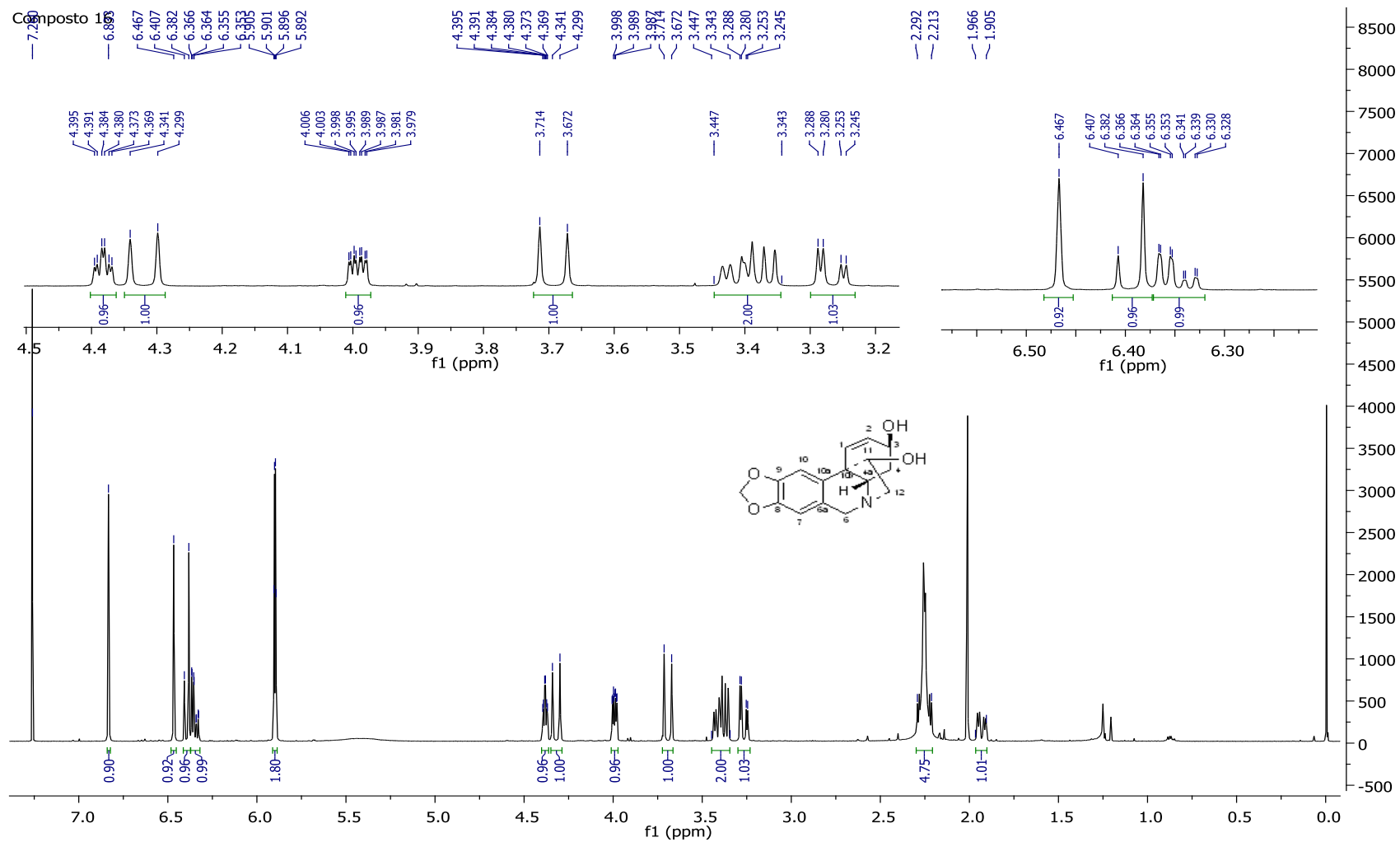


Figura 79: Espectro de RMN de ^1H do composto 16 (CDCl_3 , 400 MHz).

O composto **16** apresentou um espectro de dicroísmo circular com efeito cotton negativo em 244 nm e efeito cotton positivo em 293 nm, confirmando a orientação da ponte em *alfa* e o esqueleto do tipo haemantamina, conforme descrito por Deangelis e Wildman (1969) para os compostos com este esqueleto.

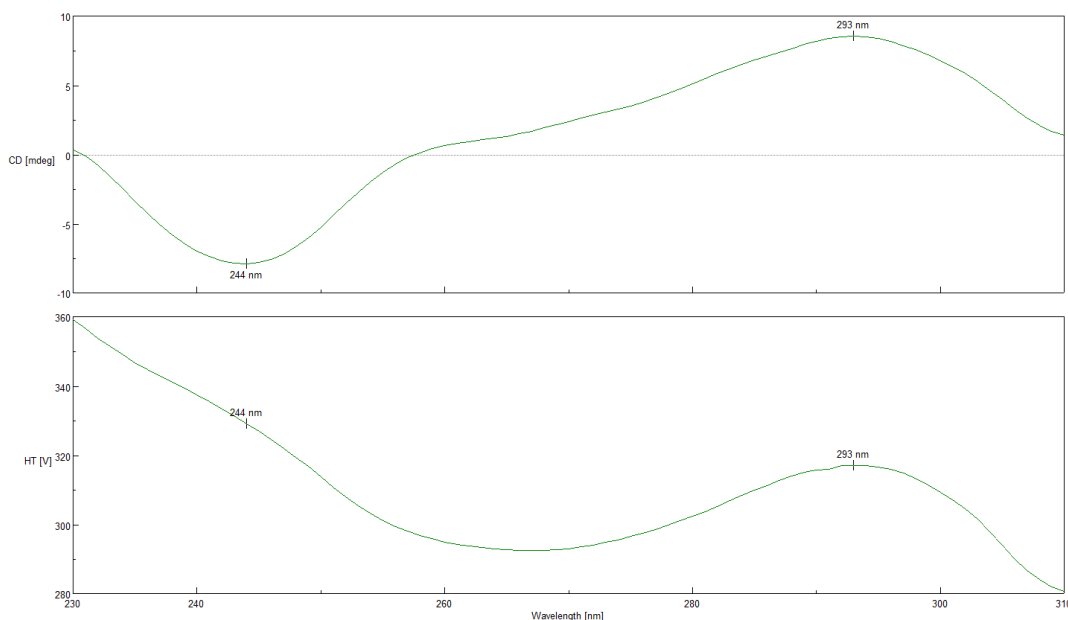


Figura 80: Resultado do teste de Dicroísmo Circular do composto **16**.

Após análise dos dados obtidos pela técnica de RMN de ^1H e pelo teste de dicroísmo circular, quando comparados à literatura, demonstram que o composto **16** é o alcaloide 11-hidroxivitatina. As diferenças nos deslocamentos químicos dos hidrogênios podem ser explicadas pela utilização de diferentes solventes nas análises.

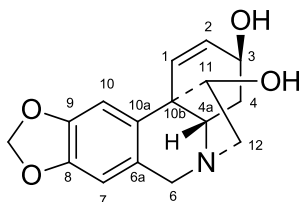


Figura 81: Fórmula estrutural do composto **16**.

Tabela 18: Dados de RMN de ^1H do composto **16** (CDCl_3 , 400 MHz) em comparação com a literatura (CD_3OD , 270 MHz) (EVIDENTE, 1986).

Posição	δ_{H} (J em Hz) Composto 16	δ_{H} (J em Hz) Literatura
H-1	6,39 <i>d</i> (10,0)	6,41 <i>d</i> (9,9)
H-2	6,34 <i>dd</i> (4,4; 0,8)	6,19 <i>dd</i> (9,9; 4,8)
H-3	4,38 <i>td</i> (4,4; 1,6)	4,28 <i>ddd</i> (4,8; 4,8; 1,5)
H-4 α	2,29 – 2,21 <i>m</i>	2,28 <i>ddd</i> (13,6; 13,6; 4,8)
H-4 β	1,96 – 1,90 <i>m</i>	1,85 <i>ddd</i> (13,6; 4,8; 1,5)
H-4a	3,44 – 3,34 <i>m</i>	3,47 <i>dd</i> (13,6; 4,8)
H-6 α	3,69 <i>d</i> (16,8)	3,84 <i>d</i> (16,9)
H-6 β	4,31 <i>d</i> (16,8)	4,35 <i>d</i> (16,9)
H-7	4,46 <i>s</i>	6,56 <i>s</i>
H-10	6,83 <i>s</i>	6,94 <i>s</i>
H-11	3,99 <i>dd</i> (3,2; 1,2)	3,98 <i>dd</i> (7,0; 3,7)
H-12 <i>endo</i>	3,26 <i>dd</i> (14,0; 3,2)	3,20 <i>dd</i> (13,6; 3,7)
H-12 <i>exo</i>	3,44 – 3,34 <i>m</i>	3,50 <i>dd</i> (13,6; 7,0)
OCH ₂ O	5,89 <i>dd</i> (3,6; 1,6)	5,89 <i>s</i>

4.1.3 – Composto com esqueleto do tipo montanina

4.1.3.1 – Composto 17

O composto **17** foi isolado na subfração BAcEt-3A.5D, apresentando coloração branca. O composto foi solubilizado em CD_3OD para análise de RMN de ^1H .

A análise do espectro de RMN de ^1H , detectou dois sinais de hidrogênios singletos na região de hidrogênios aromáticos (δ 6,64 e 6,57 ppm), um hidrogênio dubleto com deslocamento químico de 5,89 ppm e integração de 2H (característico do grupo metilenodioxifenila) e um hidrogênio singlete largo com deslocamento de 5,57 ppm, característico de hidrogênio olefínico. A presença de dois hidrogênios dubletos correspondentes ao sistema A/B dos hidrogênios benzílicos da posição C-6 (δ 4,40 e 3,94 ppm) excluem a presença do grupo lactona no anel B. A presença de dois hidrogênios singletos largos, com deslocamentos de 3,97 e 3,88 ppm, evidenciam a presença de substituinte hidroxila nas posições C-3 e C-2, respectivamente, uma vez que estes hidrogênios encontram-se desblindados

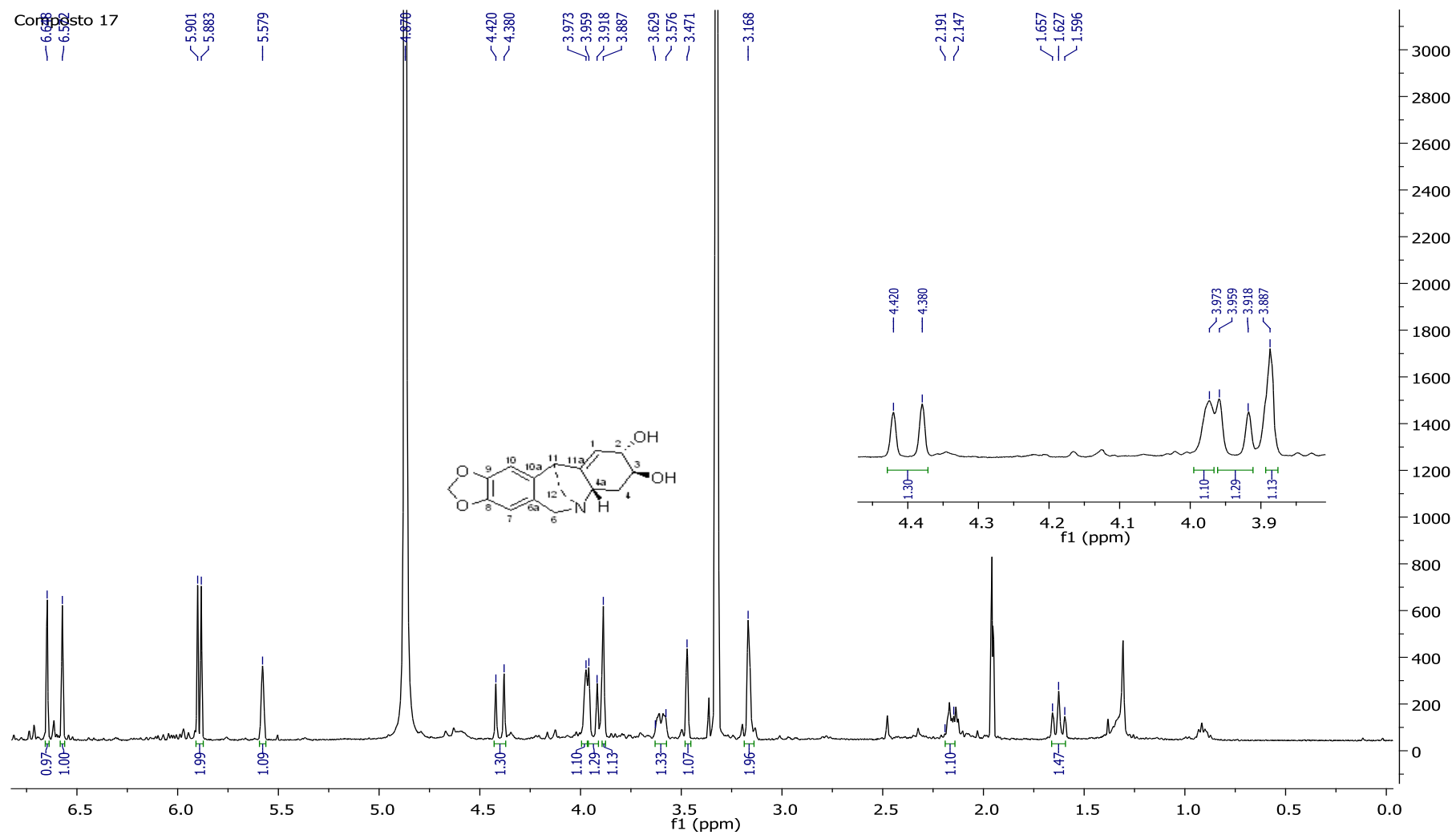


Figura 82: Espectro de RMN de ^1H do composto 17 (CD_3OD , 400 MHz).

conforme é descrito para esse esqueleto. A presença de um sinal tripleto largo em 1,62 ppm ($J = 12,0\text{Hz}$) e o multipletto entre 2,19 e 2,14 ppm demonstram a ausência de substituinte na posição C-4.

Após análise dos resultados e comparação com a literatura identificou-se o composto **17** como sendo o alcaloide pancracina. As diferenças apresentadas nos deslocamentos químicos ocorre devido a diferença de solventes utilizados para análise. A pancracina é pertencente ao esqueleto tipo montanina. Essa classe de alcaloides não apresenta muitos relatos na literatura sobre atividades biológicas. Entretanto, a pancracina demonstrou ser ativa contra cepas de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, assim como uma fraca atividade contra *Plasmodium falciparum*, *Trypanossoma cruzi* e *T. brucei rhodesiense* (EVIDENTE et al., 2004; BASTIDA; LAVILLA; VILADOMAT, 2006; LABRAÑA et al., 2002).

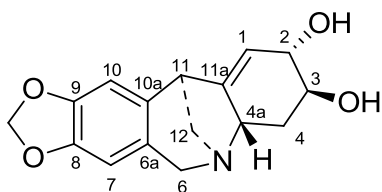


Figura 83: Fórmula estrutural do composto **17**.

Tabela 19: Dados de RMN de ^1H do composto **17** (CD_3OD , 400 MHz) em comparação com a literatura (DMSO-D_6 , 400 MHz) (ALI; MESBAH; FRAHM, 1984).

Posição	δ_{H} (J em Hz) Composto 17	δ_{H} (J em Hz) Literatura
H-1	5,57 <i>sl</i>	5,37 <i>dddd</i> (1,8; 1,8; 1,8; 1,0)
H-2	3,88 <i>sl</i>	3,73 <i>dddd</i> (6,0; 1,8; 1,6; 1,0)
H-3	3,97 <i>sl</i>	3,65 <i>dddd</i> (3,8; 3,0; 2,3; 1,8)
H-4 α	1,62 <i>tl</i> (12,0)	1,36 <i>ddd</i> (12,0; 11,5; 2,3)
H-4 β	2,14 – 2,19 <i>m</i>	1,83 <i>ddd</i> (4,5; 3,8; 1,0)
H-4a	3,57 – 3,62 <i>m</i>	3,20 <i>ddd</i> (11,5; 4,5; 1,8)
H-6 α	4,40 <i>d</i> (16,0)	4,16 <i>dl</i> (16,5)
H-6 β	3,94 <i>d</i> (16,0)	3,63 <i>dl</i> (16,5)
H-7	6,57 <i>s</i>	6,60 <i>sl</i>
H-10	6,64 <i>s</i>	6,67 <i>sl</i>
H-11	3,47 <i>sl</i>	3,25 <i>sl</i>
H-12 ax	3,16 <i>sl</i>	2,86 <i>sl</i>
H-12 eq	3,16 <i>sl</i>	2,86 <i>sl</i>
OCH ₂ O	2,90 <i>d</i> (7,2)	5,90 (2 <i>d</i>)

4.1.3 – Composto com outro tipo de esqueleto

4.1.3.1 – Composto **18**

O composto **18** foi obtido nas subfrações BHex-1A e BAcEt-3A.1A. Este se apresentou como um sólido de coloração castanho clara, sendo facilmente solubilizado em CDCl_3 para análise de RMN de ^1H .

As principais características do espectro de RMN de ^1H do composto **18** são:

- a) um hidrogênio singleto com deslocamento de 9,10 ppm, integrando para 1H, correspondente à posição H-6;
- b) um sinal de hidrogênio duplo dubleto, com deslocamento químico de 8,40 ppm ($J = 8,1; 1,5$ Hz) e integração de 1H, correspondente à posição H-1;
- c) um sinal de hidrogênio duplo dubleto, com δ 8,16 ppm ($J = 8,3; 1,6$ Hz), correspondente à posição H-4;
- d) um sinal de hidrogênio singleto, com deslocamento químico de 7,93 ppm, característico da posição H-10;
- e) dois sinais de hidrogênios duplo duplo dubletos, com deslocamentos químicos de 7,70 ppm e 7,63 ppm e integração de 1H cada, atribuídos as posições H-3 e H-2, respectivamente;
- um sinal de hidrogênio singleto, com δ 7,35 ppm, atribuído a posição H-7;
- e um sinal de hidrogênio singleto em 6,18 ppm, integrando para 2H, correspondente ao grupo metilenodioxifenila.

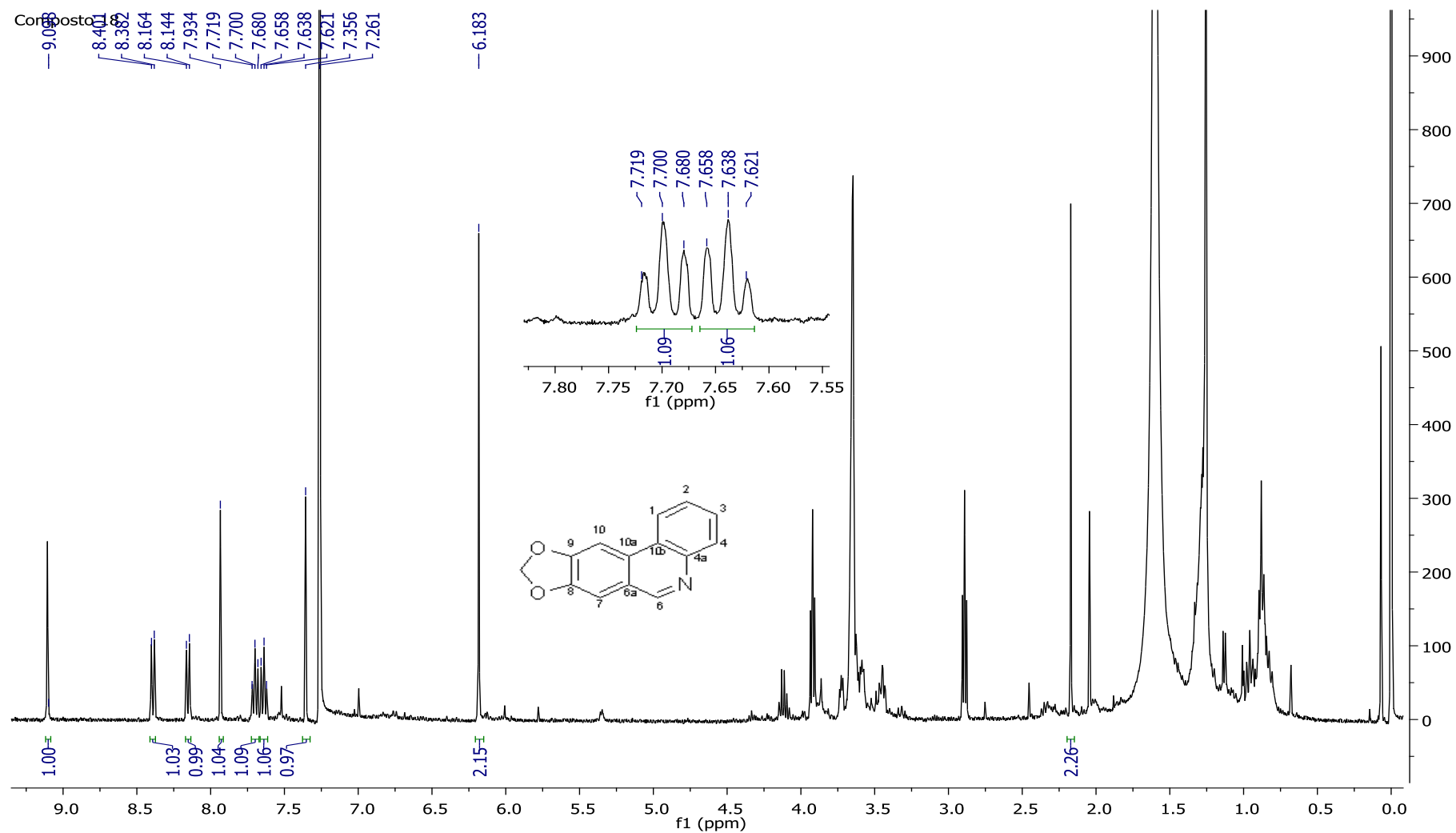


Figura 84: Espectro de RMN de ^1H do composto 18 (CDCl_3 , 400 MHz).

Após análise dos dados obtidos pelo espectro de RMN de ^1H e a comparação com os dados da literatura, evidenciam o composto **18** como o alcaloide trisfaeridina. De acordo com Bastida; Lavilla; Viladomat (2006), o alcaloide trisfaeridina não é inserido nos nove esqueletos típicos dos alcaloides de Amaryllidaceae, sendo atribuído a outro esqueleto.

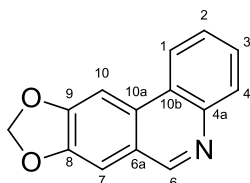


Figura 85: Fórmula estrutural do composto **18**.

Tabela 20: Dados de RMN de ^1H do composto **18** (CDCl_3 , 400 MHz) em comparação com a literatura (CDCl_3 , 200 MHz) (SUAU; GOMEZ; RICO, 1990).

Posição	δ_{H} (J em Hz) Composto 18	δ_{H} (J em Hz) literatura
H-1	8,40 <i>dd</i> (8,1; 1,5)	8,36 <i>dddd</i> (8,0;1,8;1,0;1,0)
H-2	7,63 <i>ddd</i> (9,6;8,0;1,6)	7,61 <i>ddd</i> (8,0;7,0;1,7)
H-3	7,70 <i>ddd</i> (8,4;7,2;1,6)	7,67 <i>ddd</i> (7,0;7,0;1,8)
H-4	8,16 <i>dd</i> (8,3;1,6)	8,11 <i>ddd</i> (7,0;1,7;1,0)
H-6	9,10 <i>s</i>	9,06 <i>s</i>
H-7	7,35 <i>s</i>	7,32 <i>s</i>
H-10	7,93 <i>s</i>	7,89 <i>s</i>
OCH_2O	6,18 <i>s</i>	6,15 <i>s</i>

5 – CONCLUSÃO

O estudo químico em alcaloides realizado com a espécie *Hippeastrum reginae* apresentou uma grande quantidade de alcaloides de Amaryllidaceae, sendo a maioria pertencente à classe das homolicorinas. As análises de CG/EM demonstraram a presença de 11 alcaloides, sendo quatro não identificados na biblioteca de alcaloides do professor Dr. Jaume Bastida.

Neste trabalho isolou-se e identificou-se 18 alcaloides isoquinolínicos. Destes compostos, foram isolados 12 alcaloides da classe das homolicorinas, sendo eles: 7-metoxi-*O*-metillicorenina, 2- α -7-dimetoxihomolicorina, 2- α -metoxihomolicorina, albomaculina, 7-hidroxihomolicorina, 2- α -metoxi-7-hidroxihomolicorina, 2- α -7-dihidroxihomolicorina, 2- α -hidroxialbomaculina, 8-*O*-desmetilhomolicorina, homolicorina, hippeastrina e albomaculina *N*-óxido. Dentre esses alcaloides isolados, quatro inéditos foram completamente elucidados e dois foram identificados pela técnica de RMN de ^1H e massas de alta resolução.

Entre os alcaloides isolados, foram obtidos também, dois do tipo galantamina (sanguinina e 11- β -hidroxisanguinina) que apresentam importante atividade inibidora da enzima acetilcolinesterase, conforme descrito na literatura, e são objeto de estudo por diversos grupos de pesquisa.

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, J. C. D. **Química na Farmácia**: origem dos medicamentos, arte e ciência, 2010. Disponível em: <<http://www.webartigos.com/artigos/quimica-na-farmacia-origem-dos-medicamentos/46146/#ixzz3GEz6C6xj>>. Acesso em: 05 de maio de 2016.

ALBUQUERQUE, U. P.; de MEDEIROS, P. M.; de ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M.; LINS NETO, E. M. F.; de MELO, J. G.; dos SANTOS, J. P. Medicinal plants of the caatinga (semi-arid) vegetation of NE Brazil: a quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, v.114, p.325-354, 2007.

ALI, A. A.; MESBAH, M. K.; FRAHM, A. W. Phytochemical investigation of *Hippeastrum vittatum*. **Planta Medica**, v.50, p. 188-189, 1984.

ALMANZA, G. R.; FERNÁNDEZ, J. M.; WAKORI, E. W. T.; VILADOMAT, F.; CODINA, C.; BASTIDA, J. Alkaloids from *Narcissus cv. salome*. **Phytochemistry**, v.43, p.1375-1378, 1996.

AMARAL, L. A produção de Amáris no mercado brasileiro de flores. **Bioikos**, v. 20, p. 71-74, 2006.

ANTOUN, M. D.; MENDOZA, N. T.; RÍOS, Y. R.; PROCTOR, G. R.; WICKRAMARATNE, D. B. M.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Cytotoxicity of *Hymenocallis expansa* alkaloids. **Journal of Natural Products**, v. 56, p. 1423-1425, 1993.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. da Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos, **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BASTIDA, J.; BERKOV, S.; TORRAS, L.; PIGNI, N. B.; de ANDRADE, J. P.; MARTÍNEZ, V.; CODINA, C.; VILADOMAT, F. Chemical and biological aspects of Amaryllidaceae alkaloids. In: D. MUNOZ-TORRERO (Ed.). **Recent Advances in Pharmaceutical Sciences**. Kerala, India: Transworld Research Network, p. 65-100, 2011.

BASTIDA, J.; LAVILLA, R.; VILADOMAT, F. Chemical and biological aspects of *Narcissus* alkaloids. In: CORDELL, G. A. (Ed). **The Alkaloids: chemistry and physiology**. San Diego: Academic Press INC., v.63, cap.3, p.87-179, 2006.

BASTIDA, J.; LLABRÉS, J. M.; VILADOMAT, F.; CODINA, C. *Narcissus* alkaloids, III. 9-O-demethylhomolycorine from *Narcissus confusus*. **Journal of Natural Products**, v. 50, p. 199-202, 1987.

BENNANI, Y. L. Drug discovery in the next decade: innovation needed ASAP. **Drug Discovery Today**, v. 16, n. 17-18, p. 779–792, 2011.

BERKOV, S.; ROMANI, S.; HERRERA, M.; VILADOMAT, F.; CODINA, C.; MOMEKOV, G.; IONKOVA, I.; BASTIDA, J. Antiproliferative alkaloids from *Crinum zeylanicum*. **Phytotherapy Research**, v. 25, p. 1686-1692, 2011.

BESSA, C. D. P. B.; de ANDRADE, J. P.; OLIVEIRA, R. S.; DOMINGOS, E.; SANTOS, H.; ROMÃO, W.; BASTIDA, J.; BORGES, W. S. Identification of alkaloids from *Hippeastrum aulicum* (Ker Gawl.) Herb. (Amaryllidaceae) using GC-MS and ambiente ionization mass spectrometry (OS-MS and LS-MS). **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 00, p. 1-12, 2016. DOI: 1021577

BRAGA, F. C.; CASTILHO, R. O. Potencialidades do cerrado como fonte de substâncias bioativas e de espécies medicinais para o desenvolvimento de fitoterápicos. In: de SOUZA, G. H. B.; de MELLO, J. C. P.; LOPES, N. P. **Farmacognosia: coletânea científica**. 1.ed. Ouro Preto: Editora UFOP, p. 295-318, 2011.

BRASIL, Ministério do Meio Ambiente. Biodiversidade brasileira. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>> Acessado em: 27 de fevereiro de 2017.

BRIGGS, C. K.; HIGHET, P. F.; HIGHET, R. J.; WILDMAN, W. C. Alkaloids of the Amaryllidaceae. VII. Alkaloids containing the hemiacetal or lactone group. **Journal of the American Chemical Society**, v.78, p. 2899-2904, 1956.

BRINE, N. D.; CAMPBELL, W. E.; BASTIDA, J.; HERRERA, M. R.; VILADOMAT, F.; CODINA, C.; SMITH, P. J. A dinitrogenous alkaloid from *Cyrtanthus obliquus*. **Phytochemistry**, v.61, p.443-447, 2002.

BRUNETON, J. **Farmacognosia: Fitoquímica – Plantas Medicinales**. 2.ed. Zaragoza: ACRIBIA S. A., p. 1099, 2001.

BU'LOCK, J. D. **The Biosynthesis of Natural Products**. McGraw-Hill: London. p. 185, 1965.

CANDIDO, R. S.; FOURNY, A. C. S.; GONÇALVES-ESTEVEES, V.; LOPES, R. C. *Hippeastrum* species in areas of resting in the state of Rio de Janeiro, Brazil: pollen characters. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, p. 661-668, 2013.

CARVALHO, J. E. **Multiciência: construindo a história dos produtos naturais**. v. 7, 2006. Disponível em: <http://www.multiciencia.unicamp.br/artigos_07> Acesso em: 01 de dezembro de 2016.

CARVALHO, K. R.; SILVA, A. B.; TORRES, M. C. M.; PINTO, F. C. L.; GUIMARÃES, L. A.; ROCHA, D. D.; SILVEIRA, E. R.; COSTA-LOTUFO, L. V.; BRAZ-FILHO, R.; PESSOA, O. D. L. Citotoxic alkaloids from *Hippeastrum solandriflorum* Lindl. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 26, p. 1976-1980, 2015.

CASTILHOS, T.S.; GIORDANI, R.B.; HENRIQUES, A.T.; MENEZES, F.S.; ZUANAZZI, J.A.S. Avaliação *in vitro* das atividades anti-inflamatória, antioxidante e antimicrobiana do alcaloide montanina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 02, 2007.

COOK, J. W.; LOUDON, J. D.; MANSKE, R. H. F.; HOLMES, H. L. (Ed.). **The Alkaloids**. New York: Academic Press, v. 2, p. 331, 1952.

CORRÊA, M. P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v.4, 1984.

COSTA, P. R. R. Produtos naturais como ponto de partida para a descoberta de novas substâncias bioativas: candidatos a fármacos com ação antiofídica, anticâncer e antiparasitária. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 1, 58-66, 2009. Disponível em: <<http://www.uff.br/rvq>> . Acesso em: 10 de junho de 2016.

COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N. N.; MADEIRA, S. V. F.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. A contribuição dos produtos naturais como fonte de novos fármacos anticâncer. **Revista Virtual de química**, v. 2, n. 1, p. 47-58, 2010. Disponível em: <<http://www.uff.br/RVQ/index.php/rvq/article/viewFile/65/119>>. Acesso em: 09 de maio de 2016.

da SILVA, A. F. S. ***Hippeastrum vittatum* (L'her) Herbert e *Hippeastrum striatum* (Lam.) Moore**: análise química e avaliação biológica dos alcaloides isolados, 2006. 182p. Tese (doutorado) – Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2006.

da SILVA, A. F. S.; de ANDRADE, J. P.; BEVILAQUA, L. R. M.; de SOUZA, M. M.; IZQUIERDO, I.; HENRIQUES, A. T.; ZUANAZZI, J. A. S. Anxiolytic-, antidepressant- and anticonvulsant-like effects of the alkaloid montanine isolated from *Hippeastrum vittatum*. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 85, p. 148-154, 2006.

DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. **The families of the Monocotyledons**: structure, evolution, and taxonomy. Berlin: Springer-Verlag, p.199-206, 1985.

de ANDRADE, J. P.; BERKOV, S.; VILADOMAT, F.; CODINA, C.; ZUANAZZI, J. A. S.; BASTIDA, J. Alkaloids from *Hippeastrum papilio*. **Molecules**, v. 16, p. 7097-7104, 2011.

de ANDRADE, J. P.; GUO, Y.; FONT-BARDIA, M.; CALVET, T.; DUTILH, J.; VILADOMAT, F.; CODINA, C.; NAIR, J. J.; ZUANAZZI, J. A. S.; BASTIDA, J. Crinine-type alkaloids from *Hippeastrum aulicum* and *H. calyptratum*. **Phytochemistry**, v. 103, p. 188-195, 2014.

de ANDRADE, J.; PIGNI, N. B.; TORRAS-CLAVERIA, L.; GUO, Y.; BERKOV, S.; REYES-CHILPA, R.; EL AMRANI, A.; ZUANAZZI, J. A. S.; CODINA, C.; VILADOMAT, F.; BASTIDA, J. Alkaloids from the *Hippeastrum* genus: chemistry and biological activity. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 40, p. 25, 2012

DEANGELIS, G. G.; WILDMAN, W. C. Circular Dichroism Studies – I A quadrant rule for the optically active aromatic chromophore in rigid polycyclic systems. **Tetrahedron**, v. 25, p. 5099-5112, 1969.

DEMAIN, A. L.; FANG, A. The natural functions of secondary metabolites. History of Modern Biotechnology I. **Advances in Biochemical Engineering/Biotecmology**, v. 69, p. 1-39, 2000.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products**: a biosynthetic approach. 2nd ed. England: Josh Wiley & Sons LTD, 2002. 507p.

DUTILH, J. H. A. Ornamental Bulbous Plants of Brasil. **Acta Horticulturae (ISHS)**, v. 683, p. 37-42, 2005.

DUTILH, J. H. A.; OLIVEIRA, R. S. Amaryllidaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB129639>>. Acesso em: 20 de junho de 2016.

ELGORAGHI, E. E.; STADEN, J. V. Pharmacological screening of six Amaryllidaceae species. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, p. 27-32, 2004.

ELGORAGHI, E. E.; STAFFORD, G. I.; VAN STADEN, J. Acetylcholinesterase enzyme inhibitory effects of Amaryllidaceae alkaloids. **Planta Médica**, v. 70, n. 3, p. 260-262, 2004.

EVIDENTE, A. Identification of 11-Hydroxyvittatine in *Sternbergia lutea*. **Journal of Natural Products**, v. 49, 1986.

EVIDENTE, A.; ANDOLFI, A.; ABOU-DONIA, A. H.; TOUEMA, S. M.; HAMMODA, H. M.; SHAWKY, E.; MOTTA, S. (-)-Amarbellisine, a lycorine-type alkaloid from *Amaryllis belladonna* L. growing in Egypt. **Phytochemistry**, v. 65, p. 2113-2118, 2004.

FENG, T.; WANG, Y-Y.; SU, J.; LI, Y.; CAI, X-H.; LUO, X-D. Amaryllidaceae alkaloids from *Lycoris radiata*. **Helvetica Chemistry Acta**, v. 94, p. 178-183, 2011.

FURUSAKA, E.; IRIE, H.; COMBS, D.; WILDMAN, W. C. Therapeutic acticity of pretazettine on Rauscher Leukemia: comparison with the related Amaryllidaceae alkaloids. **Chemotherapy**, v. 26, p. 36-45, 1980.

GHOSAL, S.; KUMAR, Y.; SINGH, S. Glucosyloxy alkaloids from *Pancratium biflorum*. **Phytochemistry**, v. 23, p. 1167-1171, 1984.

GHOSAL, S.; SAINI, K. S.; RAZDAN, S. *Crinum* alkaloids: their chemistry and biology. **Phytochemistry**, v. 24, p. 2141-2156, 1985.

GIORDANI, R. B.; de ANDRADE, J. P.; VERLI, H.; DUTILH, J. H.; HENRIQUES, A. T.; BERKOV, S.; BASTIDA, J.; ZUANAZZI, J. A. S. Alkaloids from *Hippeastrum morelianum* Lem. (Amaryllidaceae). **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 49, p. 668-672, 2011.

GIORDANI, R. B.; PAGLIOSA, L. B.; HENRIQUES, A. T.; ZUANAZZI, J. A. S.; DUTILH, J. H. A. Investigação do potencial antioxidante e anticolinesterásico de *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). **Quimica Nova**, v. 31, p. 2042-2046, 2008.

GIORDANI, R. B.; VIEIRA, P. B.; WEIZENMANN, M.; RESEMBERG, D. B.; SOUZA, A. P.; BONORINO, C.; de CARLI, G. A.; BOGO, M. R.; ZUANAZZI, J. A.; TASCA, T. Candimine-induced cell death of the amitochondriate parasite *Trichomonas vaginalis*. **Journal of Natural Products**, v. 73, p. 2019-2023, 2010.

GUDE, M.; HAUSEN, B. M.; HEITSCH, H.; KONIG, W. A. An investigation of the irritant and allergenic properties of daffodils (*Narcissus pseudonarcissus* L., Amaryllidaceae). **Contact Dermatitis**, v.19, p. 1-10, 1988.

GUO, Y.; de ANDRADE, J.P.; PIGNI, N.B.; TORRAS-CLAVERIA, L.; TALLINI, L.R.; BORGES, W.S.; VILADOMAT, F.; NAIR, J.J.; ZUANAZZI, J.A.S.; BASTIDA, J. New alkaloids from *Hippeastrum papilio* (Ravenna) Van Scheepen. **Helvetica Chimica Acta**, v.99, p. 143-147, 2016.

GURIB-FAKIM, A. Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 27, p. 1-93. 2006

HAWKSWORTH, W. A.; JEFFS, P. W.; TIDD, B. K.; TOUBE, T. P. The alkaloids of the Amaryllidaceae. Part XII. The aromatic oxygenation patterns and stereochemistry of some trioxyaryl alkaloids of the hemiacetal and lactone series. **Journal of Chemistry Society**, p. 1991-2001, 1965.

HE, M.; QU, C.; GAO, O.; HU, X.; HONG, X. Biological and pharmacological activities of Amaryllidaceae alkaloids. **RSC Advances**, v. 5, p. 16562-16574, 2015.

HOFMANN JUNIOR, A. E.; SEBEN, C.; MONTANHA, J. A.; DUTILH, J.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T.; ZUANAZZI, J. A. S. Avaliação da atividade antiviral e determinação do perfil cromatográfico de *Hippeastrum glaucescens* (Martius) Herbert (Amaryllidaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, p. 7-14. 2004.

HOSHINO, O. The Amaryllidaceae alkaloids. In: CORDELL, G. A. **The Alkaloids: chemistry and biology**. London: Academic Press INC., v. 51, chap. 4, p. 323-417, 1998.

HOSTETTMANN, K.; QUEIROZ, E. F.; VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: EdUFSCar, 2003. 152p.

HOUGHTON, P. J.; REN, Y.; HOWES, M-J. Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. **Natural Products Report**, v. 23, p. 181-199, 2006.

HUTCHINGS, A.; SCOTT, A. H.; LEWIS, G. CUNNINGHAM, A. B. **Zulu Medicinal Plants: an inventory**. Pietermatitzburg: University of Natal Press, p.520, 1996.

IEVEN, M.; VLIETINCK, A. J.; VAN DEN BERGHE, D. A.; TOTTE, J. Plant antiviral agents III. Isolation of alkaloids from *Clivia miniata* Regel (Amaryllidaceae). **Journal of Natural Products**, v. 45, p. 564-573, 1982.

JIN, Z. Amaryllidaceae and *Sceletium* alkaloids. **Natural Products Reports**, v. 30, p. 849-868, 2013

JIN, Z. Amaryllidaceae and *Sceletium* alkaloids. **Natural Products Reports**, v. 28, p. 1126-1142, 2011

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 13.ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2002.

KATO, M. J. Global phytochemistry: the Brazilian approach. **Phytochemistry**, v. 57, p. 621-623, 2001.

KAUFMAN, P. B.; CSEKE, L. J.; VOGLER, B.; SETZER, W. N.; KIRAKOSYAN A. Traditional, analytical and preparative separations of natural products. In: BRIELMANN, H. L.; KAUFMAN, P. B.; DUKE, J. A.; CSEKE, L. J.; WARBER, S. L.; KIRAKOSYAN, A. **Natural Products from Plants**. 2nd ed. Boca Raton, Flórida: CRC Press, p. 290, 2006.

KINGHORN, A.D.; PAN, L.; FLETCHER, J.N.; CHAI, H. The relevance of higher plants in lead compound discovery programs. **Journal of Natural Products**. v. 74, p. 1539–1555, 2011.

KOORBANALLY, N.; MULHOLLAND, D. A.; CROUCH, N. Alkaloids and triterpenoids from *Amnocharis coranica* (Amaryllidaceae). **Phytochemistry**, v. 54, p. 93-97, 2000.

LABRAÑA, J.; MACHOCHO, A. K.; KRICSFALUSY, V.; BRUN, R.; CODINA, C.; VILADOMAT, F.; BASTIDA, J. Alkaloids from *Narcissus angustifolius* subsp. *transcarpathicus* (Amaryllidaceae). **Phytochemistry**, v. 60, p. 847-852, 2002.

LATVALA, A.; ONUR, M. A.; GOZLER, T.; LINDEN, A.; KIVÇAK, B.; HESSE, M. Nitrogen inversion in 9-O-demethylhomolycorine. **Tetrahedron**, v. 6, p. 361-364, 1995.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA, 2002. 512p.

LUO, Z.; WANG, F.; ZHANG, J.; LI, X.; ZHANG, M.; HAO, X.; XUE, Y.; LI, Y.; HORGAN, D.; YAO, G.; ZHANG, Y. Cytotoxic alkaloids from the whole plants of *Zephyranthes candida*. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 2113-2120, 2012.

MANACH, C.; SEALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MARTINELLI, G.; MESSINA, T.; SANTOS FILHO, L. **Livro Vermelho Flora do Brasil**. 1.ed. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. 1100p.

MARY, A.; REENKO, D. Z.; GUILLOU, C.; THAL, C. Potent acetylcholinesterase inhibitors: design, synthesis and structure-activity relationships of bis-interacting ligands in the galanthamine series. **Bioorganic e Medicinal Chemistry**, v. 6, p. 1835-1850, 1998.

MULLER, C. H. The "Co-" in coevolution. **Science**, v. 164, p. 197-198, 1969.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs from 1981 to 2014. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 629-661, 2016.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, v. 75, p. 311-335, 2012.

NOGUEIRA, L. J.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. Histórico da evolução da química medicinal e a importância da lipofilia: de Hipócrates e Galeno a Paracelsus e as contribuições de Overton e de Hansch. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 227-240, 2009.

OKPO, S. O.; ADEYEMI, O. O. Effects of *Crinum glaucum* aqueous extract on intestinal smooth muscle activity. **Phytotherapy Research**, v. 12, n. 6, p. 413-416, 1998.

OLIVEIRA, S. O. de; SEMIR, J.; DUTILH, J. H. A. Four new endemic species of *Hippeastrum* (Amaryllidaceae) from Serra da Canastra, Minas Gerais State, Brazil. **Phytotaxa**, v. 145, n. 1, p. 38-46. 2013.

ORTHOLAND, J-Y.; GANESAN, A. Natural products and combinatorial chemistry: back to the future. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 8, p. 271-280, 2004.

PAGLIOSA, L. B.; MONTEIRO, S. C.; SILVA, K. B.; de ANDRADE, J. P.; DUTILH, J.; BASTIDA, J.; CAMMAROTA, M.; ZUANAZZI, J. A. S. Effect of isoquinoline alkaloids from two *Hippeastrum* species on *in vitro* acetylcholinesterase activity. **Phytomedicine**, v. 17, p. 698-701, 2010.

PATERSON, I.; ANDERSON, E. A. The Renaissance of Natural Products as Drug Candidates. **Science**, v. 310, p. 451-453, 2005.

PETTIT, G. R.; GADDAMIDI, V.; HERALD, D. L.; SINGH, S. B.; CRAGG, G. M.; SCHIMIDT, J. M. Antineoplastic agents, 120. *Pancratium littorale*. **Journal of Natural Products**, v. 49, n. 6, p. 995-1002, 1986.

PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 45-61, 2002.

RENARD-NOZAKI, J.; KIM, T.; IMAKURA, Y.; KIHARA, M.; KOBAYASHI, S. Effect of alkaloids isolated from Amaryllidaceae on *Herpes simplex* virus. **Research in Virology**, v. 140, p. 115-128, 1989.

ROMÃO, R.; MARTINELLI, G.; CREPALDI, I.; MARTINEZ-LABORDE, J. B. Brazilian biodiversity for ornamental use and conservation. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 15, p. 100-105, 2015.

SCHEMEDA-HIRSCHMANN, G.; ASTUDILLO, L.; BASTIDA, J.; CODINA, C.; DNA binding activity of Amaryllidaceae alkaloids. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v. 45, p. 515-518, 2000a.

SCHEMEDA-HIRSCHMANN, G.; RODRÍGUEZ, J. A.; LOYOLA, J. I.; ASTUDILLO, L.; BASTIDA, J.; VILADOMAT, F.; CODINA, C. Activity of Amaryllidaceae alkaloids on the blood pressure on normotensive rats. **Pharmacy and Pharmacology Communication**, v. 6, p. 309-312, 2000b.

SEIGLER, D. S. Primary roles for secondary compounds. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 5, n. 3, p. 195-199, 1977.

STICHER, O. Natural Products Isolation. **Natural Products Reports**, v. 25, p. 517-554, 2008.

STROHL, W. R. The role of natural products in a modern drug discovery program, **Drug Discovery Today**, v. 5, n. 2, p. 39-41, 2000.

SUAU, R.; GOMEZ, A. I.; RICO, R. Ismine and related alkaloids from *Lapiedra martinezii*. **Phytochemistry**, v. 29, p. 1710-1712, 1990.

SZLAVIK, L.; GYURIS, A.; MINAROVITS, J.; FORGO, P.; MOLNAR, J.; HAHMANN, J. Alkaloids from *Leucojum vernum* and antiretroviral activity of Amaryllidaceae alkaloids. **Planta Medica**, v. 70, p. 871-873, 2004.

THEIS, N.; LERDAU, M. The Evolution of Function in Plant Secondary Metabolites. **International Journal of Plant Sciences**, v. 164, p. 93-103, 2003.

UNVER, N. New skeletons and new concepts in Amaryllidaceae alkaloids. **Phytochemical Reviews**, v. 6, p.125-135, 2007.

UNVER, N.; GOZLER, T.; WALCH, N.; GOZLER, B.; HESSE, M. Two novel dinitrogenous alkaloids from *Galanthus plicatus* subsp. *byzantus* (Amaryllidaceae). **Phytochemistry**, v. 50, p. 1255-1261, 1999.

UNVER, N.; KAYA, G. I.; WERNER, C.; VERPOORTE, R.; GOZLER, T. Galanthindole: a new indole alkaloid from *Galanthus plicatus* spp. *byzantus*. **Planta Medica**, v. 69, p. 869-871, 2003.

VERPOORTE, R. Pharmacognosy in the new millennium: leadfinding and biotechnology. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 52, p. 253-262, 2000.

VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química moderna. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 326-337, 2006.

WAGNER, J.; PHAM, H. L.; DÖPKE, W. Alkaloids from *Hippeastrum Equestre* Herb, -5. Circular Dichroism Studies. **Tetrahedron**, v.52, p.6591-6600, 1996.

WENIGER, B.; ITALIANO, L.; BECK, J. P.; BASTIDA, J.; BERGONON, S.; CODINA, C.; LOBSTEIN, A.; ANTON, R. Cytotoxic activity of Amaryllidaceae alkaloids. **Planta Medica**, v. 61, p. 77-79, 1995.

WHO (World Health Organization). Bulletin of the World Health Organization. **Regulatory situation of herbal medicines**. A worldwide review, Geneva, 1998.

ZHAN, G.; ZHOU, J.; LIU, R.; LIU, T.; GUO, G.; WANG, J.; XIANG, M.; XUE, Y.; LUO, Z.; ZHANG, Y.; YAO, G. Galanthamine, plicamine and secoplicamine alkaloids from *Zephyranthes candida* and their anti-acetylcholinesterase and anti-inflammatory activities. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 760-766, 2016.

ZUPKÓ, I.; RÉTHY, B.; HOHMANN, J.; MOLNÁR, J.; OCSOVSZKI, I.; FALKAY, G. Antitumor activity of alkaloids derived from Amaryllidaceae species. **In vivo**, v. 23, p. 41-48, 2009.