

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Estudo Fitoquímico de *Hippeastrum diniz-cruzae* Dutilh &  
Semir e *Hippeastrum glaucescens* (Mart.) Herb.  
(Amaryllidaceae)**

**Phytochemical Study of *Hippeastrum diniz-cruzae* Dutilh & Semir and  
*Hippeastrum glaucescens* (Mart.) Herb. (Amaryllidaceae)**

**Vanessa Dias dos Santos**

**Tese de Doutorado em Química**

**Vitória  
2019**

Vanessa Dias dos Santos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do Título de Doutor em Química

**Área de Concentração:** Química

**Linha de Pesquisa:** Química de Produtos Naturais.

**Orientador:** Prof. Dr. Warley de Souza borges

Estudo Fitoquímico de *Hippeastrum diniz-cruzae* Dutilh &  
Semir e *Hippeastrum glaucescens* (Mart.) Herb.  
(Amaryllidaceae)

Vanessa Dias dos Santos

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Química.

Aprovado(a) em 30/08/2019 por:

---

Prof. Dr. Warley de Souza Borges  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Orientador

---

Prof. Dr. Álvaro Cunha Neto  
Universidade Federal do Espírito Santo

---

Prof. Dr. Ricardo Machado Kuster  
Universidade Federal do Espírito Santo

---

Prof. Dr. Adilson Vidal Costa  
Universidade Federal do Espírito Santo

---

Prof. Dr. Hildegardo Seibert Franca  
Instituto Federal do Espírito Santo

Universidade Federal do Espírito Santo  
Vitória, Agosto de 2019

---

dos Santos, Vanessa Dias,

Estudo Fitoquímico de *Hippeastrum diniz-cruzae* Dutilh & Semir e

*Hippeastrum glaucescens* (Mart.) Herb. (Amaryllidaceae) / Vanessa Dias dos Santos. - 2019.

216 f.: il.

Orientador: Warley de Souza Borges.

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas.

1. Amaryllidaceae. 2. Alcaloides 3. *Hippeastrum diniz-cruzae*. 4. *Hippeastrum glaucescens*. I. Borges, Warley de Souza. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Exatas. IV. Título.

CDU: 54

---



*À Deus,  
Minha filha,  
Minha família.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus pela força, sabedoria, pelas vitórias alcançadas e pela minha filha que nasceu nesse período.

Ao meu orientador Dr. Warley de Souza Borges pela oportunidade concedida, orientação, paciência e todo apoio durante esses anos.

À minha filha Sophia que é a razão da minha vida e que a cada sorriso me dava forças para continuar.

Aos meus pais e irmãos que não mediram esforços para me ajudar em todos os momentos.

À minha avó Carmelita que faleceu nessa reta final, sua força e vontade de viver me ensinaram a nunca desistir.

Ao meu amigo e compadre Jean por toda ajuda, bons momentos e conselhos.

Ao Alex que me apoiou e ajudou desde o início, por todas as palavras de sabedoria, por sempre acreditar que eu seria capaz.

Aos professores que participaram das minhas duas bancas de qualificação e os professores que aceitaram participar dessa banca de doutorado: Dr. Ricardo Machado Kuster, Dr. Hildegardo Franca, Dr. Álvaro Cunha e Adilson Costa. Aos dois últimos também pelas análises de RMN e CG-EM realizadas.

Ao professor Dr. Jaume Bastida por me orientar durante 1 ano em seu laboratório, por todo cuidado, ensinamentos transmitidos e pela disponibilização da biblioteca de alcaloides de Amaryllidaceae e todos recursos necessários para minha pesquisa.

À Luciana que me ajudou nesse período e aos demais colegas de Barcelona Carla, Laura, Diego, Liliana, Rafa pelos momentos agradáveis e Suzana que me acolheu em sua casa com seus filhos e me fez sentir em família.

Ao departamento de farmácia e química da Universidade de Barcelona e aos professores Dr. Carles Codina, Dr. Francesc Viladomat e Dr. Laura Torras que fizeram parte do meu convívio.

Aos colegas e ex-colegas do laboratório de PN Andressa, Carolina, Carliani, David, Eduardo, Luíza, Karla, Marcos, Letícia, Wilian, Amanda, Layza, Lucas e Fabiola.

Ao professor Dr. Valdemar Lacerda Junior por toda a ajuda concedida.

Ao professor Dr. João da Universidade de São Paulo pela análise de Dicroísmo Circular vibracional.

Ao laboratório de RMN, Petroleômica e Forense e Espectrometria de Massas da UFES de Goiabeiras, Alegre e São Mateus

Ao NCQP, à PPGQUI e à PRPPG da Ufes por todo o suporte necessário.

Ao Catalin pelo suporte financeiro e pela filha que tivemos juntos.

As minhas primas e tias que de alguma forma ajudaram a cuidar da minha filha nesse período.

À Dra. Renata Souza de Oliveira pela identificação das espécies trabalhadas.

À professora Dra. Luciana Dias Thomaz pelo depósito e registro da planta no Herbário VIES da UFES;

Ao professor Dr. Neyval Costa Reis Junior pela oportunidade de trabalhar com seu grupo de Pesquisa, tornando possível juntamente com a Fapes um apoio financeiro nessa reta final.

Às agências de fomento FAPES, CAPES e CNPq (CSF-PVE-S 88887115334/201500) e FAPES, pelo apoio financeiro ao desenvolvimento do projeto.

Em fim, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muitíssimo obrigada!

“Tudo posso naquele que me fortalece”.  
(Filipenses 4.13)

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                             |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figura 1.</b> Estrutura química dos alcaloides morfina, quinina e estricnina. ....                                                                                                                       | 31  |
| <b>Figura 2.</b> Estrutura química das substâncias salicina, taxol e galantamina. ....                                                                                                                      | 32  |
| <b>Figura 3.</b> <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> Dutilh & Semir.(Fonte: Arquivo pessoal).....                                                                                                               | 34  |
| <b>Figura 4.</b> <i>Hippeastrum glaucescens</i> (Mart.) Herb. (Fonte: Arquivo pessoal) .....                                                                                                                | 37  |
| <b>Figura 5.</b> Estrutura química dos aminoácidos L-fenilalanina e L-tirosina e o intermediário norbeladina. ....                                                                                          | 39  |
| <b>Figura 6.</b> Acoplamento fenólico oxidativo em alcaloides de Amaryllidaceae. ....                                                                                                                       | 40  |
| <b>Figura 7.</b> Esqueletos típicos de alcaloides de Amaryllidaceae. ....                                                                                                                                   | 41  |
| <b>Figura 8.</b> Novos esqueletos típicos propostos. ....                                                                                                                                                   | 41  |
| <b>Figura 9.</b> Esqueleto base dos flavonoides. ....                                                                                                                                                       | 42  |
| <b>Figura 10.</b> Estruturas dos alcaloides obtidos de <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> e <i>Hippeastrum glaucescens</i> . ....                                                                              | 125 |
| <b>Figura 11.</b> Espectro de massas do composto (I). ....                                                                                                                                                  | 126 |
| <b>Figura 12.</b> Típica fragmentação do esqueleto tipo homolicorina. ....                                                                                                                                  | 127 |
| <b>Figura 13.</b> (A) alcaloide cruzinina (H-1 e H-10b $\beta$ -orientado); (B) alcaloide homolicorina (H-1 e H-10b $\alpha$ -orientado); (C) Projeção ORTEP e “capped sticks” do alcaloide cruzinina. .... | 128 |
| <b>Figura 14.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto (I) e ampliações ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz). ....                                                                                       | 129 |
| <b>Figura 15.</b> Espectro de NOESY $1\text{H}-^1\text{H}$ do composto (I) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz). ....                                                                                        | 130 |
| <b>Figura 16.</b> Espectro de COSY $^1\text{H}-^1\text{H}$ do composto (I) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz). ....                                                                                        | 131 |
| <b>Figura 17.</b> Mapa de contornos HSQC do composto (I) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz). ....                                                                                                          | 132 |
| <b>Figura 18.</b> Mapa de contornos HMBC do composto (I) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz). ....                                                                                                          | 133 |
| <b>Figura 19.</b> Espectro de $^{13}\text{C}$ do composto (I) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz). ....                                                                                                     | 134 |
| <b>Figura 20.</b> Espectro de DC do alcaloide cruzinina e comparação com o alcaloide homolicorina. ....                                                                                                     | 136 |
| <b>Figura 21.</b> Espectro de massas de alta resolução para o composto (I). ....                                                                                                                            | 136 |
| <b>Figura 22.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto (VI) e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz). ....                                                                                             | 138 |
| <b>Figura 23.</b> Espectro de massas de alta resolução do composto (VI). ....                                                                                                                               | 140 |
| <b>Figura 24.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto (VII) e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz). ....                                                                                            | 141 |

|                                                                                                                                                  |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figura 25.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(VIII)</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).                              | 144 |
| <b>Figura 26.</b> Espectro de massas de alta resolução do composto <b>(VIII)</b> .                                                               | 145 |
| <b>Figura 27.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ dos compostos <b>(II)</b> em mistura e ampliações ( $\text{CD}_3\text{OD}$ - 400 MHz).            | 147 |
| <b>Figura 28.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(III)</b> e ampliações ( $\text{CD}_3\text{OD}$ - 400 MHz).                        | 148 |
| <b>Figura 29.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(IV)</b> e ampliações ( $\text{CD}_3\text{OD}$ - 400 MHz).                         | 149 |
| <b>Figura 30.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(V)</b> e ampliações ( $\text{CD}_3\text{OD}$ - 400 MHz).                          | 150 |
| <b>Figura 31.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(IX)</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).                                | 152 |
| <b>Figura 32.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(X)</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).                                 | 153 |
| <b>Figura 33.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(XI)</b> em mistura e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).                     | 154 |
| <b>Figura 34.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(XII)</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).                               | 155 |
| <b>Figura 35.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(XIII)</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).                              | 156 |
| <b>Figura 36.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(XIV)</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).                               | 158 |
| <b>Figura 37.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(XV)</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).                                | 159 |
| <b>Figura 38.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(XVI)</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).                               | 161 |
| <b>Figura 39.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(XVII)</b> obtido em mistura e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).            | 162 |
| <b>Figura 40.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ dos compostos <b>(XVIII)</b> e <b>(XIX)</b> em mistura e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz). | 163 |
| <b>Figura 41.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(XX)</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).                                | 164 |
| <b>Figura 42.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(XXI)</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).                               |     |

|                                                                                                                                                                |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| MHz).....                                                                                                                                                      | 165 |
| <b>Figura 43.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(XXII)</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).....                                        | 167 |
| <b>Figura 44.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(XXIII)</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).....                                       | 168 |
| <b>Figura 45.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(XXIV)</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).....                                        | 169 |
| <b>Figura 46.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(XXV)</b> e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ - 400 MHz).....                                         | 170 |
| <b>Figura 47.</b> CCDC das subfrações de AcOEt ácido de <i>Hippeastrum glaucescens</i> revelada com reagente Dragendorff. ....                                 | 171 |
| <b>Figura 48.</b> Estruturas dos flavonoides propostos para os compostos <b>(C)</b> , <b>(E)</b> e <b>(F)</b> . ....                                           | 172 |
| <b>Figura 49.</b> Compostos identificados das frações AcOEt ácido e frações enriquecidas das Folhas, Bulbos e Raízes de <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> . .... | 173 |
| <b>Figura 50.</b> Compostos identificados da fração AcOEt ácido e frações enriquecidas dos Bulbos de <i>Hippeastrum glaucescens</i> . ....                     | 174 |
| <b>Figura 51.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(II)</b> e ampliações ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz). ....                                  | 202 |
| <b>Figura 52.</b> Espectro de COSY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ do composto <b>(II)</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz). ....                               | 203 |
| <b>Figura 53.</b> Mapa de contornos HSQC do composto <b>(II)</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz). ....                                                     | 204 |
| <b>Figura 54.</b> Mapa de contornos HMBC do composto <b>(II)</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz). ....                                                     | 206 |
| <b>Figura 55.</b> Espectro de NOESY $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ do composto <b>(II)</b> ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz).....                               | 206 |
| <b>Figura 56.</b> Espectro de massas de alta resolução do composto <b>(IX)</b> . ....                                                                          | 207 |
| <b>Figura 57.</b> Espectro de massas do composto <b>(A)</b> .....                                                                                              | 208 |
| <b>Figura 58.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(A)</b> .....                                                                                    | 208 |
| <b>Figura 59.</b> Espectro de massas do composto <b>(B)</b> .....                                                                                              | 209 |
| <b>Figura 60.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(B)</b> .....                                                                                    | 209 |
| <b>Figura 61.</b> Espectro de massas do composto <b>(C)</b> .....                                                                                              | 210 |
| <b>Figura 62.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(C)</b> .....                                                                                    | 210 |
| <b>Figura 63.</b> Espectro de massas do composto <b>(D)</b> .....                                                                                              | 211 |
| <b>Figura 64.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(D)</b> .....                                                                                    | 211 |
| <b>Figura 65.</b> Espectro de massas do composto <b>(E)</b> .....                                                                                              | 212 |
| <b>Figura 66.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto <b>(E)</b> .....                                                                                    | 212 |

|                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 67. Espectro de massas do composto (F).....           | 213 |
| Figura 68. Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto (F)..... | 213 |
| Figura 69. Espectro de massas do composto (G). ....          | 214 |
| Figura 70. Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto (G)..... | 214 |
| Figura 71. Espectro de massas do composto (H).....           | 215 |
| Figura 72. Espectro de RMN $^1\text{H}$ do composto (H)..... | 215 |



## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1.</b> Partições realizadas nos extratos brutos das folhas (F), bulbos (B) e raízes (R) de <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> (DC) e <i>Hippeastrum glaucescens</i> (G). ....                                                                          | 48 |
| <b>Tabela 2.</b> Fase móvel gradiente utilizada CLC da fração DCBA. ....                                                                                                                                                                                      | 64 |
| <b>Tabela 3.</b> Frações obtidas do fracionamento por CL de DCBA.S 1.2. ....                                                                                                                                                                                  | 67 |
| <b>Tabela 4.</b> Fracionamentos cromatográficos realizados nas frações GBLA 2.2, GBLA 2.2.1 e GBLA 2.2.2 e os compostos isolados e/ou identificados. ....                                                                                                     | 74 |
| <b>Tabela 5.</b> Fracionamentos cromatográficos realizados nas frações GBLA 2.3, GBLA 2.3.3 e GBLA 2.3.4 e compostos isolados. ....                                                                                                                           | 75 |
| <b>Tabela 6.</b> Fracionamentos cromatográficos realizados nas frações GBLA 2.3.3.2 e (GBLA 2.3.3.2.1, GBLA 2.3.3.2.2, GBLA 2.3.3.2.3 e GBLA 2.3.3.2.6) e compostos isolados. ....                                                                            | 77 |
| <b>Tabela 7.</b> Fracionamentos cromatográficos realizados nas frações GBLA 2.3.3.2.2.2 e GBLA 2.3.3.2.2.3 e compostos isolados. ....                                                                                                                         | 78 |
| <b>Tabela 8.</b> Fracionamentos cromatográficos realizados nas frações GBLA 2.4, 2.4.1 e 2.4.1.2 e compostos isolados. ....                                                                                                                                   | 79 |
| <b>Tabela 9.</b> Fracionamento cromatográfico realizado na fração GBLA 3.3. ....                                                                                                                                                                              | 82 |
| <b>Tabela 10.</b> Fracionamento cromatográfico realizado na fração GBLA 4.2, GBLA 4.2.1 a GBLA 4.2.7. ....                                                                                                                                                    | 84 |
| <b>Tabela 11.</b> Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBLA 4.2.1.1, GBLA 4.2.1.2, GBLA 4.2.1.3, GBLA 4.2.2.1, GBLA 4.2.2.2, GBLA 4.2.2.3, GBLA 4.2.3.1, GBLA 4.2.3.2, GBLA 4.2.3.3, GBLA 4.2.4.1 e GBLA 4.2.4.2 e os compostos isolados. .... | 86 |
| <b>Tabela 12.</b> Fracionamento cromatográfico realizado na fração GBH.S 1.2 e GBH.S 1.3 e compostos isolados. ....                                                                                                                                           | 92 |
| <b>Tabela 13.</b> Frações obtidas do fracionamento por CCDP da amostra GBH.S2 e os compostos isolados. ....                                                                                                                                                   | 94 |
| <b>Tabela 14.</b> Fracionamento cromatográfico realizado nas Frações: GBH.S 2.1clv, GBH.S 2.2clv, GBH.S 2.3clv e GBH.S 2.4clv. ....                                                                                                                           | 94 |
| <b>Tabela 15.</b> Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBH.S 2.1.1clv, GBH.S 2.1.2clv, GBH.S 2.2.1clv, GBH.S 2.2.2clv, GBH.S 2.2.3clv e GBH.S 2.3.3clv e compostos isolados. ....                                                              | 95 |
| <b>Tabela 16.</b> Fracionamento cromatográfico realizado na fração GBH.S 2.3.2clv e                                                                                                                                                                           |    |

|                                                                                                                                                                                           |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| GBH.S 2.4.2clv.....                                                                                                                                                                       | 96  |
| <b>Tabela 17.</b> Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBH.S 2.3.2.2clv, GBH.S 2.3.2.4clv, GBH.S 2.3.2.5clv, GBH.S 2.4.2.3clv e GBH.S 2.4.2.4clv e compostos isolados..... | 97  |
| <b>Tabela 18.</b> Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBH.S 2.5clv, GBH.S 2.6clv e GBH.S 2.7clv e compostos isolados. ....                                                | 98  |
| <b>Tabela 19.</b> Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBH.S 2.61clv, GBH.S 2.6.5clv, GBH.S 2.7.2clv e GBH.S 2.712clv e compostos isolados.....                            | 99  |
| <b>Tabela 20.</b> Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBH.S 3.1, GBH.S 3.8. ....                                                                                          | 101 |
| <b>Tabela 21.</b> Fracionamento cromatográfico realizado na fração: GBH.S 3.4+GBH.S 2.3prep+GBH.P 3 e compostos isolados.....                                                             | 102 |
| <b>Tabela 22.</b> Fracionamento cromatográfico realizado na fração: GBA 1.2 e compostos isolados. ....                                                                                    | 105 |
| <b>Tabela 23.</b> Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBA 2.2, GBA 2.6, GBA 2.8 e GBA 2.10 e compostos isolados. ....                                                     | 107 |
| <b>Tabela 24.</b> Fracionamento cromatográfico realizado na fração: GBA 2.4 e GBA 2.4.3. ....                                                                                             | 108 |
| <b>Tabela 25.</b> Fracionamento cromatográfico por CCDP realizado nas frações: GBA 2.4.3.1 e GBA 2.4.3.4 e compostos isolados.....                                                        | 109 |
| <b>Tabela 26.</b> Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBA 2.4.3.2 e GBA 2.4.3.3. ....                                                                                     | 110 |
| <b>Tabela 27.</b> Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBA 2.4.3.2.2, GBA 2.4.3.2.3 e GBA 2.4.3.2.4 e compostos isolados.....                                              | 110 |
| <b>Tabela 28.</b> Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBA 2.4.3.3.2, GBA 2.4.3.3.3, GBA 2.4.3.3.4 e GBA 2.4.3.3.5 e compostos isolados.....                               | 111 |
| <b>Tabela 29.</b> Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBA 2.5, GBA 2.7 e GBA 2.9. ....                                                                                    | 112 |
| <b>Tabela 30.</b> Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBA 2.5.1, GBA 2.5.2, GBA 2.7.1, GBA 2.7.2, GBA 2.9.2 e GBA 2.9.3 e os compostos isolados. ....                     | 113 |
| <b>Tabela 31.</b> Fracionamento cromatográfico realizado na fração: GBA 3.2 e compostos isolados.....                                                                                     | 115 |
| <b>Tabela 32.</b> Fracionamento cromatográfico realizado na fração: GBA 4.3 e GBA 4.4 e compostos isolados.....                                                                           | 117 |

|                                                                                                                                             |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabela 33.</b> Compostos identificados por CG-EM nas frações AcOEt ácido e das frações enriquecidas de <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> . | 119 |
| <b>Tabela 34.</b> Compostos identificados na fração AcOEt ácido e das frações enriquecidas de <i>Hippeastrum glaucescens</i> .              | 122 |
| <b>Tabela 35.</b> Dados espectrais de RMN uni e bidimensional do composto <b>(I)</b> .                                                      | 135 |
| <b>Tabela 36.</b> Alguns dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(VI)</b> .                                                             | 139 |
| <b>Tabela 37.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(VII)</b> .                                                                   | 142 |
| <b>Tabela 38.</b> Alguns dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(VIII)</b> .                                                           | 145 |
| <b>Tabela 39.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(II)</b> em comparação com a literatura (PETTIT e MELODY, 2005).              | 146 |
| <b>Tabela 40.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(III)</b> em comparação com a literatura (LIKHITWITAYAWUID et al., 1993).     | 148 |
| <b>Tabela 41.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(IV)</b> em comparação com a literatura (LLABRÉS et al., 1986).               | 149 |
| <b>Tabela 42.</b> RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(V)</b> em comparação com a literatura (LLABRÉS et al., 1986).                         | 150 |
| <b>Tabela 43.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(IX)</b> em comparação com a literatura (OLIVEIRA, 2017).                     | 151 |
| <b>Tabela 44.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(X)</b> em comparação com a literatura (OLIVEIRA, 2017).                      | 152 |
| <b>Tabela 45.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(XI)</b> em comparação com a literatura (JEFFS et al., 1985).                 | 154 |
| <b>Tabela 46.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(XII)</b> em comparação com a literatura (de ANDRADE et al., 2014).           | 155 |
| <b>Tabela 47.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(XIII)</b> em comparação com a literatura (OLIVEIRA, 2017).                   | 156 |
| <b>Tabela 48.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(XIV)</b> em comparação com a literatura (GIORDANI et al., 2011).             | 157 |
| <b>Tabela 49.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(XV)</b> em comparação com a literatura (de ANDRADE et al., 2014).            | 158 |
| <b>Tabela 50.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(XVI)</b> em comparação com a literatura (GIORDANI et al., 2011).             | 160 |
| <b>Tabela 51.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto <b>(XVII)</b> em comparação com a literatura (ALMANZA et al., 1996).             | 161 |

|                                                                                                                                                                                                 |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabela 52.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ dos composto (XVIII) e (XIX) em comparação com a literatura (PABUÇÇUOGLU et al, 1989). .....                                                     | 163 |
| <b>Tabela 53.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto (XX) em comparação com a literatura (EVIDENTE et al, 1986). .....                                                                    | 164 |
| <b>Tabela 54.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto (XXI) em comparação com a literatura (GHOSAL et al., 1984).....                                                                      | 165 |
| <b>Tabela 55.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto (XXII) em comparação com a literatura (ZHANG et al, 2006).....                                                                       | 166 |
| <b>Tabela 56.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto (XXIII) em comparação com a literatura (KIHARA et al., 1987). .....                                                                  | 168 |
| <b>Tabela 57.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto (XXIV) em comparação com a literatura (SU AU et al., 1990). .....                                                                    | 169 |
| <b>Tabela 58.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ do composto (XXV) em comparação com a literatura (SU AU et al., 1990). .....                                                                     | 170 |
| <b>Tabela 59.</b> Compostos obtidos do <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> . .....                                                                                                                  | 174 |
| <b>Tabela 60.</b> Flavonoides isolados da espécie <i>Hippeastrum glaucescens</i> .....                                                                                                          | 176 |
| <b>Tabela 61.</b> Dados de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria dos compostos identificados nas frações AcOEt ácido e frações enriquecidas de <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> . ..... | 188 |
| <b>Tabela 62.</b> Dados de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria dos compostos identificados nas frações AcOEt ácido e frações enriquecidas de <i>Hippeastrum glaucescens</i> . .....  | 191 |
| <b>Tabela 63.</b> Dados de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria das frações não finalizadas de <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> . .....                                                | 193 |
| <b>Tabela 64.</b> Dados de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria das frações não finalizadas de <i>Hippeastrum glaucescens</i> . .....                                                 | 198 |
| <b>Tabela 65.</b> Dados espectrais de RMN uni e bidimensional do composto (II).. .....                                                                                                          | 200 |

## LISTA DE ESQUEMAS

|                                                                                                                                                  |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Esquema 1.</b> Preparação dos extratos brutos metanólico DCF, DCB, DCR e GB. ....                                                             | 47 |
| <b>Esquema 2.</b> Extração ácido-base dos extratos brutos de F, B e R. *(LA) Limpeza AcOEt, (H) <i>n</i> -Hex, (A) AcOEt e (AM) AcOEt:MeOH. .... | 49 |
| <b>Esquema 3.</b> Divisão do extrato hexânico das folhas de <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> . ....                                               | 51 |
| <b>Esquema 4.</b> Fracionamento cromatográfico do extrato DCFH por CLAE. * Tempo de Retenção. ....                                               | 52 |
| <b>Esquema 5.</b> Composto isolado e identificados na fração DCFH. ....                                                                          | 52 |
| <b>Esquema 6.</b> Fracionamento cromatográfico do extrato DCFA por CLC ....                                                                      | 53 |
| <b>Esquema 7.</b> Fracionamento cromatográfico do extrato DCFA por CLC. ....                                                                     | 54 |
| <b>Esquema 8.</b> Compostos identificados na fração DCFA. ....                                                                                   | 55 |
| <b>Esquema 9.</b> Separação do extrato hexânico dos bulbos de <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> . ....                                             | 55 |
| <b>Esquema 10.</b> Fracionamento cromatográfico do extrato DCBH por CLC. ....                                                                    | 56 |
| <b>Esquema 11.</b> Fracionamento cromatográfico da fração DCBH. S 2 por CCDP. ....                                                               | 57 |
| <b>Esquema 12.</b> Fracionamento cromatográfico da fração DCBH.S 4 por CLAE. ....                                                                | 58 |
| <b>Esquema 13.</b> Fracionamento cromatográfico da fração DCBH. S 6 por CCDP. ....                                                               | 58 |
| <b>Esquema 14.</b> Fracionamento cromatográfico da fração DCBH.S 8 por CLAE. ....                                                                | 59 |
| <b>Esquema 15.</b> Fracionamento cromatográfico da fração DCBH.S 10 por CCDP. ....                                                               | 60 |
| <b>Esquema 16.</b> Fracionamento cromatográfico da fração DCBH.S 12 por CCDP. ....                                                               | 61 |
| <b>Esquema 17.</b> Fracionamento cromatográfico da fração DCBH.S 15 por CCDP. ....                                                               | 62 |
| <b>Esquema 18.</b> Fracionamento cromatográfico da fração DCBH.S 17 por CLAE. ....                                                               | 63 |
| <b>Esquema 19.</b> Compostos isolados e identificados na fração DCBH. ....                                                                       | 63 |
| <b>Esquema 20.</b> Fracionamento cromatográfico do extrato DCBA por CLC. ....                                                                    | 65 |
| <b>Esquema 21.</b> Fracionamento cromatográfico da fração DCBA.S 1 e DCBA.S 1.2 por CLC.4 ....                                                   | 66 |
| <b>Esquema 22.</b> Fracionamento cromatográfico da fração DCBA 2 por CLC. ....                                                                   | 68 |
| <b>Esquema 23.</b> Fracionamento cromatográfico da fração DCBA.S 3 por CLC. ....                                                                 | 69 |
| <b>Esquema 24.</b> Fracionamento cromatográfico da fração DCBA.S 4 por CLC. ....                                                                 | 70 |
| <b>Esquema 25.</b> Compostos isolados e identificados na fração DCBA. ....                                                                       | 70 |
| <b>Esquema 26.</b> Fracionamento cromatográfico da fração DCRA por CLC. ....                                                                     | 71 |
| <b>Esquema 27.</b> Compostos identificados na fração DCRA. ....                                                                                  | 72 |
| <b>Esquema 28.</b> Fracionamento cromatográfico do extrato GBLA por CLC. ....                                                                    | 72 |

|                                                                                                                     |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Esquema 29.</b> Fracionamento cromatográfico da fração GBLA 2, GBLA 2.2, GBLA 2.3 e GBLA 2.4 por CLC e CLV. .... | 73  |
| <b>Esquema 30.</b> Fracionamento cromatográfico da fração GBLA 3 por CLC e de suas subfrações.....                  | 81  |
| <b>Esquema 31.</b> Fracionamento cromatográfico da fração GBLA 4 por CLC e de sua subfração.....                    | 83  |
| <b>Esquema 32.</b> Compostos isolados e identificados na fração GBLA. ....                                          | 88  |
| <b>Esquema 33.</b> Separação do extrato hexânico dos bulbos de <i>Hippeastrum glaucescens</i> . ....                | 88  |
| <b>Esquema 34.</b> Fracionamento cromatográfico realizado na fração GBH.P.....                                      | 89  |
| <b>Esquema 35.</b> Fracionamento cromatográfico da fração GBH.S por CLC.....                                        | 90  |
| <b>Esquema 36.</b> Fracionamento cromatográfico da fração GBH.S 1 por CLC e de suas subfrações.....                 | 91  |
| <b>Esquema 37.</b> Fracionamento cromatográfico da fração GBH.S 2 por CLC e de suas subfrações.....                 | 93  |
| <b>Esquema 38.</b> Fracionamento cromatográfico da fração GBH.S 3 por CCDP.. ....                                   | 100 |
| <b>Esquema 39.</b> Compostos isolados e identificados na fração GBH.....                                            | 102 |
| <b>Esquema 40.</b> Fracionamento cromatográfico do extrato GBA por CLC. ....                                        | 103 |
| <b>Esquema 41.</b> Fracionamento cromatográfico da fração GBA 1 por CLC e de suas subfrações.....                   | 104 |
| <b>Esquema 42.</b> Fracionamento cromatográfico da fração GBA 2 por CLV e de suas subfrações.....                   | 106 |
| <b>Esquema 43.</b> Fracionamento cromatográfico da fração GBA 3 por CLC e de suas subfrações.....                   | 114 |
| <b>Esquema 44.</b> Fracionamento cromatográfico da fração GBA 4 por CLC e de suas subfrações.....                   | 116 |
| <b>Esquema 45.</b> Compostos isolados e identificados da fração GBA. ....                                           | 117 |

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SIMBOLOS

|                                     |                                                          |
|-------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| ~                                   | Aproximadamente                                          |
| $\phi$                              | Diâmetro                                                 |
| $\delta$                            | Deslocamento químico                                     |
| a                                   | Altura                                                   |
| $\alpha$                            | Alfa                                                     |
| $\beta$                             | Beta                                                     |
| $\mu\text{g}$                       | Microgramas                                              |
| <b>AChe</b>                         | Enzima acetilcolinesterase                               |
| <b>AcOEt</b>                        | Acetato de Etila                                         |
| <b>B</b>                            | Extrato bruto dos bulbos                                 |
| <b>BLA</b>                          | Fração acetato de etila ácido das folhas                 |
| <b>BA</b>                           | Fração acetato de etila básico das folhas                |
| <b>BH</b>                           | Fração <i>n</i> -Hexano das folhas                       |
| <b>BAM</b>                          | Fração acetato de etila:metanol das folhas               |
| <b>CCDC</b>                         | Cromatografia em Camada Delgada Comparativa              |
| <b>CCDP</b>                         | Cromatografia em Camada Delgada Preparativa              |
| <b>CD<sub>3</sub>OD</b>             | Metanol deuterado                                        |
| <b>CDCl<sub>3</sub></b>             | Clorofórmio deuterado                                    |
| <b>CG - EM</b>                      | Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas |
| <b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub></b> | Diclorometano                                            |
| <b>CHCl<sub>3</sub></b>             | Clorofórmio                                              |
| <b>CLAE</b>                         | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência                 |
| <b>CLC</b>                          | Cromatografia Líquida em Coluna                          |
| <b>CLV</b>                          | Cromatografia Líquida á Vácuo                            |

|                                    |                                                           |
|------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
| <b>COSY</b>                        | Homonuclear Correlation Spectroscopy                      |
| <b>DC</b>                          | Dicroísmo circular                                        |
| <b><i>d</i></b>                    | Dubleto                                                   |
| <b>DC</b>                          | <i>Hippeastrum</i> diniz-cruzae                           |
| <b><i>dd</i></b>                   | Duplo dubleto                                             |
| <b><i>d br</i></b>                 | Dubleto largo                                             |
| <b>DMSO</b>                        | Dimetilsulfóxido                                          |
| <b><i>dt</i></b>                   | Duplo tripleto                                            |
| <b>F</b>                           | Extrato bruto das folhas                                  |
| <b>FDA</b>                         | Food and Drug Administration                              |
| <b>FLA</b>                         | Fração acetato de etila ácido das folhas                  |
| <b>FH</b>                          | Fração <i>n</i> -Hexano das folhas                        |
| <b>FA</b>                          | Fração acetato de etila básico das folhas                 |
| <b>FAM</b>                         | Fração acetato de etila:metanol                           |
| <b>G</b>                           | <i>Hippeastrum glaucescens</i>                            |
| <b>HMBC</b>                        | Heteronuclear Multiple Bond Correlation                   |
| <b>HRESIMS</b>                     | High-Resolution Electrospray Ionization Mass Spectrometry |
| <b>HSQC</b>                        | Heteronuclear Single Quantum Correlation                  |
| <b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b> | Ácido sulfúrico                                           |
| <b>Hz</b>                          | Hertz                                                     |
| <b>IC<sub>50</sub></b>             | Concentração inibitória                                   |
| <b><i>J</i></b>                    | Constante de acoplamento                                  |
| <b><i>m</i></b>                    | Multiplete                                                |
| <b>MDCK</b>                        | Células de rim caninas Madin Derby                        |
| <b><i>m/z</i></b>                  | Relação massa carga                                       |
| <b>Me</b>                          | Metil                                                     |
| <b>MeOH</b>                        | Metanol                                                   |



|                           |                                                       |
|---------------------------|-------------------------------------------------------|
| <b>Me<sub>2</sub>CO</b>   | Acetona                                               |
| <b>Mg</b>                 | Miligrama                                             |
| <b>MHz</b>                | Mega hertz                                            |
| <b>mL</b>                 | Mililitro                                             |
| <b>NH<sub>4</sub>OH</b>   | Hidróxido de amônio                                   |
| <b><i>n</i>-Hex</b>       | <i>n</i> -Hexano                                      |
| <b>NOESY</b>              | Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy                |
| <b>OH</b>                 | Grupo hidroxila                                       |
| <b>OMe</b>                | Grupo metoxila                                        |
| <b>OCH<sub>2</sub>O</b>   | Grupo metileno dióxido fenila.                        |
| <b><i>p</i></b>           | para                                                  |
| <b>pH</b>                 | Potencial hidrogênio                                  |
| <b>ppm</b>                | Partes por milhão                                     |
| <b><i>q</i></b>           | Quadrupletto                                          |
| <b>R</b>                  | Extrato bruto das raízes                              |
| <b>R<sub>f</sub></b>      | Fator de retenção                                     |
| <b>RLA</b>                | Fração acetato de etila ácido das raízes              |
| <b>RH</b>                 | Fração <i>n</i> -Hexano das raízes                    |
| <b>RA</b>                 | Fração acetato de etila básico das raízes             |
| <b>RAM</b>                | Fração acetato de etila:metanol das raízes            |
| <b>RMN</b>                | Ressonância Magnética Nuclear                         |
| <b>RMN <sup>13</sup>C</b> | Ressonância Magnética Nuclear de carbono              |
| <b>RMN <sup>1</sup>H</b>  | Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio           |
| <b><i>s</i></b>           | Singleto                                              |
| <b><i>s br</i></b>        | Singleto largo                                        |
| <b>SISBIO</b>             | Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade |
| <b>UFES</b>               | Universidade Federal do Espírito Santo                |

**UV**

Ultravioleta

## RESUMO

O interesse pelo estudo da família Amaryllidaceae está relacionado ao seu relevante potencial químico e biológico que tem apresentado ao longo dos anos. O trabalho em questão, tem por objetivo o isolamento e a caracterização dos alcaloides presentes em duas espécies brasileiras, o *Hippeastrum diniz-cruzae* (folhas, bulbos e raízes) e o *Hippeastrum glaucescens* (bulbos). Inicialmente foi realizada uma extração ácido-base nos extratos metanólicos e partição líquido-líquido das partes vegetais, obtendo-se as frações de AcOEt ácido e frações enriquecidos em alcaloides. Esses extratos foram analisados por CG-EM e detectaram para o *Hippeastrum diniz-cruzae* 39 alcaloides conhecidos e 24 compostos não identificados pela biblioteca de alcaloides, para o *Hippeastrum glaucescens* foram detectados 12 alcaloides conhecidos e 9 compostos desconhecidos. Esses extratos obtidos foram submetidos a variadas técnicas cromatográficas de separação, a fim de isolar e purificar os mesmos. Como resultado, foram isolados 5 alcaloides de *Hippeastrum diniz-cruzae*: cruzinina (I), 7-deoxi-narciclasina (II), licorina (III), pseudolicorina (IV) e ungimiorina (V), sendo a cruzinina um alcaloide inédito do tipo homolicorina, elucidado por meio de CG-EM, RMN uni e bidimensional, Dicroísmo Circular e, principalmente, Cristalografia de Raios-X. Este composto apresentou uma característica única dentro dos alcaloides de Amaryllidaceae, evidenciada pela estereoquímica das posições H-1 e H-10b. Os fracionamentos do *Hippeastrum glaucescens* levaram a obtenção de 20 alcaloides: 2 $\alpha$ -7-dimetóxihomolicorina N-óxido (VI), 7-Metoxi-O-metillicorenina N-óxido (VII), Candimina N-óxido (VIII), albomaculina N-óxido (IX), 2 $\alpha$ -metoxihomolicorina (XX), 2 $\alpha$ -hidroxihomolicorina (XXI), albomaculina (XXII), 2 $\alpha$ -hidroxialbomaculina (XIII), 2 $\alpha$ ,7-dimetóxihomolicorina (XIV), 7-Metoxi-O-metillicorenina (XV), candimina (XVI), hippeastrina (XVII), haemantidina (XVIII), 6-*epi*haemantidina (XIX), 11-hidroxivitatina (XX), tazetina (XXI), pretazetina (XXII), 3-*epi*macronina (XXIII), trisfaeridina (XXIV) e ismina (XXV), sendo os compostos (XI), (XVIII), (XIX) e (XXII) obtidos em três misturas. Os compostos (VI), (VII) e (VIII) foram isolados pela primeira vez nesse trabalho, sendo identificados por RMN de <sup>1</sup>H e massas de alta resolução, sendo necessário para a sua completa elucidação estrutural as demais análises de RMN e/ou massas de alta resolução. Estudos anteriores do *Hippeastrum glaucescens* indicaram relevante potencial alcaloídico e biológico, com potencial inibitório da enzima

acetilcolinesterase. Para o *Hippeastrum diniz-cruzae* este é o primeiro estudo fitoquímico realizado. Neste sentido, estas evidências conferem grande relevância na continuação dos respectivos estudos químicos e biológicos com ambas as espécies.

**Palavras-chave:** Amaryllidaceae; *Hippeastrum diniz-cruzae*; *Hippeastrum glaucescens*; Alcaloides; RMN; CG-EM.

## ABSTRACT

The interest in the study of the Amaryllidaceae family is related by yours relevant chemical and biological potential that has presented over the years. The objective of this work is the isolation and characterization of alkaloids present in two Brazilian species, *Hippeastrum diniz-cruzae* (leaves, bulbs and roots) and *Hippeastrum glaucescens* (bulbs). Initially, an acid-base extraction was performed in the methanolic extracts and liquid-liquid partition of the vegetal parts, obtaining the acid AcOEt and alkaloid enriched fractions. These extracts were analyzed by GC-MS and indicated to *Hippeastrum diniz-cruzae* 39 known alkaloids and 24 unidentified compounds. For *Hippeastrum glaucescens* 12 known alkaloids and 9 unknown compounds were identified. These extracts were subjected to various chromatographic separation techniques in order to isolate and purify these compounds. As a result, 5 *Hippeastrum diniz-cruzae* alkaloids were isolated: cruzinine (**I**), 7-deoxy-narciclasine (**II**), licoryne (**III**), pseudolycorine (**IV**) and ungimiorine (**V**), with cruzinine being an unpublished alkaloid of the type homolycorin, elucidated by GC-MS, one and two-dimensional NMR, Circular Dichroism and, mainly, X-ray Crystallography. This compound presented a unique characteristic within Amaryllidaceae alkaloids, evidenced by the stereochemistry of positions H-1 and H-10b. Fractions of *Hippeastrum glaucescens* resulted in 20 alkaloids: 2 $\alpha$ -7-dimethoxyhomolycorine N-oxide (**VI**), 7-Methoxy-O-methylilorenine N-oxide (**VII**), Candimine N-oxide (**VIII**), N-oxide albamaculine (**IX**), 2 $\alpha$ -methoxyhomolycorine (**XX**), 2 $\alpha$ -hydroxyhomolycorine (**XXI**), albomaculine (**XXII**), 2 $\alpha$ -hydroxyalbomaculine (**XIII**), 2 $\alpha$ , 7-dimethoxyhomolycorine (**XIV**), 7-Methoxy-O-methyllicorine (**XV**), candimine (**XVI**), hyppeastrine (**XVII**), haemantidine (**XVIII**), 6-*epi*haemantidine (**XIX**), 11-hydroxyvitatine (**XX**), tazetine (**XXI**), pretazetine (**XXII**), 3-*epi*machrine (**XXIII**), trisfaeridine (**XXIV**) and ismine (**XXV**), compounds (**XI**), (**XVIII**), (**XIX**) and (**XXII**) being obtained in three mixtures. The compounds (**VI**), (**VII**) and (**VIII**) were isolated for the first time in this study, being identified by <sup>1</sup>H NMR and high resolution masses. for the compound (**VII**) also high resolution masses. Previous studies of *Hippeastrum glaucescens* have indicated relevant alkaloid and biological potential, with potential inhibitory enzyme acetylcholinesterase. For *Hippeastrum diniz-cruzae* this is the first phytochemical study performed, and its previous report has reported its high moebicide power and low toxicity. In this sense, this evidence

gives great relevance in the continuation of the respective chemical and biological studies with the respective species.

**Keyword:** Amaryllidaceae; *Hippeastrum diniz-cruzae*; *Hippeastrum glaucescens*; Alkaloids; NMR; CG-MS.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO .....                                                                                            | 31 |
| 1.1 Produtos Naturais .....                                                                                    | 31 |
| 1.2 Família Amaryllidaceae .....                                                                               | 33 |
| 1.2.1 Gênero <i>Hippeastrum</i> Herb. ....                                                                     | 34 |
| 1.2.1.1 <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> Dutilh & Semir .....                                                   | 35 |
| 1.2.1.2 <i>Hippeastrum glaucescens</i> (Mart.) Herb.....                                                       | 36 |
| 1.2.2 Alcaloides de Amaryllidaceae .....                                                                       | 38 |
| 1.3 Outros metabólitos .....                                                                                   | 42 |
| 2. OBJETIVOS .....                                                                                             | 43 |
| 2.1 Geral .....                                                                                                | 43 |
| 2.2 Específicos .....                                                                                          | 43 |
| 3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....                                                                             | 44 |
| 3.1 Materiais, técnicas e equipamentos em geral .....                                                          | 44 |
| 3.1.1 Solventes e Reagentes .....                                                                              | 44 |
| 3.1.2 Técnicas .....                                                                                           | 44 |
| 3.1.3 Equipamentos .....                                                                                       | 45 |
| 3.2 Coleta e identificação das espécies <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> e <i>Hippeastrum glaucescens</i> ..... | 46 |
| 3.3 Obtenção dos extratos brutos .....                                                                         | 47 |
| 3.4 Purificação dos extratos brutos .....                                                                      | 48 |
| 3.5 Extração dos alcaloides .....                                                                              | 48 |
| 3.6 Fracionamento cromatográfico .....                                                                         | 49 |
| 3.6.1 Folhas de <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> .....                                                          | 50 |
| 3.6.1.1 Fração <i>n</i> -Hex – DCFH .....                                                                      | 50 |
| 3.6.1.2 Fração AcOEt - DCFA.....                                                                               | 53 |
| 3.6.2 Bulbos de <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> .....                                                          | 55 |

|                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------|-----|
| 3.6.2.1 Fração <i>n</i> -Hex – DCBH .....                                | 55  |
| 3.6.2.2 Fração AcOEt – DCBA.....                                         | 64  |
| 3.6.3 Raízes de <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> .....                    | 71  |
| 3.6.3.1 Fração AcOEt – DCRA .....                                        | 71  |
| 3.6.4 Bulbos de <i>Hippeastrum glaucescens</i> .....                     | 72  |
| 3.6.4.1 Fração AcOEt ácida – GBLA.....                                   | 72  |
| 3.6.4.2 Fração <i>n</i> -Hex – GBH .....                                 | 88  |
| 3.6.4.3 Fração AcOEt – GBA.....                                          | 103 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                          | 118 |
| 4.1 Compostos identificados.....                                         | 118 |
| 4.1.1 <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> .....                              | 118 |
| 4.1.2 <i>Hippeastrum glaucescens</i> .....                               | 121 |
| 4.1.3 Frações não finalizadas .....                                      | 122 |
| 4.2 Compostos isolados.....                                              | 123 |
| 4.2.1 Alcaloides .....                                                   | 123 |
| 4.2.1.1 Compostos inéditos .....                                         | 126 |
| 4.2.1.1.1 Composto I.....                                                | 126 |
| 4.2.1.1.2 Composto VI .....                                              | 137 |
| 4.2.1.1.3 Composto VII .....                                             | 140 |
| 4.2.1.1.4 Composto VIII .....                                            | 143 |
| 4.2.1.2 Compostos conhecidos.....                                        | 146 |
| 4.2.1.2.1 Composto II – 7-Deoxi- <i>trans</i> -dihidronarciclasine ..... | 146 |
| 4.2.1.2.2 Composto III – licorina .....                                  | 147 |
| 4.2.1.2.3 Composto IV – pseudolicorina .....                             | 148 |
| 4.2.1.2.4 Composto V – ungiminorina.....                                 | 150 |
| 4.2.1.2.5 Composto IX – albomaculina <i>N</i> -óxido .....               | 151 |
| 4.2.1.2.6 Composto X – 2 $\alpha$ -metoxihomolicorina .....              | 152 |



|                                                                                                                   |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.2.1.2.7 Composto XI – 2 $\alpha$ -hidroxialbomaculina .....                                                     | 153 |
| 4.2.1.2.8 Composto XII – albomaculina .....                                                                       | 154 |
| 4.2.1.2.9 Composto XIII – 2 $\alpha$ -hidroxialbomaculina .....                                                   | 156 |
| 4.2.1.2.10 Composto XIV – 2 $\alpha$ ,7-dimetoxihomolicorina .....                                                | 157 |
| 4.2.1.2.11 Composto XV – 7-metoxi-O-metillicorenina .....                                                         | 158 |
| 4.2.1.2.12 Composto XVI – candimina.....                                                                          | 160 |
| 4.2.1.2.13 Composto XVII – hippeastrina .....                                                                     | 161 |
| 4.2.1.2.14 Composto XVIII e XIX – haemantidina e 6- <i>epi</i> haematidina .....                                  | 162 |
| 4.2.1.2.15 Composto XX – 11-hidroxivitatina .....                                                                 | 164 |
| 4.2.1.2.16 Composto XXI – tazetina .....                                                                          | 165 |
| 4.2.1.2.17 Composto XXII – pretazetina .....                                                                      | 166 |
| 4.2.1.2.18 Composto XXIII – 3- <i>epi</i> macronina .....                                                         | 167 |
| 4.2.1.2.19 Composto XXIV – trisfaeridina .....                                                                    | 169 |
| 4.2.1.2.20 Composto XXV – ismina .....                                                                            | 170 |
| 4.2.2 Flavonoides .....                                                                                           | 171 |
| 4.3 Resumo dos resultados .....                                                                                   | 173 |
| 5. CONCLUSÃO.....                                                                                                 | 177 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                               | 179 |
| ANEXOS .....                                                                                                      | 187 |
| Anexo A.1. Dados de CG-EM das frações AcOEt ácido e frações enriquecidas de <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> ..... | 188 |
| Anexo A.2. Dados de CG-EM das frações AcOEt ácido e frações enriquecidas de <i>Hippeastrum glaucescens</i> .....  | 191 |
| Anexo A.3. Dados de CG-EM das frações não finalizadas de <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i> .....                    | 193 |
| Anexo A.4. Dados de CG-EM das frações não finalizadas de <i>Hippeastrum glaucescens</i> .....                     | 198 |
| Anexo A.5. Dados de RMN uni e bidimensional do composto (II) .....                                                | 200 |

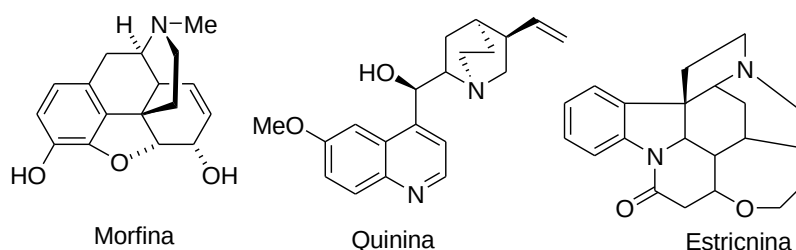
|                                                                                         |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Anexo A.6. Espectro de massas de alta resolução do composto (IX) .....                  | 207 |
| Anexo A.7. Espectros de massas e de RMN de $^1\text{H}$ dos compostos (A) até (H) ..... | 208 |

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Produtos Naturais

A natureza tem servido como fonte de recursos e melhoria de vida para humanidade desde tempos muito antigos, despertando continuamente o interesse por produtos de origem natural<sup>1</sup>. Neste contexto, as plantas desempenham um papel decisivo na medicina tradicional, comprovando historicamente seu valor como fonte de moléculas com potencial terapêutico, uma vez que, ainda representam um importante reservatório para a identificação de novas substâncias<sup>2</sup>.

Os primeiros isolamentos de substâncias puras do reino vegetal, conforme Pinto e colaboradores (2002)<sup>3</sup>, deu-se no início do século XVIII. Através dos trabalhos de extração de ácidos e de bases orgânicas foram possíveis identificar os compostos morfina (1804), quinina e estricnina (1820)<sup>4</sup> (Figura 1). Entretanto, a origem correta da descoberta dessas substâncias se torna de difícil determinação, pois extratos de plantas com alcaloides em sua composição são utilizados desde os primórdios da civilização, como medicamentos, venenos e poções mágicas<sup>5</sup>.



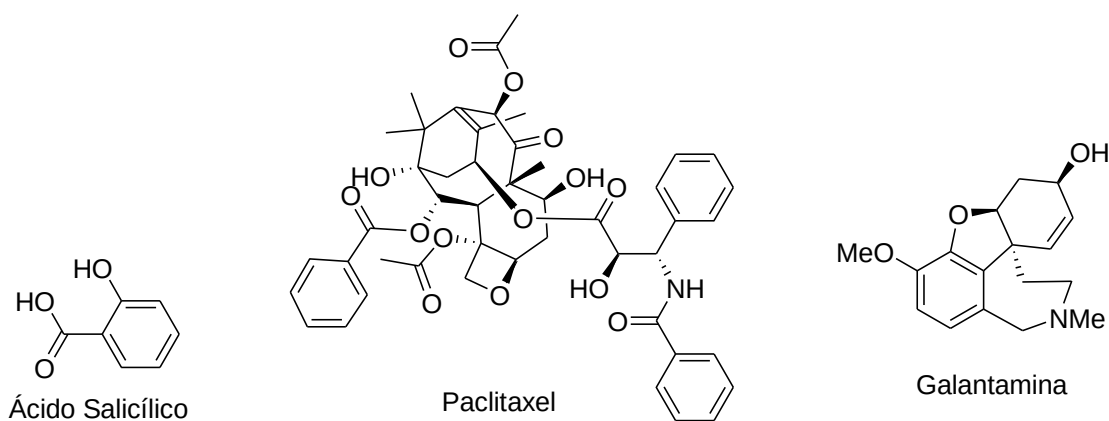
**Figura 1** Estrutura química dos alcaloides morfina, quinina e estricnina.

As propriedades químicas e biológicas observadas pelas plantas devem-se, principalmente, aos metabolitos secundários. Estes metabolitos são produzidos pelas mesmas tendo como exemplos as substâncias denominadas de alcaloides, flavonoides, ácidos fenólicos, terpenóides, saponinas, entre outras<sup>6</sup>. Até o momento, não se conhece em detalhes a verdadeira função da maioria destes metabolitos nas plantas, ainda que algumas funções desempenhadas por estes compostos estejam bem definidas. Dentre estas se podem destacar as funções de regulação do crescimento vegetal e a criação de mecanismos de proteção e defesa<sup>7</sup>.

Quimicamente, esses metabolitos apresentam uma grande diversidade estrutural e têm servido de inspiração para a descoberta e desenvolvimento de

novos compostos biologicamente ativos, especialmente desde a segunda metade do século passado até os dias atuais<sup>1</sup>. Estudos de Newman e Cragg (2016)<sup>8</sup> apontam que cerca de 65% dos fármacos aprovados no período 1981 a 2014 possuem uma origem direta ou indireta de produtos obtidos do estudo de fontes naturais e do seu metabolismo.

Dentre os medicamentos atualmente comercializados em clínica, oriundos direta ou indiretamente de produtos naturais, cita-se como exemplos mais comuns a morfina (Dimorf<sup>®</sup>), comercializada sob a forma de sulfato de morfina pentaidratada, e indicada como analgésico; a quinina (Monotrean<sup>®</sup>), comercializada sob a forma de cloridrato de quinina e indicada para o tratamento de malária e reumatismo; o ácido salicílico (Aspirina<sup>®</sup>), comercializado sob a forma de ácido acetilsalicílico e utilizado como analgésico, antitérmico e anti-inflamatório; o paclitaxel (Taxol<sup>®</sup>), utilizado no tratamento do câncer; a galantamina (Razadyne<sup>®</sup> e Reminyl<sup>®</sup>), comercializada sob a forma de bromidrato de galantamina e utilizada para o tratamento paliativo da Doença de Alzheimer (DA); entre outras<sup>9</sup>. As estruturas químicas dos três últimos produtos naturais citados estão representados na Figura 2.



**Figura 2.** Estrutura química das substâncias ácido salicílico, paclitaxel e galantamina.

Importante ressaltar que, embora desafiador e complexo, o processo de obtenção de um medicamento comercializado oriundo de uma fonte natural, desde a sua caracterização até estudos clínicos, apresenta um futuro bastante promissor devido aos avanços científicos e tecnológicos, especialmente na área de análise instrumental, bem como em biologia molecular. Neste sentido, os produtos de origem natural seguirão sendo as fontes mais importantes de obtenção de moléculas

farmacologicamente ativas<sup>2</sup>.

## 1.2 Família Amaryllidaceae

A família Amaryllidaceae foi identificada inicialmente por Jaume St. Hilaire em 1805, e é composta por uma grande variedade de plantas monocotiledôneas, pertencentes a ordem Asparagales<sup>10</sup>, distribuídas ao longo das regiões temperadas e tropicais do globo terrestre<sup>11</sup> e possuindo um significativo interesse comercial, ornamental e na medicina tradicional<sup>12</sup>.

Os primeiros relatos do uso popular de espécies da família Amaryllidaceae datam da época do médico grego Hipócrates, onde se utilizavam exemplares de *Narcissus poeticus* L. para o tratamento de tumores uterinos<sup>13,14</sup>. Outros gêneros de Amaryllidaceae foram comumente utilizados por tribos africanas e asiáticas, principalmente para o tratamento de doenças venéreas, parasitárias e enfermidades neurodegenerativas<sup>15</sup>. Ainda assim, existem relatos de utilização no tratamento de doenças respiratórias, urinárias e problemas gastrointestinais, além de dores de cabeça, febre, hematomas, inchaços, fraturas, entre inúmeras outras<sup>10,16</sup>. A família Amaryllidaceae está considerada como uma das 20 famílias de plantas mais importantes como fonte de agentes terapêuticos, sendo este potencial devido a presença de seus alcaloides, que apresentam características estruturais exclusivas para esta família<sup>12,17</sup>.

Segundo catálogo, a família Amaryllidaceae compreende aproximadamente 73 gêneros e cerca de 1.600 espécies. Dentre estas, foram identificadas ao longo do território brasileiro cerca de 19 gêneros e 144 espécies, sendo 66 endêmicas<sup>18,19</sup>. De acordo com a última revisão taxonômica, a família Amaryllidaceae é composta por três subfamílias: Agapanthoideae, Allioideae e Amaryllidoideae, antigamente conhecidas como famílias Agapanthaceae, Alliaceae e Amaryllidaceae, respectivamente<sup>20</sup>. Neste sentido, convém ressaltar que a antiga denominação de família e alcaloides de Amaryllidaceae se refere, portanto, apenas aos compostos alcaloídicos isolados de espécies da subfamília Amaryllidoideae; no entanto, o uso do termo genérico “Amaryllidaceae” para caracterizá-los ainda persiste na literatura mais recente. Sendo assim, seguir-se-á utilizando-se o termo família e alcaloides de Amaryllidaceae na presente revisão, para se referir aos compostos oriundos de espécie da subfamília Amaryllidoideae.

### 1.2.1 Genêro *Hippeastrum* Herb.

O gênero *Hippeastrum*, pertencente a tribo Hippeastreae, apresenta aproximadamente 70 espécies distribuídas em toda América Latina, especialmente no Brasil, onde podem ser encontrados em diferentes biomas, tais como a Amazônia, a Mata Atlântica, o Cerrado, a Caatinga, o Pampa e o Pantanal. Catálogos mais recentes de espécies do gênero *Hippeastrum* apontam a existência de aproximadamente 33 espécies brasileiras, sendo 24 endêmicas<sup>18,21,22</sup>. Por apresentar divergências taxonômicas, especialmente com o gênero *Amaryllis*, o *Bureau de Taxonomia* estabeleceu que *Amaryllis* deve ser específico de espécies de origem africano e o gênero *Hippeastrum* Herb. é essencialmente americano<sup>23</sup>. Os estudos fitoquímicos desse gênero tiveram início em 1950, os quais foram dedicados a caracterização química dos compostos; com o passar dos anos, tiveram lugar estudos mais aprofundados à respeito das propriedades biológicas dos mesmos, indicando um grande potencial biológico para este gênero de plantas<sup>24,25</sup>.

Em estudo de de Andrade e colaboradores (2016)<sup>26</sup>, foram analisados os alcaloides presentes em nove espécies brasileiras do gênero *Hippeastrum* através de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) e seguidos de teste de atividade inibitória da enzima acetilcolinesterase, pelo ensaio de Ellman modificado. Foram identificados um total de 36 alcaloides nas espécies avaliadas, pertencentes a sete diferentes esqueletos básicos, e demonstrando importantes resultados no que se refere a inibição de AChE (Enzima Acetilcolinesterase). As espécies *Hippeastrum papilio* e *Hippeastrum glaucescens* apresentaram os melhores valores de inibição frente a enzima, por apresentarem uma porcentagem relativa por CG-EM bastante considerável do alcaloide galantamina. As espécies *Hippeastrum vittatum* e *Rhodophiala bifida* também mostraram efeitos inibitórios notáveis frente a enzima avaliada, e foi observado a presença do composto majoritário montanina nos extratos enriquecidos em alcaloides. Neste sentido, as evidências apresentadas neste trabalho sugerem a existência de novos esqueletos básicos para a modulação deste alvo biológico.

Não obstante, ao se comparar a quantidade de estudos com espécies americanas com estudos em espécies europeias e asiáticas, as de origem americano são ainda pouco avaliadas<sup>24</sup>. Em especial, o gênero *Hippeastrum*, importantes compostos bioativos foram isolados de suas espécies no Brasil. Como

exemplo, o alcaloide candimina, isolado de *Hippeastrum morelianum* (Coletado em São Paulo), apresentou citotoxicidade para o parasita *Trichomonas vaginalis*<sup>27</sup>. A montanina, já comentada anteriormente<sup>26</sup>, havia sido purificada anteriormente de *Hippeastrum vittatum* (coletada no Rio Grande do Sul, Brasil) e avaliada frente a alvos biológicos/farmacológicos. Montanina apresentou importante atividade inibitória da enzima AChE<sup>28</sup> e atividades do tipo antidepressiva, anticonvulsiva e ansiolítica, em modelos *in vivo*, com administração intraperitoneal<sup>29</sup>. A licorina, alcaloide comumente isolados em espécies desse gênero, apresentou ação antioxidante<sup>24</sup> e também frente ao parasita *Trichomonas vaginalis*<sup>30</sup>. Assim, é evidente o potencial biológico dos alcaloides encontrados no gênero *Hippeastrum*<sup>25</sup>.

#### 1.2.1.1 *Hippeastrum diniz-cruzae* Dutilh & Semir

A espécie *Hippeastrum diniz-cruzae* Dutilh & Semir é endêmica do Brasil, possuindo distribuição geográfica restrita aos arredores da Serra da Canastra, situada na região Sudeste (MG). A espécie foi identificada por um grupo de pesquisadores em 2013, e recebeu a denominação em homenagem póstuma a Dra. Neuza Diniz da Cruz, pesquisadora em citogenética do Instituto Agrônomo e da Universidade de Campinas<sup>22</sup>. O tipo de vegetação característico dessa região é o cerrado e a planta se prolifera no solo entre afloramentos rochosos, geralmente em pequenos grupos de indivíduos, florescendo predominantemente em novembro<sup>18</sup>. A espécie *H. diniz-cruzae* é apresentada na Figura 3.



**Figura 3.** *Hippeastrum diniz-cruzae* Dutilh & Semir.(Fonte: Arquivo pessoal)

A espécie *Hippeastrum diniz-cruzae* foi estudada recentemente por ROSA (2017)<sup>31</sup>, identificando-se por CG-EM uma composição alcaloídica na qual predominantemente se observou derivados do esqueleto básico licorina (98,76%) e apenas minoritariamente derivados de homolicorina (1,24%). Diante desses dados, foi investigada a sua atividade anti-*Acanthamoeba castellanii in vitro*, juntamente com outras 11 espécies de Amaryllidaceae. A fração enriquecida em alcaloides de bulbos da espécie destacou-se por apresentar 100% de inibição sobre as culturas do protozoário citado, na concentração de 2000 µg mL<sup>-1</sup>. Apresentou, além disso, o menor IC<sub>50</sub> dentre as espécies avaliadas. Não obstante, também demonstrou baixa citotoxicidade sobre as células MDCK, 5 a 7% nas concentrações de 250, 500 e 1000 µg mL<sup>-1</sup>, e a maior seletividade (IS 7,00). Com base nessas informações, pode-se afirmar que a espécie *H. diniz-cruzae* é um excelente alvo de pesquisa para descoberta de novos compostos biologicamente ativos sobretudo, com poder amebicida<sup>31</sup>.

#### **1.2.1.2 *Hippeastrum glaucescens* (Mart.) Herb.**

O *Hippeastrum glaucescens* também conhecido em algumas regiões como Lírio do Mato e Açucena<sup>32</sup>, pode ser encontrado em alguns estados das regiões nordeste, centro-oeste, sudeste e sul, com domínios fitogeográficos da Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal. É considerada erva daninha bulbosa, ocorrendo geralmente em populações isoladas e com poucos indivíduos<sup>33</sup>, representada na Figura 4.





**Figura 4.** *Hippeastrum glaucescens* (Mart.) Herb. (Fonte: Arquivo pessoal)

Estudos fitoquímicos realizados por Hofmann Jr. e colaboradores (2003 e 2004)<sup>34,35</sup> em *Hippeastrum glaucescens* coletado no Rio Grande do Sul, levaram ao isolamento dos alcaloides licorina, tazetina e pretazetina. No entanto, nem todas frações purificadas em alcaloides foram submetidas a isolamento<sup>34</sup>. Para esse gênero, conforme de Andrade e colaboradores (2012)<sup>25</sup>, foram relatados os seguintes alcaloides: licorina, pretazetina, 3-*epi*-macronina, 3-*epi*-deoxitazetina, deoxitazetina, trisferidina, galantamina, *N*-formilnorgalantamina, sanguinina, *N*-dimetilgalantamina, 3-*epi*-norgalantamina, narvedina, anidrogallantamina e hippeastrina.

Em 2016, os níveis de galantamina da espécie *H. glaucescens* foram avaliados por CG-EM<sup>26</sup>, como já mencionado, e apresentaram um alto conteúdo relativo deste alcaloide, chegando a valores de 65.15% nos extratos de folhas e 55.30% no extrato dos bulbos. Isto indica uma biossíntese direcionada pela espécie do sul brasileiro para o componente em questão. Com base nessa composição, os extratos foram testados como inibidores da enzima acetilcolinesterase, via ensaio de Ellman modificado<sup>36</sup>, apresentando, em conjunto com *Hippeastrum papilio*, os melhores valores de IC<sub>50</sub> (0,33 µg mL<sup>-1</sup> e 0.49 µg mL<sup>-1</sup> para bulbos e folhas, respectivamente). Assim, e devido a aprovação do alcaloide galantamina pela FDA para o tratamento clínico da Doença de Alzheimer, os alcalóides do tipo galantamina têm sido os componentes mais comumente estudados a nível biológico dentro da família

Amaryllidaceae.

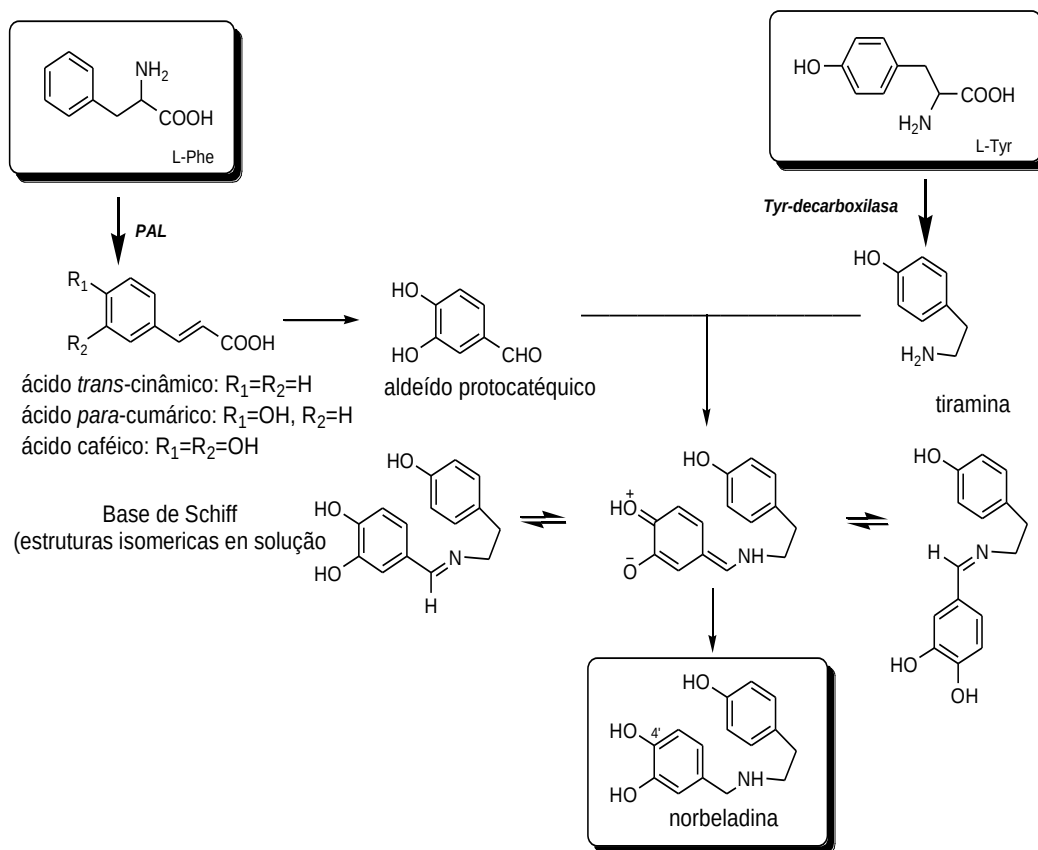
### 1.2.2 Alcaloides de Amaryllidaceae

A família Amaryllidaceae está caracterizada pela presença de alcaloides, típicos e exclusivos de suas espécies, os quais têm sido caracterizados em todos os gêneros estudados até o presente<sup>14</sup>. O conceito de alcaloide é bastante amplo, sendo por vezes de difícil definição. Alcaloides se caracterizam como bases nitrogenadas, geralmente apresentando o átomo de nitrogênio em um estado de oxidação negativo, que provém do metabolismo direto ou indireto de aminoácidos e, além disso, possui distribuição reduzida na natureza<sup>37,38</sup>.

Os alcaloides de Amaryllidaceae neste sentido se caracterizam como derivados isoquinolínicos e, como dito anteriormente, são biossintetizados exclusivamente por espécies da família Amaryllidaceae. Desde o isolamento da licorina em 1877, o interesse por novos alcaloides segue em crescente expansão<sup>14</sup>.

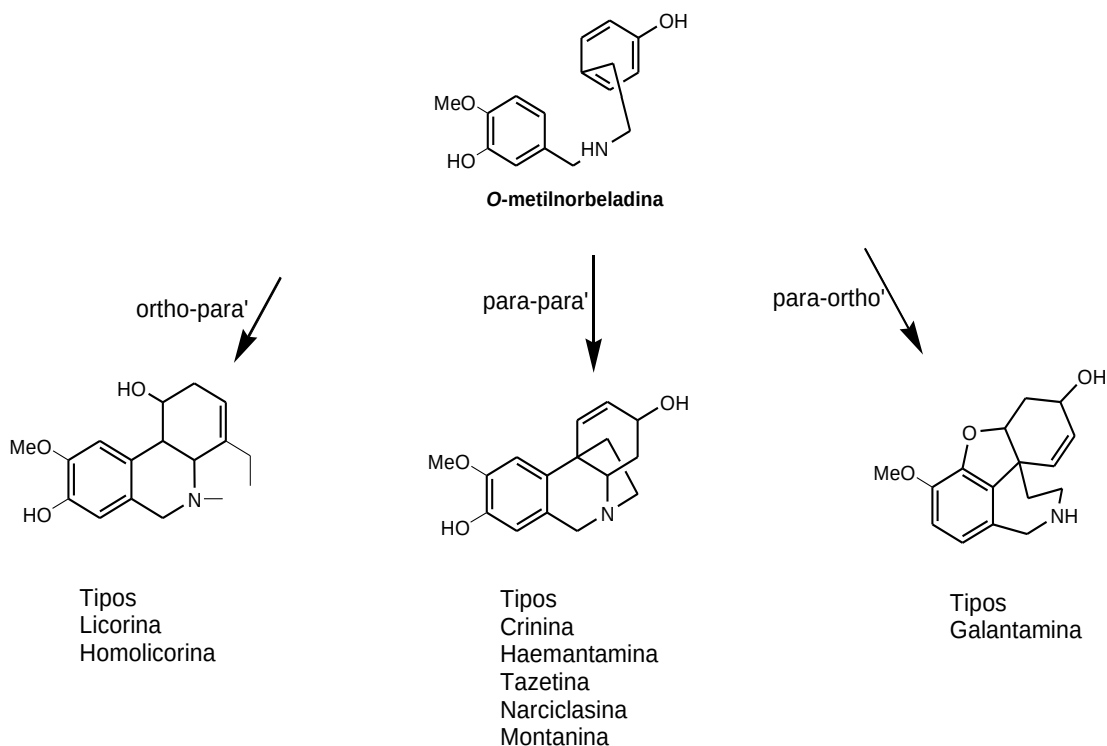
Ao longo dos anos, os alcaloides desta família apresentaram uma significativa diversidade estrutural e relevantes propriedades biológicas. Estas substâncias representam um grande potencial na busca de novos compostos biologicamente ativos<sup>39</sup>. A família Amaryllidaceae está entre as 20 mais importantes famílias produtoras de alcaloides e apresentam atualmente cerca de 500 compostos conhecidos<sup>17</sup>.

Os alcaloides de Amaryllidaceae são formados a partir dos aminoácidos L-fenilalanina e L-tirosina, que dão origem ao intermediário comum aos alcaloides denominado norbeladina (Figura 5). O mesmo é metilado especificamente na posição 4', originando a 4-O-metilnorbeladina. Esta, por sua vez, sofre acoplamentos fenólicos oxidativos e os orienta, originando os diferentes esqueletos básicos de alcaloides de Amaryllidaceae<sup>12,14</sup>.



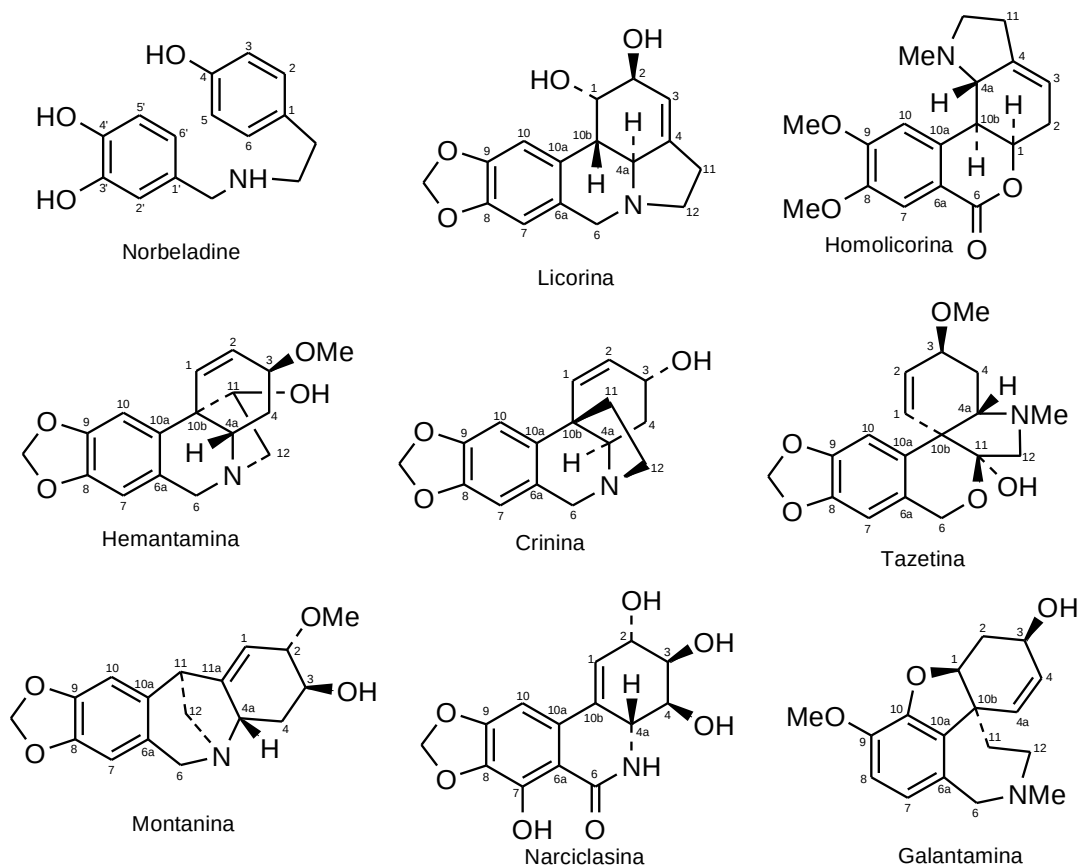
**Figura 5.** Estrutura química dos aminoácidos L-fenilalanina e L-tirosina e o intermediário norbeladina.

Assim, os diferentes acoplamentos fenólicos oxidativos são os responsáveis por originar os diferentes esqueletos básicos: acoplamento fenol oxidativo *orto-para'* origina os esqueletos do tipo licorina e homolicorina; *para-para'* origina os esqueletos do tipo crinina, haemantamina, tazetina, narciclasina e montanina; por último, o acoplamento *para-orto'* origina o esqueleto do tipo galantamina<sup>12,40</sup> (Figura 6). A numeração dos distintos esqueletos básicos está baseada em sua biossíntese e segue o modelo proposto por Ghosal e colaboradores (1985)<sup>41</sup>.



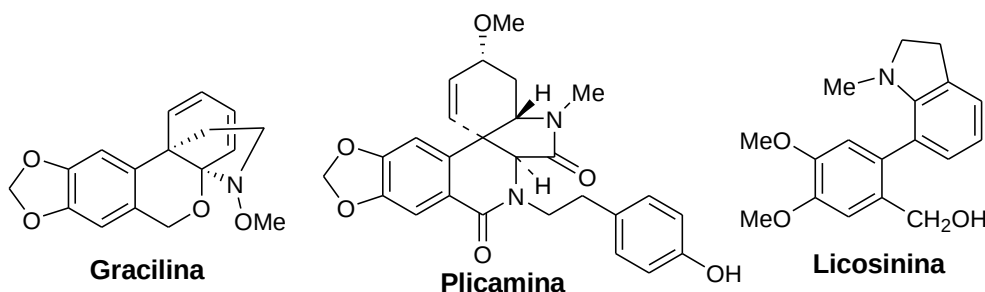
**Figura 6.** Acoplamento fenólico oxidativo em alcaloides de Amaryllidaceae.

Os estudos químicos em alcaloides ao longo destes mais de cem anos e o constante isolamento destes esqueletos básicos permite considerar que os alcaloides oriundos da família Amaryllidaceae podem ser divididos em 9 séries ou esqueletos básicos, a saber: norbeladina, licorina, homolicorina, haemantamina, crinina, tazetina, montanina, narciclasina e galantamina, representados na Figura 7. Derivados de norbeladina são considerados como representantes do esqueleto base que lhe dá o nome, no entanto são os únicos derivados que não apresentam acoplamento fenólico oxidativo<sup>12</sup>.



**Figura 7.** Esqueletos típicos de alcaloides de Amaryllidaceae.

Importante ressaltar que outros esqueletos têm sido apontados como novos núcleos dentro da família Amaryllidaceae, devido as mais recentes investigações. Como exemplo, podemos citar os esqueletos tipo plicamina, gracilina e licosinina<sup>17,40</sup>, apresentadas na Figura 8.



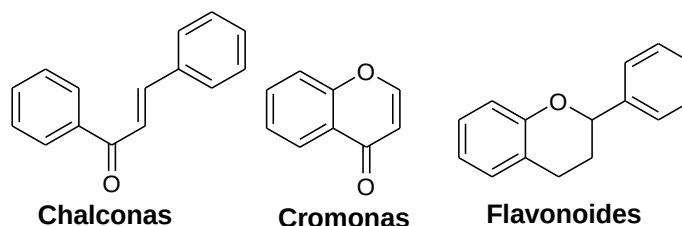
**Figura 8.** Novos esqueletos típicos propostos.

Os alcaloides de Amaryllidaceae conforme dito anteriormente, têm demonstrado diversas atividades biológicas, onde se pode destacar as atividades

antitumorais, antivirais, antiparasitárias e distintas atividades neurodegenerativas. Outros esqueletos básicos, como licorina e narciclasina, são conhecidos como agentes antitumorais. Os esqueletos tipo crinina e homolicorina apresentam, geralmente, potencial antiparasitário<sup>12,14,39,42</sup>. As atividades mencionadas e outras já descritas segue impulsionando uma série de estudos, sendo evidenciada pelas mais de 1.297 publicações nos últimos 10 anos, conforme verificado pela base dados Web of Science (pesquisado por Amaryllidaceae)<sup>46</sup>.

### 1.3 Outros metabólitos

Embora os alcaloides presentes na família Amaryllidaceae tenham sido motivo de investigação ao longo dos anos, outras classes de compostos como chalconas, cromonas e flavonoides (Figura 9) também foram relatados para essa família, sendo a última classe, encontrada em algumas espécies do gênero *Hippeastrum*<sup>43,44,45</sup>.



**Figura 9.** Esqueleto base dos flavonoides.

Nesse sentido, a identificação e o isolamento de outras classes de compostos para a família Amaryllidaceae confere a família um grande potencial químico e biológico ainda a ser explorado.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Realizar o estudo fitoquímico dos extratos das folhas, bulbos e raízes da espécie *Hippeastrum diniz-cruzae* Dutilh & Semir e dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens* (Mart.) Herb., pertencentes a família Amaryllidaceae.

### 2.2 Específicos

- Realizar a coleta dos materiais vegetais;
- Obter o extrato bruto metanólico das partes coletadas de *Hippeastrum diniz-cruzae* e *Hippeastrum glaucescens*;
- Fazer extração ácido-base dos extratos brutos obtidos;
- Analisar os extratos brutos e frações enriquecidas em alcaloides por meio de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM);
- Isolar e purificar os alcaloides;
- Identificar e/ou elucidar os alcaloides conhecidos e inéditos isolados principalmente por CG-EM e Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

### 3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

#### 3.1 Materiais, técnicas e equipamentos em geral

##### 3.1.1 Solventes e Reagentes

- Comerciais: *n*-hexano (*n*-Hex), acetato de etila (AcOEt), metanol (MeOH), clorofórmio (CHCl<sub>3</sub>), acetona (Me<sub>2</sub>CO) e diclorometano (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) de diferentes marcas, analiticamente puros e/ou purificados através de processos de destilação fracionada. Solventes de grau CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência): *n*-Hex, AcOEt, acetonitrila (ACN), isopropanol e MeOH (Panreac). Solvente para uso em RMN (Ressonância Magnética Nuclear): Metanol (CD<sub>3</sub>OD) e Clorofórmio (CDCl<sub>3</sub>) deuterados (Sigma Aldrich). Outros reativos: Dragendorff (composição: subnitrato básico de bismuto, ácido acético glacial, iodeto de potássio e água destilada, utilizado como revelador para alcaloides), sulfato de sódio anidro, hidróxido de amônio (NH<sub>4</sub>OH) e ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

##### 3.1.2 Técnicas

- Cromatografia em Camada Delgada Comparativa (CCDC): cromatofolhas de alumínio (0,20 mm) recobertas com sílica gel 60 G/UV<sub>254</sub> Macherey-Nagel (20 x 20 cm), analisadas sob radiação da luz ultravioleta (UV) nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm em câmara da Camag e pelo revelador Dragendorff, seguidas de aquecimento com soprador térmico (Black Decker). A cromatografia foi realizada em uma cuba de vidro com tampa e atmosfera de amônia, visando analisar e comparar os fatores de retenção (R<sub>f</sub>) dos constituintes químicos de uma amostra (extrato ou fração).

- Cromatografia em Camada Delgada Preparativa (CCDP): cromatofolhas de alumínio (utilizadas na CCDC) cortada em tamanhos variados, conforme perfil cromatográfico da amostra. Cromatoplas de vidro (0,25 mm) recobertas com sílica gel 60 G/UV<sub>254</sub> Macherey-Nagel (20 x 20 cm). Cromatoplas de vidro (0,25 mm) recobertas com sílica gel 60 F/UV<sub>254</sub> Merck (10 x 10 cm). Sendo analisadas através de luz ultravioleta (UV) nos comprimentos de onda de 254 e 366 nm e pelo revelador Dragendorff, seguidas de aquecimento. A cromatografia foi realizada em uma cuba de vidro com tampa e atmosfera de amônia, visando isolar e/ou purificar as



substâncias de interesse. A aplicação das amostras foram realizadas com o auxílio de um capilar, a uma distância de 3 cm da base da placa. As manchas foram removidas das placas com o auxílio de espátulas de aço inox e imersas em AcOEt (grau CLAE) e mantidas em banho ultrassom por 20 minutos, sendo posteriormente filtradas com filtro de porosidade de 0,45 µm (GHP Acrodisc 13 mm), sendo repetido esse processo por três vezes e outras duas vezes com AcOEt:MeOH (CLAE) na proporção 4:1. O solvente foi removido em evaporador rotatório e os compostos isolados foram armazenados a vácuo em um dessecador por 24 horas.

- Cromatografia Líquida em Coluna (CLC): funil e colunas de placa sinterizada com alturas (a) e diâmetros variadas ( $\phi$ ). Fase estacionária: Sílica gel 60 (63-200 µm, Merck); Sílica gel 60 ACC (70-90 mesh, Silice) e Sephadex™ LH-20 GE Healthcare.
- Cromatografia Líquida a vácuo (CLV): colunas de vidro com placa porosa sinterizada (alturas e diâmetros variados) sobre kitassato acoplado à bomba de vácuo Buchi. Fase estacionária Sílica gel 60 ACC (6-35 µm, Chromagel-SDS) e Sílica gel 60 ACC (70-90 mesh, Silice).
- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE): equipamento Agilent G1311C-1260 de bomba quaternária, acoplado a detector UV-Vis com arranjo de diodos (DAD), modelo G1315D-1260. Com sistema analítico e semi-preparativo de fase normal e fase reversa: Fase normal - coluna Zorbax Rx-Sil (4,6 x 250mm 5 µm) para modo analítico e Zorbax Rx-Sil (9,4 x 250mm 5 µm) para modo semi-preparativo. Fase reversa - Ace C18 (4,6 x 250 mm 5 µm) para modo analítico e coluna Zorbax Eclipse XDB-C18 (9,4 x 250mm 5 µm) para modo semi-preparativo.

### 3.1.3 Equipamentos

- Trituração do material vegetal: liquidificador Arno.
- Evaporação dos solventes: evaporador rotatório Buchi R-3 e Fisatom 801, acoplado à bomba de vácuo Vacuum Pump V-700 – Buchi, com controlador de pressão Vacuum Controller V-850 – Buchi.
- Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM): cromatógrafo CG-17A - Shimadzu, modelo GC-EM-QP 5000, operando no modo de impacto eletrônico (EI) a 70 eV, com coluna apolar DB-1 (30 m x 0,25 mm x 0,25

µm). Temperatura no injetor: 280°C. Fluxo de gás: 0,8 mL/min com gás hélio. Cromatógrafo Agilent 6890N, MSD5975 inerte XL, operando no modo EI a 70 eV (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA), com coluna (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Temperatura no injetor: 280°C. Fluxo de gás: 0,8 mL/min com gás hélio.

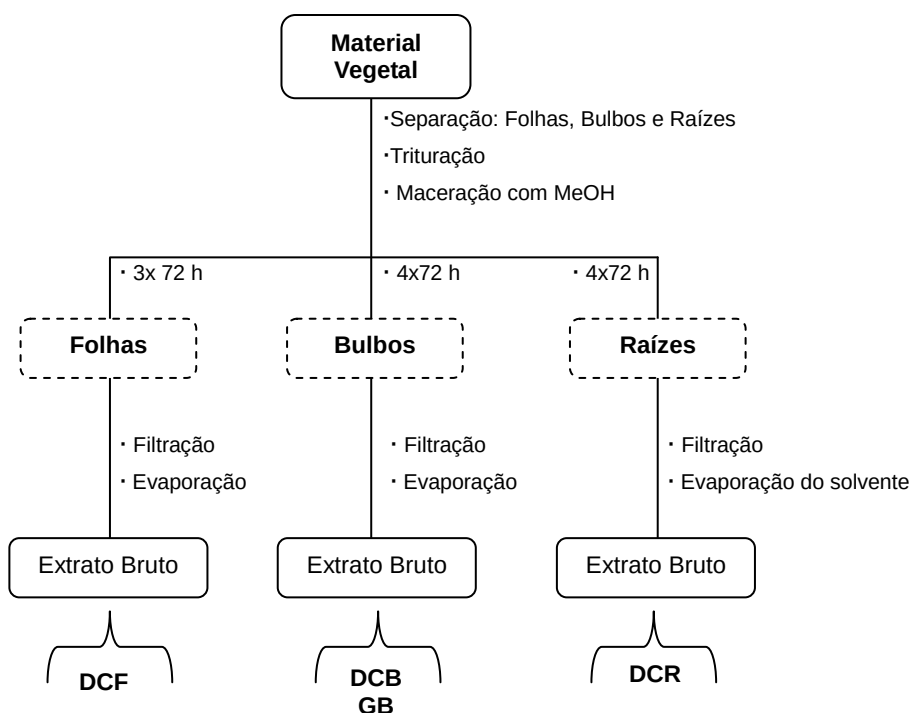
- Ressonância Magnética Nuclear (RMN): espectrômetro Varian Agilent 400 MHz, com sonda 5 mm ATB BroaBand  $^1\text{H}/^{19}\text{F}/\text{X}$ . Espectrômetro Bruker 400 MHz Avance III (Billerica, MA, USA). Espectrômetro Varian Mercury 400 MHz. Realizando-se RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$ , espectros bidimensionais (NOESY, HSQC, HMBC e COSY). Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) são indicados em ppm, as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hertz (Hz) e ao TMS usado como padrão interno é atribuído  $\delta=0$ .
- Cristalografia de Raios-X: aparelho Bruker D8 Venture (Karlsruhe, Alemanha), intensidades coletadas em monocromador e tubo de Cobre.
- Dicroísmo Circular: espectrofotômetro Jasco J-810 (Easton, MD, USA), com campo de varredura de 200-300 nm e registrados em MeOH.
- Massas de Alta Resolução: espectrômetro de massa 9,4 T FT-ICRMS Solarix (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Espectrômetro de massa Agilent Technologies (Santa Clara, CA), (HR-ESI-MS) obtidos em LC / MSD-TOF (2006). Com injeção direta da amostra solubilizada em metanol.

### **3.2 Coleta e identificação das espécies *Hippeastrum diniz-cruzae* e *Hippeastrum glaucescens***

Folhas (400g), bulbos (1.000g) e raízes (600g) do *Hippeastrum diniz-cruzae* Dutilh & Semir foram coletados no dia 29/11/2014 no Parque Nacional da Serra da Canastra – Minas Gerais (MG) e uma exsicata depositada no Herbário VIES da UFES com o registro de número 39497. Os bulbos (6.500g) do *Hippeastrum glaucescens* (Mart.) Herb. foram coletados no dia 12/08/2015 no Parque Nacional do Caparaó – MG e uma exsicata depositada no Herbário VIES da UFES com o registro de número 39498, sob a supervisão da Professora Doutora Luciana Dias Thomaz. Sendo ambas as espécies identificadas pela botânica Dra. Renata Souza de Oliveira da Universidade de São Paulo.

### 3.3 Obtenção dos extratos brutos

As partes vegetais de cada espécie foram submetidas individualmente a um processo de trituração em liquidificador, seguidas de maceração e filtração com o auxílio de papel de filtro. Após, as tortas vegetais foram novamente submetidas a quatro ciclos de maceração em MeOH para bulbos e raízes. Para folhas, o processo foi repetido apenas três vezes. Em ambos casos, cada processo foi intercalado por intervalos de 72 horas. Ao final de cada ciclo e início do próximo, os macerados alcoólicos foram filtrados com o auxílio de papel filtro. Os filtrados foram reunidos e evaporados em evaporador rotatório de pressão reduzida, à temperatura de 40 °C, obtendo-se os extratos brutos metanólico DCF, DCB, DCR e GB (Esquema 1). Para os bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, o processo de maceração foi realizado com o auxílio do banho de ultrassom e uma alíquota de cada extrato obtido foram separadas para análise por CG-EM.



**Esquema 1.** Preparação dos extratos brutos metanólico DCF, DCB, DCR e GB.

### 3.4 Purificação dos extratos brutos

Os extratos DCF, DCB, DCR e GB foram acidificados separadamente com solução de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a 2% (v/v) até atingirem um pH entre 2-3 e posteriormente submetidos a processo de partição líquido-líquido. Inicialmente, utilizou-se éter etílico ( $\text{Et}_2\text{O}$ ) (3x200 mL) para cada extrato bruto, no intuito de retirada de substâncias neutras, lipofílicas e resinosas. Posteriormente, esta mesma partição foi repetida com auxílio AcOEt (Tabela 1). Sendo esse processo também conhecido como processo de limpeza, já que permite a retirada de substâncias sem interesse, permitindo que a fração aquosa esteja enriquecida em alcaloides. A fase etérea foi então descartada e a fase AcOEt e a fase aquosa armazenadas conforme representada no Esquema 2.

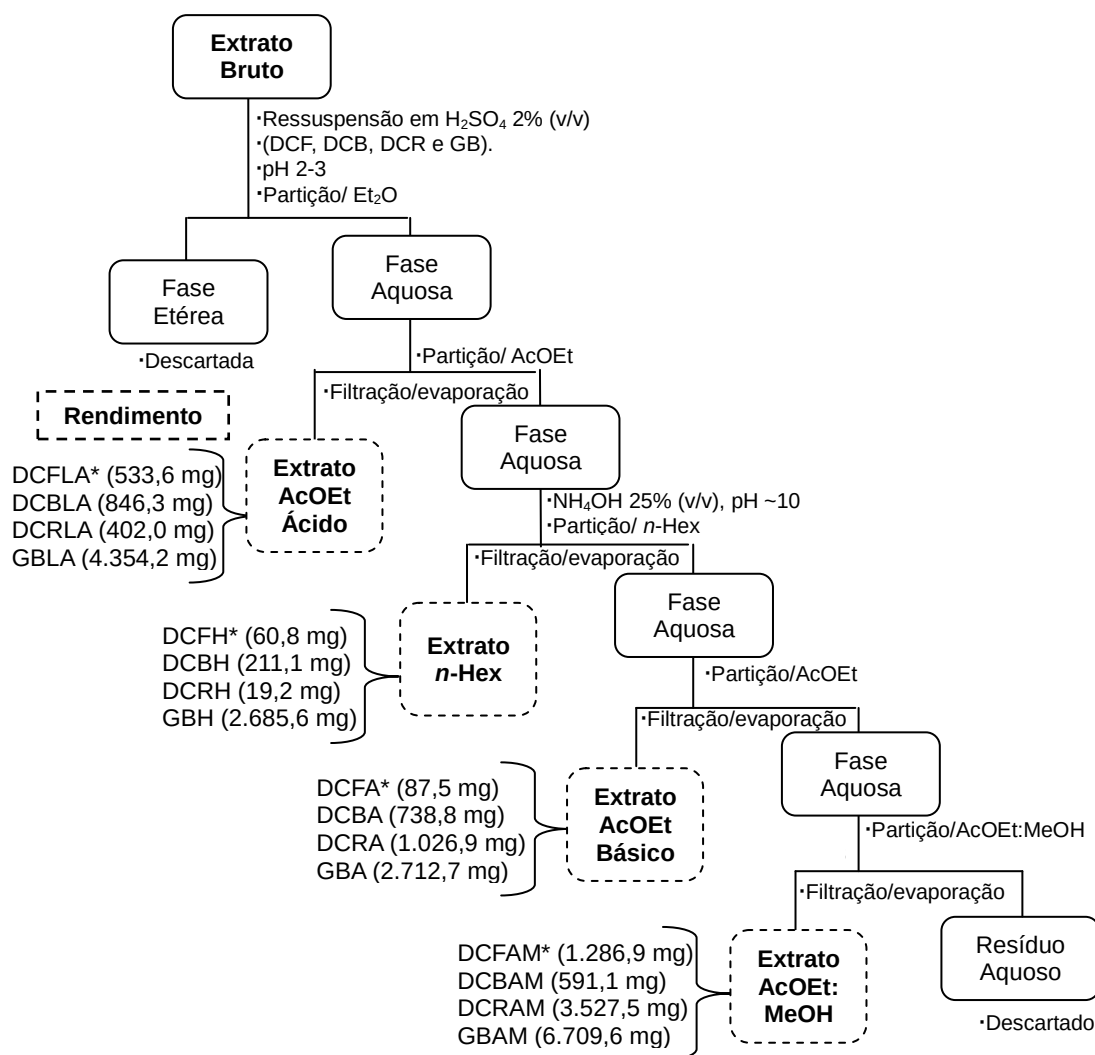
### 3.5 Extração dos alcaloides

A fração aquosa ácida, foi alcalinizada com  $\text{NH}_4\text{OH}$  25% (v/v) até pH 10 e extraída inicialmente com *n*-Hex, seguida de AcOEt, (ambos até teste negativo para alcaloides, utilizando o reagente Dragendorff em CCDC). A fração aquosa remanescente, foi extraída por última vez com uma mistura de AcOEt:MeOH na proporção 3:1, estando representado as quantidades de extrações realizadas e os volumes utilizados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Partições realizadas nos extratos brutos das folhas (F), bulbos (B) e raízes (R) de *Hippeastrum diniz-cruzae* (DC) e *Hippeastrum glaucescens* (G).

| Partição Realizada | DCF       | DCB       | DCR       | GB        |
|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| AcOEt Ácido        | 3x200 mL  | 3x250 mL  | 3x150 mL  | 4x200 mL  |
| <i>n</i> -Hex      | 18x200 mL | 16x250 mL | 12x150 mL | 22x200 mL |
| AcOEt Básico       | 12x200 mL | 10x250 mL | 9x150 mL  | 15x200 mL |
| AcOEt:MeoH         | 3x200 mL  | 3x200 mL  | 3x150 mL  | 3x 150 mL |

As frações obtidas do processo de extração foram secas com sulfato de sódio anidro, filtradas e evaporadas, com auxílio de evaporador rotatório, originando dezesseis frações, representadas no Esquema 2. Todas as frações obtidas foram armazenadas por 72 horas em dessecador à vácuo, sendo posteriormente calculados os seus rendimentos.



**Esquema 2.** Extração ácido-base dos extratos brutos de F, B e R. \*(LA) Limpeza AcOEt, (H) *n*-Hex, (A) AcOEt e (AM) AcOEt:MeOH.

### 3.6 Fracionamento cromatográfico

As frações acetato de etila ácido, acetato de etila básico, *n*-hexano e acetato de etila:metanol de ambas as espécies foram analisados por CG-EM, afim de traçar o perfil dos alcaloides presentes em cada extrato. Os resultados obtidos foram comparados com os espectros de massas e índices de retenção de Kovats (IR) da biblioteca de alcaloides do professor Doutor Jaume Bastida da Universidade de Barcelona – Espanha.

As frações analisadas do *Hippeastrum diniz-cruzae* (DCFH, DCFA, DCBH, DCBA, DCBAM, DCRH e DCRA) indicaram a presença de diversos alcaloides conhecidos, assim como, de compostos não identificados pela biblioteca de alcaloides. As frações DCFLA, DCBLA, DCRLA, DCFAM e DCRAM não indicaram

alcaloides em sua composição ou para algumas, indicaram apenas traços de poucos alcaloides, optando-se por não seguir estudando essas frações. Sendo realizado testes por CCDC, utilizando como revelador o reagente Dragendorff para a confirmação. Apenas as frações DCRH e DCBAM que embora apresentaram alcaloides em sua composição, não foram mais estudadas até o momento.

As análises realizadas por CG-EM do *Hippeastrum glaucescens* (GBLA, GBH e GBA) indicaram um perfil alcaloídico relevante nos seus extratos, dando-se então continuidade aos seus estudos, a fração GBAM por apresentar parte de seus compostos presentes em outros extratos, optou-se por não seguir o seu estudo.

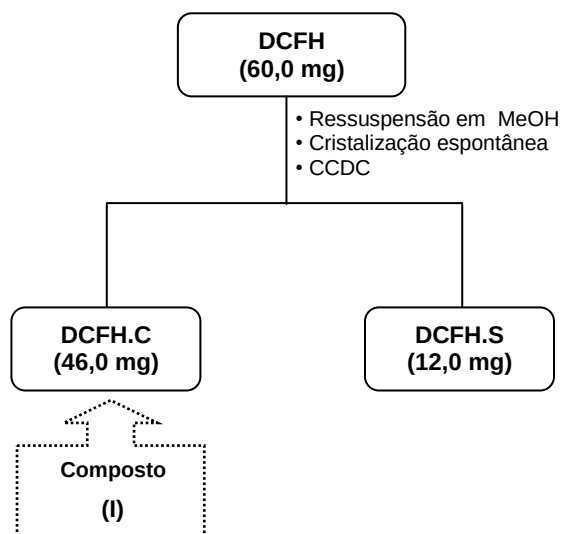
As frações positivas em alcaloides foram analisadas individualmente por CCDC (observando-se o R<sub>f</sub> dos constituintes químicos sob luz UV 254 nm e 365 nm e revelados com reagente Dragendorff.), variando-se a proporção e os solventes utilizados, analisando-se também a solubilidade e o peso de cada amostra, para que assim, pudesse ser determinado o tipo de fracionamento cromatográfico para cada amostra.

Em algumas subfrações dos extratos AcOEt ácido e *n*-Hex do *Hippeastrum glaucescens* foram observados após análise por CCDC (reveladas com reagente Dragendorff) uma coloração divergente do tipicamente observado (coloração alaranjada) para alguns compostos. Conforme aumentava o tempo de realização das CCDC, aumentava a intensidade da coloração desses compostos, os mesmos foram isolados e também submetidos a análise de RMN.

### **3.6.1 Folhas de *Hippeastrum diniz-cruzae***

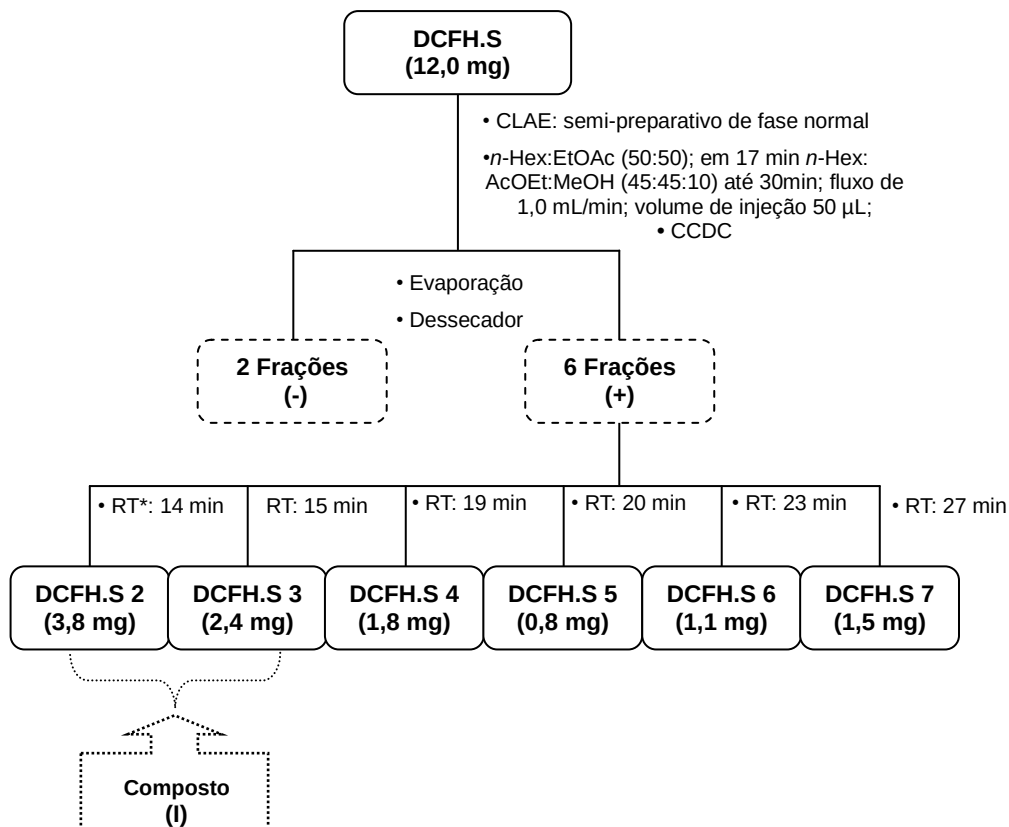
#### **3.6.1.1 Fração *n*-Hex – DCFH**

O extrato hexânico das folhas foi ressuspenso em aproximadamente 3,0 mL de MeOH e apresentou-se uma cristalização espontânea, sendo então separado os cristais do sobrenadante, conforme Esquema 3.



**Esquema 3.** Divisão do extrato hexânico das folhas de *Hippeastrum diniz-cruzae*.

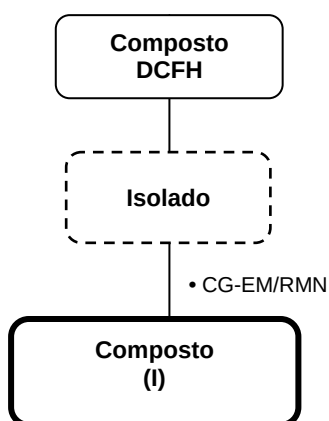
- ❖ Os cristais foram solubilizados em 1,0 mL de MeOH e submetido a análise de CG-EM e posteriormente foi solubilizado em 4,8 mL de CD<sub>3</sub>OD e enviados para análise de RMN e o composto isolado foi denominado composto **(I)**.
- ❖ O sobrenadante foi solubilizado em MeOH:AcOEt (2:8) e submetido à CLAE, sendo seu perfil cromatográfico realizado em sistema analítico de fase normal com volume de injeção de 10 µL; fluxo de 0,75 mL/min com fase móvel *n*-Hex:AcOEt (iniciando em 50:50, aumentando 10% de MeOH em 17 min até 30 min) e a separação em sistema semi-preparativo de fase normal, volume de injeção 50 µL; fluxo de 1,0 mL/min com mesma fase móvel do sistema analítico (leitura no comprimento de onda de 254 nm) (Esquema 4). O fracionamento originou oito frações, que foram analisadas por CCDC e testadas com reagente de Dragendorff, obtendo-se seis frações positivas (DCFH.S 2 a DCFH.S 7).



**Esquema 4.** Fracionamento cromatográfico do extrato DCFH por CLAE. \* Tempo de Retenção.

- ❖ As frações DCFH.S 2 e DCFH.S 3 foram solubilizadas em 4,8 mL de  $\text{CD}_3\text{OD}$  e enviadas para análise de RMN, indicando tratar-se do composto **(I)**, as demais frações positivas foram reunidas em uma única fração por apresentar-se em misturas de alcaloides.

O Esquema 5 resume o composto obtido por cristalização espontânea e do fracionamento de DCFH.S que foi analisado por CG-EM e pela técnica de RMN de  $^1\text{H}$ .

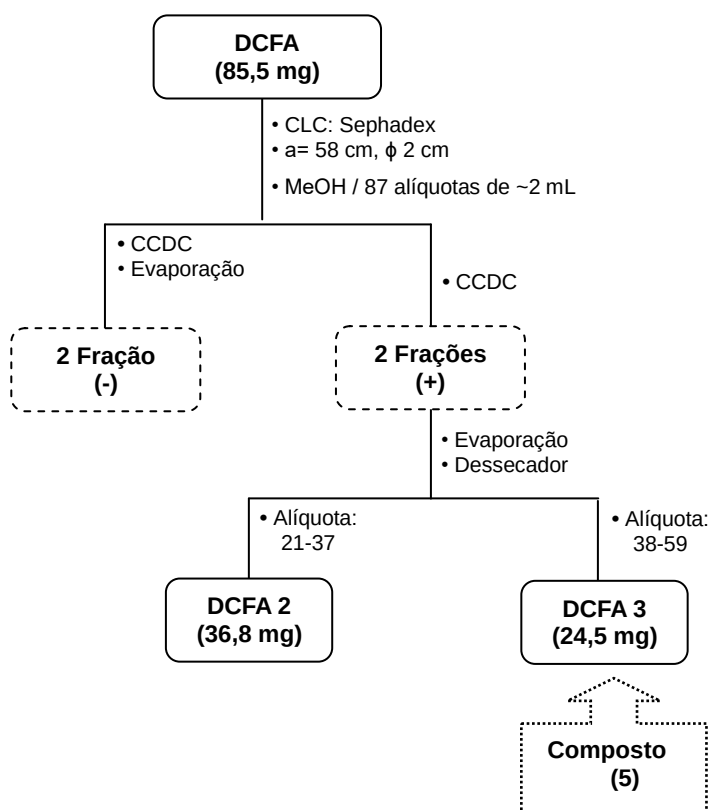


**Esquema 5.** Composto isolado e identificados na fração DCFH.



### 3.6.1.2 Fração AcOEt - DCFA

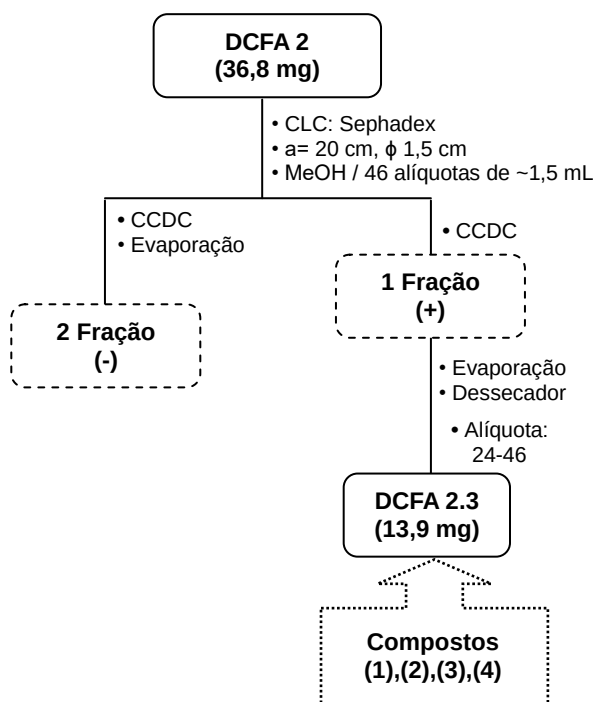
O extrato acetato das folhas foi solubilizado em aproximadamente 1,5 mL de MeOH e submetido a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 87 alíquotas de aproximadamente 2,0 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em quatro frações, sendo duas positivas para alcaloides (DCFA 2 e DCFA 3), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas, sendo representado seu fracionamento no Esquema 6.



**Esquema 6.** Fracionamento cromatográfico do extrato DCFA por CLC.

- ❖ A fração DCFA 2 foi solubilizado em aproximadamente 1,5 mL de MeOH e submetido a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 46 alíquotas de aproximadamente 1,5 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando

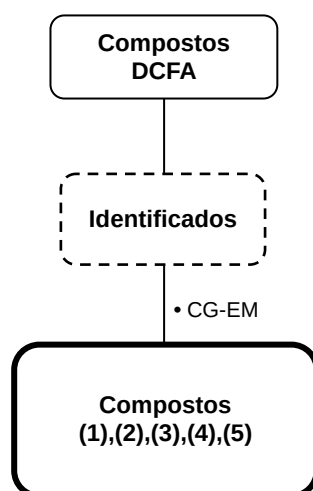
em três frações, sendo apenas uma positiva (DCFA 2.3), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas (Esquema 7). As fração positiva obtida não foi fracionadas novamente, sendo submetida uma alíquota à análise de CG-EM, que possibilitou a identificação dos compostos **(1)**, **(2)**, **(3)** e **(4)** .



**Esquema 7.** Fracionamento cromatográfico do extrato DCFA por CLC.

- ❖ As fração DCFA 3 não foi fracionada novamente, sendo então uma alíquota submetida à análise de CG-EM, identificando-se o composto **(5)**, conforme Esquema 6.

O Esquema 8 resume os compostos identificados por CG-EM das frações que não foram finalizadas de DCFA.

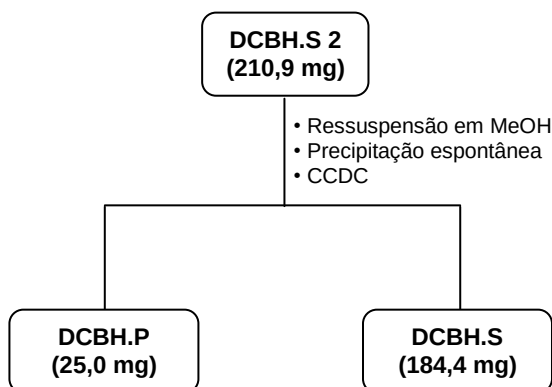


**Esquema 8.** Compostos identificados na fração DCFA.

### 3.6.2 Bulbos de *Hippeastrum diniz-cruzae*

#### 3.6.2.1 Fração *n*-Hex – DCBH

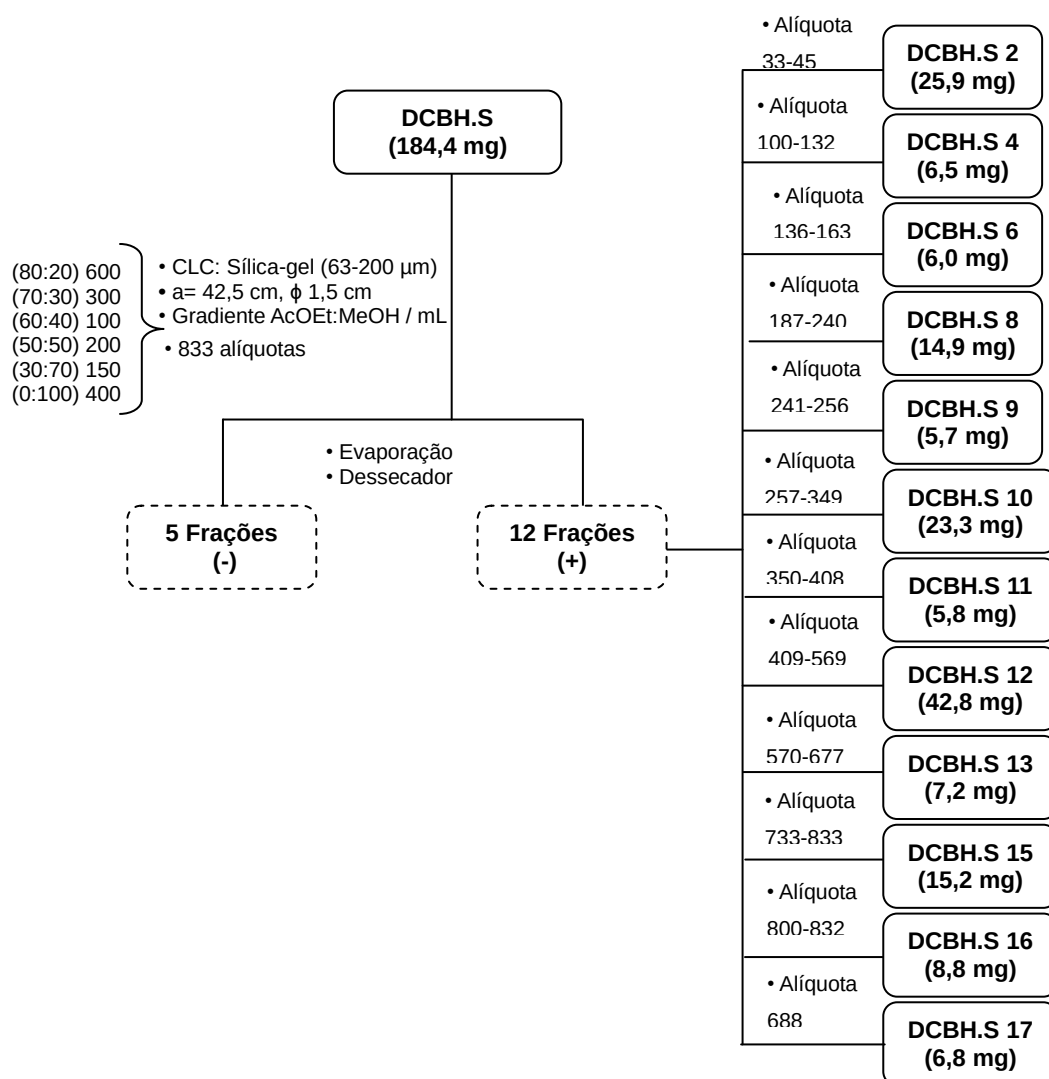
O extrato hexânico dos bulbos foi ressuspensionado em aproximadamente 2,0 mL de MeOH, ocorrendo uma precipitação espontânea, sendo então separado o sobrenadante do precipitado, estando dispostos no Esquema 9.



**Esquema 9.** Separação do extrato hexânico dos bulbos de *Hippeastrum diniz-cruzae*.

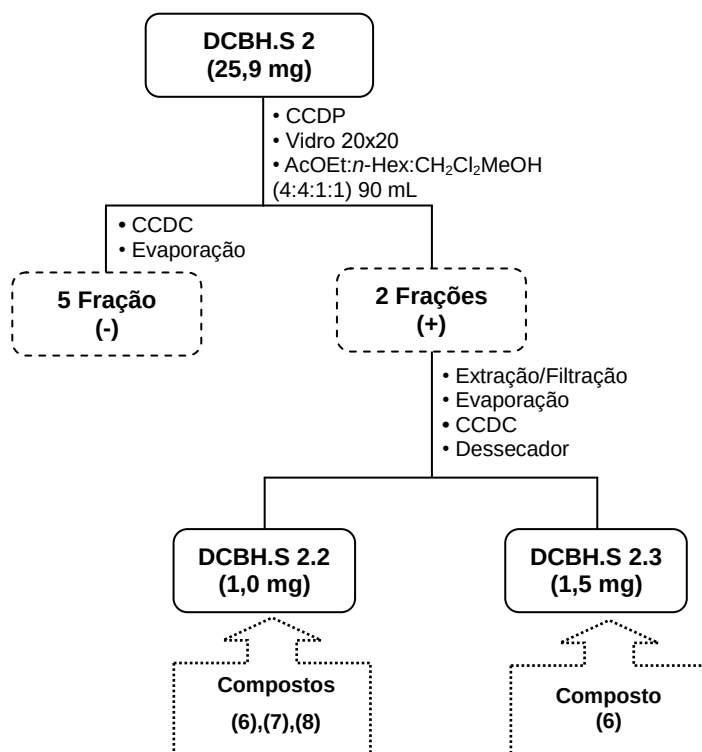
- ❖ O precipitado apresentou resultado negativo para alcaloide (por análise de CCDC) e não foi possível a elucidação estrutural desse composto através de análise de RMN.
- ❖ O sobrenadante foi solubilizado em aproximadamente 1,0 mL de MeOH e submetido a um fracionamento por CLC utilizando com fase estacionária

Silica-gel 60 (63-200  $\mu\text{m}$ , Merck) e fase móvel AcOEt:MeOH em eluição gradiente. O fracionamento originou 833 alíquotas, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em dezessete frações, sendo oito positivas para alcaloides (DCBH.S 2, DCBH.S 4, DCBH.S 6, DCBH.S 8, DCBH.S 10, DCBH.S 12, DCBH.S 15 e DCBH.S 17) que foram fracionadas novamente, outras quatro frações positivas (DCBH.S 9, DCBH.S 11, DCBH.S 13 e DCBH.S 16) foram reunidas em uma única fração e submetida a análise por CG-EM e cinco frações negativas, verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas, sendo representado seu fracionamento no Esquema 10.



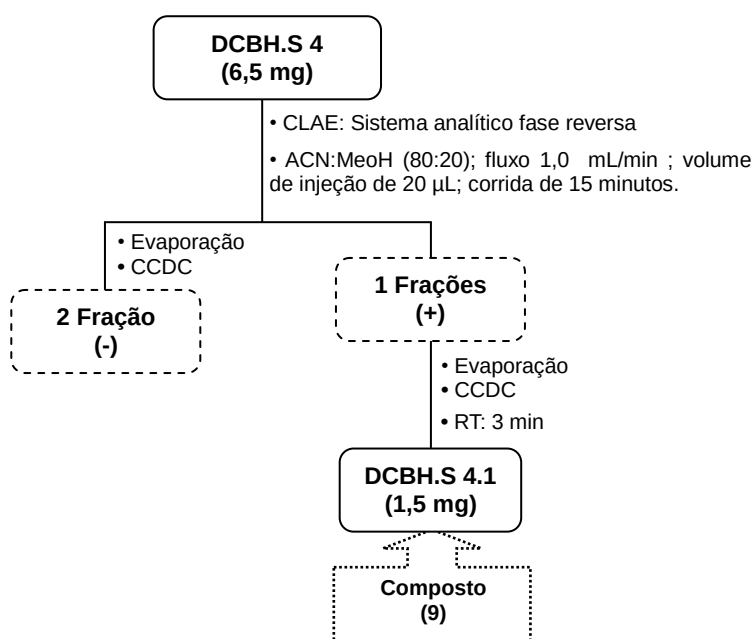
**Esquema 10.** Fracionamento cromatográfico do extrato DCBH por CLC.

- ❖ A fração DCBH.S 2 foi solubilizada em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:AcOEt (7:3) e submetida ao fracionamento por CCDP, com fase móvel AcOEt:*n*-Hex:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>MeOH(4:4:1:1), sendo suas frações obtidas apresentadas no Esquema 11. Os compostos obtidos foram analisados por CCDC e os positivos submetidos a análise de RMN e CG-EM, identificando-se os compostos **(6)**, **(7)** e **(8)**.



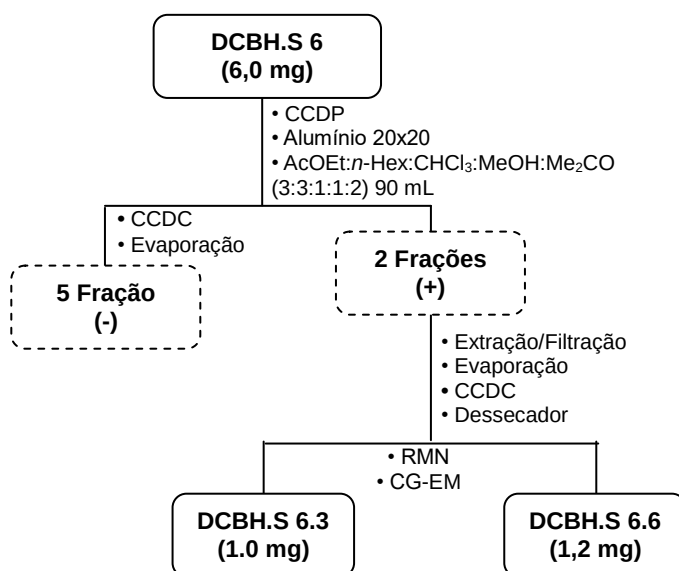
**Esquema 11.** Fracionamento cromatográfico da fração DCBH. S 2 por CCDP.

- ❖ A fração DCBH.S 4 foi solubilizada em MeOH e submetida ao fracionamento por CLAE em sistema analítico de fase-reversa, com fase móvel ACN:MeOH (80:20), eluição isocrática com fluxo 1,0 mL/min; volume de injeção de 20 µL; corrida de 15 minutos, sendo suas frações obtidas apresentadas no Esquema 12. Os compostos obtidos foram analisados por CCDC e o positivo submetido a análise de CG-EM, sendo denominado composto **(9)**.



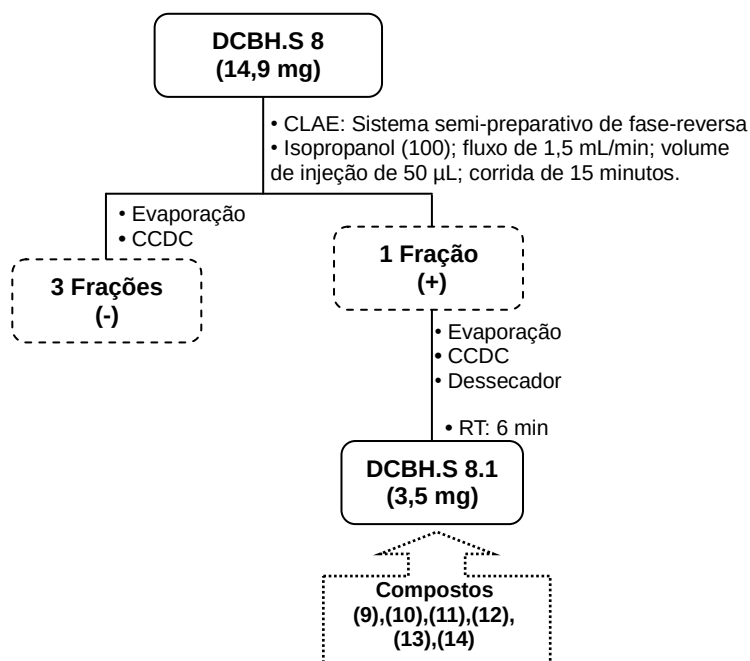
**Esquema 12.** Fracionamento cromatográfico da fração DCBH.S 4 por CLAE.

- ❖ A fração DCBH.S 6 foi solubilizada em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:AcOEt (7:3) e submetida ao fracionamento por CCDC, com fase móvel AcOEt:*n*-Hex:CHCl<sub>3</sub>:MeOH:Me<sub>2</sub>CO (3:3:1:1:2) sendo suas frações obtidas apresentadas no Esquema 13.



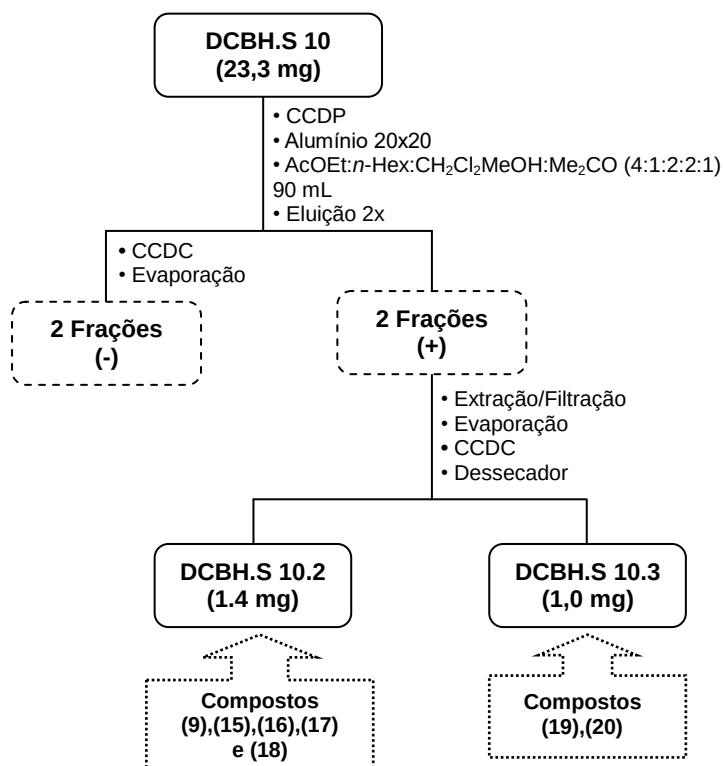
**Esquema 13.** Fracionamento cromatográfico da fração DCBH. S 6 por CCDC.

- ❖ A fração DCBH.S 8 foi solubilizada em MeOH e submetida ao fracionamento por CLAE em sistema semi-preparativo de fase-reversa, com fase móvel Isopropanol (100), eluição isocrática com fluxo de 1,5 mL/min; volume de injeção de 50 µL; corrida de 15 minutos, sendo suas frações obtidas apresentadas no Esquema 14. Os compostos obtidos foram analisados por CCDC e os positivos submetidos a análise de CG-EM, sendo identificados os compostos **(9)**, **(10)**, **(11)**, **(12)**, **(13)** e **(14)**.



**Esquema 14.** Fracionamento cromatográfico da fração DCBH.S 8 por CLAE.

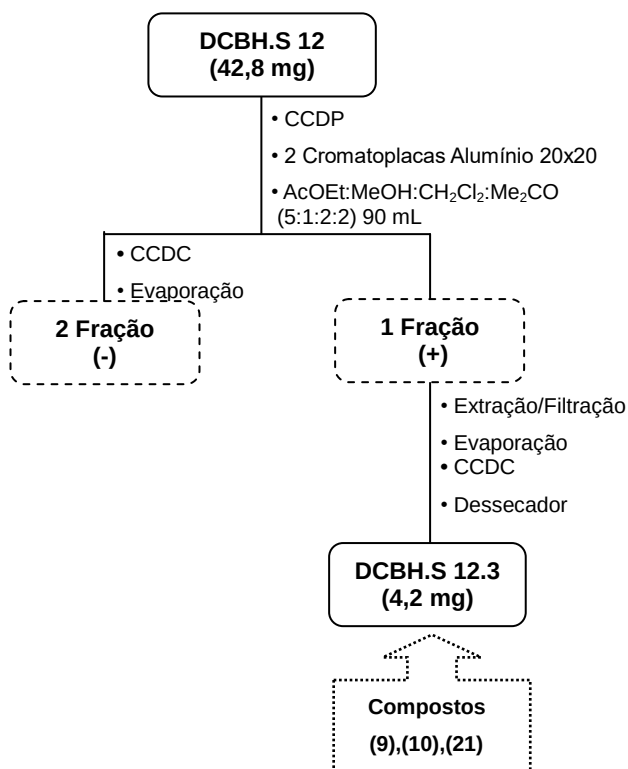
- ❖ A fração DCBH.S 10 foi solubilizada em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:AcOEt (7:3) e submetida ao fracionamento por CCDC, com fase móvel AcOEt:*n*-Hex:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>MeOH:Me<sub>2</sub>CO (4:1:2:2:1) sendo suas frações obtidas apresentadas no Esquema 15. Os compostos obtidos foram analisados por CCDC e os positivos enviados para análise de RMN e CG-EM, tratando-se dos compostos **(9)**, **(16)**, **(17)**, **(18)**, **(19)** e **(20)**.



**Esquema 15.** Fracionamento cromatográfico da fração DCBH.S 10 por CCDC.

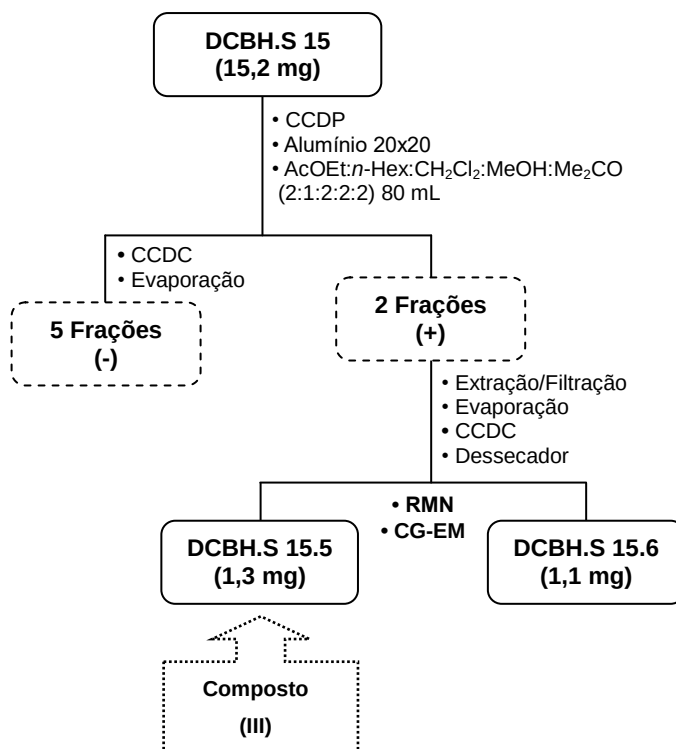
- ❖ A fração DCBH.S 12 foi solubilizada em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:AcOEt (7:3) e submetida ao fracionamento por CCDC, com fase móvel AcOEt:MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:Me<sub>2</sub>CO (5:1:2:2) sendo suas frações obtidas apresentadas no Esquema 16. Os compostos obtidos foram analisados por CCDC e o positivo enviado para análise CG-EM, indicando-se os compostos **(9), (10), (21)**.





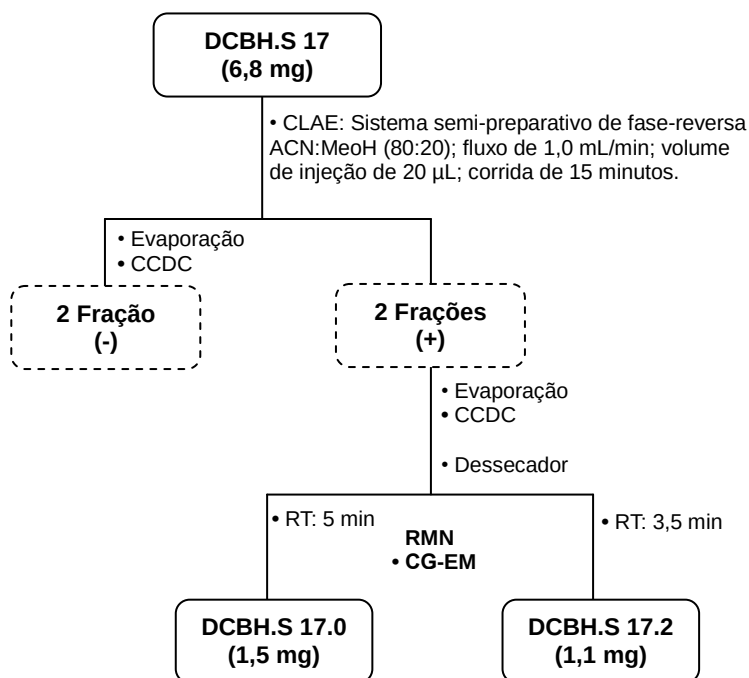
**Esquema 16.** Fracionamento cromatográfico da fração DCBH.S 12 por CCDP.

- ❖ A fração DCBH.S 15 foi solubilizada em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:AcOEt (7:3) e submetida ao fracionamento por CCDP, com fase móvel AcOEt:*n*-Hex:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH:Me<sub>2</sub>CO (2:1:2:2:2) e 60 gotas de NH<sub>4</sub>OH sendo suas frações obtidas apresentadas no Esquema 17. Os compostos obtidos positivos foram enviados para análise de RMN, sendo identificado nessa fração o composto **(III)**.



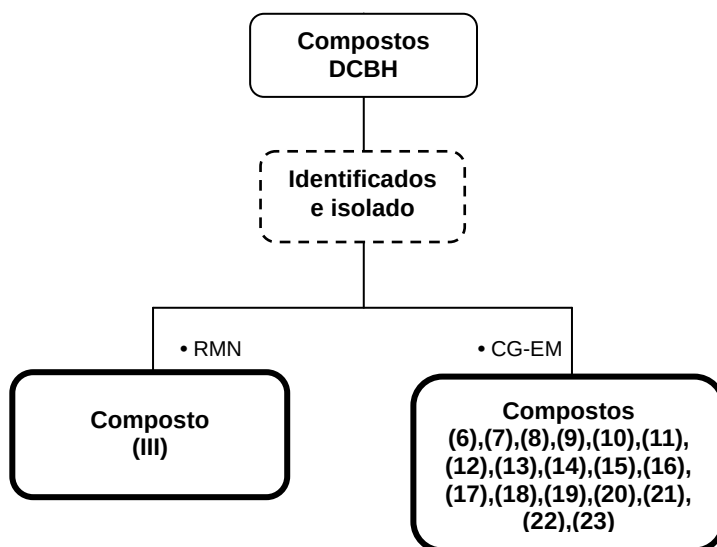
**Esquema 17.** Fracionamento cromatográfico da fração DCBH.S 15 por CCDP.

- ❖ As frações DCBH.S 9, DCBH.S 11, DCBH.S 13 e DCBH.S 16, foram reunidas em uma única fração e foi submetida a análise de CG-EM, podendo observar-se os compostos **(7)**, **(20)**, **(22)** e **(23)**.
- ❖ A fração DCBH.S 17 foi solubilizada em MeOH e submetida ao fracionamento por CLAE em sistema semi-preparativo de fase-reversa, com fase móvel ACN:MeOH (80:20), eluição isocrática com fluxo de 1,0 mL/min; volume de injeção de 20 µL; corrida de 15 minutos, sendo suas frações obtidas apresentadas no Esquema 18.



**Esquema 18.** Fracionamento cromatográfico da fração DCBH.S 17 por CLAE.

O Esquema 19 resume os compostos identificados por CG-EM dos fracionamentos de DCBH.



**Esquema 19.** Compostos isolados e identificados na fração DCBH.

### 3.6.2.2 Fração AcOEt – DCBA

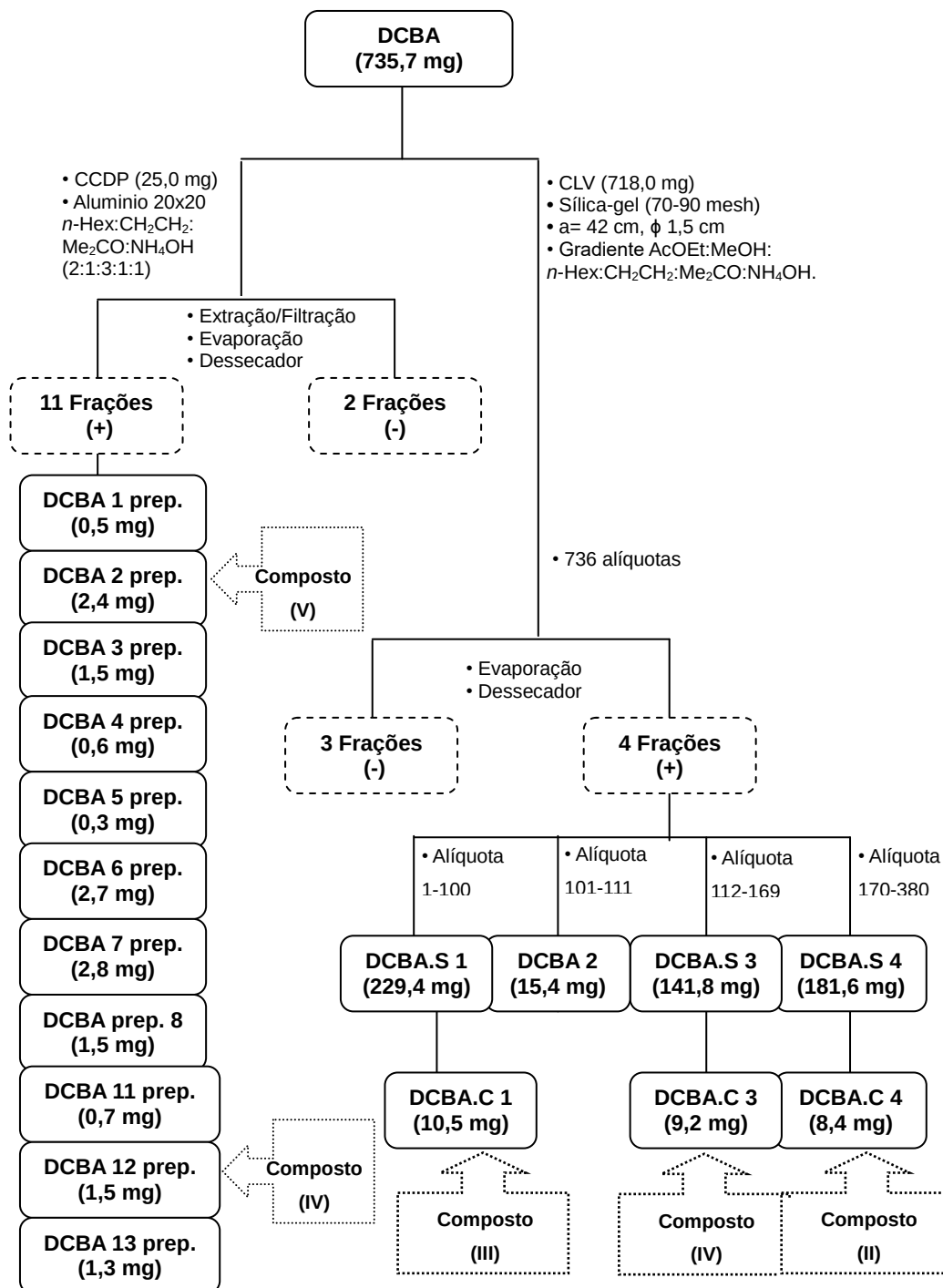
O extrato acetato dos bulbos de *Hippeastrum diniz-cruzae* foi solubilizado em aproximadamente 1,5 mL de MeOH e submetido a um fracionamento por CLC utilizando como fase estacionária Silica-gel 60 ACC (70-90 mesh, Silice) e fase móvel gradiente de AcOEt:MeOH:*n*-Hex:CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>:Me<sub>2</sub>CO:NH<sub>4</sub>OH (Tabela 2).

**Tabela 2.** Fase móvel gradiente utilizada CLC da fração DCBA.

| Fase móvel                                                                                                                                      | Volume (mL) |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| AcOEt:MeOH: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> :Me <sub>2</sub> CO:(NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) 2,5:1,25:3,75:1,25:1,25:(3 mL)    | 800         |
| AcOEt:MeOH: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> :Me <sub>2</sub> CO:(NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) 2,25:2,25:3,5:1:1:(2,58 mL)       | 200         |
| AcOEt:MeOH: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> :Me <sub>2</sub> CO:(NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) 1,75:4,25:3,0:5:0,5:(2,16 mL)     | 100         |
| AcOEt:MeOH: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> :Me <sub>2</sub> CO:(NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) 1,5:5,25:2,75:0,25:0,25:(1,74 mL) | 300         |
| AcOEt:MeOH: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> :Me <sub>2</sub> CO:(NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) 1,25:6,25:2,0:25:0,25:(1,32 mL)   | 200         |
| AcOEt:MeOH: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> :Me <sub>2</sub> CO:(NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) 0,75:7,25:1,8:1,0 (0,9 mL)        | 200         |
| AcOEt:MeOH: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> :Me <sub>2</sub> CO:(NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ) 0,25:8,25:1,4:0,5:0,5:(0,48 mL)   | 200         |
| MeOH (100%)                                                                                                                                     | 600         |

O fracionamento originou 736 alíquotas, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em sete frações, sendo quatro positivas (DCBA.S 1 a DCBA.S 4), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Durante o fracionamento ocorreu a cristalização espontânea em diversas alíquotas coletadas, que foram separados do sobrenadante e enviadas para análise de RMN, identificando-se tratar-se dos compostos (II), (III) e (IV). Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas, sendo representado seu fracionamento no Esquema 20.

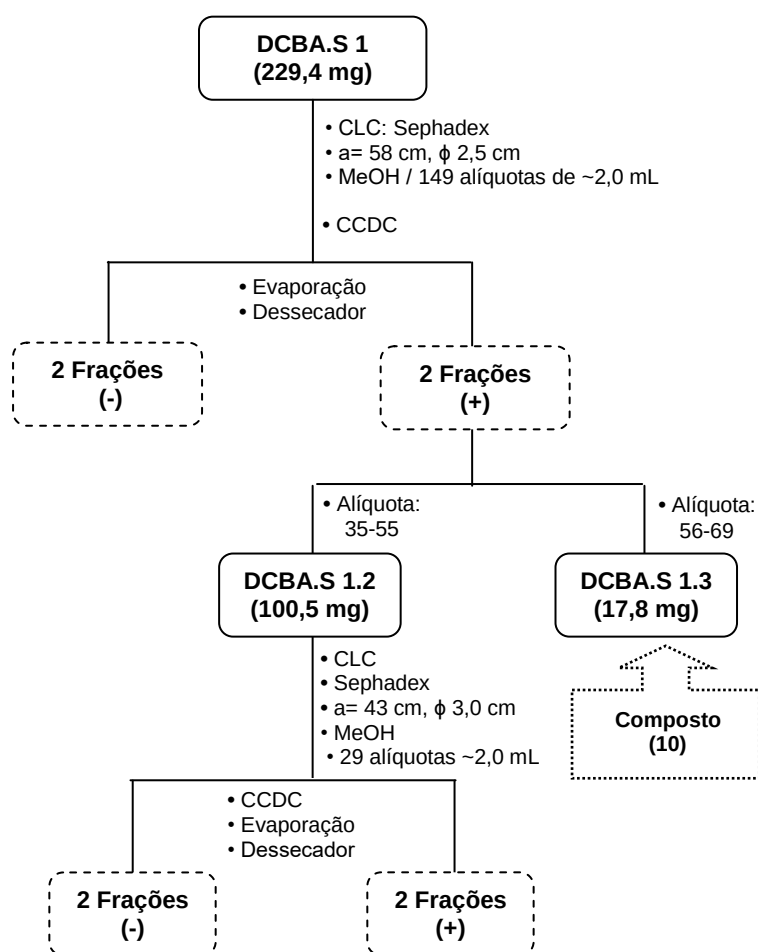
- ❖ Uma alíquota de aproximadamente 25,0 mg do extrato DCBA restante do fracionamento realizado foi submetida a um fracionamento por CCDP com mesma fase móvel AcOEt:MeOH:*n*-Hex:CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>:Me<sub>2</sub>CO:NH<sub>4</sub>OH (2:1:3:1:1:10 gotas), resultando em treze frações, sendo onze positivas, verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff (Esquema 20). As amostras positivas e
- ❖ com massa superior a 1,0 mg foi enviada para análise de RMN, sendo isolados e identificados dois compostos (IV) e (V).



**Esquema 20.** Fracionamento cromatográfico do extrato DCBA por CLC.

- ❖ A fração DCBA.S 1 foi solubilizado em aproximadamente 1,0 mL de MeOH e submetida a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 149 alíquotas de aproximadamente 2,0 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando

em quatro frações, sendo duas positivas (DCBA.S 1.2 a DCBA.S 1.3), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. A fração DCBA.S 1.2 foi submetida a uma CLC conforme descritas no Esquema 21, a outra fração positiva (DCBH.S 1.3) não foi fracionada novamente, sendo enviada para análise de CG-EM, podendo identificar-se a presença do composto **(10)**.



**Esquema 21.** Fracionamento cromatográfico da fração DCBA.S 1 e DCBA.S 1.2 por CLC.4

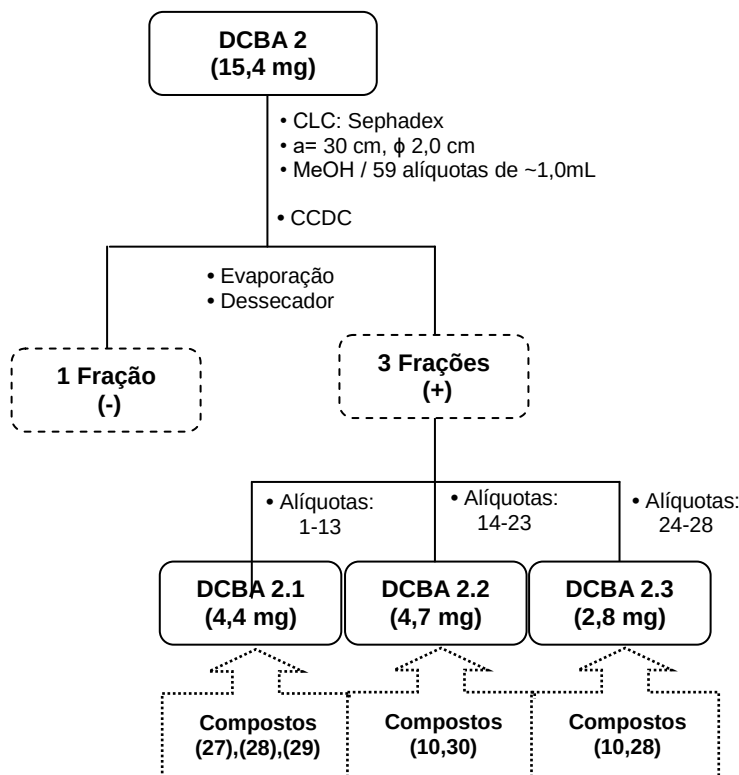
- ❖ A fração DCBA.S 1.2 foi solubilizado em aproximadamente 1,5 mL de MeOH e filtrada com o auxílio de uma seringa e filtro de 0,20 µm e então submetido a um fracionamento isocrático por CLC, utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 29 alíquotas de aproximadamente 2,0 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em quatro

frações, sendo duas positivas (DCBA.S 1.2.2 e DCBA.S 1.2.3), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. As frações obtidas positivas (Tabela 3) não foram fracionadas novamente, sendo enviadas uma alíquota de cada para análise de CG-EM, identificando-se os compostos **(9), (10), (13), (17), (21), (24) e (25)** da fração DCBA.S 1.2.2 e **(9), (10), (25) e (26)** da fração DCBH.S 1.2.3.

**Tabela 3.** Frações obtidas do fracionamento por CL de DCBA.S 1.2.

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica          | Fase Móvel (Proporção) mL | Alíquotas | Frações Obtidas Positivas (mg) |
|--------------------|---------------------------------|---------------------------|-----------|--------------------------------|
| DCBA.S 1.2         | CLC                             | MeOH (100)                | 6-17      | DCBA.S 1.2.2 (80,6)            |
|                    | Sephadex                        |                           | 18-28     | DCBA.S 1.2.3 (15,0)            |
|                    | a= 43 cm, $\phi$ 3 cm           |                           |           |                                |
|                    | 29 alíquotas ~2 mL<br>4 frações |                           |           |                                |

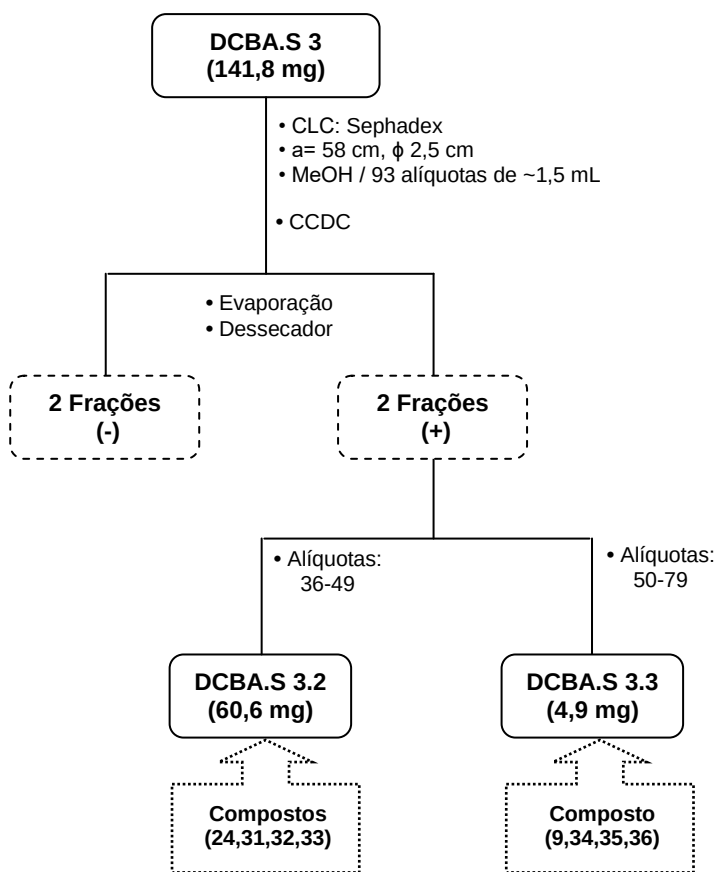
- ❖ A fração DCBA.S 2 foi solubilizado em aproximadamente 0,5 mL de MeOH e submetida a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 59 alíquotas de aproximadamente 1,0 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em quatro frações, sendo três positivas (DCBA 2.1, DCBA 2.2 e DCBA 2.3), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. As frações positivas obtidas não foram fracionadas novamente (Esquema 22), sendo uma alíquota de cada enviadas para análise de CG-EM, identificando-se os compostos **(10), (27), (28), (29) e (30)**.



**Esquema 22.** Fracionamento cromatográfico da fração DCBA 2 por CLC.

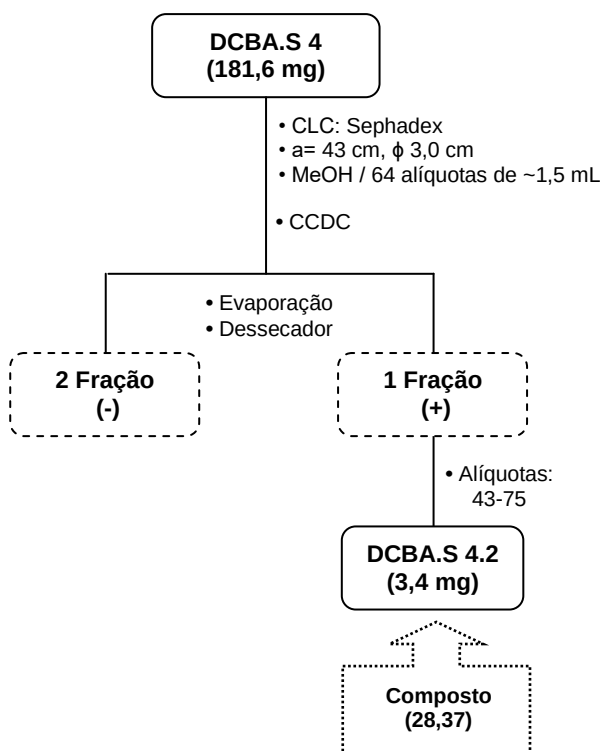
- ❖ A fração DCBA.S 3 foi solubilizado em aproximadamente 1,5 mL de MeOH e submetida a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 93 alíquotas de aproximadamente 1,5 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em quatro frações, sendo duas positivas (DCBA.S 3.2 e DCBA.S 3.3), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. As frações positivas obtidas não foram fracionadas novamente (Esquema 23), sendo uma alíquota de cada enviadas para análise de CG-EM, verificando-se os alcaloides **(9)**, **(24)**, **(31)**, **(32)**, **(33)**, **(34)**, **(35)**, **(36)** e **(37)**.





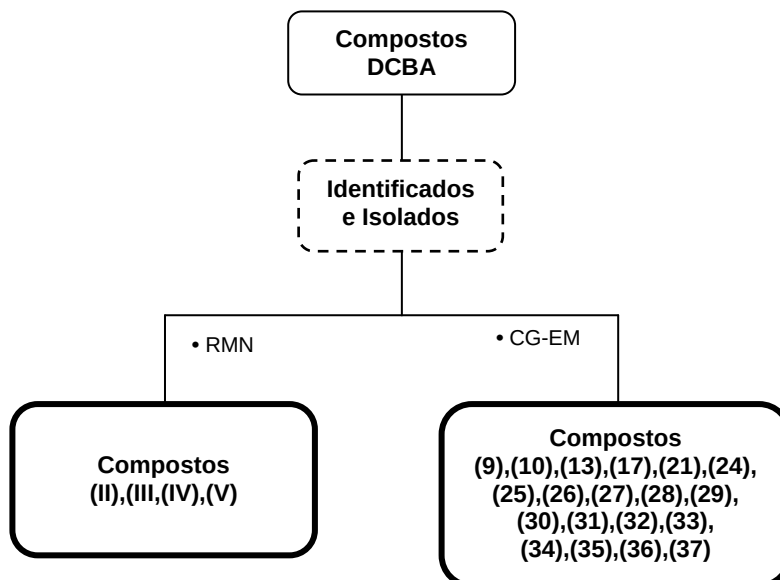
**Esquema 23.** Fracionamento cromatográfico da fração DCBA.S 3 por CLC.

- ❖ A fração DCBA.S 4 foi solubilizado em aproximadamente 1,0 mL de MeOH e submetida a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 64 alíquotas de aproximadamente 1,5 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em duas frações, sendo apenas uma positiva (DCBA.S 4.2), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. A fração positiva obtida não foi fracionada novamente (Esquema 24), sendo uma alíquota submetida a análise de CG-EM, identificando-se dois compostos o **(28)** e o **(37)**.



**Esquema 24.** Fracionamento cromatográfico da fração DCBA.S 4 por CLC.

O Esquema 25 resume os compostos isolados dos fracionamentos de DCBA que foram identificados pelas técnicas de RMN e/ou CG-EM e os compostos identificados por CG-EM de frações que não foram finalizadas.

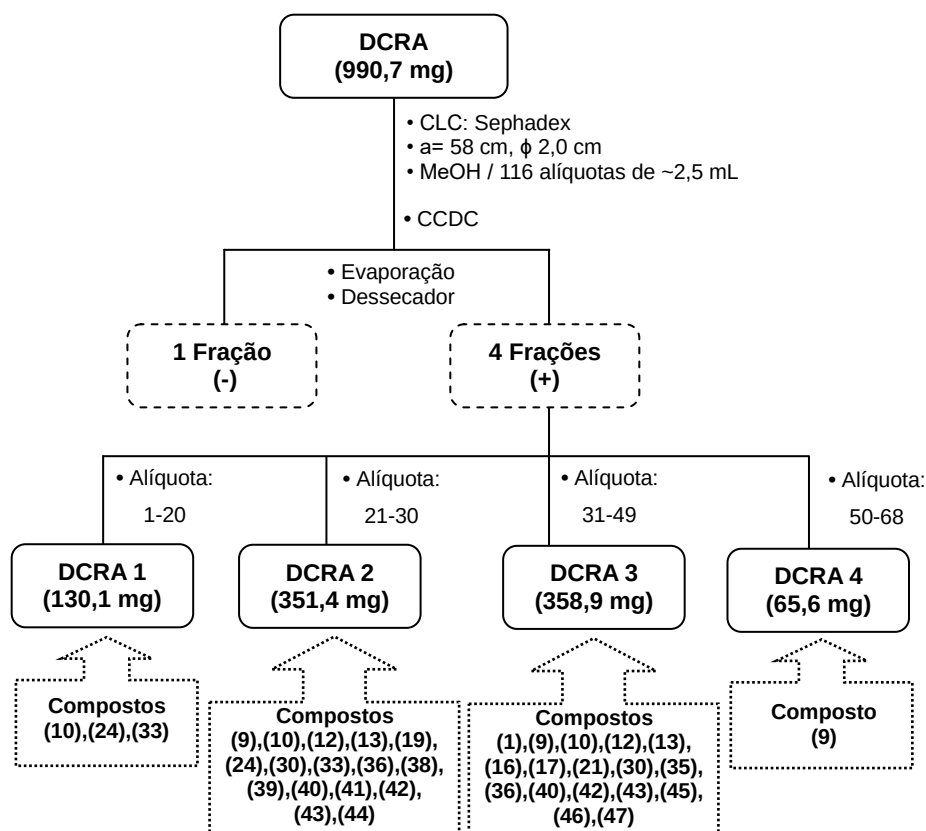


**Esquema 25.** Compostos isolados e identificados na fração DCBA.

### 3.6.3 Raízes de *Hippeastrum diniz-cruzae*

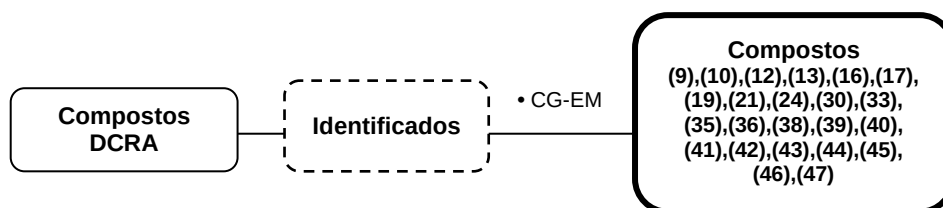
#### 3.6.3.1 Fração AcOEt – DCRA

A fração acetato de etila das raízes foi solubilizada em aproximadamente 2,0 mL de MeOH e submetida a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 116 alíquotas de aproximadamente 2,5 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em cinco frações, destas quatro foram positivas (DCRA 1 até DCRA 4), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. As frações positivas não foram fracionadas novamente, sendo uma alíquota de cada enviada para análise de CG-EM, possuindo seus compostos identificados representados no Esquema 26.



**Esquema 26.** Fracionamento cromatográfico da fração DCRA por CLC.

O Esquema 27 resume os compostos identificados por CG-EM de frações que não foram finalizadas de DCRA.

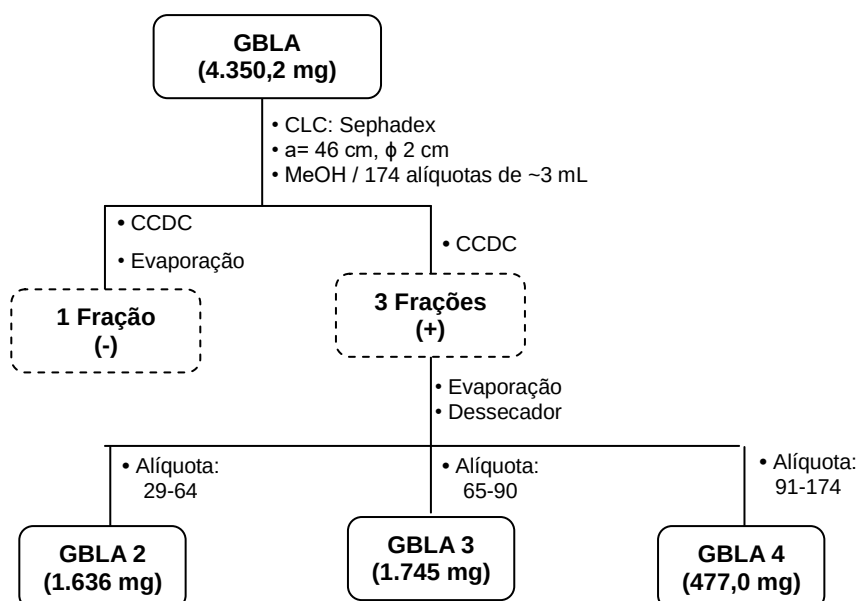


**Esquema 27.** Compostos identificados na fração DCRA.

### 3.6.4 Bulbos de *Hippeastrum glaucescens*

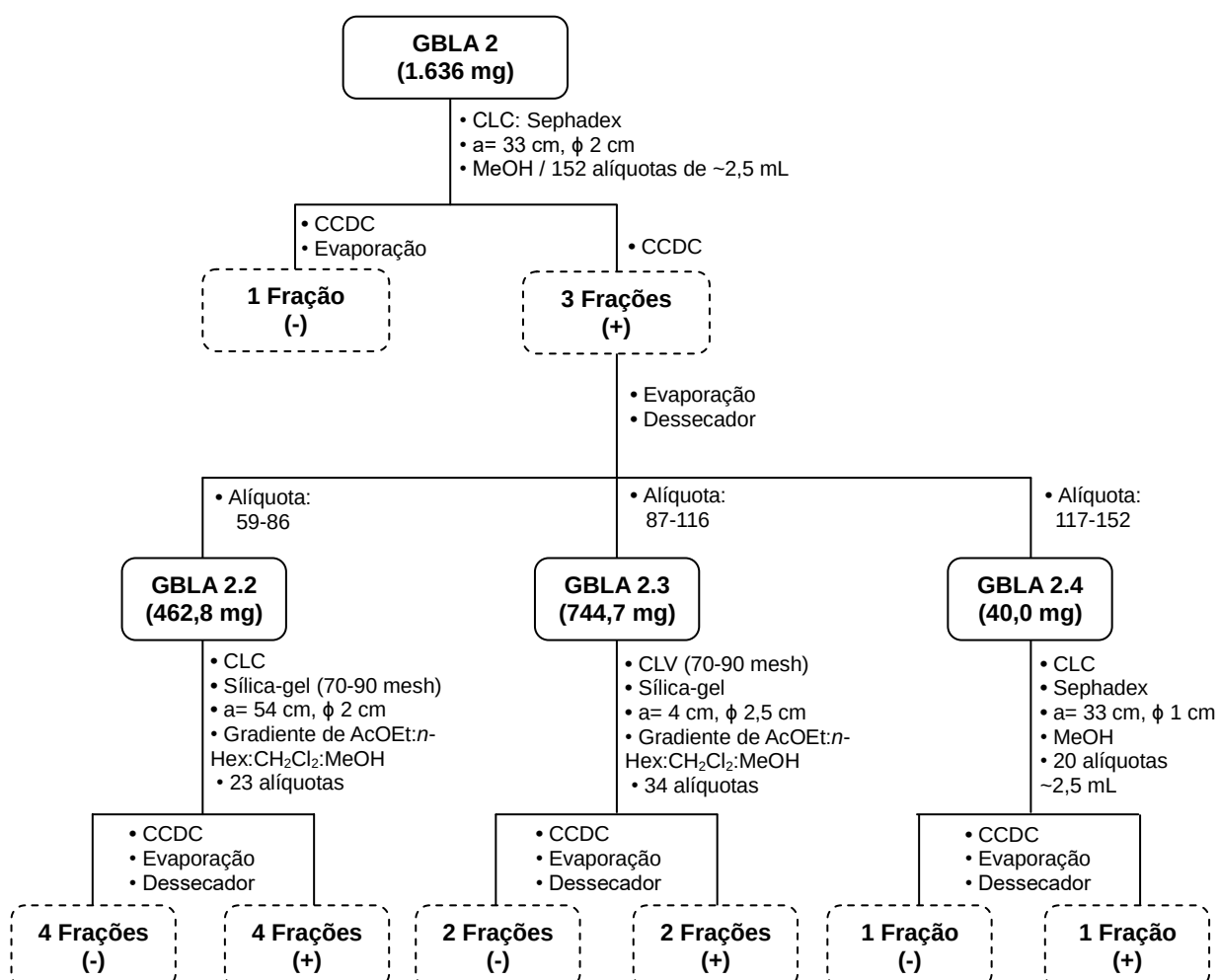
#### 3.6.4.1 Fração AcOEt ácida – GBLA

O extrato acetato ácido dos bulbos foi solubilizado em aproximadamente 2,5 mL de MeOH e submetido a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 174 alíquotas de aproximadamente 3,0 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em quatro frações, sendo três positivas (GBLA 2, GBLA 3 e GBLA 4), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas, sendo representado seu fracionamento no Esquema 28.



**Esquema 28.** Fracionamento cromatográfico do extrato GBLA por CLC.

- ❖ A fração GBLA 2 foi solubilizada em aproximadamente 1,5 mL de MeOH e submetido a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 152 alíquotas de aproximadamente 2,5 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em quatro frações, sendo três positivas (GBLA 2.2, GBLA 2.3 e GBLA 2.4), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. As frações positivas obtidas foram submetidas a CLC e CLV conforme descritos no Esquema 29.



**Esquema 29.** Fracionamento cromatográfico da fração GBLA 2, GBLA 2.2, GBLA 2.3 e GBLA 2.4 por CLC e CLV.

- ❖ GBLA 2.2: A amostra foi solubilizada em aproximadamente 1,5 mL de MeOH:AcOEt (7:3) e posteriormente submetida ao fracionamento por CLC com sílica gel 60 ACC (70-90 mesh, Silice) e fase móvel de AcOEt:*n*-Hex:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH em eluição gradiente (Esquema 29). As 23 alíquotas obtidas foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em três frações positivas com o reagente Dragendorff (GBLA 2.2.1, GBLA 2.2.2 e GBLA 2.2.5). A fração GBLA 2.2.1 e GBLA 2.2.2 foram submetidas a CCDP, descritos na Tabela 4 e a fração GBLA 2.2.5 não foi mais fracionada, sendo enviada uma alíquota para análise de CG-EM, identificando-se o composto **(48)**.

**Tabela 4.** Fracionamentos cromatográficos realizados nas frações GBLA 2.2, GBLA 2.2.1 e GBLA 2.2.2 e os compostos isolados e/ou identificados.

Continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                                                               | Fase Móvel (Proporção) mL                                                      | Alíquotas | Frações Obtidas Positivas (mg) | Composto    |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-----------|--------------------------------|-------------|
| GBLA 2.2           | CLC<br>Sílica gel (70-90 mesh)<br>a= 54 cm, $\phi$ 2 cm<br>23 alíquotas<br>8 frações | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH                     | 1         | GBLA 2.2.1 (29,3)              | <b>(48)</b> |
|                    |                                                                                      | (0:100:0:0) 100                                                                | 2-3       | GBLA 2.2.2 (45,6)              |             |
|                    |                                                                                      | (10:90:0:0) 100                                                                | 5-6       | GBLA 2.2.5 (210,0)             |             |
|                    |                                                                                      | (20:80:0:0) 50                                                                 |           |                                |             |
|                    |                                                                                      | (30:70:0:0) 50                                                                 |           |                                |             |
|                    |                                                                                      | (40:60:0:0) 50                                                                 |           |                                |             |
|                    |                                                                                      | (40:50:5:5) 100                                                                |           |                                |             |
|                    |                                                                                      | (40:40:10:10) 300                                                              |           |                                |             |
|                    |                                                                                      | (40:30:15:15) 300                                                              |           |                                |             |
|                    |                                                                                      | (40:20:20:20) 200                                                              |           |                                |             |
|                    |                                                                                      | (40:10:30:20) 300                                                              |           |                                |             |
|                    |                                                                                      | (40:0:40:20) 100                                                               |           |                                |             |
|                    |                                                                                      | (30: 0:50:20) 100                                                              |           |                                |             |
|                    |                                                                                      | (0: 0:50:50) 150                                                               |           |                                |             |
|                    |                                                                                      | (0:0:0:100) 150                                                                |           |                                |             |
| GBLA 2.2.1         | CCDP<br>(Alumínio 20x20)<br>2 frações*                                               | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:1:1:1) 60                   |           | GBLA 2.2.1.1 (6,0)             |             |
| GBLA 2.2.2         | CCDP<br>(Vidro 20x20)                                                                | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH<br>(2:1:1,5:1,5) 60 |           | GBLA 2.2.2.1 (5,4)             |             |
|                    |                                                                                      |                                                                                |           | GBLA 2.2.2.2 (11,4)            |             |

2 frações\*

\* As frações obtidas foram analisadas por CCDC e as positivas foram enviadas para análise de RMN.

final

- ❖ GBLA 2.3: A amostra foi solubilizada em aproximadamente 2,0 mL de MeOH e posteriormente submetida ao fracionamento por CLV com sílica gel 60 ACC (70-90 mesh, Silice) e fase móvel de AcOEt:*n*-Hex:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH em eluição gradiente (Esquema 30). As 34 alíquotas obtidas foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, originando duas frações positivas com o reagente Dragendorff (GBLA 2.3.3 e GBLA 2.3.4), sendo realizados posteriormente os procedimentos cromatográficos descritos na Tabela 5.

**Tabela 5.** Fracionamentos cromatográficos realizados nas frações GBLA 2.3, GBLA 2.3.3 e GBLA 2.3.4 e compostos isolados.

continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                                                         | Fase Móvel (Proporção) mL                                  | Alíquotas | Frações Obtidas Positivas (mg) | Composto |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|-----------|--------------------------------|----------|
| CLC                |                                                                                |                                                            |           |                                |          |
| GBLA 2.3           | Sílica gel (ACC (70-90 mesh)<br>a= 4 cm, φ 2,5 cm<br>34 alíquotas<br>4 frações | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH | 15-17     | GBLA 2.3.3 (314,3)             |          |
|                    |                                                                                | (0:100:0:0) 100                                            | 18-34     | GBLA 2.3.4 (38,3)              |          |
|                    |                                                                                | (20:80:0:0) 100                                            |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (30:70:0:0) 50                                             |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (32:68:0:0) 50                                             |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (34:66:0:0) 50                                             |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (36:64:0:0) 50                                             |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (38:62:0:0) 100                                            |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (40:60:0:0) 50                                             |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (40:58:1:1) 50                                             |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (40:56:2:2) 50                                             |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (40:55:2.5:2.5) 50                                         |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (40:50:5.0:5.0) 75                                         |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (40:45:7.5:7.5) 75                                         |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (40:40:10:10) 100                                          |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (40:35:12.5:12.5) 100                                      |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (40:30:15:15) 200                                          |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (40:25:17.5:17.5) 200                                      |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (40:20:20:20) 300                                          |           |                                |          |
|                    |                                                                                | (40:17.5:22.5:20) 150                                      |           |                                |          |

(40:15.5:24.5:20) 100  
 (40:13.5:26.5:20) 50  
 (40:11.5:28.5:20) 50  
 (40:9.5:30.5:20) 50  
 (40:7.5:32.5:20) 50  
 (40:5.5:34.5:20) 50  
 (40:3.5:36.5:20) 50  
 (40:0:40:20) 50  
 (35:0:45:20) 50  
 (30:0:50:20) 50  
 (20:0:50:30) 50

|               |                                                                       |                                         |       |                                              |        |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------|----------------------------------------------|--------|
| GBLA<br>2.3.3 | CLC<br>Sephadex<br>a= 23 cm, $\phi$ 2 cm<br>29 alíquotas<br>2 frações | MeOH<br>(100)                           | 10-29 | GBLA 2.3.3.2 (297,2)                         |        |
| GBLA<br>2.3.4 | CCDP<br>(Alumínio 20x10)<br>2 frações*                                | CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(8,5:1,5) 60 |       | GBLA 2.3.4.1.1 (4,0)<br>GBLA 2.3.4.1.2 (2,0) | (XXII) |

\* As frações obtidas foram analisadas por CCDC e as positivas foram enviadas para análise de RMN.

. final

- ❖ GBLA 2.3.3.2: A amostra foi solubilizada em aproximadamente 1,0 mL de MeOH e posteriormente submetida ao fracionamento por CLV com sílica gel 60 ACC (70-90 mesh, Silice) e fase móvel de AcOEt:*n*-Hex:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH em eluição gradiente (Tabela 6). O fracionamento originou 23 alíquotas que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, originando cinco frações positivas com o reagente Dragendorff (GBLA 2.3.3.2.1, GBLA 2.3.3.2.2, GBLA 2.3.3.2.3, GBLA 2.3.3.2.5 e GBLA 2.3.3.2.6), sendo realizados posteriormente os procedimentos cromatográficos descritos na Tabela 6.



**Tabela 6.** Fracionamentos cromatográficos realizados nas frações GBLA 2.3.3.2 e (GBLA 2.3.3.2.1, GBLA 2.3.3.2.2, GBLA 2.3.3.2.3 e GBLA 2.3.3.2.6) e compostos isolados.

continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica         | Fase Móvel (Proporção) mL                                                         | Alíquotas | Frações Obtidas Positivas (mg)                   | Composto |
|--------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------|--------------------------------------------------|----------|
| GBLA 2.3.3.2       | CLV                            | AcOEt: <i>n</i> -                                                                 | 1-9       | GBLA 2.3.3.2.1 (39,5)                            |          |
|                    | Sílica gel (70-90 mesh)        | Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH (0:100:0:0) 50                          | 10-15     | GBLA 2.3.3.2.2 (202,2)                           |          |
|                    | a= 7 cm, $\phi$ 3 cm           | (10:90:0:0) 50                                                                    | 16-17     | GBLA 2.3.3.2.3 (16,0)                            |          |
|                    | 23 alíquotas                   | (20:80:0:0) 50                                                                    | 18-19     | GBLA 2.3.3.2.5* (6,1)                            |          |
|                    | 5 frações                      | (30:70:0:0) 50                                                                    | 20-23     | GBLA 2.3.3.2.6 (19,7)                            |          |
|                    |                                | (40:60:0:0) 50                                                                    |           |                                                  |          |
|                    |                                | (40:50:5:5) 50                                                                    |           |                                                  |          |
|                    |                                | (40:40:10:10) 50                                                                  |           |                                                  |          |
|                    |                                | (40:30:15:15) 100                                                                 |           |                                                  |          |
|                    |                                | (40:20:20:20) 150                                                                 |           |                                                  |          |
|                    |                                | (40:10:30:20) 150                                                                 |           |                                                  |          |
|                    |                                | (40:0:40:20) 100                                                                  |           |                                                  |          |
|                    |                                | (30:0:50:20) 100                                                                  |           |                                                  |          |
|                    |                                | (0:0:50:50) 150                                                                   |           |                                                  |          |
|                    |                                | (0:0:0:100) 200                                                                   |           |                                                  |          |
|                    |                                |                                                                                   |           |                                                  |          |
|                    |                                |                                                                                   |           |                                                  |          |
| GBLA 2.3.3.2.1     | CCDP (Vidro 20x20) 2 frações** | AcOEt: <i>n</i> - Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH ((50:25:12,5:12,5) 60 |           | GBLA 2.3.3.2.1.1 (1,8)<br>GBLA 2.3.3.2.1.2 (9,4) |          |
| GBLA 2.3.3.2.2     | CLV                            | AcOEt: <i>n</i> -                                                                 | 13-14     | GBLA 2.3.3.2.2.2 (134,0)                         |          |
|                    | Sílica gel (70-90 mesh)        | Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH (0:100:0:0) 25                          | 15-21     | GBLA 2.3.3.2.2.3 (54,2)                          |          |
|                    | a= 5 cm, $\phi$ 2 cm           | (20:80:0:0) 25                                                                    |           |                                                  |          |
|                    | 21 alíquotas                   | (30:70:0:0) 25                                                                    |           |                                                  |          |
|                    | 3 frações                      | (40:60:0:0) 25                                                                    |           |                                                  |          |
|                    |                                | (50:50:0:0) 25                                                                    |           |                                                  |          |
|                    |                                | (60:40:0:0) 25                                                                    |           |                                                  |          |
|                    |                                | (70:30:0:0) 25                                                                    |           |                                                  |          |
|                    |                                | (80:20:0:0) 25                                                                    |           |                                                  |          |
|                    |                                | (90:10:0:0) 25                                                                    |           |                                                  |          |
|                    |                                | (100:0:0:0) 50                                                                    |           |                                                  |          |
|                    |                                | (80:10:5:5) 50                                                                    |           |                                                  |          |
|                    |                                | (70:10:10:10) 100                                                                 |           |                                                  |          |
|                    |                                |                                                                                   |           |                                                  |          |

(60:10:15:15) 100  
 (50:10:20:20) 100  
 (30:10:30:30) 100  
 (20:10:35:35) 100  
 (10:10:40:40) 150  
 (5:5:45:45) 100  
 (0:0:0:100) 100

|                |                                         |                                                              |                                                                                                                                |
|----------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| GBLA 2.3.3.2.3 | CCDP<br>(Alumínio 20x20)<br>2 frações** | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:1:1:1) 60 | GBLA 2.3.3.2.3.1 (7,9)<br>GBLA 2.3.3.2.3.2 (1,0)                                                                               |
| GBLA 2.3.3.2.6 | CCDP<br>(Alumínio 20x20)<br>5 frações** | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:1:1:1) 60 | GBLA 2.3.3.2.6.1 (1,2)<br>GBLA 2.3.3.2.6.2 (1,2)<br>GBLA 2.3.3.2.6.3 (1,2)<br>GBLA 2.3.3.2.6.4 (2,1)<br>GBLA 2.3.3.2.6.5 (1,0) |

\* Não fracionada, pois possui mesmo perfil cromatográfico por CCDC que a fração GBLA 2.3.3.2.6. \*\* As frações obtidas foram analisadas por CCDC e as positivas foram enviadas para análise de RMN.

final

- ❖ GBLA 2.3.3.2.2.2 e GBLA 2.3.3.2.2.3: Retirou-se 45,0 mg da amostra GBLA 2.3.3.2.2.2 e posteriormente ambas as amostras foram solubilizadas em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:CHCl<sub>3</sub> (3:2) e então submetidas aos fracionamentos por CCDP com fase móvel de *n*-Hex:CHCl<sub>3</sub>:MeOH (0,5:8,5:1), sendo ambas colocadas na mesma cuba cromatográfica com 80 mL de eluente, sendo suas frações obtidas apresentadas na Tabela 7.

**Tabela 7.** Fracionamentos cromatográficos realizados nas frações GBLA 2.3.3.2.2.2 e GBLA 2.3.3.2.2.3 e compostos isolados.

continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica              | Fase Móvel (Proporção) mL                                           | Frações Obtidas Positivas (mg)                                                                                                                                        | Composto |
|--------------------|-------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| GBLA 2.3.3.2.2.2   | CCDP<br>(Vidro 20x20)<br>6 frações* | <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH<br>(5:8,5:1) 80 | GBLA 2.3.3.2.2.2.1 (1,6)<br>GBLA 2.3.3.2.2.2.2 (13,0)<br>GBLA 2.3.3.2.2.2.3 (1,8)<br>GBLA 2.3.3.2.2.2.4 (2,2)<br>GBLA 2.3.3.2.2.2.5 (3,4)<br>GBLA 2.3.3.2.2.2.6 (7,7) |          |

|                  |                                     |                                                                             |                                                      |
|------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| GBLA 2.3.3.2.2.3 | CCDP<br>(Vidro 20x20)<br>2 frações* | <i>n</i> -<br>Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :<br>MeOH<br>(5:8,5:1) 80 | GBLA 2.3.3.2.2.3.1 (2,9)<br>GBLA 2.3.3.2.2.3.2 (1,5) |
|------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|

\* As frações obtidas foram analisadas por CCDC e as positivas foram enviadas para análise de RMN.

final

- ❖ GBLA 2.4: A amostra foi solubilizada em aproximadamente 1,0 mL de MeOH e submetido a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 20 alíquotas de aproximadamente 2,5 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em duas frações, sendo apenas uma positiva (GBLA 2.4.1), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. A fração positiva foi submetida a uma CLV sendo descrita na Tabela 8.

**Tabela 8.** Fracionamentos cromatográficos realizados nas frações GBLA 2.4, 2.4.1 e 2.4.1.2 e compostos isolados.

continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                                                | Fase Móvel (Proporção) mL | Alíquotas | Frações Obtidas Positivas (mg) | Composto |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------|--------------------------------|----------|
| GBLA 2.4           | CLC<br>Sephadex<br>a= 33 cm, $\phi$ 1 cm<br>20 alíquotas<br>2 frações | MeOH<br>(100)             | 1-7       | GBLA 2.4.1 (25,5)              |          |
| GBLA 2.4.1         | CLC<br>Sephadex<br>a= 22 cm, $\phi$ 1 cm<br>24 alíquotas              | MeOH<br>(100)             | 4-8       | GBLA 2.4.1.2 (13,9)            |          |

3 frações

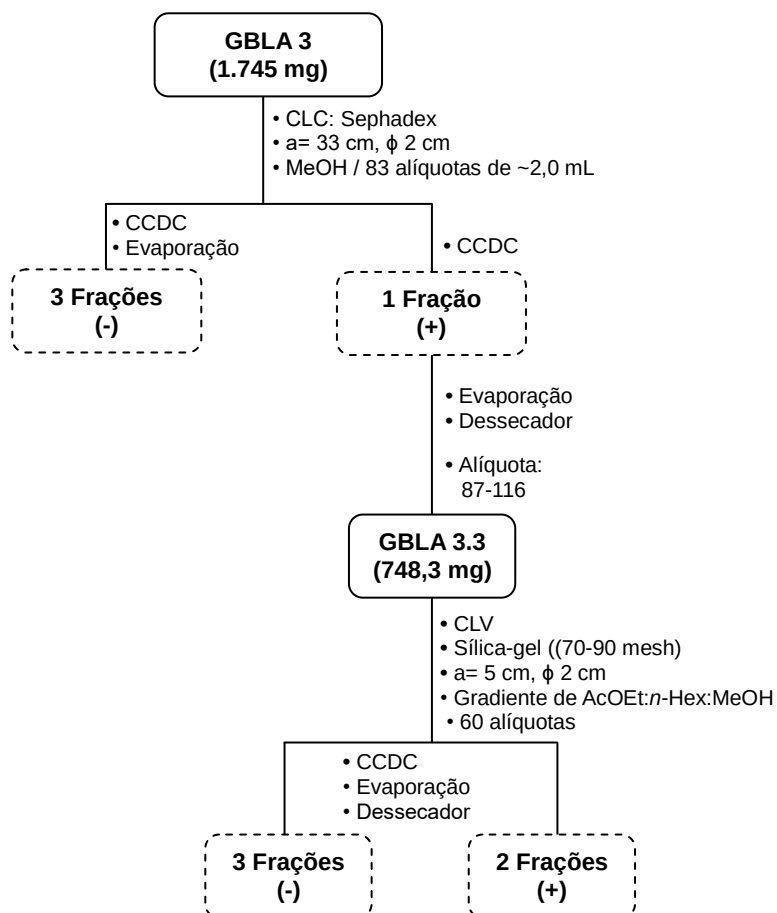
|              |                  |                                                            |                      |
|--------------|------------------|------------------------------------------------------------|----------------------|
| GBLA 2.4.1.2 | CCDP             | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH | GBLA 2.4.1.2.1 (2,9) |
|              | (Alumínio 15x20) | (2:1:1,5:1,5) 60                                           | GBLA 2.4.1.2.2 (3,3) |
|              | 4 frações*       |                                                            | GBLA 2.4.1.2.3 (1,7) |
|              |                  |                                                            | GBLA 2.4.1.2.4 (3,4) |

---

\* As frações obtidas foram analisadas por CCDC e as positivas foram enviadas para análise de RMN.

final

- ❖ A fração GBLA 3 foi solubilizado em aproximadamente 2,0 mL de MeOH e filtrada com o auxílio de uma seringa e filtro de 0,20 µm e então submetido a um fracionamento isocrático por CLC, utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 83 alíquotas de aproximadamente 2,0 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em quatro frações, sendo apenas uma positiva (GBLA 3.3), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. A fração positiva obtidas foi submetidas a CLV conforme descrita no Esquema 30.



**Esquema 30.** Fracionamento cromatográfico da fração GBLA 3 por CLC e de suas subfrações.

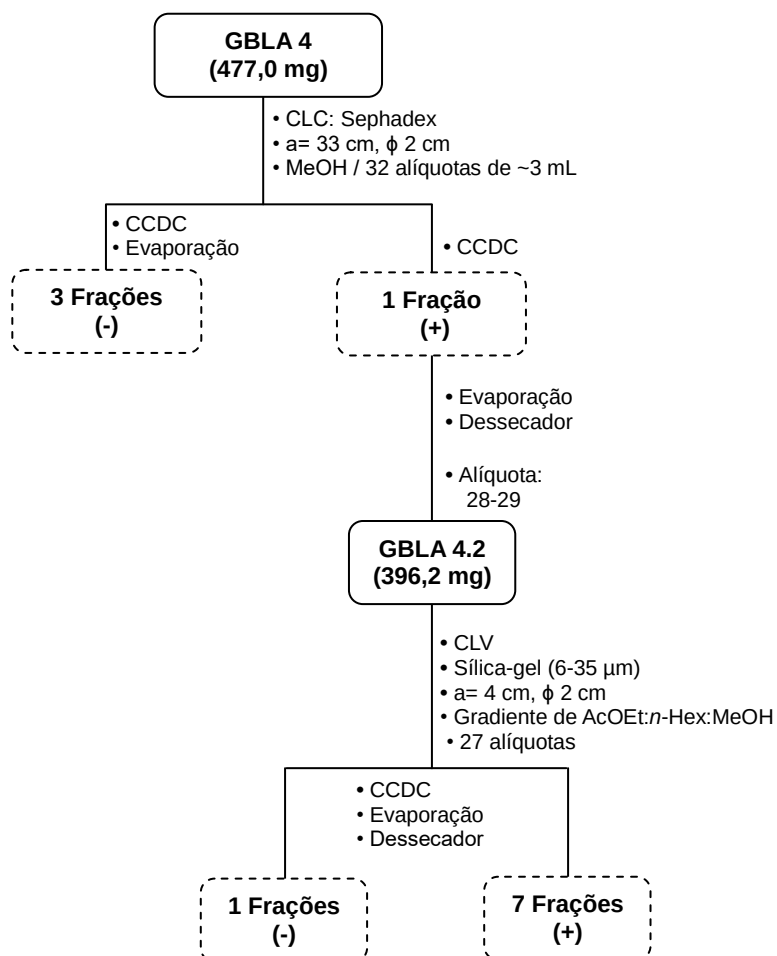
- ❖ GBLA 3.3: A amostra foi solubilizada em aproximadamente 1,5 mL de MeOH e posteriormente submetida ao fracionamento por CLV com sílica gel 60 ACC (70-90 mesh, Silice) e fase móvel de AcOEt:*n*-Hex:MeOH em eluição gradiente (Esquema 30 e Tabela 9). As 60 alíquotas obtidas foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em duas frações positivas (GBLA 3.3.3 e GBLA 3.3.4) que não foram fracionadas novamente, sendo realizadas análises por CG-EM. Na fração GBLA 3.3.3 foram identificados os compostos **(35)**, **(49)**, **(50)** e **(51)** e na fração GBLA 3.3.4: **(52)**, **(53)**, **(54)**, **(55)** e **(56)**.

**Tabela 9.** Fracionamento cromatográfico realizado na fração GBLA 3.3.

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                                                              | Fase Móvel (Proporção) mL | Alíquotas | Frações Obtidas Positivas (mg) |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------|--------------------------------|
| GBLA 3.3           | CLV<br>Sílica gel (70-90 mesh)<br>a= 5 cm, $\phi$ 2 cm<br>22 alíquotas<br>5 frações | AcOEt: <i>n</i> -Hex:MeOH | 51-58     | GBLA 3.3.3 (167,8)             |
|                    |                                                                                     | (0:100:0) 100             | 59        | GBLA 3.3.4 (52,0)              |
|                    |                                                                                     | (20:80:0) 100             |           |                                |
|                    |                                                                                     | (30:70:0) 100             |           |                                |
|                    |                                                                                     | (40:60:0) 200             |           |                                |
|                    |                                                                                     | (50:50:0) 100             |           |                                |
|                    |                                                                                     | (60:40:0) 100             |           |                                |
|                    |                                                                                     | (70:30:0) 100             |           |                                |
|                    |                                                                                     | (80:20:0) 50              |           |                                |
|                    |                                                                                     | (90:10:0) 50              |           |                                |
|                    |                                                                                     | (100:0:0) 150             |           |                                |
|                    |                                                                                     | (80:15:5) 50              |           |                                |
|                    |                                                                                     | (80:10:10) 100            |           |                                |
|                    |                                                                                     | (80:5:15) 50              |           |                                |
|                    |                                                                                     | (80:0:20) 50              |           |                                |
|                    |                                                                                     | (75:0:25) 50              |           |                                |
|                    |                                                                                     | (70:0:30) 50              |           |                                |
|                    |                                                                                     | (65:0:35) 100             |           |                                |
|                    |                                                                                     | (60:0:40) 100             |           |                                |
|                    |                                                                                     | (0:0:100) 200             |           |                                |

- ❖ A fração GBLA 4 foi solubilizado em aproximadamente 2,0 mL de MeOH e filtrada com o auxílio de uma seringa e filtro de 0,20  $\mu$ m e então submetido a um fracionamento isocrático por CLC, utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 32 alíquotas de aproximadamente 3,0 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em quatro frações, sendo apenas uma positiva (GBLA 4.2), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. A fração positiva obtida foi submetida a CLV

conforme descrita no Esquema 31.



**Esquema 31.** Fracionamento cromatográfico da fração GBLA 4 por CLC e de sua subfração.

- ❖ GBLA 4.2: A amostra foi solubilizada em aproximadamente 1,5 mL de MeOH e posteriormente submetida ao fracionamento por CLV com sílica gel 60 ACC (6-35  $\mu\text{m}$ , Chromagel-SDS) e fase móvel de AcOEt:*n*-Hex: $\text{CHCl}_3$ :MeOH em eluição gradiente (Esquema 31). As 27 alíquotas obtidas foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em sete frações positivas (GBLA 4.2.1 a GBLA 4.2.7) que foram fracionadas por CLC conforme descrito na Tabela 10.

**Tabela 10.** Fracionamento cromatográfico realizado na fração GBLA 4.2, GBLA 4.2.1 a GBLA 4.2.7.

continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                                | Fase Móvel (Proporção) mL                         | Alíquotas | Frações Obtidas Positivas (mg) |
|--------------------|-------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------|--------------------------------|
| GBLA 4.2           | CLV                                                   | AcOEt:n-Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH | 1         | <u>GBLA 4.2.1</u> (16,4)       |
|                    | Sílica gel (6-35 µm)                                  | (20:80:0:0) 40                                    | 2         | <u>GBLA 4.2.2</u> (79,4)       |
|                    | a= 4 cm, φ 2 cm                                       | (30:70:0:0) 40                                    | 3         | <u>GBLA 4.2.3</u> (60,2)       |
|                    | 27 alíquotas                                          | (40:60:0:0) 40                                    | 4-5       | <u>GBLA 4.2.4</u> (36,8)       |
|                    | 8 frações                                             | (50:50:0:0) 40                                    | 6-7       | <u>GBLA 4.2.5</u> (40,2)       |
|                    |                                                       | (60:40:0:0) 40                                    | 8         | <u>GBLA 4.2.6</u> (19,9)       |
|                    |                                                       | (70:30:0:0) 40                                    | 9-12      | <u>GBLA 4.2.7</u> (52,3)       |
|                    |                                                       | (80:20:0:0) 40                                    |           |                                |
|                    |                                                       | (90:10:0:0) 40                                    |           |                                |
|                    |                                                       | (100:0:0:0) 80                                    |           |                                |
|                    |                                                       | (85:5:5:5) 50                                     |           |                                |
|                    |                                                       | (77,5:7,5:7,5:7,5) 100                            |           |                                |
|                    |                                                       | (70:10:10:10) 100                                 |           |                                |
|                    |                                                       | (62,5:12,5:12,5:12,5) 100                         |           |                                |
|                    |                                                       | (55:15:15:15) 100                                 |           |                                |
|                    |                                                       | (47,5:17,5:17,5:17,5) 100                         |           |                                |
|                    |                                                       | (40:20:20:20) 200                                 |           |                                |
|                    |                                                       | (40:17,5:22,5:20) 100                             |           |                                |
|                    |                                                       | (40:15,5:24,5:20) 100                             |           |                                |
|                    |                                                       | (40:13,5:26,5:20) 100                             |           |                                |
| <u>GBLA 4.2.1</u>  | CLC                                                   | MeOH                                              | 0-2       | <u>GBLA 4.2.1.1</u> (5,31)     |
|                    | Sephadex                                              | (100)                                             | 3-8       | <u>GBLA 4.2.1.2</u> (2,94)     |
|                    | a= 25 cm, φ 1 cm<br>27 alíquotas ~1,5 mL<br>3 frações |                                                   | 9-27      | <u>GBLA 4.2.1.3</u> (6,05)     |
| <u>GBLA 4.2.2</u>  | CLC                                                   | MeOH                                              | 1-8       | <u>GBLA 4.2.2.1</u> (14,4)     |
|                    | Sephadex                                              | (100)                                             | 9-14      | <u>GBLA 4.2.2.2</u> (39,1)     |
|                    | a= 25,5 cm, φ 2 cm<br>39 alíquotas ~2,0 mL            |                                                   | 15-24     | <u>GBLA 4.2.2.3</u> (12,5)     |



4 frações

|                   |                         |       |       |                            |
|-------------------|-------------------------|-------|-------|----------------------------|
| <u>GBLA 4.2.3</u> | CLC                     | MeOH  | 1-12  | <u>GBLA 4.2.3.1</u> (38,4) |
|                   | Sephadex                | (100) | 13-18 | <u>GBLA 4.2.3.2</u> (3,9)  |
|                   | a= 21 cm, $\phi$ 2 cm   |       | 19-36 | <u>GBLA 4.2.3.3</u> (4,75) |
|                   | 36 alíquotas ~2,5 mL    |       |       |                            |
|                   | 3 frações               |       |       |                            |
| <u>GBLA 4.2.4</u> | CLC                     | MeOH  | 15-19 | <u>GBLA 4.2.4.1</u> (6,4)  |
|                   | Sephadex                | (100) | 20-28 | <u>GBLA 4.2.4.2</u> (9,2)  |
|                   | a= 14 cm, $\phi$ 1 cm   |       |       |                            |
|                   | 43 alíquotas ~2,0 mL    |       |       |                            |
|                   | 4 frações               |       |       |                            |
| <u>GBLA 4.2.5</u> | CLC                     | MeOH  | 6-35  | GBLA 4.2.5.2** (38,5)      |
|                   | Sephadex                | (100) |       |                            |
|                   | a= 25,5 cm, $\phi$ 2 cm |       |       |                            |
|                   | 35 alíquotas ~2,5 mL    |       |       |                            |
|                   | 2 frações               |       |       |                            |
| <u>GBLA 4.2.6</u> | CLC                     | MeOH  | 1-20  | GBLA 4.2.6.1* (8,7)        |
|                   | Sephadex                | (100) | 21-36 | GBLA 4.2.6.2** (6,3)       |
|                   | a= 25,5 cm, $\phi$ 2 cm |       |       |                            |
|                   | 36 alíquotas ~2,0 mL    |       |       |                            |
|                   | 2 frações               |       |       |                            |
| <u>GBLA 4.2.7</u> | CLC                     | MeOH  | 1-24  | GBLA 4.2.7.1* (39,1)       |
|                   | Sephadex                | (100) | 25-36 | GBLA 4.2.7.2* (11,4)       |
|                   | a= 24 cm, $\phi$ 1,5 cm |       |       |                            |
|                   | 36 alíquotas ~2,5 mL    |       |       |                            |
|                   | 2 frações               |       |       |                            |

\* Não fracionadas, pois possuem compostos com o perfil cromatográfico semelhante o de frações fracionadas.

\*\* Não fracionadas novamente, foram submetidos à análise de CG-EM as frações GBLA 4.2.5.2 e GBLA 4.2.6.2.

final

- ❖ GBLA 4.2.1.1, GBLA 4.2.1.2, GBLA 4.2.1.3, GBLA 4.2.2.1, GBLA 4.2.2.2, GBLA 4.2.2.3, GBLA 4.2.3.1, GBLA 4.2.3.2, GBLA 4.2.3.3, GBLA 4.2.4.1 e GBLA 4.2.4.2: Foram solubilizadas em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:CHCl<sub>3</sub> (1:1) e então submetidas aos fracionamentos por CCDP com fase móvel AcOEt:CHCl<sub>3</sub>:MeOH (1:1:1) e AcOEt: *n*-Hex:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (5:2,5:2,5), sendo suas frações obtidas apresentadas na Tabela 11. Os compostos

positivos obtidos foram analisados por CCDC e enviados para análise de RMN e/ou CG-EM.

**Tabela 11.** Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBLA 4.2.1.1, GBLA 4.2.1.2, GBLA 4.2.1.3, GBLA 4.2.2.1, GBLA 4.2.2.2, GBLA 4.2.2.3, GBLA 4.2.3.1, GBLA 4.2.3.2, GBLA 4.2.3.3, GBLA 4.2.4.1 e GBLA 4.2.4.2 e os compostos isolados.

continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                                 | Fase Móvel (Proporção) mL                                          | Frações Obtidas Positivas (mg)                                                                                                                                        | Composto                                |
|--------------------|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| GBLA 4.2.1.1       | CCDP<br>(Alumínio 10x10)<br>3 frações                  | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub><br>(2:1:1) 40 | GBLA 4.2.1.1.3 (1,0)                                                                                                                                                  | (A)                                     |
| GBLA 4.2.1.2       | CCDP<br>(Alumínio 10x10)<br>3 frações                  | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub><br>(2:1:1) 40 | GBLA 4.2.1.2.2 (1,6)                                                                                                                                                  | (A)                                     |
| GBLA 4.2.1.3       | CCDP<br>(Alumínio 9x7,5)<br>4 frações                  | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub><br>(2:1:1) 40 | GBLA 4.2.1.3.3 (1,2)<br>GBLA 4.2.1.3.4 (0,7)                                                                                                                          |                                         |
| GBLA 4.2.2.1       | CCDP<br>(Alumínio 10,5x20)<br>Eluição 2x<br>9 frações  | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub><br>(2:1:1) 40 | GBLA 4.2.2.1.2 (1,2)<br>GBLA 4.2.2.1.3 (2,0)<br>GBLA 4.2.2.1.4 (1,6)<br>GBLA 4.2.2.1.5 (1,7)<br>GBLA 4.2.2.1.9 (1,6)                                                  | (A)<br>(H)<br><br>(B)                   |
| GBLA 4.2.2.2       | CCDP<br>(Alumínio 10,5x20)<br>Eluição 4x<br>10 frações | AcOEt:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:1:1) 60                        | GBLA 4.2.2.2.1 (12,6)<br>GBLA 4.2.2.2.2 (4,4)<br>GBLA 4.2.2.2.3 (3,3)<br>GBLA 4.2.2.2.4 (2,1)<br>GBLA 4.2.2.2.5 (2,9)<br>GBLA 4.2.2.2.6 (1,7)<br>GBLA 4.2.2.2.7 (3,2) | (E)<br>(C)<br><br>(D)<br>(D)<br><br>(G) |
| GBLA 4.2.2.3       | CCDP<br>(Alumínio 10x20)<br>Eluição 3x<br>6 frações    | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub><br>(2:1:1) 40 | GBLA 4.2.2.3.2 (9,5)                                                                                                                                                  | (E)                                     |

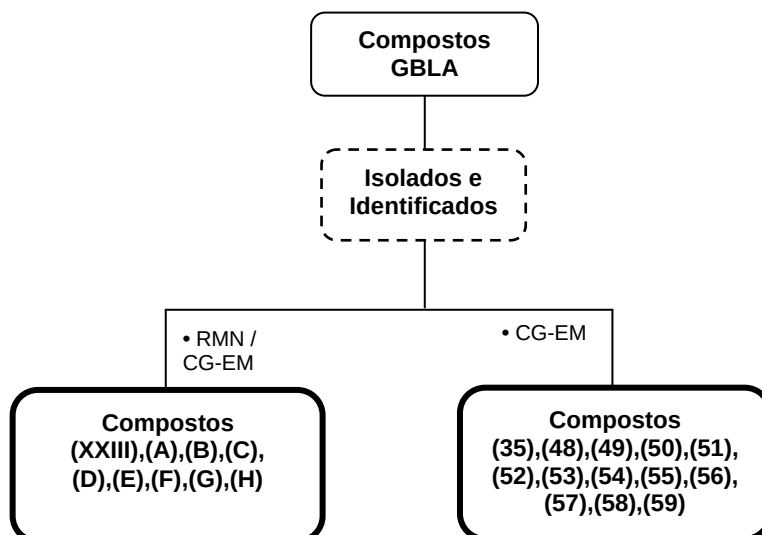
|              |                                                                 |                                                                    |                                                                                                                       |     |
|--------------|-----------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| GBLA 4.2.3.1 | CCDP<br>(2 placas de Alumínio 10x20)<br>Eluição 3x<br>8 frações | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub><br>(2:1:1) 40 | GBLA 4.2.3.1.1 (15,5)<br>GBLA 4.2.3.1.2 (5,9)<br>GBLA 4.2.3.1.7 (5,7)<br>GBLA 4.2.3.1.8 (2,0)                         | (F) |
| GBLA 4.2.3.2 | CCDP<br>(Alumínio 13x10)<br>4 frações                           | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub><br>(2:1:1) 40 | GBLA 4.2.3.2.1 (1,5)                                                                                                  |     |
| GBLA 4.2.3.3 | CCDP<br>(Alumínio 13x10)<br>5 frações                           | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub><br>(2:1:1) 40 | GBLA 4.2.3.3.1 (1,1)<br>GBLA 4.2.3.3.2 (1,8)                                                                          |     |
| GBLA 4.2.4.1 | CCDP<br>(Alumínio 10x20)<br>10 frações                          | AcOEt:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:1:1:1) 40                      | GBLA 4.2.4.1.1 (2,2)                                                                                                  |     |
| GBLA 4.2.4.2 | CCDP<br>(Alumínio 10x10)<br>9 frações                           | AcOEt:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:1:1:1) 40                      | GBLA 4.2.4.2.2 (1,1)<br>GBLA 4.2.4.2.5 (1,5)<br>GBLA 4.2.4.2.8 (0,8)<br>GBLA 4.2.4.2.9 (0,7)<br>GBLA 4.2.4.2.10 (1,0) |     |

---

 final

- ❖ GBLA 4.2.5.2 e GBLA 4.2.6.2: essas frações não foram fracionadas novamente, possuindo uma alíquota de cada submetida à análise por CG-EM, identificando-se o composto **(57)** da primeira fração e os compostos **(58)**, **(59)** da segunda.

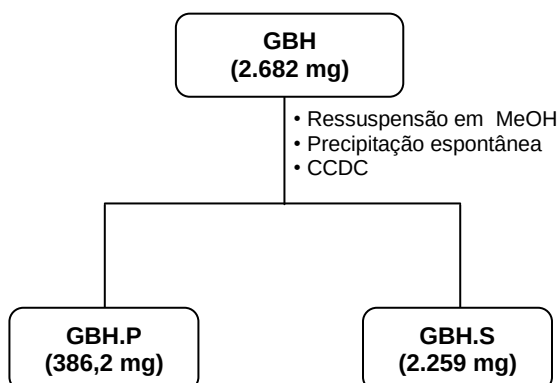
O Esquema 32 resume os compostos isolados dos fracionamentos de GBLA que foram identificados pela técnica de RMN e os compostos identificados por CG-EM de frações que não foram finalizadas.



**Esquema 32.** Compostos isolados e identificados na fração GBLA.

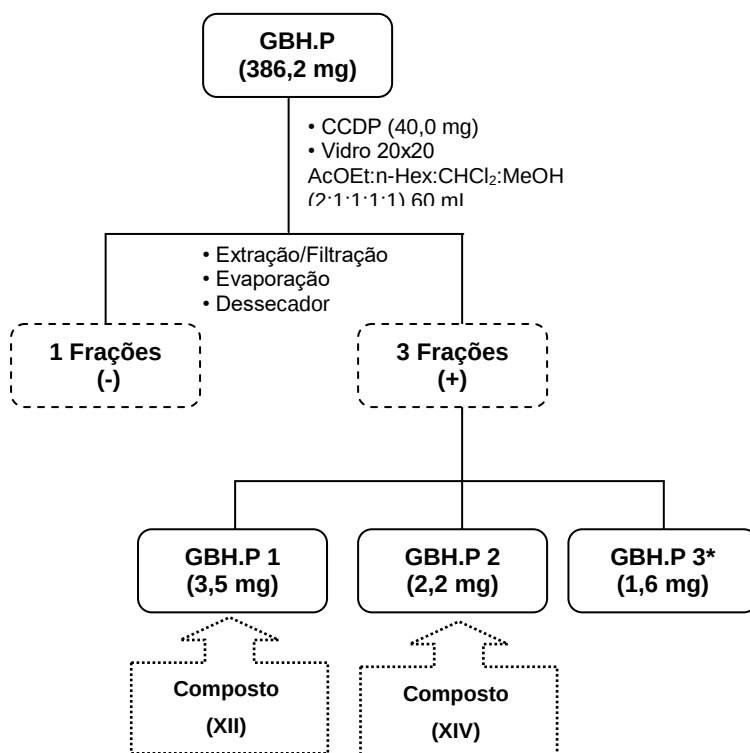
#### 3.6.4.2 Fração *n*-Hex – GBH

O extrato hexânico dos bulbos foi ressuspensionado em aproximadamente 2,0 mL de MeOH e ocorreu precipitação de um sólido amarelo, que foi separado do sobrenadante (Esquema 33).



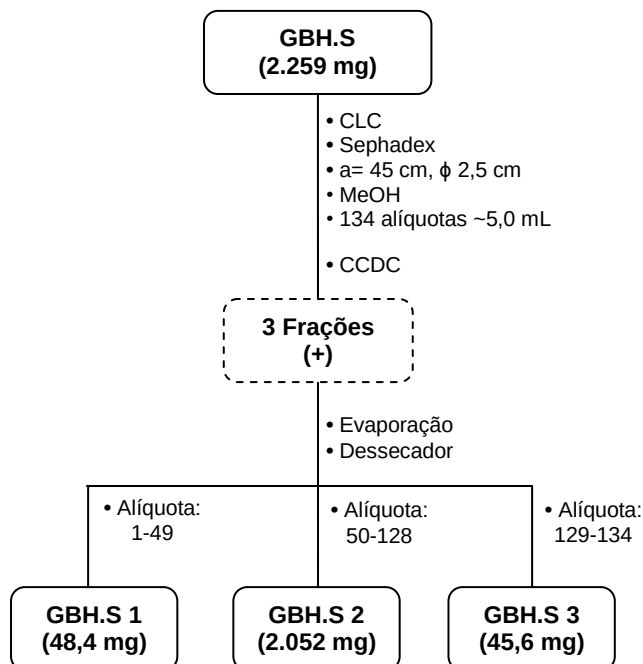
**Esquema 33.** Separação do extrato hexânico dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*.

- ❖ O precipitado foi solubilizado em MeOH:AcOEt (8:2) e realizado CCDC e indicou uma mistura de alcaloides. Sendo então submetido ao fracionamento por CDDP conforme representado no Esquema 34, sendo isolado os compostos (XII), (XIII) e (XIV).



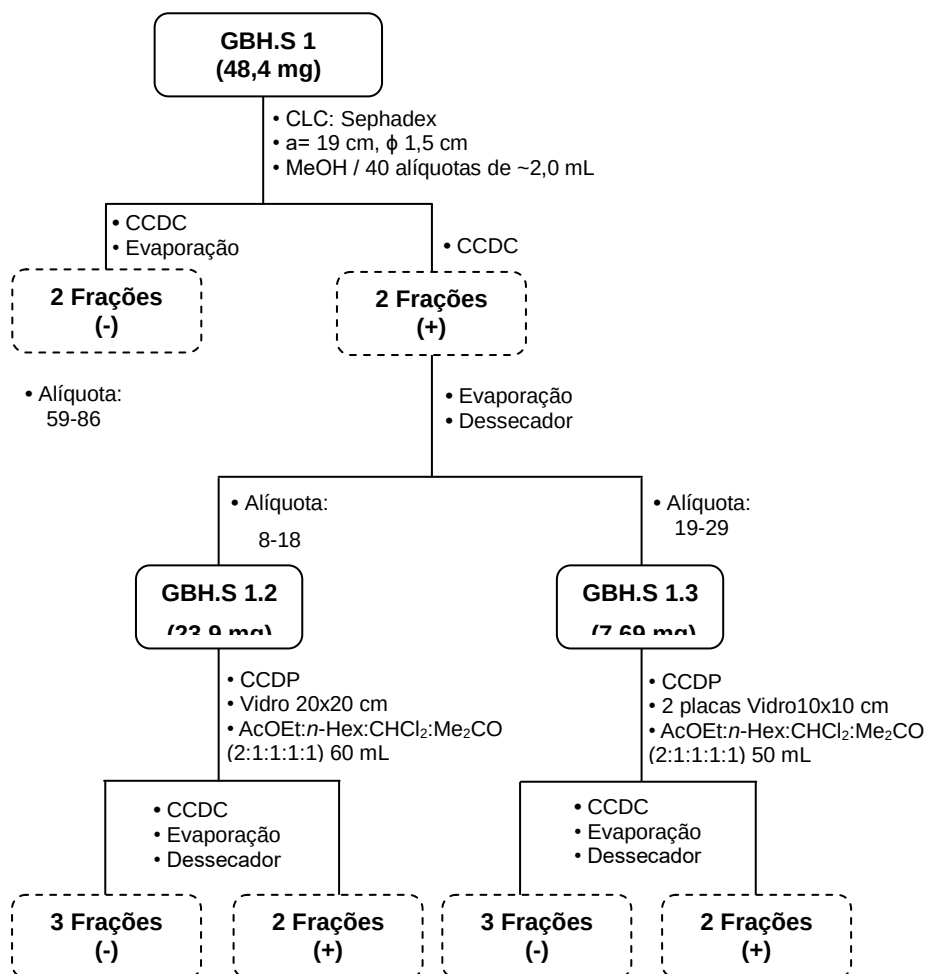
**Esquema 34.** Fracionamento cromatográfico realizado na fração GBH.P. (\*Reunida com GBH.S 2.3 e GBH.S 3.4 e submetida a CLV para purificação).

- ❖ O sobrenadante foi então solubilizado em aproximadamente 2,0 mL de MeOH e submetido a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 134 alíquotas de aproximadamente 5,0 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em três frações positivas (GBH.S 1, GBH.S 2 e GBH.S 3), verificada pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas, estando resumido seu fracionamento no Esquema 35.



**Esquema 35.** Fracionamento cromatográfico da fração GBH.S por CLC.

- ❖ A fração GBH.S1 foi solubilizado em aproximadamente 1,0 mL de MeOH e submetido a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 40 alíquotas de aproximadamente 3,0 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em quatro frações, sendo duas positivas (GBH.S 1.2 e GBH.S 1.3), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. As frações positivas obtidas foram submetidas a CCDCP conforme descritas no Esquema 36.



**Esquema 36.** Fracionamento cromatográfico da fração GBH.S 1 por CLC e de suas subfrações.

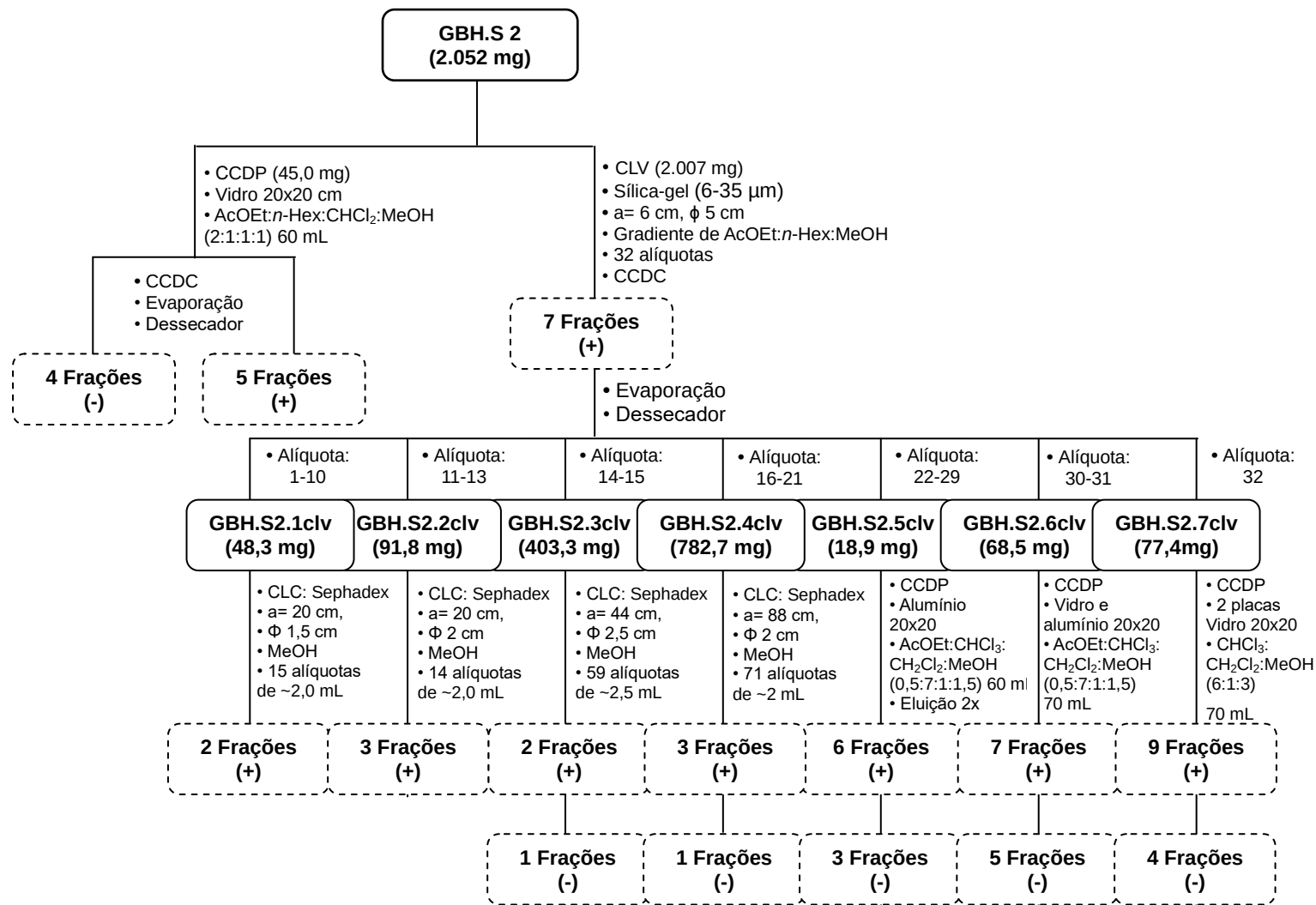
- ❖ GBH.S 1.2 e GBH.S 1.3: As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:CHCl<sub>2</sub> (1:1) e posteriormente submetida a fracionamentos por CCDC com fase móvel de AcOEt:n-Hex:CHCl<sub>2</sub>:Me<sub>2</sub>CO (2:1:1:1:1) com eluição na mesma cuba cromatográfica, sendo suas frações obtidas apresentadas na Tabela 12. Os compostos obtidos foram analisados por CCDC e enviados para análise de RMN.

**Tabela 12.** Fracionamento cromatográfico realizado na fração GBH.S 1.2 e GBH.S 1.3 e compostos isolados.

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                         | Fase Móvel (Proporção) mL                                                    | Frações Obtidas Positivas (mg)         | Composto |
|--------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|----------|
| GBH.S 1.2          | CCDP<br>(Vidro 20x20)<br>5 frações             | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>2</sub> :Me <sub>2</sub> CO<br>(2:1:1:1:1) 60 | GBH.S 1.2.3 (1,4)<br>GBH.S 1.2.4 (3,7) |          |
| GBH.S 1.3          | CCDP<br>(2 placas de vidro 10x10)<br>5 frações | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>2</sub> :Me <sub>2</sub> CO<br>(2:1:1:1:1) 60 | GBH.S 1.3.2 (0,8)<br>GBH.S 1.3.4 (2,0) |          |

- ❖ A fração GBH.S 2: 40,0 mg da fração foi solubilizada em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:AcOEt (1:1) e submetido a técnica de CCDP com fase móvel Hex:AcOEt:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH (1:2:1:1) que resultando em nove frações que foram analisadas por CCDC e posteriormente enviadas para análise de RMN. Para o restante da fração foi realizado um fracionamento em CLV com sílica gel 60 ACC (6-35 µm, Chromagel-SDS) e eluição gradiente com *n*-Hex:AcOEt:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH. O fracionamento originou 32 alíquotas que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em sete frações que revelaram a presença de alcaloides (GBH.S2.1clv a GBH.S2.7clv) através do teste com reagente Dragendorff conforme resumido no Esquema 37.





**Esquema 37.** Fracionamento cromatográfico da fração GBH.S 2 por CLC e de suas subfrações

- ❖ .GBH.S 2: As frações obtidas através do fracionamento cromatográfico realizado por CCDP são representadas na Tabela 13.

**Tabela 13.** Frações obtidas do fracionamento por CCDP da amostra GBH.S2 e os compostos isolados.

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica             | Fase Móvel (Proporção) mL                                  | Frações Obtidas Positivas (mg) | Composto |
|--------------------|------------------------------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------|----------|
| GBH.S 2            | CCDP<br>(Vidro 20x20)<br>9 frações | AcOEt:n-<br>Hex:CHCl <sub>2</sub> :MeOH<br>(2:1:1:1) 60 mL | GBH.S 2.1prep (7,1)            | (XII)    |
|                    |                                    |                                                            | GBH.S 2.2prep (6,0)            | (XIV)    |
|                    |                                    |                                                            | GBH.S 2.3prep (2,7)*           |          |
|                    |                                    |                                                            | GBH.S 2.4prep (1,9)            | (IX)     |
|                    |                                    |                                                            | GBH.S 2.7prep (2,7)            | (XXIII)  |

\* Reunida com GBH.P 3 e GBH.S 3.4 e submetida a CLV para purificação.

- ❖ GBH.S 2.1clv, GBH.S 2.2clv, GBH.S 2.3clv e GBH.S 2.4clv: As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 1,0 mL de MeOH, posteriormente foram realizados os fracionamentos isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. As frações positivas obtidas são descritas na Tabela 14.

**Tabela 14.** Fracionamento cromatográfico realizado nas Frações: GBH.S 2.1clv, GBH.S 2.2clv, GBH.S 2.3clv e GBH.S 2.4clv.

continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica | Fase Móvel (Proporção) mL | Alíquotas | Frações Obtidas Positivas (mg) |
|--------------------|------------------------|---------------------------|-----------|--------------------------------|
| GBH.S 2.1clv       | CLC                    | MeOH                      | 1-9       | <u>GBH.S 2.1.1clv</u> (27,6)   |
|                    | Sephadex               | (100)                     | 10-15     | <u>GBH.S 2.1.2clv</u> (13,2)   |
|                    | a= 20 cm, φ 1,5 cm     |                           |           |                                |
|                    | 15 alíquotas ~2,5 mL   |                           |           |                                |
|                    | 2 frações              |                           |           |                                |
| GBH.S 2.2clv       | CLC                    | MeOH                      | 1-5       | <u>GBH.S 2.2.1clv</u> (37,0)   |
|                    | Sephadex               | (100)                     | 6-9       | <u>GBH.S 2.2.2clv</u> (42,9)   |
|                    | a= 20 cm, φ 2 cm       |                           | 10-14     | <u>GBH.S 2.2.3clv</u> (8,4)    |
|                    |                        |                           |           |                                |

|                      |                         |       |       |                               |
|----------------------|-------------------------|-------|-------|-------------------------------|
| 14 alíquotas ~3,0 mL |                         |       |       |                               |
| 3 frações            |                         |       |       |                               |
| GBH.S 2.3clv         | CLC                     | MeOH  | 12-44 | <u>GBH.S 2.3.2clv</u> (378,0) |
|                      | Sephadex                | (100) | 45-59 | <u>GBH.S 2.3.3clv</u> (8,8)   |
|                      | a= 44 cm, $\phi$ 2,5 cm |       |       |                               |
|                      | 59 alíquotas ~4,0 mL    |       |       |                               |
|                      | 3 frações               |       |       |                               |
| GBH.S 2.4clv         | CLC                     | MeOH  | 15-58 | <u>GBH.S 2.4.2clv</u> (679,1) |
|                      | Sephadex                | (100) |       |                               |
|                      | a= 88 cm, $\phi$ 2 cm   |       |       |                               |
|                      | 71 alíquotas ~5,0 mL    |       |       |                               |
|                      | 4 frações               |       |       |                               |
| final                |                         |       |       |                               |

- ❖ GBH.S 2.1.1clv, GBH.S 2.1.2clv, GBH.S 2.2.1clv, GBH.S 2.2.2clv, GBH.S 2.2.3clv e GBH.S 2.3.3clv: As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:CHCl<sub>3</sub>(1:1) e então submetidas a fracionamentos por CCDP sendo suas frações obtidas são descritas na Tabela 15. Os compostos obtidos foram analisados por CCDC e enviados para análise de RMN.

**Tabela 15.** Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBH.S 2.1.1clv, GBH.S 2.1.2clv, GBH.S 2.2.1clv, GBH.S 2.2.2clv, GBH.S 2.2.3clv e GBH.S 2.3.3clv e compostos isolados.

continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                | Fase Móvel (Proporção) mL                                                      | Frações Obtidas Positivas (mg) | Composto |
|--------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|----------|
| GBH.S 2.1.1clv     | CCDP<br>(Alumínio 20x20)<br>4 frações | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH<br>(2:1:1,5:1,5) 50 | GBH.S 2.1.1.1clv (15,0)        |          |
|                    |                                       |                                                                                | GBH.S 2.1.1.2clv (1,7)         |          |
|                    |                                       |                                                                                | GBH.S 2.1.1.3clv (1,8)         |          |
|                    |                                       |                                                                                | GBH.S 2.1.1.4clv (2,6)         |          |
| GBH.S 2.1.2clv     | CCDP<br>(Alumínio 20x10)<br>2 frações | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH<br>(2:1:1,5:1,5) 50 | GBH.S 2.1.2.1clv (8,0)         | (XXV)    |
|                    |                                       |                                                                                | GBH.S 2.1.2.2clv (1,1)         |          |

|                |                                       |                                                                                |                                                                                                       |
|----------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| GBH.S 2.2.1clv | CCDP<br>(Alumínio 20x20)<br>4 frações | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:1:1:1) 50                   | GBH.S 2.2.1.1clv (15,4)<br>GBH.S 2.2.1.2clv (1,4)<br>GBH.S 2.2.1.3clv (1,7)<br>GBH.S 2.2.1.4clv (0,8) |
| GBH.S 2.2.2clv | CCDP<br>(Vidro 20x20)<br>3 frações    | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:1:1:1) 60                   | GBH.S 2.2.2.1clv (15,0)<br>GBH.S 2.2.2.2clv (1,0)<br>GBH.S 2.2.2.3clv (1,5)                           |
| GBH.S 2.2.3clv | CCDP<br>(Alumínio 10x20)<br>3 frações | AcOEt:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:1:1:1) 60                                  | GBH.S 2.2.3.1CLV (2,1)<br>GBH.S 2.2.3.2CLV (1,6)<br>GBH.S 2.2.3.3CLV (2,2)                            |
| GBH.S 2.3.3clv | CCDP<br>(Alumínio 20x20)<br>3 frações | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH<br>(2,5:0,5:1:1) 50 | GBH.S 2.3.3.1clv (3,2)<br>GBH.S 2.3.3.2clv (2,3)<br>GBH.S 2.3.3.3clv (1,4)                            |

final

- ❖ GBH.S 2.3.2clv e GBH.S 2.4.2clv: As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 1,0 mL de MeOH e submetidas ao fracionamento por CLV com sílica gel 60 ACC (70-90 mesh, Silice) e eluição gradiente com *n*-Hex:AcOEt:CHCl<sub>3</sub>:MeOH. Sendo as alíquotas que analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança e testadas com o com reagente Dragendorff conforme descrito na Tabela 16.

**Tabela 16.** Fracionamento cromatográfico realizado na fração GBH.S 2.3.2clv e GBH.S 2.4.2clv

continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica  | Fase Móvel (Proporção) mL                    | Alíquotas | Frações Obtidas Positivas (mg)  |
|--------------------|-------------------------|----------------------------------------------|-----------|---------------------------------|
| GBH.S 2.3.2clv     | CLV                     | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH | 6-9       | <u>GBH.S 2.3.2.2clv</u> (103,7) |
|                    | Sílica gel (70-90 mesh) | (0:100:0:0) 50                               | 10-11     | GBH.S 2.3.2.3clv* (186,4)       |
|                    | a= 18 cm, φ 1,5 cm      | (50:50:0:0) 100                              | 12-13     | <u>GBH.S 2.3.2.4clv</u> (38,3)  |
|                    | 23 alíquotas            | (75:25:0:0) 100                              | 14-23     | <u>GBH.S 2.3.2.5clv</u> (31,4)  |
|                    | 5 frações               | (100:0:0:0) 50<br>(50:25:25:0) 50            |           |                                 |

(40:25:25:10) 100  
 (35:25:25:15) 100  
 (30:25:25:20) 100  
 (25:25:25:25) 100  
 (50:0:25:25) 100  
 (50:0:0:50) 100  
 (0:0:0:100) 100

|                |                         |                                              |     |                                 |
|----------------|-------------------------|----------------------------------------------|-----|---------------------------------|
| GBH.S 2.4.2clv | CLC                     | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH | 4-5 | <u>GBH.S 2.4.2.3clv</u> (637,8) |
|                | Sílica gel (70-90 mesh) | (0:100:0:0) 100                              | 6   | <u>GBH.S 2.4.2.4clv</u> (33,3)  |
|                | a= 6 cm, φ 4 cm         | (0:75:25:0) 200                              | 7   | GBH.S 2.4.2.5clv* (30,6)        |
|                | 8 alíquotas             | (25:50:25:0) 200                             | 8   | GBH.S 2.4.2.6clv* (29,1)        |
|                | 6 frações               | (25:25:25:25) 300                            |     |                                 |
|                |                         | (50:0:25:25) 200                             |     |                                 |
|                |                         | (75:00:0:25) 200                             |     |                                 |
|                |                         | (50:0:0:50) 300                              |     |                                 |
|                |                         | (0:10:0:100) 300                             |     |                                 |

\* Fracionamento não realizado, pois possui compostos com o perfil cromatográfico semelhante o de frações fracionadas.

final

- ❖ GBH.S 2.3.2.2clv, GBH.S 2.3.2.4clv, GBH.S 2.3.2.5clv, GBH.S 2.4.2.3clv e GBH.S 2.4.2.4clv : As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 1,0 mL de MeOH:AcOEt (6:4) e fracionadas por CCDP conforme descrito na Tabela 17, e as frações positivas foram submetidas a análise de RMN.

**Tabela 17.** Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBH.S 2.3.2.2clv, GBH.S 2.3.2.4clv, GBH.S 2.3.2.5clv, GBH.S 2.4.2.3clv e GBH.S 2.4.2.4clv e compostos isolados.

continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica             | Fase Móvel (Proporção) mL                                        | Frações Obtidas Positivas (mg)                                                     | Composto |
|--------------------|------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| GBH.S 2.3.2.2clv   | CCDP<br>(Vidro 20x20)<br>5 frações | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeO<br>H<br>(1:1:1:1) 60 | GBH.S 2.3.2.2.1clv (11,7)<br>GBH.S 2.3.2.2.4clv (1,2)<br>GBH.S 2.3.2.2.5clv (12,1) | (XV)     |
| GBH.S 2.3.2.4clv   | CCDP<br>(Vidro 20x20)<br>4 frações | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeO<br>H                 | GBH.S 2.3.2.4.1clv (2,9)<br>GBH.S 2.3.2.4.2clv (8,4)<br>GBH.S 2.3.2.4.3clv (3,9)   | (XXI)    |

|                  |                                              |                                                                          |                                                                                                                                                                      |
|------------------|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (1:1:1:1) 60     |                                              |                                                                          | GBH.S 2.3.2.4.4clv (3,5)                                                                                                                                             |
| GBH.S 2.3.2.5clv | CCDP<br>(Alumínio 20x20)<br>1 fração         | AcOEt: <i>n</i> -<br>Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeO<br>H<br>(1:1:1:1) 50     | GBH.S 2.3.2.5.1clv (4,3)                                                                                                                                             |
| GBH.S 2.4.2.3clv | CCDP (45,0 mg)<br>(Vidro 20x20)<br>6 frações | AcOEt: <i>n</i> -<br>Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeO<br>H<br>(1:1,5:1:0,5) 60 | GBH.S 2.4.2.3.1clv (1,4)<br>GBH.S 2.4.2.3.2clv (2,1)<br>GBH.S 2.4.2.3.3clv (1,1)<br>GBH.S 2.4.2.3.4clv (7,2)<br>GBH.S 2.4.2.3.5clv (7,0)<br>GBH.S 2.4.2.3.6clv (1,3) |
| GBH.S 2.4.2.4clv | CCDP<br>(Vidro 20x20)<br>4 frações           | AcOEt: <i>n</i> -<br>Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeO<br>H<br>(1:1,5:1:0,5) 60 | GBH.S 2.4.2.4.2clv (1,1)<br>GBH.S 2.4.2.4.1clv (12,4)<br>GBH.S 2.4.2.4.1clv (2,5)                                                                                    |

final

- ❖ GBH.S 2.5clv. GBH.S 2.6clv e GBH.S 2.7clv: As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:AcOEt (6:4) e então submetidas a fracionamentos por CCDP sendo suas frações obtidas descritas na Tabela 18. Os compostos positivos obtidos foram analisados por CCDC e enviados para análise de RMN.

**Tabela 18.** Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBH.S 2.5clv, GBH.S 2.6clv e GBH.S 2.7clv e compostos isolados.

continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                              | Fase Móvel (Proporção) mL                                                          | Frações Obtidas Positivas (mg)                                                                                          | Composto |
|--------------------|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| GBH.S 2.5clv       | CCDP<br>(Alumínio 20x20)<br>9 frações<br>Eluição 2x | AcOEt:CHCl <sub>3</sub> :CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH<br>(0,5:7:1:1,5) 60 | GBH.S 2.5.2clv (0,8)<br>GBH.S 2.5.3clv (0,7)<br>GBH.S 2.5.6clv (3,4)<br>GBH.S 2.5.10clv (1,0)<br>GBH.S 2.5.11clv (0,64) | (XIII)   |

GBH.S 2.5.12clv(1,2)

|               |                                                   |                                                                                    |                              |      |
|---------------|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|------|
| GBH.S 2.6clv  | CCDP<br>(Vidro e Alumínio<br>20x20)<br>12 frações | AcOEt:CHCl <sub>3</sub> :CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH<br>(0,5:7:1:1,5) 70 | <u>GBH.S 2.6.1clv (1,86)</u> |      |
|               |                                                   |                                                                                    | GBH.S 2.6.2clv (3,84)        |      |
|               |                                                   |                                                                                    | GBH.S 2.6.4clv (1,4)         |      |
|               |                                                   |                                                                                    | <u>GBH.S 2.6.5clv (8,8)</u>  |      |
|               |                                                   |                                                                                    | GBH.S 2.6.10clv (1,6)        |      |
|               |                                                   |                                                                                    | GBH.S 2.6.11clv (1,6)        |      |
|               |                                                   |                                                                                    | GBH.S 2.6.12clv (1,7)        |      |
| GBH.S 2.7clv. | CCDP<br>(2 de Vidro 20x20)<br>13 frações          | CHCl <sub>3</sub> :CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeOH<br>(6:1:3) 70             | GBH.S 2.7.1 (15,3)           | (IX) |
|               |                                                   |                                                                                    | <u>GBH.S 2.7.2 (4,8)</u>     |      |
|               |                                                   |                                                                                    | GBH.S 2.7.3 (2,0)            | (VI) |
|               |                                                   |                                                                                    | GBH.S 2.7.4 (1,0)            |      |
|               |                                                   |                                                                                    | GBH.S 2.7.7 (1,6)            |      |
|               |                                                   |                                                                                    | GBH.S 2.7.10 (7,7)           |      |
|               |                                                   |                                                                                    | GBH.S 2.7.11 (1,6)           |      |
|               |                                                   |                                                                                    | <u>GBH.S 2.7.12 (9,7)</u>    |      |
|               |                                                   |                                                                                    | GBH.S 2.7.13 (3,2)           |      |

final

- ❖ GBH.S 2.61clv, GBH.S 2.6.5clv, GBH.S 2.7.2clv e GBH.S 2.712clv: As frações foram purificadas através de um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH e suas alíquotas reunidas por comparação e semelhança e testadas com reagente Dragendorff, sendo suas frações obtidas representadas na Tabela 19.

**Tabela 19.** Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBH.S 2.61clv, GBH.S 2.6.5clv, GBH.S 2.7.2clv e GBH.S 2.712clv e compostos isolados.

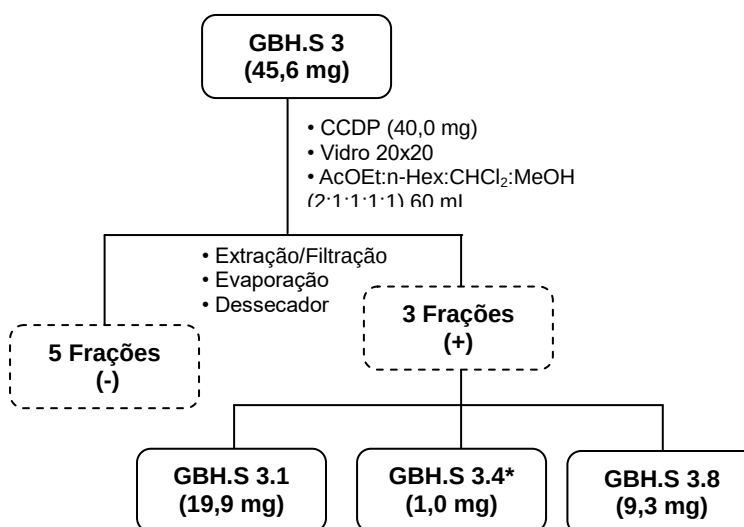
continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                                                   | Fase Móvel (Proporção) mL | Alíquotas | Frações Obtidas Positivas (mg) | Composto |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------|--------------------------------|----------|
| GBH.S 2.6.1clv     | CLV<br>Sephadex= 13 cm, $\phi$ 1cm<br>9 alíquotas de ~1 mL, 3 frações    | MeOH (100)                | 3-6       | GBH.S 2.6.1.3clv (2,9)         |          |
| GBH.S 2.6.5clv     | CLV<br>Sephadex= 14 cm, $\phi$ 1,5 cm<br>8 alíquotas de ~1 mL, 3 frações | MeOH (100)                | 2-4       | GBH.S 2.6.5.2clv (6,7)         | (VII)    |
| GBH.S 2.7.2clv.    | CLV<br>Sephadex= 13 cm, $\phi$ 1cm                                       | MeOH (100)                | 3-9       | GBH.S 2.7.2.2clv (3,9)         | (VI)     |

11 alíquotas de ~1 mL, 2 frações

|                 |                                                                          |               |     |                      |       |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------------|---------------|-----|----------------------|-------|
| GBH.S 2.7.12clv | CLV<br>Sephadex= 14 cm, $\phi$ 1,5 cm<br>7 alíquotas de ~1 mL, 2 frações | MeOH<br>(100) | 2-3 | GBH.S 2.7.12.2 (2,7) | (VII) |
|                 |                                                                          |               |     |                      | final |

- ❖ A fração GBH.S 3 foi solubilizada em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:AcOEt (6:4) e submetido a um fracionamento por CCDP com fase móvel AcOEt:*n*-Hex:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH (2:1:1:1), sendo suas frações descritas no Esquema 38.



**Esquema 38.** Fracionamento cromatográfico da fração GBH.S 3 por CCDP. (\* Juntada com GBH.P 3 e GBH.S 2.3 por apresentar o mesmo composto e submetida a CLV para purificação).

- ❖ As frações GBH.S 3.1 e GBH.S 3.8 foram purificadas através de um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH, originando-se 13 alíquotas cada uma, que foram analisadas por CCDC e reunidas por comparação e semelhança, originando três e duas frações respectivamente, as frações positivas (GBH.S 3.1.2 e GBH.S 3.8.1) foram submetidas a dois novos fracionamentos para purificação de seus compostos, conforme descrito na Tabela 20. Os compostos positivos obtidos foram analisados por RMN e/ou CG-EM.



**Tabela 20.** Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBH.S 3.1, GBH.S 3.8.

final

| Fração / Subfração              | Técnica Cromatográfica                                                           | Fase Móvel (Proporção) mL                           | Alíquotas       | Frações Obtidas Positivas (mg)                                                           | Composto             |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| GBH.S 3.1                       | CLC<br>Sephadex<br>a= 11 cm, $\phi$ 1 cm<br>13 alíquotas de ~1,5 mL<br>3 frações | MeOH<br>(100)                                       | 6-11<br>12-13   | GBH.S 3.1.2 (15,4)<br>GBH.S 3.1.3 (0,8)                                                  |                      |
| GBH.S 3.1.2 + GBA 4.3.1 (4.2mg) | CCDP<br>(Alumínio 20x20)<br>Eluição 3x<br>4 frações                              | <i>n</i> -Hex:AcOEt:CHCl <sub>3</sub><br>(2:1:1) 60 |                 | GBH.S 3.1.2.1 (3,9)<br>GBH.S 3.1.2.2 (1,8)<br>GBH.S 3.1.2.3 (9,9)<br>GBH.S 3.1.2.4 (1,2) | (XXIV)<br>(F)<br>(C) |
| GBH.S 3.8                       | CLC<br>Sephadex<br>a= 11 cm, $\phi$ 1 cm<br>13 alíquotas ~1,5 mL<br>2 frações    | MeOH<br>(100)                                       | 1-2,6-12<br>3,5 | GBH.S 3.8.1 (6,5)<br>GBH.S 3.8.2 (2,1)                                                   |                      |
| GBH.S 3.8.1                     | CCDP<br>(2 de Vidro 15X15)<br>4 frações                                          | <i>n</i> -Hex:AcOEt:CHCl <sub>3</sub><br>(1:1:2) 60 |                 | GBH.S 3.8.1.3 (2,0)<br>GBH.S 3.8.1.4 (3,7)                                               | (E)                  |

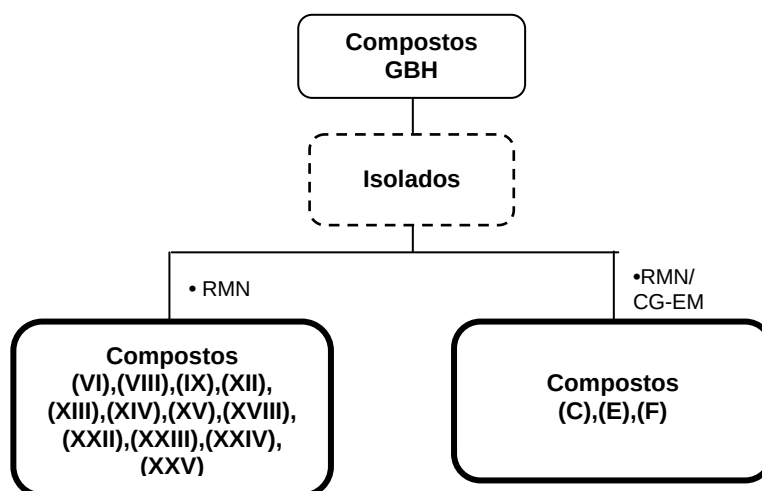
- ❖ GBH.S 3.4, GBH.S 2.3prep e GBH.P 3: As frações foram reunidas após análise por CCDC e então purificadas através de um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH, originando-se 7 alíquotas de aproximadamente 2,0 mL, que foram analisadas por CCDC e reunidas por comparação e semelhança, originando duas frações, sendo uma positiva (1.GBH.S3.4+S2.3prep+P3). Essa fração foi submetida a uma CLC com fase estacionária sílica gel 60 ACC (70-90 mesh, Silice) e fase móvel *n*-Hex:AcOEt:CHCl<sub>3</sub> gradiente, sendo representada na Tabela 21.

**Tabela 21.** Fracionamento cromatográfico realizado na fração: GBH.S 3.4+GBH.S 2.3prep+GBH.P 3 e compostos isolados.

| Fração / Subfração     | Técnica Cromatográfica             | Fase Móvel (Proporção) mL     | Alíquotas | Frações Obtidas Positivas (mg) | Composto |
|------------------------|------------------------------------|-------------------------------|-----------|--------------------------------|----------|
| GBH.S3.4+S2.3 prep+P3  | CLC                                | MeOH                          | 2-3       | 1.GBH.S3.4+S2.3prep+P3         | (XXII)   |
|                        | Sephadex                           | (100)                         |           | (5,2)                          |          |
|                        | a= 13 cm, $\phi$ 1 cm              |                               |           |                                |          |
|                        | 7 alíquotas de 2,0 mL<br>2 frações |                               |           |                                |          |
| 1.GBH.S3.4+S2.3prep+P3 | CLC                                | AcOEt:CHCl <sub>3</sub> :MeOH | 1-5       | 1.GBH.S3.4+S2.3prep+P3.        | (XXII)   |
|                        | Sílica gel (70-90 mesh)            | (100:0:0) 5                   | 6-9       | 1 (1,0)                        |          |
|                        | a= 7 cm, $\phi$ 0,5 cm             | (80:20:0) 10                  |           | 1.GBH.S3.4+S2.3prep+P3.        |          |
|                        | 14 alíquotas                       | (0:80:20) 10                  | 10-12     | 2 (1,9)                        |          |
|                        | 4 frações                          | (0:70:30) 10                  |           | 1.GBH.S3.4+S2.3prep+P3.        |          |
|                        |                                    | (0:0:100) 20                  | 13-14     | 3 (1,7)                        |          |
|                        |                                    |                               |           | 1.GBH.S3.4+S2.3prep+P3.        |          |
|                        |                                    |                               |           | 4 (1,3)                        |          |

final

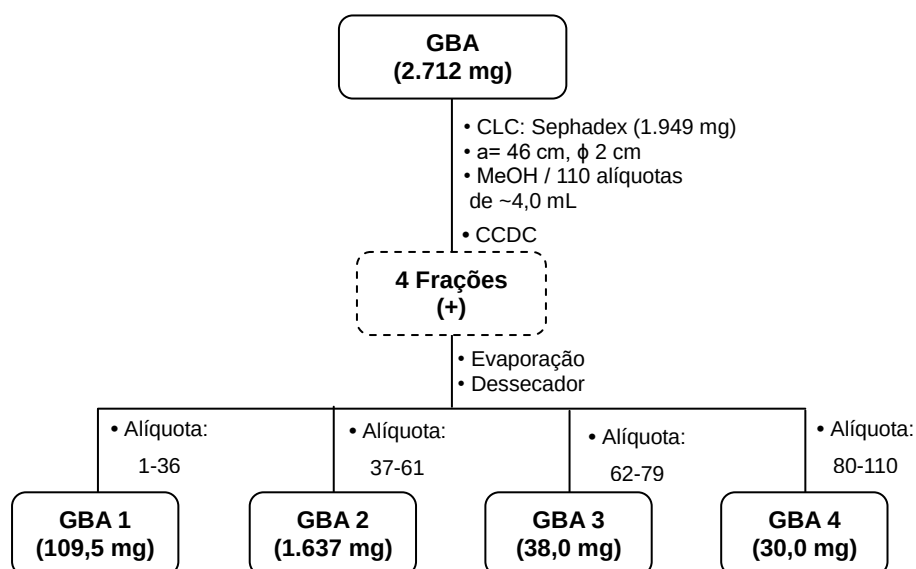
O Esquema 39 resume os compostos isolados dos fracionamentos de GBH que foram identificados pelas técnicas de RMN e/ou CG-EM.



**Esquema 39.** Compostos isolados e identificados na fração GBH.

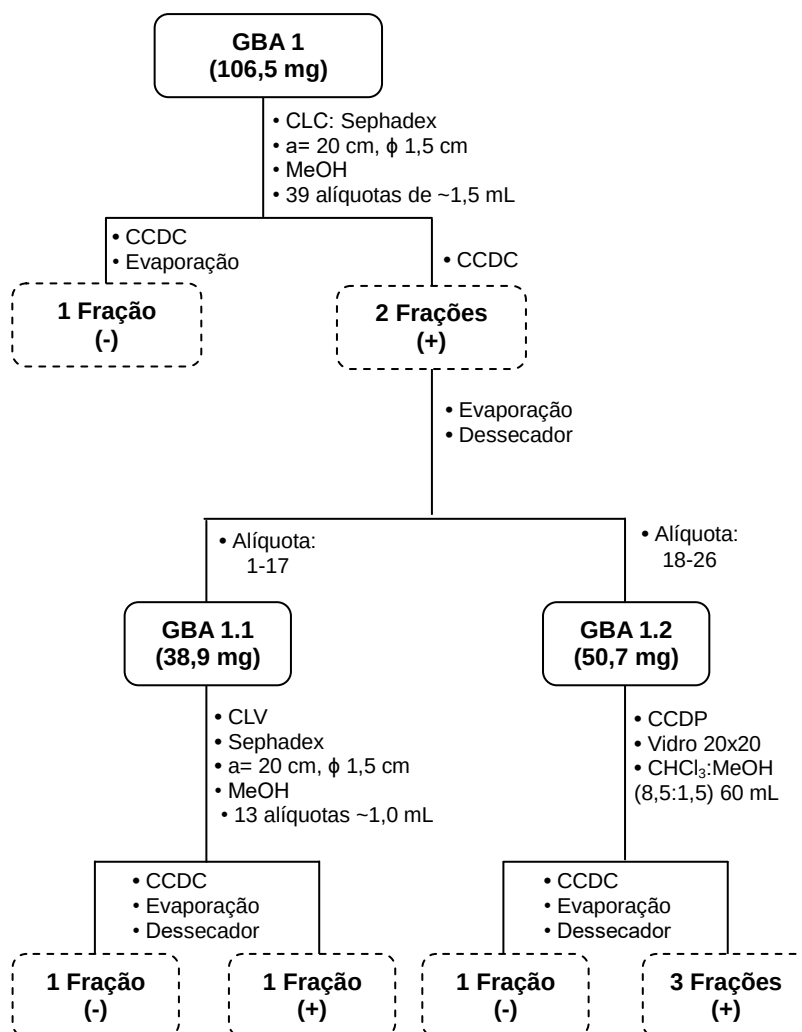
### 3.6.4.3 Fração AcOEt – GBA

O extrato acetato básico dos bulbos foi solubilizado em aproximadamente 2,5 mL de MeOH e submetido a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 110 alíquotas de aproximadamente 4,0 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em quatro frações positivas (GBA 1, GBA 2, GBA 3 e GBA 4), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas, sendo representado seu fracionamento no Esquema 40.



**Esquema 40.** Fracionamento cromatográfico do extrato GBA por CLC.

- ❖ A fração GBA 1 foi solubilizado em aproximadamente 1,0 mL de MeOH e submetido a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 39 alíquotas de aproximadamente 1,5 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em três frações, sendo duas positivas para alcaloides (GBA 1.1e GBA 1.2), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. As frações positivas obtidas foram submetidas a CLC e CCDC conforme descritas no Esquema 41.



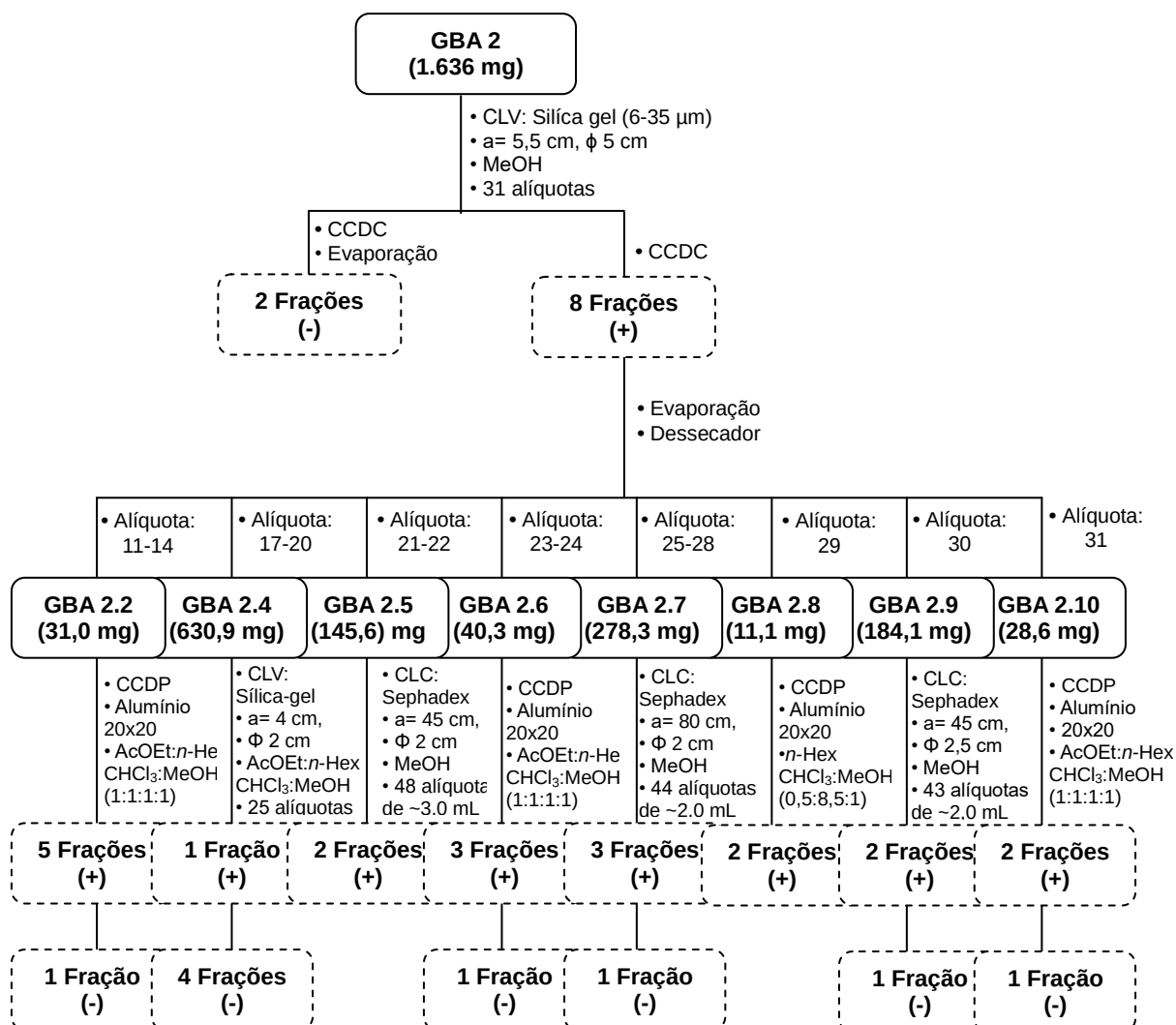
**Esquema 41.** Fracionamento cromatográfico da fração GBA 1 por CLC e de suas subfrações.

- ❖ GBA 1.1: A amostra foi solubilizada em aproximadamente 1,0 mL de MeOH e posteriormente submetida a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH, resultando em treze alíquotas que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, originando duas frações, sendo uma positiva (GBA 1.1.2 – 28,5 mg), que foi submetida análise de CG-EM, identificando-se os compostos **(60)**, **(61)**, **(63)** e **(64)**.
- ❖ GBA 1.2: A amostra foi solubilizada em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:AcOEt (6:4) e submetido a um fracionamento por CCDP com fase móvel  $\text{CHCl}_3$ :MeOH (8,5:1,5), sendo suas frações obtidas descritas na Tabela 22.

**Tabela 22.** Fracionamento cromatográfico realizado na fração: GBA 1.2 e compostos isolados.

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica             | Fase Móvel (Proporção) mL               | Frações Obtidas Positivas (mg) | Composto |
|--------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------|----------|
| GBA 1.2            | CCDP<br>(Vidro 20x20)<br>4 frações | CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(8,5:1,5) 60 | GBA 1.2.1 (15,5)               |          |
|                    |                                    |                                         | GBA 1.2.2 (1,3)                |          |
|                    |                                    |                                         | GBA 1.2.3 (1,0)                |          |
|                    |                                    |                                         | GBA 1.2.4 (2,1)                |          |

- ❖ A fração GBA 2 foi solubilizada em aproximadamente 2,0 mL de MeOH e submetido a um fracionamento isocrático por CLV utilizando como fase estacionária Sílica gel 60 ACC (6-35 µm, Chromagel-SDS) e fase móvel gradiente AcOEt:*n*-Hex:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH. O fracionamento originou 31 alíquotas, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em dez frações, sendo oito positivas (GBA 2.2, GBA 2.4 a GBA 2.10), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. As frações positivas obtidas foram submetidas a variadas técnicas cromatográficas conforme descritas no Esquema 42.



**Esquema 42.** Fracionamento cromatográfico da fração GBA 2 por CLV e de suas subfrações.

- ❖ GBA 2.2, GBA 2.6, GBA 2.8 e GBA 2.10: As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:AcOEt (6:4) e então submetidas a fracionamentos por CCDP sendo suas frações obtidas descritas na Tabela 23. Os compostos obtidos foram analisados por CCDC e enviados para análise de RMN.

**Tabela 23.** Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBA 2.2, GBA 2.6, GBA 2.8 e GBA 2.10 e compostos isolados.

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                | Fase Móvel (Proporção) mL                                        | Frações Obtidas Positivas (mg) | Composto |
|--------------------|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------|--------------------------------|----------|
| GBA 2.2            | CCDP<br>(Alumínio 20x20)<br>6 frações | AcOEt: <i>n</i> -<br>Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:1:1:1) 60 | GBA 2.2.1 (6,4)                |          |
|                    |                                       |                                                                  | GBA 2.2.2 (2,0)                |          |
|                    |                                       |                                                                  | GBA 2.2.3 (2,1)                |          |
|                    |                                       |                                                                  | GBA 2.2.4 (1,8)                |          |
|                    |                                       |                                                                  | GBA 2.2.5 (2,1)                |          |
| GBA 2.6            | CCDP<br>(Alumínio 20x20)<br>4 frações | AcOEt: <i>n</i> -<br>Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:1:1:1) 60 | GBA 2.6.1 (3,5)                |          |
|                    |                                       |                                                                  | GBA 2.6.2 (4,1)                |          |
|                    |                                       |                                                                  | GBA 2.6.4 (1,5)                |          |
| GBA 2.8            | CCDP<br>(Alumínio 20x20)<br>2 frações | <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(0,5:8,5:1) 60          | GBA 2.8.1 (2,5)                | (XXI)    |
|                    |                                       |                                                                  | GBA 2.8.2 (2,5)                | (XXII)   |
| GBA 2.10           | CCDP<br>(Alumínio 20x20)<br>3 frações | AcOEt: <i>n</i> -<br>Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:1:1:1) 60 | GBA 2.10.1 (1,0)               | (XXV)    |
|                    |                                       |                                                                  | GBA 2.10.2 (4,7)               | (XXI)    |

- ❖ GBA 2.4: A amostra foi solubilizada em aproximadamente 1,5 mL de MeOH e então submetidas ao fracionamento por CLV utilizando como fase estacionária Sílica gel 60 ACC (6-35 µm, Chromagel-SDS) e fase móvel gradiente AcOEt:*n*-Hex:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:MeOH. O fracionamento originou 26 alíquotas, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em cinco frações, sendo apenas uma positiva (GBA 2.4.3), verificada pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. A fração positiva foi submetida a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH, sendo suas frações obtidas

descritas na Tabela 24.

**Tabela 24.** Fracionamento cromatográfico realizado na fração: GBA 2.4 e GBA 2.4.3.

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                                                      | Fase Móvel (Proporção) mL           | Alíquotas | Frações Obtidas Positivas (mg) |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------|--------------------------------|
| GBA 2.4            | CLV<br>Sílica gel (6-35 µm)<br>a= 4 cm, φ 2 cm<br>25 alíquotas<br>5 frações | AcOEt:n-Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH | 11-15     | <u>GBA 2.4.3</u> (557,3)       |
|                    |                                                                             | (0:100:0:0) 100                     |           |                                |
|                    |                                                                             | (10:90:0:0) 100                     |           |                                |
|                    |                                                                             | (20:80:0:0) 50                      |           |                                |
|                    |                                                                             | (30:70:0:0) 50                      |           |                                |
|                    |                                                                             | (40:60:0:0) 50                      |           |                                |
|                    |                                                                             | (50:50:0:0) 50                      |           |                                |
|                    |                                                                             | (60:40:0:0) 50                      |           |                                |
|                    |                                                                             | (70:30:0:0) 50                      |           |                                |
|                    |                                                                             | (80:20:0:0) 100                     |           |                                |
|                    |                                                                             | (90:10:0:0) 150                     |           |                                |
|                    |                                                                             | (100:0:0:0) 250                     |           |                                |
|                    |                                                                             | (97,5:0:2,5:0) 200                  |           |                                |
|                    |                                                                             | (95:0:5:0) 200                      |           |                                |
|                    |                                                                             | (92,5:0:7,5:0) 200                  |           |                                |
|                    |                                                                             | (90:0:10:0) 200                     |           |                                |
|                    |                                                                             | (87,5:0:12,5:0) 200                 |           |                                |
|                    |                                                                             | (85:0:15:0) 250                     |           |                                |
|                    |                                                                             | (82,5:0:17,5:0) 200                 |           |                                |
|                    |                                                                             | (80:0:20:0) 100                     |           |                                |
|                    |                                                                             | (77,5:0:22,5:0) 100                 |           |                                |
|                    |                                                                             | (75:0:25:0) 50                      |           |                                |
|                    |                                                                             | (50:0:25:25) 50                     |           |                                |
|                    |                                                                             | (25:0:25:50) 50                     |           |                                |
|                    |                                                                             | (0:0:50:50) 50                      |           |                                |
|                    |                                                                             | (0:0:0:100) 100                     |           |                                |
| <u>GBA 2.4.3</u>   | CLC<br>Sephadex<br>a= 27 cm, φ 2 cm<br>27 alíquotas ~ 5,0 mL<br>4 frações   | MeOH                                | 1-4       | <u>GBA 2.4.3.1</u> (6,6)       |
|                    |                                                                             | (100)                               | 5-14      | <u>GBA 2.4.3.2</u> (141,2)     |
|                    |                                                                             |                                     | 15-23     | <u>GBA 2.4.3.3</u> (373,2)     |
|                    |                                                                             |                                     | 24-27     | <u>GBA 2.4.3.4</u> (14,9)      |
|                    |                                                                             |                                     |           |                                |



- ❖ GBA 2.4.3.1 e GBA 2.4.3.4: As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:AcOEt (6:4) e então submetidas a fracionamentos por CCDP sendo suas frações obtidas descritas na Tabela 25. Os compostos obtidos positivos foram analisados por CCDC e enviados para análise de RMN.

**Tabela 25.** Fracionamento cromatográfico por CCDP realizado nas frações: GBA 2.4.3.1 e GBA 2.4.3.4 e compostos isolados.

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                         | Fase Móvel (Proporção) mL              | Frações Obtidas Positivas (mg)                                    | Composto |
|--------------------|------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|----------|
| GBA 2.4.3.1        | CCDP<br>(Alumínio )<br>Eluição 2x<br>3 frações | CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(9:1) 60 mL | GBA 2.4.3.1.1 (1,6)<br>GBA 2.4.3.1.2 (1,8)                        |          |
| GBA 2.4.3.4        | CCDP<br>(Alumínio )<br>Eluição 2x<br>5 frações | CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(9:1) 60 mL | GBA 2.4.3.4.2 (6,4)<br>GBA 2.4.3.4.4 (3,7)<br>GBA 2.4.3.4.5 (1,8) |          |

- ❖ GBA 2.4.3.2 e GBA 2.4.3.3: As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 1,0 mL de MeOH e submetida a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH, originando-se 55 e 50 alíquotas respectivamente, que foram analisadas por CCDC e reunidas por comparação e semelhança, originando três (GBA 2.4.3.2.2, 2.4.3.2.3 e GBA 2.4.3.2.4) e quatro (GBA 2.4.3.3.2 a GBA 2.4.3.3.5) frações positivas, sendo elas representadas na Tabela 26.

**Tabela 26.** Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBA 2.4.3.2 e GBA 2.4.3.3.

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                | Fase Móvel (Proporção) mL | Alíquotas | Frações Obtidas Positivas (mg) |
|--------------------|---------------------------------------|---------------------------|-----------|--------------------------------|
| GBA 2.4.3.2        | CLC                                   | MeOH                      | 16-34     | <u>GBA 2.4.3.2.2</u> (89,9)    |
|                    | Sephadex                              | (100)                     | 35-45     | <u>GBA 2.4.3.2.3</u> (20,6)    |
|                    | a= 44 cm, $\phi$ 2,5 cm               |                           | 56-55     | <u>GBA 2.4.3.2.4</u> (11,7)    |
|                    | 55 alíquotas de ~2,5 mL<br>4 frações  |                           |           |                                |
| GBA 2.4.3.3        | CLC                                   | MeOH                      | 8-17      | <u>GBA 2.4.3.3.2</u> (9,2)     |
|                    | Sephadex                              | (100)                     | 18-36     | <u>GBA 2.4.3.3.3</u> (67,6)    |
|                    | a= 80 cm, $\phi$ 2 cm                 |                           | 37-49     | <u>GBA 2.4.3.3.4</u> (246,7)   |
|                    | 50 alíquotas de ~ 3,0 mL<br>5 frações |                           | 50        | <u>GBA 2.4.3.3.5</u> (29,8)    |

- ❖ GBA 2.4.3.2.2, GBA 2.4.3.2.3 e GBA 2.4.3.2.4: As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:AcOEt (6:4) e então submetidas a fracionamentos por CCDP sendo suas frações obtidas descritas na Tabela 27. Os compostos obtidos foram analisados por CCDC e enviados para análise de RMN.

**Tabela 27.** Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBA 2.4.3.2.2, GBA 2.4.3.2.3 e GBA 2.4.3.2.4 e compostos isolados.

continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica | Fase Móvel (Proporção) mL  | Frações Obtidas Positivas (mg) | Composto |
|--------------------|------------------------|----------------------------|--------------------------------|----------|
| GBA 2.4.3.2.2      | CCDP (50,0 mg)         | <i>n</i> -                 | GBA 2.4.3.2.2.1 (9,1)          | (XV)     |
|                    | (Vidro 20x20 )         | Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeO | GBA 2.4.3.2.2.2 (20,4)         | (XIV)    |
|                    | 3 frações              | H<br>(0,5:1:8,5) 60 mL     |                                |          |
| GBA 2.4.3.2.3      | CCDP                   | AcOEt: <i>n</i> -          | GBA 2.4.3.2.3.1 (6,8)          |          |
|                    | (Alumínio 20x20 )      | Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeO |                                |          |
|                    | 2 frações              | H                          |                                |          |

|                 |                                        |                                            |                                                |       |
|-----------------|----------------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------------|-------|
| (1:1:1:1) 50 mL |                                        |                                            |                                                |       |
| GBA 2.4.3.2.4   | CCDP<br>(Alumínio 20x20 )<br>3 frações | CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(8,5:1,5) 50 mL | GBA 2.4.3.2.4.1 (2,6)<br>GBA 2.4.3.2.4.2 (2,3) | (X)   |
|                 |                                        |                                            |                                                | final |

- ❖ GBA 2.4.3.3.2, GBA 2.4.3.3.3, GBA 2.4.3.3.4 e GBA 2.4.3.3.5: As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:AcOEt (6:4) e então submetidas a fracionamentos por CCDP sendo suas frações obtidas descritas na Tabela 28. Os compostos obtidos foram analisados por CCDC e enviados para análise de RMN.

**Tabela 28.** Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBA 2.4.3.3.2, GBA 2.4.3.3.3, GBA 2.4.3.3.4 e GBA 2.4.3.3.5 e compostos isolados.

continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                                   | Fase Móvel (Proporção) mL                                       | Frações Obtidas Positivas (mg)                                                                     | Composto               |
|--------------------|----------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| GBA 2.4.3.3.2      | CCDP<br>(Vidro 20x20 )<br>4 frações                      | CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(8,5:1,5) 50 mL                      | GBA 2.4.3.3.2.1 (1,9)<br>GBA 2.4.3.3.2.2 (2,2)<br>GBA 2.4.3.3.2.3 (1,1)                            |                        |
| GBA 2.4.3.3.3      | CCDP<br>(Vidro 20x20 )<br>3 frações                      | CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(8,5:1,5) 50 mL                      | GBA 2.4.3.3.3.1 (9,4)<br>GBA 2.4.3.3.3.2 (3,6)<br>GBA 2.4.3.3.3.3 (2,7)                            | (X)<br>(XVI)<br>(VIII) |
| GBA 2.4.3.3.4      | CCDP (120 mg)<br>(2 Placas de Vidro 20x20 )<br>4 frações | CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(8,5:1,5) 50 mL                      | GBA 2.4.3.3.4.1 (1,9)<br>GBA 2.4.3.3.4.2 (28,1)<br>GBA 2.4.3.3.4.3 (10,5)<br>GBA 2.4.3.3.4.4 (4,1) | (XVI)                  |
| GBA 2.4.3.3.5      | CCDP<br>(Alumínio 20x20 )                                | AcOEt: <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:1:1:1) 50 mL | GBA 2.4.3.3.5.1 (4,1)<br>GBA 2.4.3.3.5.2 (6,7)                                                     |                        |

|           |                       |               |
|-----------|-----------------------|---------------|
| 6 frações | GBA 2.4.3.3.5.3 (3,7) | (XVII)        |
|           | GBA 2.4.3.3.5.5 (3,5) |               |
|           | GBA 2.4.3.3.5.6 (4,8) | (XVIII),(XIX) |

final

- ❖ GBA 2.5, GBA 2.7 e GBA 2.9: As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 1,0 mL de MeOH e posteriormente submetidas um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH, as suas alíquotas foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, originando as frações descritas na Tabela 29.

**Tabela 29.** Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBA 2.5, GBA 2.7 e GBA 2.9.

continua

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica  | Fase Móvel (Proporção) mL | Alíquotas | Frações Obtidas Positivas (mg) |
|--------------------|-------------------------|---------------------------|-----------|--------------------------------|
| GBA 2.5            | CLC                     | MeOH                      | 1-29      | <u>GBA 2.5.1</u> (100,3)       |
|                    | Sephadex                | (100)                     | 30-48     | <u>GBA 2.5.2</u> (34,9)        |
|                    | a= 45 cm, $\phi$ 2 cm   |                           |           |                                |
|                    | 48 alíquotas de ~1,5 mL |                           |           |                                |
|                    | 2 frações               |                           |           |                                |
| GBA 2.7            | CLC                     | MeOH                      | 1-26      | <u>GBA 2.7.1</u> (78,0)        |
|                    | Sephadex                | (100)                     | 27-35     | <u>GBA 2.7.2.s</u> (58,6)      |
|                    | a= 80 cm, $\phi$ 2 cm   |                           |           |                                |
|                    | 44 alíquotas de ~ 2 mL  |                           |           |                                |
|                    | 4 frações               |                           |           |                                |
| GBA 2.9            | CLC                     | MeOH                      | 13-19     | <u>GBA 2.9.2</u> (38,9)        |
|                    | Sephadex                | (100)                     | 20-43     | <u>GBA 2.9.3</u> (102,6)       |
|                    | a= 44 cm, $\phi$ 2,5 cm |                           |           |                                |
|                    | 43 alíquotas de ~ 2 mL  |                           |           |                                |
|                    | 3 frações               |                           |           |                                |

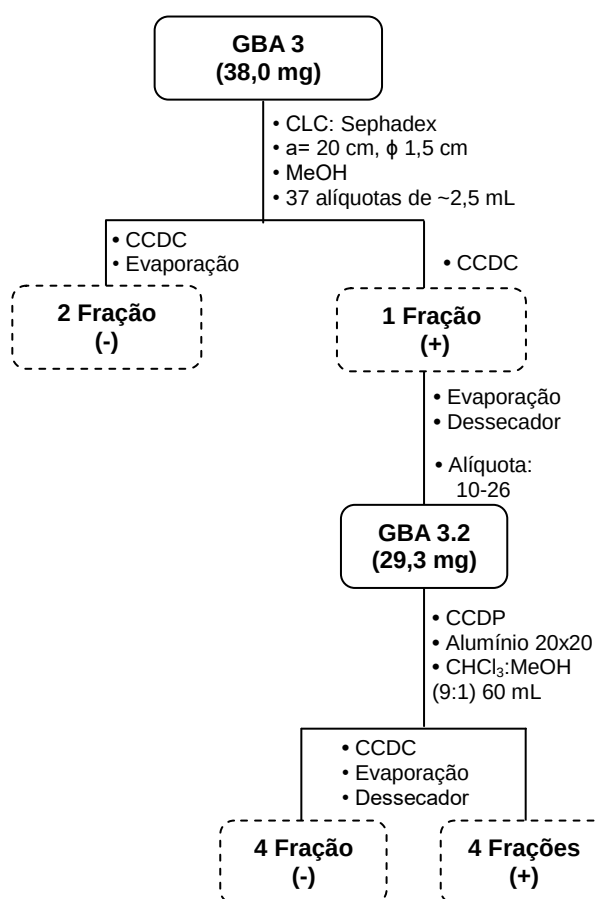
\* Cristais formados da fração GBA 2.7.2

- ❖ GBA 2.5.1, GBA 2.5.2, GBA 2.7.1, GBA 2.7.2, GBA 2.9.2 e GBA 2.9.3: As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:CHCl<sub>3</sub> (7:3) e então submetidas a fracionamentos por CCDP sendo suas frações obtidas descritas na Tabela 30. Os compostos obtidos foram analisados por CCDC e enviados para análise de RMN.

**Tabela 30.** Fracionamento cromatográfico realizado nas frações: GBA 2.5.1, GBA 2.5.2, GBA 2.7.1, GBA 2.7.2, GBA 2.9.2 e GBA 2.9.3 e os compostos isolados.

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                          | Fase Móvel (Proporção) mL                                  | Frações Obtidas Positivas (mg)                                                     | Composto    |
|--------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| GBA 2.5.1          | CCDP (50 mg)<br>(Vidro 20x20 )<br>6 frações     | AcOEt:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:7:2) 60 mL             | GBA 2.5.1.1 (12,3)<br>GBA 2.5.1.2 (6,0)<br>GBA 2.5.1.5 (1,3)<br>GBA 2.5.1.6 (8,1)  | (XI),(XIII) |
| GBA 2.5.2          | CCDP<br>(Vidro 20x20 )<br>6 frações             | AcOEt:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(1:7:2) 60 mL             | GBA 2.5.2.1 (1,0)<br>GBA 2.5.2.2 (5,0)<br>GBA 2.5.2.3 (1,4)<br>GBA 2.5.2.4 (6,1)   | (XX)        |
| GBA 2.7.1          | CCDP<br>(2 Placas Alumínio 20x20 )<br>7 frações | <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(0,5:8,5:1) 60 mL | GBA 2.7.1.1 (1,1)<br>GBA 2.7.1.2 (4,6)<br>GBA 2.7.1.4 (3,4)<br>GBA 2.7.1.5 (6,2)   |             |
| GBA 2.7.2          | CCDP<br>(Alumínio 20x20 )<br>4 frações          | <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(0,5:8,5:1) 60 mL | GBA 2.7.2.1 (10,0)<br>GBA 2.7.2.2 (13,1)<br>GBA 2.7.2.3 (2,8)<br>GBA 2.7.2.4 (8,6) | (XII)       |
| GBA 2.9.2          | CCDP<br>(Alumínio 20x20 )<br>4 frações          | <i>n</i> -Hex:CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(0,5:8,5:1) 60 mL | GBA 2.9.2.1 (4,2)<br>GBA 2.9.2.2 (15,4)                                            |             |
| GBA 2.9.3          | CCDP (50,0 mg)<br>(Vidro 20x20)<br>4 frações    | CHCl <sub>3</sub> :MeOH<br>(9:1) 60 mÇ                     | GBA 2.9.3.1 (3,3)<br>GBA 2.9.3.2 (2,7)<br>GBA 2.9.3.3 (2,2)                        |             |

- ❖ A fração GBA 3 foi solubilizado em aproximadamente 1,0 mL de MeOH e submetida a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 37 alíquotas de aproximadamente 2,5 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em três frações, sendo apenas uma positiva para alcaloides (GBA 3.2), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. As fração positiva foi submetida CCDCP conforme descritas no Esquema 43.



**Esquema 43.** Fracionamento cromatográfico da fração GBA 3 por CLC e de suas subfrações.

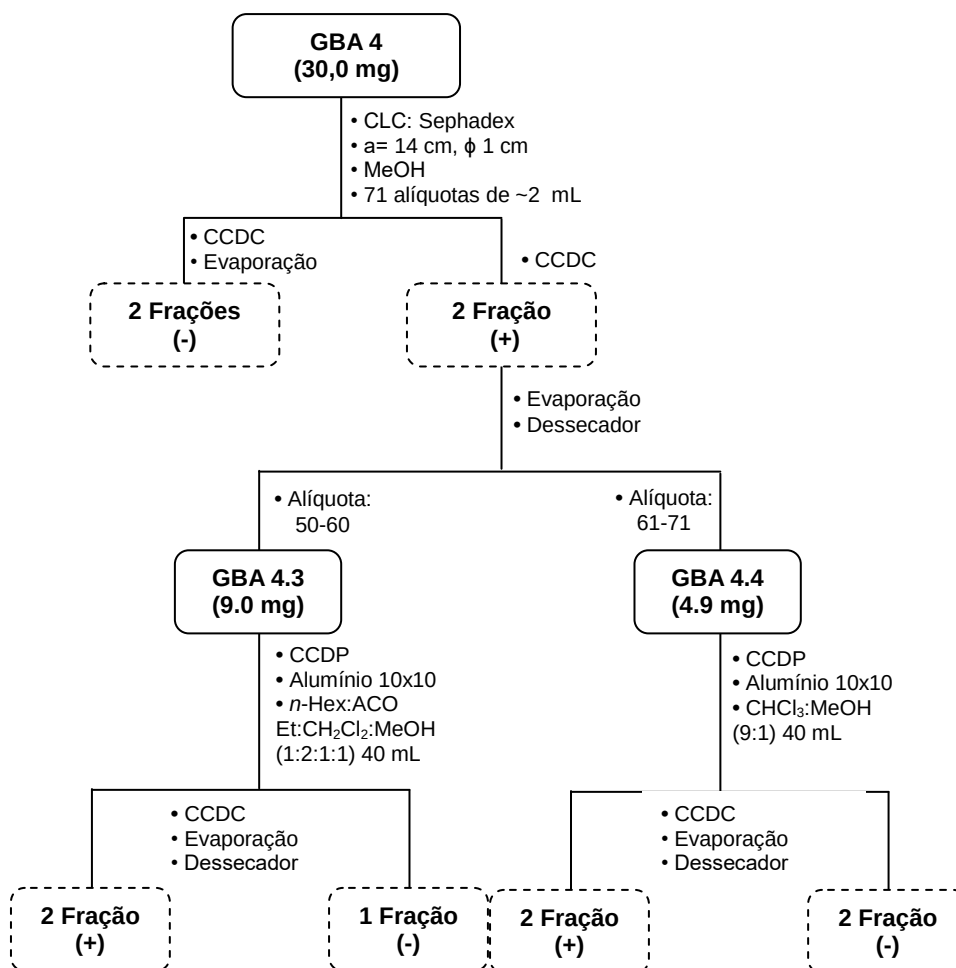
- ❖ GBA 3.2: A amostra foi solubilizada em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:CHCl<sub>3</sub> (7:3) e posteriormente submetida a um fracionamento por CCDCP com fase móvel CHCl<sub>3</sub>:MeOH (9:1) sendo suas frações obtidas

descritas na Tabela 31. Os compostos isolados foram analisados por CCDC e os positivos enviados para análise de RMN.

**Tabela 31.** Fracionamento cromatográfico realizado na fração: GBA 3.2 e compostos isolados.

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica | Fase Móvel (Proporção) mL | Frações Obtidas Positivas (mg) | Composto     |
|--------------------|------------------------|---------------------------|--------------------------------|--------------|
| GBA 3.2            | CCDP                   | CHCl <sub>3</sub> :MeOH   | GBA 3.2.1 (11,9)               | (XVII),(XVI) |
|                    | (Alumínio 20x20)       | (9:1) 60                  | GBA 3.2.2 (3,5)                |              |
|                    | Eluição 3x             |                           | GBA 3.2.4 (2,1)                |              |
|                    | 8 frações              |                           | GBA 3.2.6 (2,3)                |              |

- ❖ A fração GBA 4 foi solubilizado em aproximadamente 1,0 mL de MeOH e submetido a um fracionamento isocrático por CLC utilizando como fase estacionária Sephadex LH20 e fase móvel MeOH. O fracionamento originou 71 alíquotas de aproximadamente 2,0 mL cada, que foram analisadas por CCDC e posteriormente reunidas por comparação e semelhança, resultando em quatro frações, sendo duas positivas para alcaloides (GBA 4.1, GBA 4.3 e GBA 4.4), verificadas pelo teste com reagente de Dragendorff. Após a remoção do solvente em evaporador rotatório as frações foram armazenadas em um dessecador a vácuo por 48 hs e posteriormente pesadas. As frações positivas foram submetidas à CCDP conforme descritas no Esquema 44.



**Esquema 44.** Fracionamento cromatográfico da fração GBA 4 por CLC e de suas subfrações..

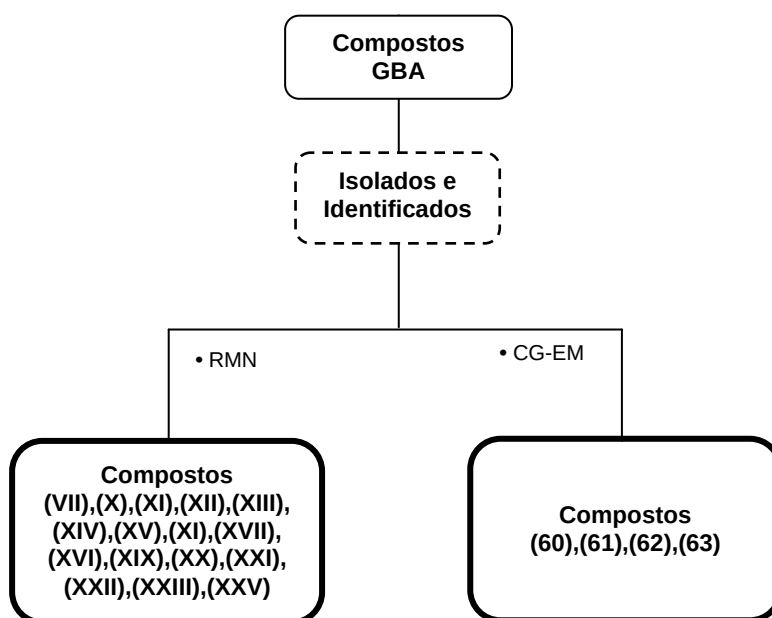
- ❖ GBA 4.3 e GBA 4.4: As amostras foram solubilizadas em aproximadamente 0,5 mL de MeOH:CHCl<sub>3</sub> (7:3) e posteriormente submetida a um fracionamento por CCDC, sendo suas frações obtidas descritas na Tabela 32. Os compostos isolados foram analisados por CCDC e enviados para análise de RMN.



**Tabela 32.** Fracionamento cromatográfico realizado na fração: GBA 4.3 e GBA 4.4 e compostos isolados.

| Fração / Subfração | Técnica Cromatográfica                | Fase Móvel (Proporção) mL               | Frações Obtidas Positivas (mg) | Composto |
|--------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------|----------|
| GBA 4.3            | CCDP<br>(Alumínio 10x10)<br>3 frações | <i>n</i> -Hex:ACO                       | GBA 4.3.1 (4,4)                |          |
|                    |                                       | Et:CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :MeO | GBA 4.3.2 (2,0)                |          |
|                    |                                       | H<br>(1:2:1:1) 40 mL                    |                                |          |
| GBA 4.4            | CCDP<br>(Alumínio 10x10)<br>4 frações | CHCl <sub>3</sub> :MeOH                 | GBA 4.4.1 (1,1)                |          |
|                    |                                       | (9:1) 40 ML                             | GBA 4.4.3 (1,4)                |          |
|                    |                                       |                                         | GBA 4.4.4 (1,0)                |          |

O Esquema 45 resume os compostos isolados dos fracionamentos de GBH que foram identificados pelas técnicas de RMN e/ou CG-EM e os compostos identificados por CG-EM na fração que não foi finalizada.



**Esquema 45.** Compostos isolados e identificados da fração GBA.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Compostos identificados

A identificação de compostos químicos presentes nas espécies *Hippeastrum diniz-cruzae* e *Hippeastrum glaucescens*, foi possibilitada através da análise por CG-EM. O acoplamento do espectrômetro de massas ao cromatógrafo gasoso permite a medição da relação massa/carga ( $m/z$ ) dos íons na fase gasosa que, por sua vez, fornece informações sobre a abundância de cada espécie iônica<sup>47</sup>. Dessa forma, juntamente com a biblioteca de alcaloides desenvolvida na Universidade de Barcelona, foi possível identificar diversos compostos conhecidos, assim como sugerir possíveis compostos inéditos em diversas frações analisadas.

Através das extrações ácido base realizadas em ambas espécies, foi possível a purificação dos extratos brutos metanólicos, que em conjunto com as partições líquido-líquido, permitiu a obtenção de frações concentradas em compostos de interesse, denominadas enriquecidas. Embora as frações ácidas não sejam denominadas enriquecidas, as mesmas foram submetidas a análise por CG-EM a fim de obter o perfil químico de todas as frações obtidas no processo de extração.

Não obstante, se faz necessário ressaltar que todas as tabelas de CG-EM serão revisadas antes da versão final desse trabalho, pois necessita-se de um novo padrão de comparação (índices de Kovàts) para todas as análises realizadas.

#### 4.1.1 *Hippeastrum diniz-cruzae*

A partir das análises de CG-EM das frações AcOEt ácido e das frações enriquecidas de *Hippeastrum diniz-cruzae*, que até o momento não foram quimicamente estudadas, verificou-se um total de 39 alcaloides identificados pela biblioteca de alcaloides e 24 não identificados (Tabela 33). Os bulbos indicaram a maior concentração de compostos presentes na planta, sendo esses alcaloides principalmente do tipo licorina. O alcaloide homolicorina foi o mais abundante na fração *n*-Hex das folhas e nas raízes o alcaloide galantina foi o mais abundante para a fração AcOEt. Para a fração *n*-Hex, o composto mais abundante foi um metabolito desconhecido. A tabela com as demais informações de CG-EM para esses extratos encontra-se no Anexo A.1.

As frações DCFLA, DCBLA, DCRLA, DCFAM e DCRAM apresentaram apenas traços ou não indicaram presença de alcaloides em sua composição, sendo confirmadas pela análise por CCDC, conforme descrito anteriormente, optando-se por não seguir o seu estudo. A fração *n*-Hex das raízes e AcOEt:MeOH dos bulbos embora apresente compostos relevantes, não foi realizado o seu fracionamento.

**Tabela 33.** Compostos identificados por CG-EM nas frações AcOEt ácido e das frações enriquecidas de *Hippeastrum diniz-cruzae*.

continua

| <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i>         | Folhas (%) |       |   |     | Bulbos (%) |       |       |       | Raízes (%) |      |       |    |
|-----------------------------------------|------------|-------|---|-----|------------|-------|-------|-------|------------|------|-------|----|
| Compostos                               | LA         | H     | A | AM  | LA         | H     | A     | AM    | LA         | H    | A     | AM |
| <b><u>Tipo Licorina</u></b>             |            |       |   |     |            |       |       |       |            |      |       |    |
| Pseudolicorina                          | -          | -     | - | -   | -          | -     | 19,65 | Tra   | -          | -    | 0,87  | -  |
| 3,4-Dihidro-1-acetillicorina            | -          | -     | - | -   | -          | 0,85  | -     | -     | -          | -    | -     | -  |
| Licorina                                | -          | -     | - | -   | -          | 1,55  | 2,15  | -     | -          | -    | -     | -  |
| Assoanine                               | -          | -     | - | -   | -          | 0,33  | -     | -     | -          | -    | -     | -  |
| Sternbergina                            | -          | -     | - | -   | -          | Tra   | -     | -     | -          | -    | -     | -  |
| 1-O-Acetil-caranine                     | -          | -     | - | -   | -          | 0,91  | -     | -     | -          | -    | -     | -  |
| Dihidrolicorina                         | -          | -     | - | -   | -          | -     | -     | -     | -          | -    | 3,7   | -  |
| Anidrollicorina                         | -          | -     | - | Tra | -          | 2,88  | Tra   | 15,95 | -          | -    | -     | -  |
| 2-O-Acetillicorina                      | -          | -     | - | -   | -          | 2,06  | -     | -     | -          | -    | 10,8  | -  |
| 11,12-Dehidroanidrollicorina            | -          | -     | - | Tra | -          | 22,00 | 6,14  | 32,58 | -          | 0,55 | -     | -  |
| 1-O-Acetillicorina                      | -          | -     | - | -   | -          | 0,36  | -     | -     | -          | -    | -     | -  |
| Hippamina                               | -          | -     | - | -   | -          | 11,50 | -     | -     | -          | -    | -     | -  |
| Hippadina                               | -          | -     | - | -   | -          | 0,29  | 4,29  | -     | -          | -    | 2,44  | -  |
| Galantina                               | -          | -     | - | -   | -          | 0,21  | 0,33  | -     | -          | -    | 79,37 | -  |
| Oxoassoanine                            | Tra        | 8,98  | - | -   | -          | 0,84  | 3,46  | -     | -          | -    | -     | -  |
| Ungiminorina                            | -          | -     | - | -   | -          | 7,66  | -     | -     | -          | -    | -     | -  |
| <b><u>Tipo Haemantamina/Crinina</u></b> |            |       |   |     |            |       |       |       |            |      |       |    |
| Crinamina                               | -          | -     | - | -   | -          | -     | Tra   | -     | -          | -    | -     | -  |
| 8-O-Demetilmaritidina                   | -          | -     | - | -   | -          | 5,90  | 0,57  | 0,72  | -          | -    | -     | -  |
| 11-Hidroxivitatina                      | -          | -     | - | -   | -          | -     | 1,57  | -     | -          | -    | -     | -  |
| Vitatina (crinina)                      | -          | -     | - | -   | -          | 5,60  | -     | -     | -          | -    | -     | -  |
| 11-oxohaemantamina                      | -          | -     | - | -   | -          | -     | -     | 10,51 | -          | -    | -     | -  |
| Hippeastidina                           | -          | -     | - | -   | -          | Tra   | -     | -     | -          | -    | -     | -  |
| <b><u>Tipo Tazetina</u></b>             |            |       |   |     |            |       |       |       |            |      |       |    |
| Tazetina                                | -          | 0,85  | - | -   | -          | -     | -     | -     | -          | -    | -     | -  |
| <b><u>Tipo Homolicorina</u></b>         |            |       |   |     |            |       |       |       |            |      |       |    |
| Tipo Homolicorina                       | -          | 80,31 | - | -   | -          | Tra   | -     | -     | -          | -    | -     | -  |
| 8-O-Demetilhomolicorina                 | -          | 9,69  | - | -   | -          | -     | 0,95  | -     | -          | -    | -     | -  |
| 2-Hidroxihomolicorina                   | -          | -     | - | -   | -          | -     | Tra   | 3,60  | -          | -    | -     | -  |
| <b><u>Tipo Galantamina</u></b>          |            |       |   |     |            |       |       |       |            |      |       |    |
| Galantamina                             | -          | -     | - | -   | -          | 2,78  | 6,71  | -     | -          | -    | -     | -  |
| Licoramina                              | -          | -     | - | -   | -          | 12,86 | 23,8  | -     | -          | -    | -     | -  |

|                                         |     |      |     |     |   |      |       |       |     |       |      |   |
|-----------------------------------------|-----|------|-----|-----|---|------|-------|-------|-----|-------|------|---|
| Licoraminona                            | -   | -    | -   | -   | - | 0,39 | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| 3-O-acetilsanguinina                    | -   | -    | -   | -   | - | 0,43 | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| <b>Tipo Montanina</b>                   |     |      |     |     |   |      |       |       |     |       |      |   |
| Pancracine                              | -   | -    | -   | -   | - | -    | 2,75  | 0,26  | -   | -     | -    | - |
| 2-O-Metilpancracine (Montanina)         | -   | -    | -   | -   | - | 5,63 | 0,81  | 13,08 | -   | -     | -    | - |
| <b>Tipo Mesembranona</b>                |     |      |     |     |   |      |       |       |     |       |      |   |
| 6-Epimensebranol (NP)                   | -   | -    | -   | -   | - | -    | -     | 0,86  | -   | -     | -    | - |
| <b>Narciclasina</b>                     |     |      |     |     |   |      |       |       |     |       |      |   |
| Trisfaeridina                           | -   | -    | -   | -   | - | 0,17 | Tra   | -     | -   | -     | -    | - |
| <b>Outros tipos</b>                     |     |      |     |     |   |      |       |       |     |       |      |   |
| Galantidol                              | -   | 0,15 | -   | -   | - | -    | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| O-Metiltiramina                         | Tra | -    | -   | -   | - | -    | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| Hordenina                               | -   | -    | 100 | -   | - | 0,19 | 2,26  | -     | -   | -     | -    | - |
| N-Metiltiramina                         | -   | -    | -   | -   | - | -    | -     | -     | Tra | -     | -    | - |
| Tiramina                                | -   | -    | -   | Tra | - | -    | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| <b>Não identificados</b>                |     |      |     |     |   |      |       |       |     |       |      |   |
| Desconhecido (O-Metiltiramina)          | -   | -    | -   | -   | - | Tra  | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (m/z 223)                  | -   | -    | -   | -   | - | -    | -     | 7,64  | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (m/z 148)                  | -   | -    | -   | -   | - | -    | -     | 0,77  | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (m/z 315)                  | -   | -    | -   | -   | - | -    | -     | 13,11 | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (11,12-Dehidrolicorina)    | -   | -    | -   | -   | - | 1,15 | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (m/z 203)                  | -   | -    | Tra | -   | - | -    | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (m/z 361)                  | -   | -    | Tra | -   | - | -    | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (Deacetilcantabricina)     | -   | -    | -   | -   | - | -    | 10,26 | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (Norpluvine)               | -   | -    | -   | -   | - | 4,75 | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (O-Metilnorberladina)      | -   | -    | -   | -   | - | Tra  | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (O-Metillicorina)          | -   | -    | -   | -   | - | 0,35 | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (Papiramina)               | -   | -    | -   | -   | - | 4,03 | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (m/z 264)                  | -   | -    | -   | -   | - | 0,39 | 0,34  | 0,60  | -   | -     | 2,85 | - |
| Desconhecido (m/z 228)                  | -   | -    | -   | -   | - | -    | 1,29  | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (m/z 224)                  | -   | -    | -   | -   | - | -    | -     | -     | -   | 10,86 | -    | - |
| Desconhecido (8-O-Demetilhomolicorina)  | -   | -    | -   | -   | - | 2,07 | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (Pseudolicorina)           | -   | -    | -   | -   | - | Tra  | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (m/z 278)                  | -   | -    | -   | -   | - | -    | 5,27  | -     | -   | 88,58 | -    | - |
| Desconhecido (Phenanthridina)           | -   | -    | -   | -   | - | 0,11 | 0,19  | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (Dihidro-1-acetillicorina) | -   | -    | -   | -   | - | Tra  | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (m/z 294)                  | -   | -    | -   | -   | - | Tra  | 0,82  | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (m/z 280)                  | -   | -    | -   | -   | - | 0,56 | 3,82  | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (Tipo homolicorina)        | Tra | -    | -   | -   | - | -    | -     | -     | -   | -     | -    | - |
| Desconhecido (O-Demetillicoramin)       | -   | -    | -   | -   | - | 0,90 | -     | -     | -   | -     | -    | - |

\*Traços (Tra): &lt;0,05

final

#### 4.1.2 *Hippeastrum glaucescens*

Na literatura encontra-se três estudos para o *Hippeastrum glaucescens*; o de Hoffmann e colaboradores (2003 e 2004)<sup>34,35</sup>, que relata o isolamento de licorina, tazetina e pretazetina, sendo os dois últimos também isolados nesse estudo; o trabalho de Andrade e colaboradores (2012)<sup>25</sup>, onde a análise de CG-EM dos bulbos evidenciaram a presença dos alcaloides licorina, pretazetina, 3-*epimacronina*, 3-*epideoxitazetina*, deoxitazetina, trisfaeridina, galantamina, *N*-formilnorgalantamina, sanguinina, *N*-dimetilgalantamina, 3-*epinorgalantamina*, narvedina, anidrogallantamina e hippeastrina<sup>25</sup>; e um último estudo do mesmo autor, onde relata-se os alcaloides já mencionados 3-*epimacronina*, trisfaeridina e hippeastrina, porém ressalta-se a presença do alcaloide galantamina como composto majoritário, conforme de ANDRADE e colaboradores (2016)<sup>26</sup>. Nesta particularidade, as condições edafoclimáticas das diferentes localidades de coleta (Rio grande do Sul e Minas Gerais) exercem um papel crucial no conteúdo químico das espécies, como já demonstrado em outras investigações<sup>48</sup>.

As análises de CG-EM da fração AcOEt ácido e das frações enriquecidas de *Hippeastrum glaucescens* evidenciaram a presença de 12 compostos identificados pela biblioteca de alcaloides e outros 9 compostos não identificados (Tabela 34). Apresentando-se como maiores constituintes dos bulbos os alcaloides do tipo homolicorina. A fração AcOEt ácido para essa espécie apresentou compostos identificados pela biblioteca e compostos desconhecidos, optando-se por também realizar o seu estudo. Para a fração AcOEt:MeOH foi identificado 3 compostos; desses, apenas um menos abundante não foi identificado nas outras frações, elegendo-se por não dar-se continuidade ao seu estudo. A tabela com as demais informações de CG-EM para esses extratos encontra-se no Anexo A.2 Foram verificados posteriormente que 4 desses compostos desconhecidos da fração AcOEt ácido (*m/z* 226, *m/z* 256, *m/z* 270 e *m/z* 272) indicaram ser flavonoides e suas estruturas ainda estão em processo de elucidação.

**Tabela 34.** Compostos identificados na fração AcOEt ácido e das frações enriquecidas de *Hippeastrum glaucescens*.

| <i>Hippeastrum glaucescens</i>          | Bulbos (%) |       |       |       |
|-----------------------------------------|------------|-------|-------|-------|
| Compostos                               | LA         | H     | A     | AM    |
| <b><u>Tipo Licorina</u></b>             |            |       |       |       |
| 11,12-Dehidroanidrolícorina             | -          | -     | 0,15  | -     |
| <b><u>Tipo Haemantamina/Crinina</u></b> |            |       |       |       |
| Haemantamina                            | -          | -     | 0,55  | -     |
| <b><u>Tipo Tazetina</u></b>             |            |       |       |       |
| Epimacronina                            | -          | 1,68  | Tra   | -     |
| Tazetina                                | -          | 0,79  | 42,31 | -     |
| <b><u>Tipo Homolícorina</u></b>         |            |       |       |       |
| Homolícorina                            | 21,02      | 1,75  | -     | -     |
| Nerina                                  | 0,39       | 44,01 | -     | -     |
| 8-O-Demetilhomolícorina                 | 10,57      | 0,60  | -     | -     |
| 2-Metoxi-8-O-demetilhomolícorina        | 0,13       | 0,39  | 0,57  | 22,8  |
| Candimina                               | -          | -     | 15,07 | -     |
| 2-Hidroxihomolícorina                   | -          | -     | 0,73  | -     |
| <b><u>Narciclasina</u></b>              | Tra        | Tra   | -     | 68,11 |
| Trisfaeridina                           | Tra        | Tra   | -     | 68,11 |
| <b><u>Outros tipos</u></b>              |            |       |       |       |
| Galantidol                              | -          | -     | 7,03  | -     |
| <b><u>Não identificados</u></b>         |            |       |       |       |
| Desconhecido (Tipo Homolícorina)        | -          | -     | 0,18  | -     |
| Desconhecido (2-Metoxihomolícorina)     | 0,73       | 3,79  | 6,08  | -     |
| Desconhecido (m/z 139)                  | -          | 46,89 | 27,19 | -     |
| Desconhecido (Tipo Homolícorina)        | -          | -     | -     | 9,04  |
| Desconhecido ( 2-Metoxipratosina)       | -          | Tra   | -     | -     |
| Desconhecido m/z (270)                  | 21,23      | -     | -     | -     |
| Desconhecido (m/z 272)                  | 33,25      | -     | -     | -     |
| Desconhecido (m/z 226)                  | 1,57       | -     | -     | -     |
| Desconhecido (m/z 256)                  | 0,53       | -     | -     | -     |

\*Traços (Tra): <0,05

#### 4.1.3 Frações não finalizadas

Neste trabalho foram empregados diversos processos cromatográficos, visando o isolamento dos alcaloides presentes nos extratos de *Hippeastrum diniz-cruzae* e *Hippeastrum glaucescens*. Entretanto, para algumas frações de ambas as espécies não foram possíveis suas finalizações, enviando-se uma alíquota de cada fração para análise de CG-EM. Dessa forma, foi possível detectar para o

*Hippeastrum diniz-cruzae* um total de 47 compostos (entre identificados e não identificados pela biblioteca de alcaloides, nos extratos analisados anteriormente), que foram numerados de **(1)** a **(47)** e estão descritos no Anexo A.3.

As análises para as frações de *Hippeastrum glaucescens* levaram a detecção de 17 metabolitos (entre identificados e não identificados pela biblioteca de alcaloides, nos extratos analisados anteriormente) numerados de **(48)** a **(63)**, estando representados no Anexo A.4.

## 4.2 Compostos isolados

### 4.2.1 Alcaloides

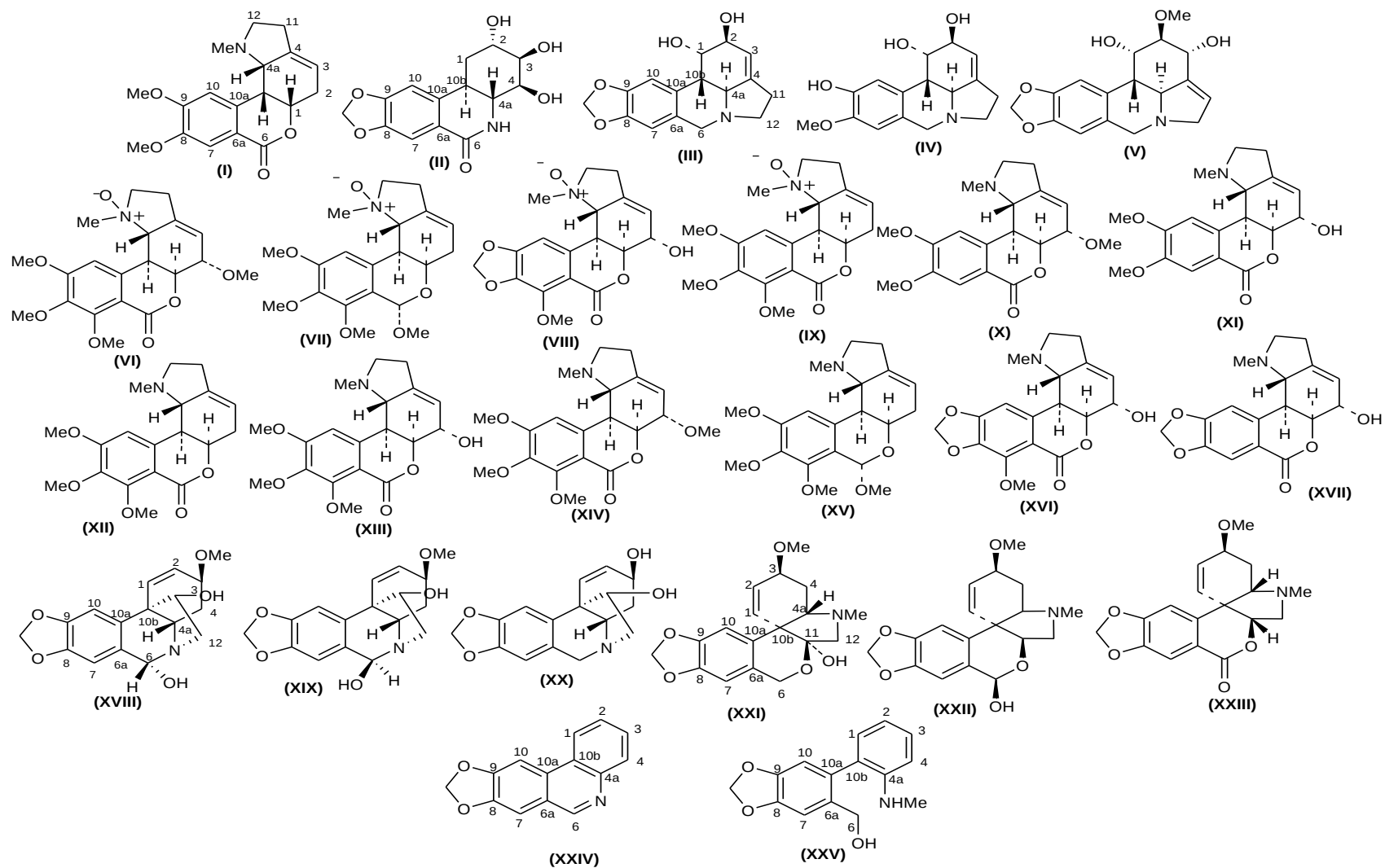
Diversos compostos pertencentes à classe dos alcaloides isoquinolínicos têm sido comumente isolados das espécies da família Amaryllidaceae. Outros compostos, mesmo apresentando um baixo número de relatos, também possuem caracterização estrutural bem fundamentada na literatura. Nesse sentido, somente os compostos inéditos isolados nesse trabalho serão discutidos e os conhecidos possuirão os seus dados espectrais comparados com os da literatura. Essa comparação de dará pelos artigos publicados, assim como pelos trabalhos acadêmicos publicados, que realizaram uma discussão abrangente dos mesmos compostos.

Nesse trabalho, foram obtidos 25 compostos, pertencentes a classe dos alcaloides isoquinolínicos; para o *Hippeastrum diniz-cruzae*, foram isolados 5 compostos, com esqueletos do tipo homolicorina, narciclasina e licorina; para o *Hippeastrum glaucescens*, foram isolados 16 alcaloides e 4 alcaloides em mistura, com esqueletos do tipo homolicorina, haemantamina/crinina, tazetina e narciclasina.

A partir das análises dos espectros de RMN de  $^1\text{H}$  em comparação com os dados da literatura foram identificados os compostos 7-deoxi-narciclasina **(II)**, licorina **(III)**, pseudolicorina **(IV)** e ungimiorina **(V)** do *Hippeastrum diniz-cruzae* e albomaculina *N*-óxido **(IX)**, 2 $\alpha$ -metoxihomolicorina **(XX)**, 2 $\alpha$ -hidroxihomolicorina **(XXI)**, albomaculina **(XXII)**, 2 $\alpha$ -hidroxialbomaculina **(XIII)**, 2 $\alpha$ ,7-dimetóxiomolicorina **(XIV)**, 7-Metoxi-*O*-metillicorenina **(XV)**, candimina **(XVI)**, hippeastrina **(XVII)**, haemantidina **(XVIII)**, 6-*epi*haemantidina **(XIX)**, 11-hidroxivitatina **(XX)**, tazetina **(XXI)**, pretazetina **(XXII)**, 3-*epi*macronina **(XXIII)**, trisfaeridina **(XXIV)** e ismina **(XXV)** do

*Hippeastrum glaucescens*. Também foram isolados 4 alcaloides pela primeira vez, no qual, as análises de RMN de  $^1\text{H}$  e massas de alta resolução levaram a determinação dos alcaloides: Cruzinina **(I)** do *Hippeastrum diniz-cruzae*, 2 $\alpha$ -7-dimetóxihomolicorina *N*-óxido **(VI)**, 7-Metoxi-*O*-metillicorenina *N*-óxido **(VII)** e Candimina *N*-óxido **(VIII)** do *Hippeastrum glaucescens*. Possuindo suas estruturas representadas na Figura 10. Os novos *N*-óxidos isolados necessitam de análise de RMN  $^{13}\text{C}$  e bidimensional para sua completa elucidação estrutural, assim como, a análise de massas de alta resolução para o composto **(VII)**.



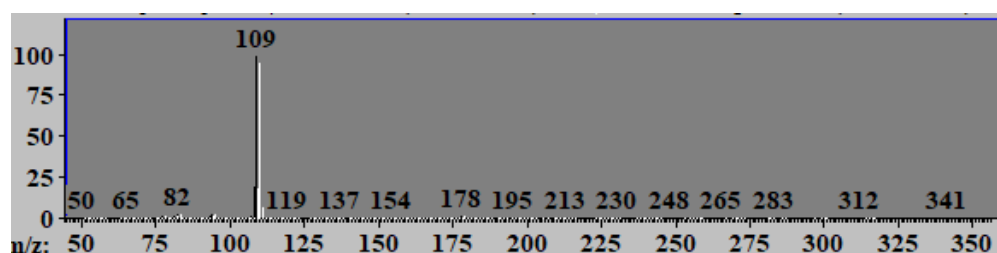


**Figura 10.** Estruturas dos alcaloides obtidos de *Hippeastrum diniz-cruzae* e *Hippeastrum glaucescens*.

#### 4.2.1.1 Compostos inéditos

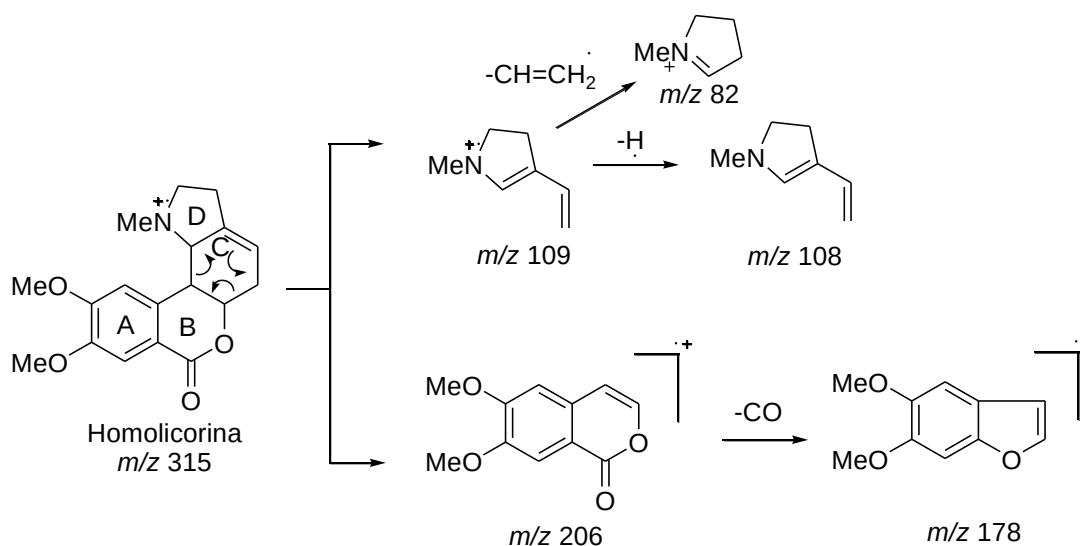
##### 4.2.1.1.1 Composto I

O composto **(I)** foi obtido a partir da fração *n*-Hexano das folhas de *Hippeastrum diniz-cruzae*, principalmente por cristalização espontânea, sendo obtido cerca de 50,0 mg do composto. O produto foi solubilizado em MeOH e analisado inicialmente por CG-EM (Figura 11)



**Figura 11.** Espectro de massas do composto (I).

Inicialmente, o espectro de massas indicou tratar-se de um alcaloide derivado do núcleo homolicorina. Os alcaloides derivados de homolicorina apresentam o fragmento  $m/z$  109 como pico base, devido a fragmentação por mecanismo de *retro* Diels-Alder que ocorre no anel C (Figura 12). Essa fragmentação que caracteriza o núcleo C, determina a existência de dupla ligação na posição 3 e ausência de substituinte na posição 2<sup>49</sup>. Entretanto, os valores obtidos no índice de retenção, dentro da metodologia de CG-EM, não indicaram tratar-se do alcaloide homolicorina, apenas pertencente a série homolicorina.



**Figura 12.** Típica fragmentação do esqueleto tipo homolicorina.

Neste sentido, desenvolveu-se a completa análise do composto **(I)** por RMN. As principais características espectrais do espectro de RMN- $^1\text{H}$  (Figura 14) podem ser resumidas: (a) dois hidrogênios singletos com orientação *para (p)* com deslocamentos em 8,55 e 7,48 ppm, correspondentes as posições H-10 e H-7 do núcleo homolicorina, estando esses hidrogênios mais desblindados que o tipicamente observado para essa série; (b) um hidrogênio olefínico em 5,21 ppm, típico da posição H-3 do esqueleto homolicorina; (c) dois singletos em 3,86 e 3,83 ppm, com integração para três hidrogênios cada, referentes aos grupos OMe aromáticos; (d) um singlete atribuído ao grupo NMe em 2,46 ppm, igualmente apresentando integração de três hidrogênios.

As análises preliminares por CG-EM e RMN de  $^1\text{H}$  apresentaram características plausíveis e adequadas para o esqueleto homolicorina, assim como, o padrão de fragmentação observado por CG-EM<sup>12</sup>. Entretanto, algumas diferenças notáveis foram constatadas. O deslocamento para o hidrogênio aromático em 8,55 é extremamente atípico para o esqueleto homolicorina. Esse hidrogênio apresentou correlação de NOESY (Figura 15) com o sinal referente ao grupo NMe, ainda, o espectro COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (Figura 16) corrobora a constatação através do acoplamento entre os hidrogênios 10 e 10b, indicativo de tratar-se da posição H-10.

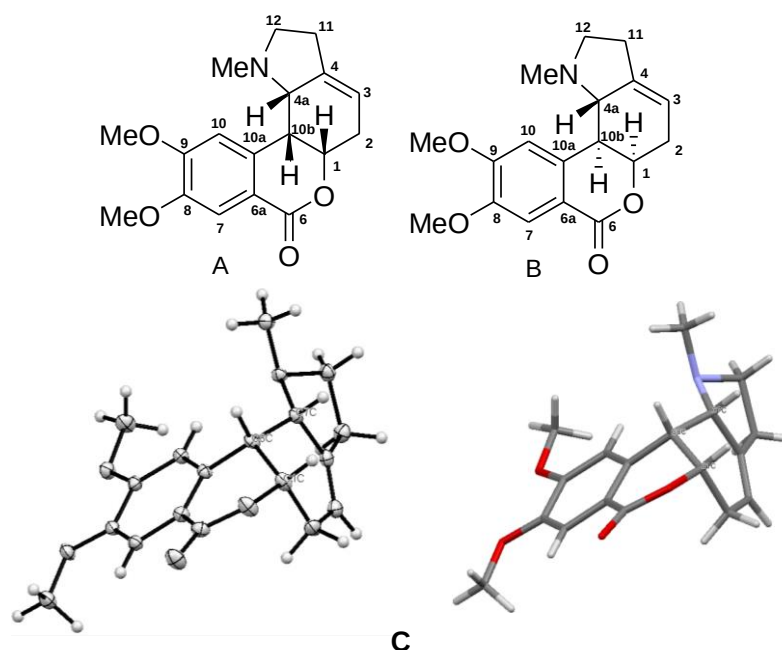
Neste sentido, uma análise da conformação do referente alcaloide foi desenvolvida, atendo-se as ressonâncias atribuídas às posições H-1, H-10b e H-4a. Tipicamente, o esqueleto homolicorina apresenta os hidrogênios das posições H-10b e H-4a em disposição *trans* di-axial, sendo caracterizado no espectro de RMN de  $^1\text{H}$  pela constante de  $J_{10b,4a} \sim 9.5$ .<sup>21</sup> Diferentemente, no caso do composto **(I)**, a constante entre H-10b e H-4a foi de  $J_{10b,4a} = 4.5$ , indicando, portanto, que a disposição *trans* di-axial estava ausente neste composto. Outra característica atípica, novamente uma constante de 4.5 Hz observada entre H-1 e H-10b, sendo que o esperado para este núcleo seria de aproximadamente 2.0 Hz<sup>12</sup>.

O estudo por NOESY foi extremamente importante para a caracterização do composto **(I)**. As constantes de acoplamento de 4.5 Hz, observado para as posições H-1, H-10b e H-4a, indicaram uma fusão dos anéis B e C diferente do tipicamente observado para este esqueleto base. Neste sentido, a análise do espectro de NOESY evidenciou correlações entre as posições H-1, H-10b e H-4a, indicando,

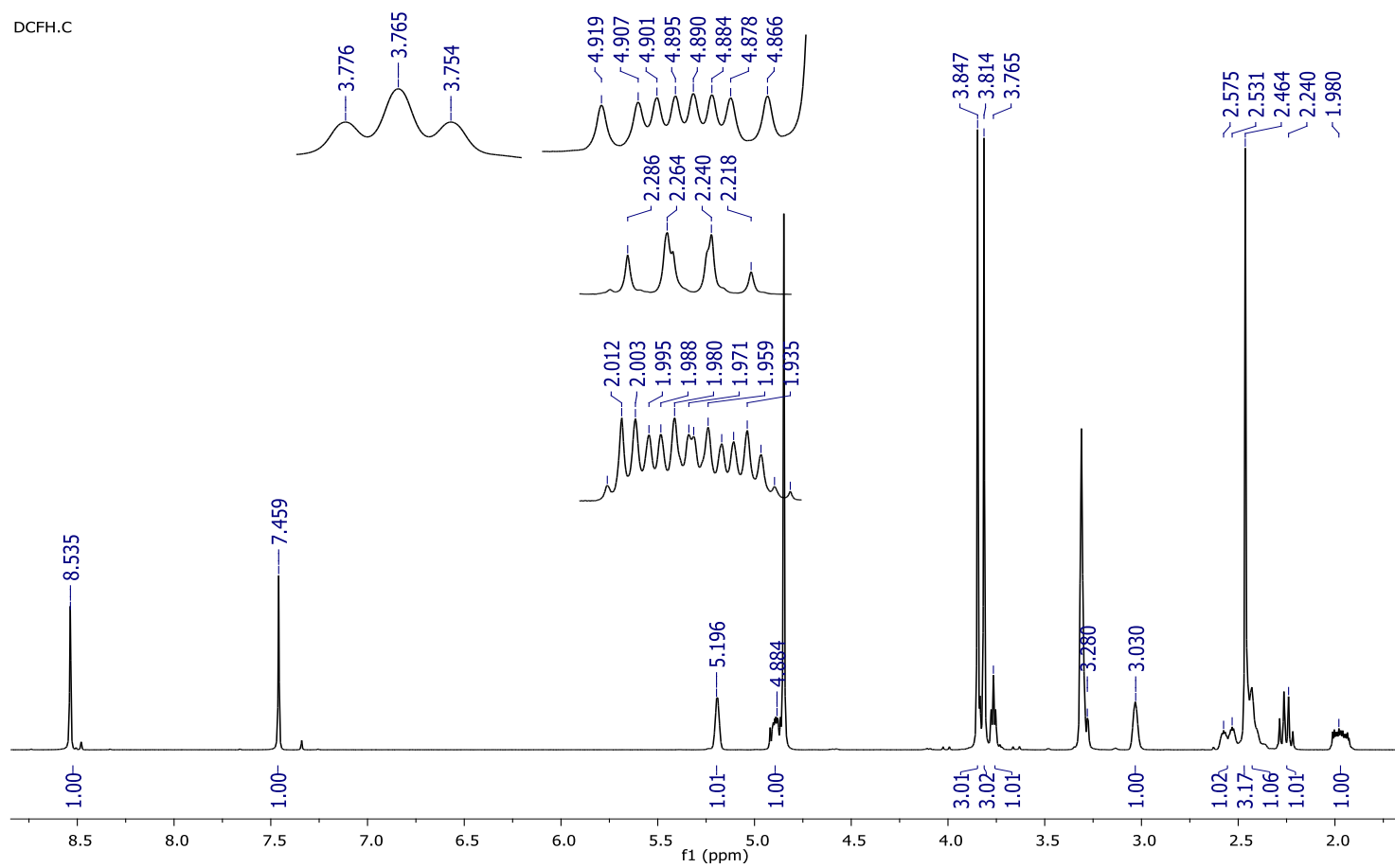
portanto, proximidade espacial entre estes hidrogênios.

A orientação  $\beta$  para o H-4a é bastante conservada dentro do grupo das homolicorinas (Figura 13 B), devido a biossíntese deste esqueleto base, a partir do esqueleto licorina<sup>12</sup>. Neste sentido, a única conformação possível, que suporta os dados espectrais observados, apresenta a estrutura do alcaloide homolicorina mostrando as posições H-1, H-10b e H-4a  $\beta$ -orientadas (Figura 13 A), sendo esta característica considerada única dentro dos alcaloides de Amaryllidaceae

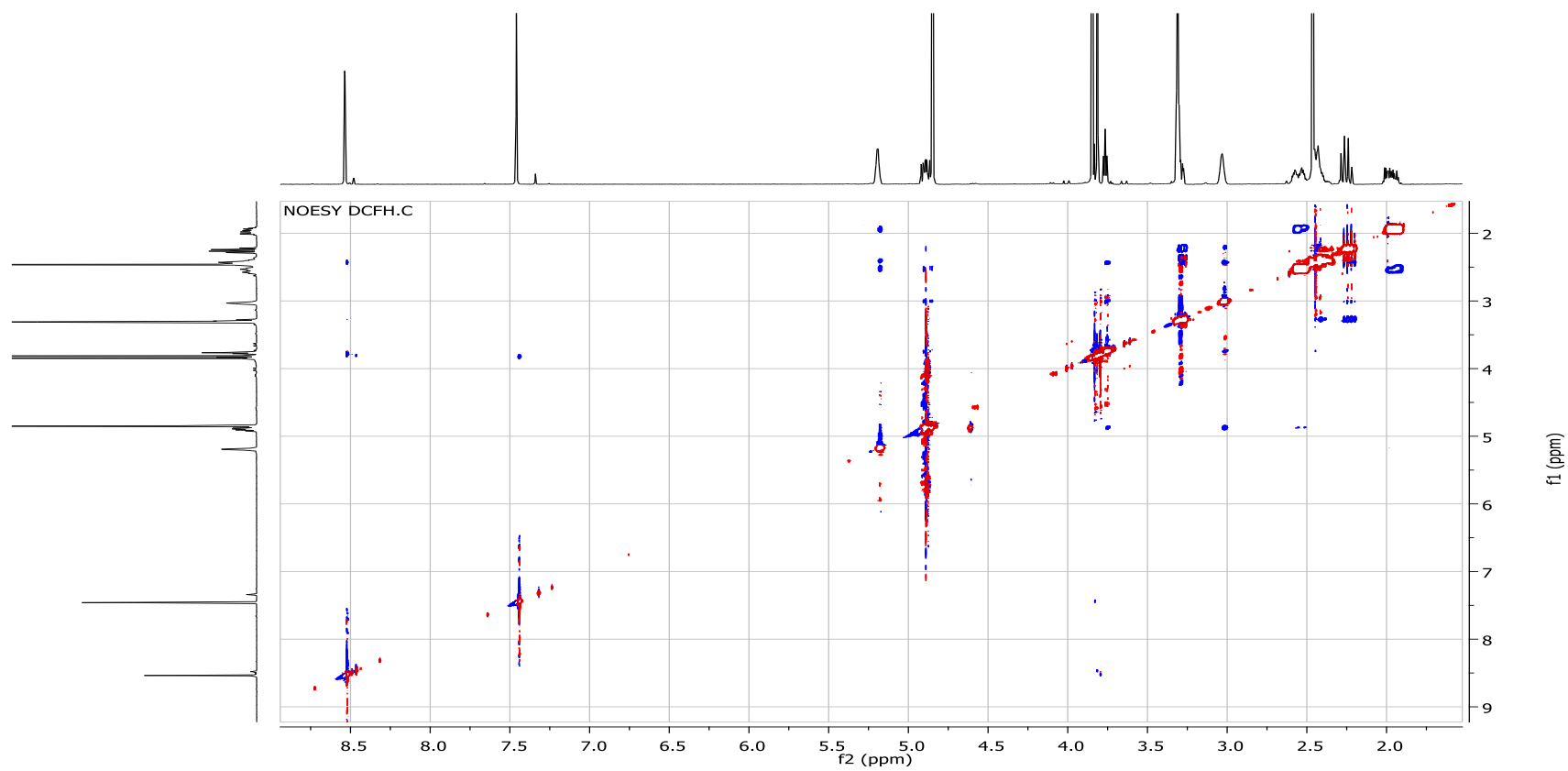
A ausência dos hidrogênios da posição 6 e a presença do carbono em 166.9 ppm, que é característico de um carbono carboxílico, confirma-se a série lactona para esse composto. Os 18 carbonos observados no espectro de <sup>13</sup>C (Figura 19) são condizentes com a estrutura proposta, possibilitando através das análises de HSQC (Figura 17) e HMBC (Figura 18) a correta assinalação de todos os sinais. Na tabela 35 possui o resumo das atribuições dos sinais com base nos dados de RMN uni e bidimensionais realizados.



**Figura 13.** (A) alcaloide cruzinina (H-1 e H-10b  $\beta$ -orientado); (B) alcaloide homolicorina (H-1 e H-10b  $\alpha$ -orientado); (C) Projeção ORTEP e “capped sticks” do alcaloide cruzinina.

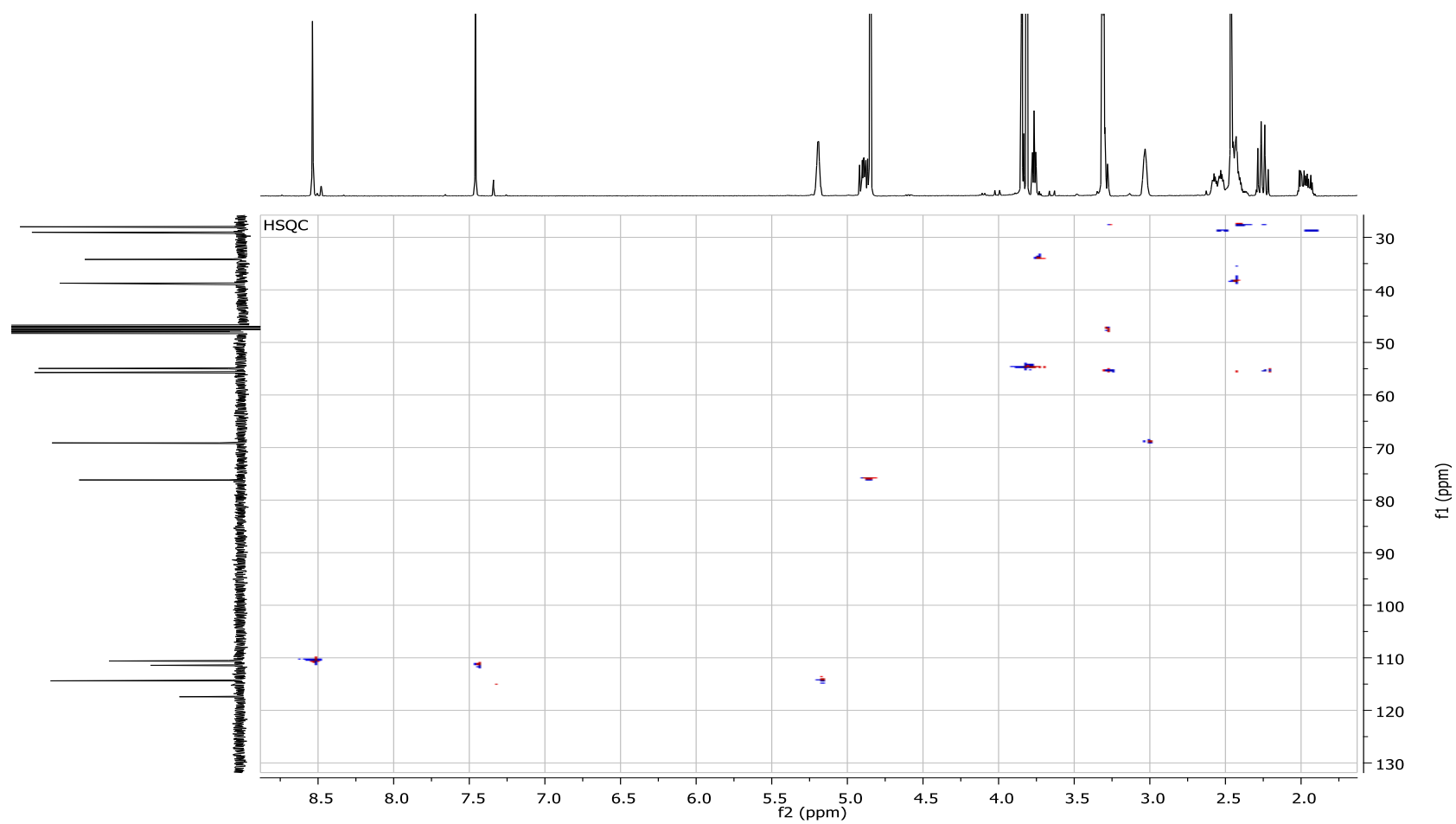


**Figura 14.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **(I)** e ampliações ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz).



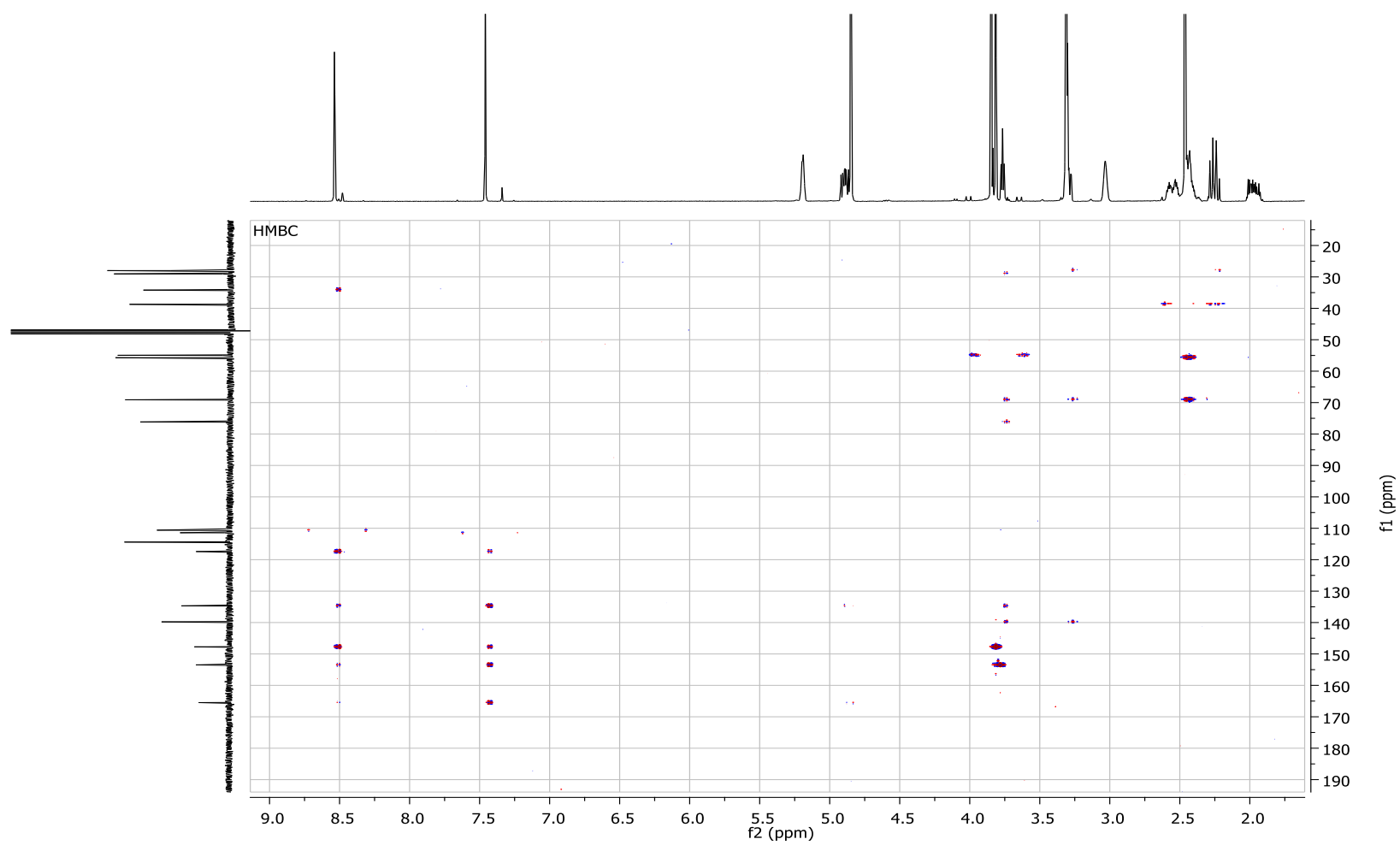
**Figura 15.** Espectro de NOESY  $1\text{H}-1\text{H}$  do composto **(I)** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz).

**Figura 16.** Espectro de COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  do composto (**I**) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz).



**Figura 17.** Mapa de contornos HSQC do composto **(I)** (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz).





**Figura 18.** Mapa de contornos HMBC do composto **(I)** (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz).

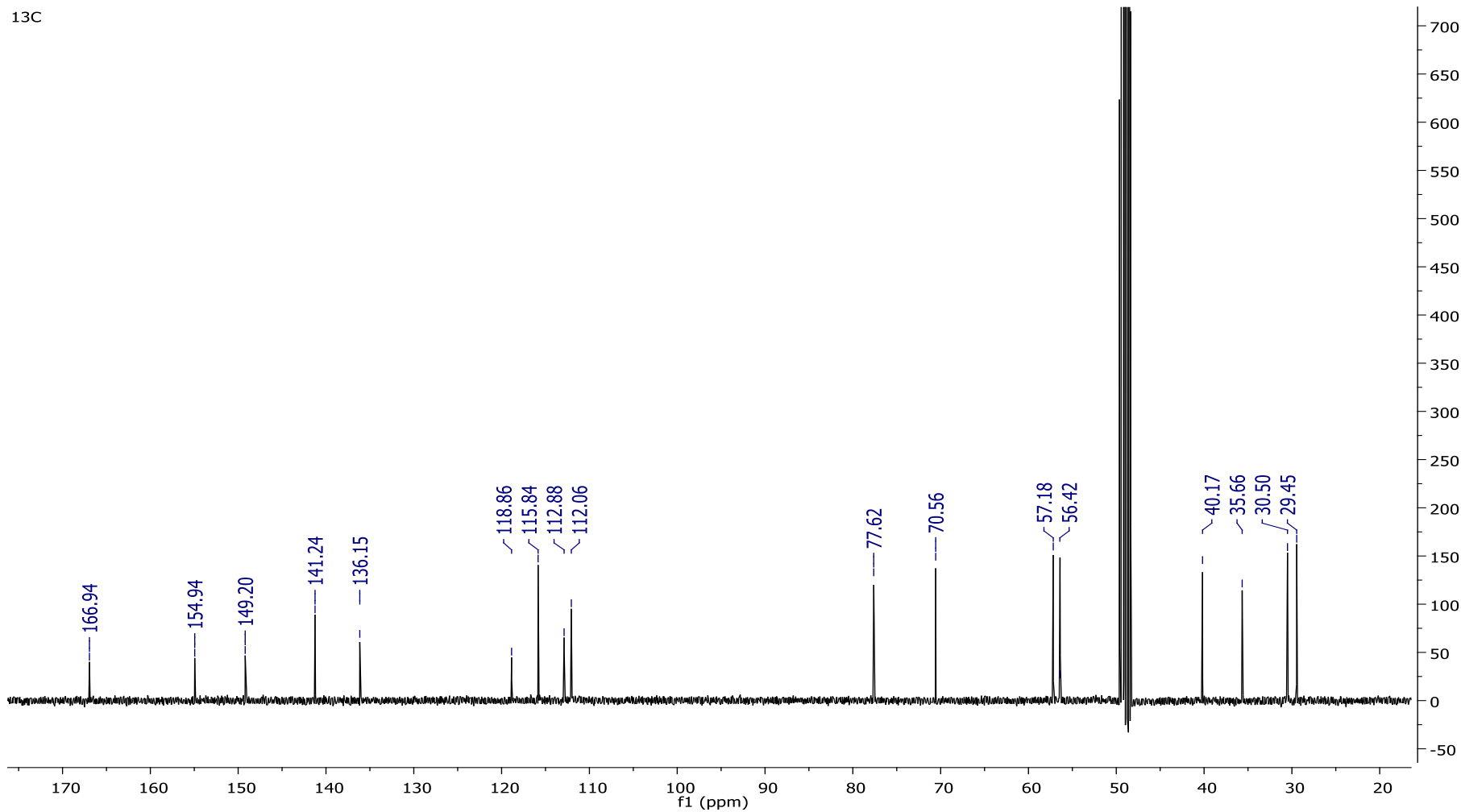


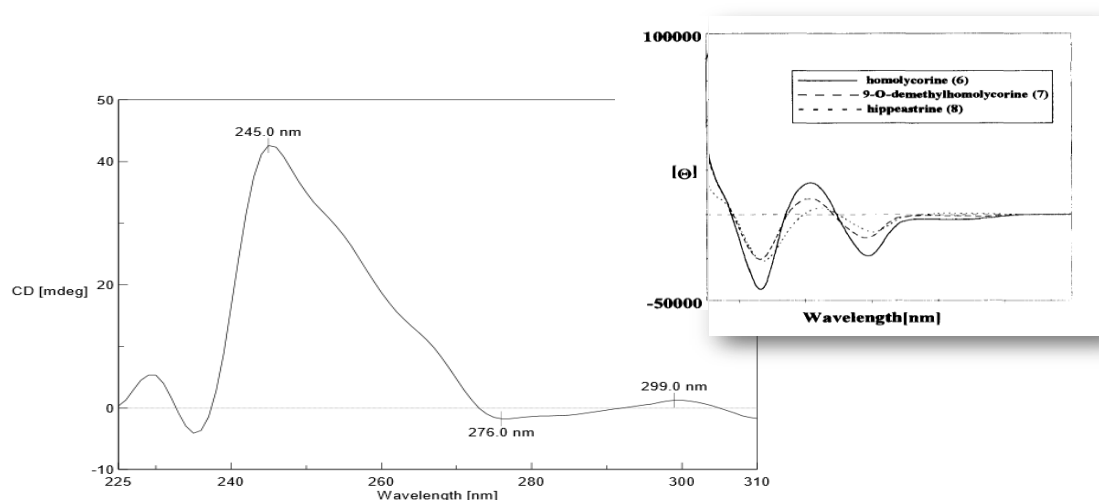
Figura 19. Espectro de <sup>13</sup>C do composto (I) (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz).

**Tabela 35.** Dados espectrais de RMN uni e bidimensional do composto **(I)**.

| Posição                            | H $\delta$ | H $\delta$ (J em Hz)              | COSY                                                    | NOESY                                         | HSQC    | HMBC                    |
|------------------------------------|------------|-----------------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------|-------------------------|
| <b>1</b>                           | 4,89       | <i>ddd</i> (9.2, 6.8, 4.5)        | H2 $\alpha$ , H2 $\beta$ , H10b                         | H2 $\beta$ , H4a, H10b                        | 77,6 d  | C6, C10a                |
| <b>2 <math>\alpha</math></b>       | 1,97       | <i>ddt</i> (17.5, 9.2, 3.6)       | H1, H2 $\beta$ , H3, H4a                                | H2 $\beta$ , H3                               | 30.5 t  |                         |
| <b><math>\beta</math></b>          | 2,55       | <i>dddd</i> (17.5, 6.8, 3.6, 2.8) | H1, H2 $\alpha$ , H3, H4a                               | H1, H2 $\alpha$ , H3                          | 115.8 d |                         |
| <b>3</b>                           | 5,19       | <i>br s</i>                       | H2 $\alpha$ , H2 $\beta$ , H4a, H11 $\alpha/\beta$      | H2 $\alpha$ , H2 $\beta$ , H11 $\alpha/\beta$ | 141.2 s |                         |
| <b>4</b>                           |            |                                   |                                                         |                                               |         |                         |
| <b>4a</b>                          | 3,03       | <i>br s</i>                       | H3, H2 $\alpha$ , H2 $\beta$ , H10b, H11 $\alpha/\beta$ | H1, H10b, H12 $\beta$ , NMe                   | 70,6 d  | C4                      |
| <b>6</b>                           |            |                                   |                                                         |                                               | 166.9 s |                         |
| <b>6a</b>                          |            |                                   |                                                         |                                               | 118.9 s |                         |
| <b>7</b>                           | 7,46       | <i>s</i>                          |                                                         | 8-OMe                                         | 112,9 d | C6, C6a, C8, C9, C10a   |
| <b>8</b>                           |            |                                   |                                                         |                                               | 154.9 s |                         |
| <b>9</b>                           |            |                                   |                                                         |                                               | 149.2 s |                         |
| <b>10</b>                          | 8,53       | <i>s</i>                          | H10b                                                    | H10b, 9-OMe, NMe                              | 112,1 d | C6a, C8, C9, C10a, C10b |
| <b>10a</b>                         |            |                                   |                                                         |                                               | 136.1 s |                         |
| <b>10b</b>                         | 3,77       | <i>br t</i> (4.5)                 | H1, H4a, H10                                            | H1, H4a, H10, NMe                             | 35,7 d  | C1, C2, C4a, C10a       |
| <b>11<math>\alpha/\beta</math></b> | 2,34-2,48  | <i>m</i>                          | H3, H4a, H12 $\alpha$ , H12 $\beta$                     | H3, H12 $\alpha$ , H12 $\beta$                | 29.5 t  |                         |
| <b>12 <math>\alpha</math></b>      | 3,30       | <i>m</i>                          | H11 $\alpha/\beta$ , H12 $\beta$                        | H11 $\alpha/\beta$ , H12 $\beta$              | 57,2 t  | C4, C4a                 |
| <b><math>\beta</math></b>          | 2,25       | <i>dt</i> (9.6, 8.8)              | H11 $\alpha/\beta$ , H12 $\alpha$                       | H4a, H11 $\alpha/\beta$ , H12 $\alpha$        |         | C11, NMe                |
| <b>8-OMe</b>                       | 3,85       | <i>s</i> (3H)                     |                                                         | H7                                            | 56.4 q  | C8                      |
| <b>9-OMe</b>                       | 3,81       | <i>s</i> (3H)                     |                                                         | H10                                           | 56.4 q  | C9                      |
| <b>NMe</b>                         | 2,46       | <i>s</i> (3H)                     |                                                         | H4a, H10b, H10                                | 40.2 q  | C4a, C12                |

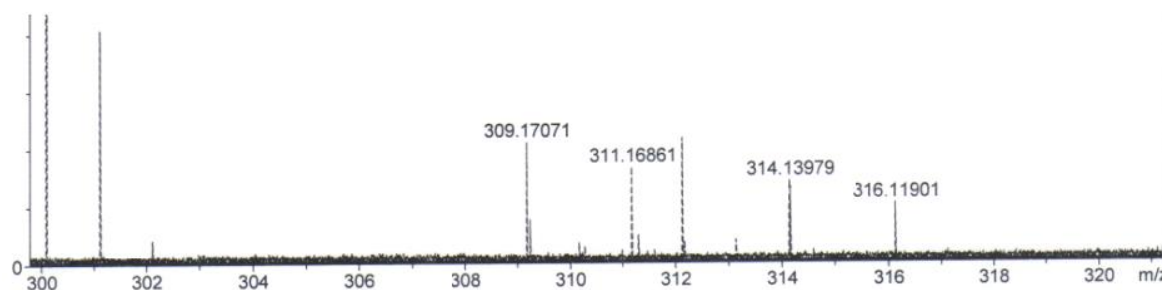
Devido a ausência de evidências espectrais comparativas para este composto, as análises de DC e de difratometria de Raios-X (Figura 13 C) foram realizadas para o composto **(I)**.

O espectro de DC obtido para o composto **(I)** (Figura 20) mostrou absorções máximas a 245, 276 e 299 nm, apresentando um efeito Cotton positivo, negativo e positivo, respectivamente, os quais foram antipodais em relação ao tipicamente observado para os derivados de homolicorina, com a fusão *cis* dos anéis B/C, e as posições H-1 e H-10b  $\alpha$ -orientadas. Ainda assim, a difratometria de Raios-X foi realizada sendo, portanto, inequívoca a caracterização do composto **(I)**, sendo denominado cruzinina.



**Figura 20.** Espectro de DC do alcaloide cruzinina e comparação com o alcaloide homolicorina.

Para finalizar o estudo, a análise de massas de alta resolução (Figura 21), estabelecida por ESI no modo negativo resultando para o íon  $[M-H]^-$  da cruzinina, foi de  $m/z$  314.13979, calculado para a fórmula molecular  $C_{18}H_{20}NO_4$  (314.13978). Este resultado também foi adequado para a estrutura química proposta.



**Figura 21.** Espectro de massas de alta resolução para o composto **(I)**.

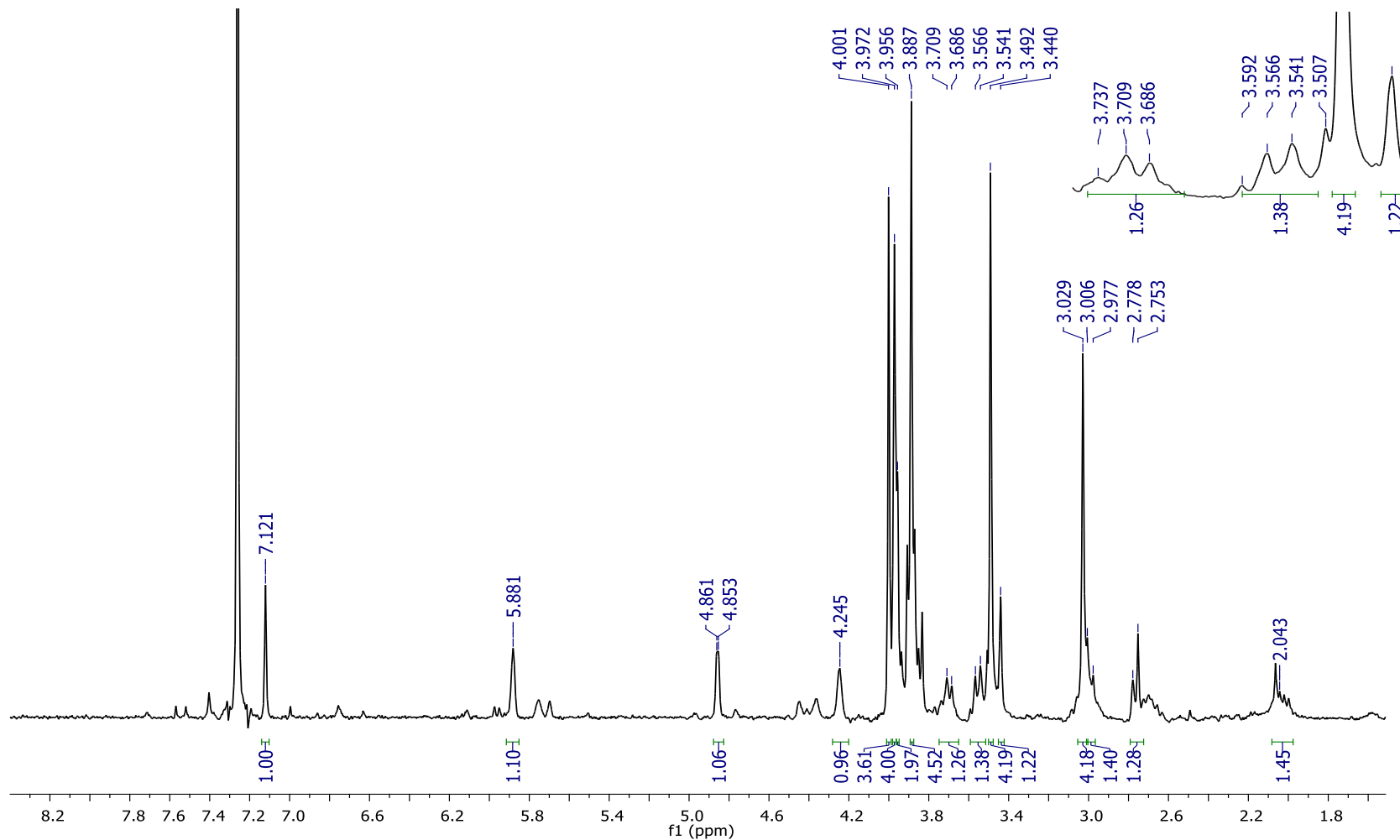
#### 4.2.1.1.2 Composto VI

O composto **(VI)** foi obtido a partir da fração *n*-Hexano dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtido cerca de 6,0 mg do composto. O produto foi solubilizado em  $\text{CDCl}_3$  e analisado por RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 22).

Inicialmente o espectro de RMN  $^1\text{H}$  apresentou características condizentes com os alcaloides derivados de homolicorina<sup>12</sup>. As principais características observadas no espectro incluem: (a) um hidrogênio singleto com deslocamento em 7,12 ppm, atribuído a um hidrogênio aromático da posição H-10; (b) um singleto em 5,88 ppm, integrando para um hidrogênio, atribuído a posição olefínica H-3; (c) um singleto em 4,24 ppm, com integração para um hidrogênio, referente a substituição da posição 2; (d) três singletos em 4,00, 3,97 e 3,88 ppm, integrando para três hidrogênios cada, referentes portanto aos grupos OMe aromático; (e) um singleto em 3,49, com integração para três hidrogênios, atribuído a um grupo OMe alifático; (f) um singleto em 3,02 ppm referente ao grupo NMe, com valor mais desblindado do que o tipicamente observado para esta série, apresentando integração para três hidrogênios,

Geralmente, os derivados de homolicorina que estão substituídos por três OMe aromáticos apresentam substituição nas posições 8 e 9 e o terceiro na posição 7, não estando assim, a posição 10 substituída. Eles podem apresentar-se com a série lactona ou hemiacetal, nesse sentido, a ausência dos hidrogênios da posição 6, sugere que o composto é pertencente a série das lactonas. A desblindagem do hidrogênio da posição 2 indica uma substituição nessa posição e foi atribuída ao grupo OMe alifático.

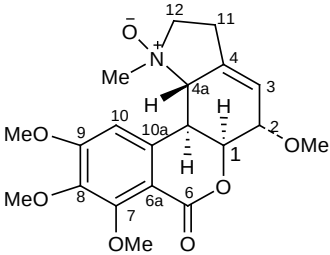
O grupo NMe encontra-se mais desblindado que o tipicamente observado para a série homolicorina e essa desblindagem observada para o composto **(VI)** ocorre possivelmente quando o nitrogênio do grupo NMe encontra-se ionizado, o que sugere-se que o composto possa estar na forma de sal ou na forma de *N*-óxido<sup>12,51</sup>. Podendo ser confirmada por espectroscopia de massas de alta resolução.



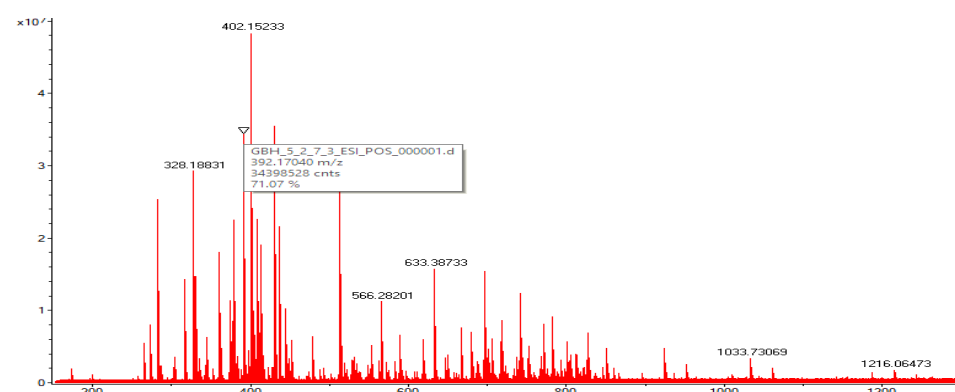
**Figura 22.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **(VI)** e ampliações ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz).

As características espectrais observadas demonstraram-se uma semelhança considerável com o alcaloide 2 $\alpha$ -7-dimetóxihomolicorina descrito por GIORDANI e colaboradores (2011)<sup>50</sup>, contudo com os sinais mais desblindados. Nesse sentido, o composto isolado indica-se tratar do alcaloide 2 $\alpha$ -7-dimetóxihomolicorina *N*-óxido, fazendo-se necessário a realização das demais análises de RMN (<sup>13</sup>C, COSY, NOESY, HSQC e HMBC) para a completa elucidação estrutural. Sendo assim, os hidrogênios assinalados até o momento para o composto **(VI)**, encontram-se na Tabela 36.

**Tabela 36.** Alguns dados de RMN de <sup>1</sup>H do composto **(VI)**.

| Estrutura                                                                          | Posição     | Composto (VI)                 |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------------------------|
|                                                                                    |             | ( $\delta$ em ppm, J em HZ)   |
|  | 1           | 4,85 m                        |
|                                                                                    | 2 $\beta$   | 4,24 m                        |
|                                                                                    | 3           | 5,88 br s                     |
|                                                                                    | 4a          | -                             |
|                                                                                    | 10          | 7,12 s                        |
|                                                                                    | 10b         | -                             |
|                                                                                    | 11 $\alpha$ | -                             |
|                                                                                    | 11 $\beta$  | -                             |
|                                                                                    | 12 $\alpha$ | -                             |
|                                                                                    | 12 $\beta$  | 2,04 m                        |
|                                                                                    | 2-OMe       | 3,49 s                        |
|                                                                                    | 7-OMe       | 4,00 s                        |
|                                                                                    | 8-OMe       | 3,88 s                        |
|                                                                                    | 9-OMe       | 3,97 s                        |
|                                                                                    | NMe         | 3,02 s                        |
|                                                                                    | Solvente    | CDCl <sub>3</sub><br>(400MHz) |

À análise de massas de alta resolução indicou: para o íon com m/z [M+H]<sup>+</sup> 392.17040 foi calculado C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>7</sub><sup>+</sup> 392.17093 conforme representado na Figura 23. Neste sentido, a análise de massas de alta resolução indicou, que o composto **(VI)** corresponde ao alcaloide 2 $\alpha$ -7-dimetóxihomolicorina *N*-óxido. Sendo obtido pela primeira vez nesse estudo.



**Figura 23.** Espectro de massas de alta resolução do composto (VI).

#### 4.2.1.1.3 Composto VII

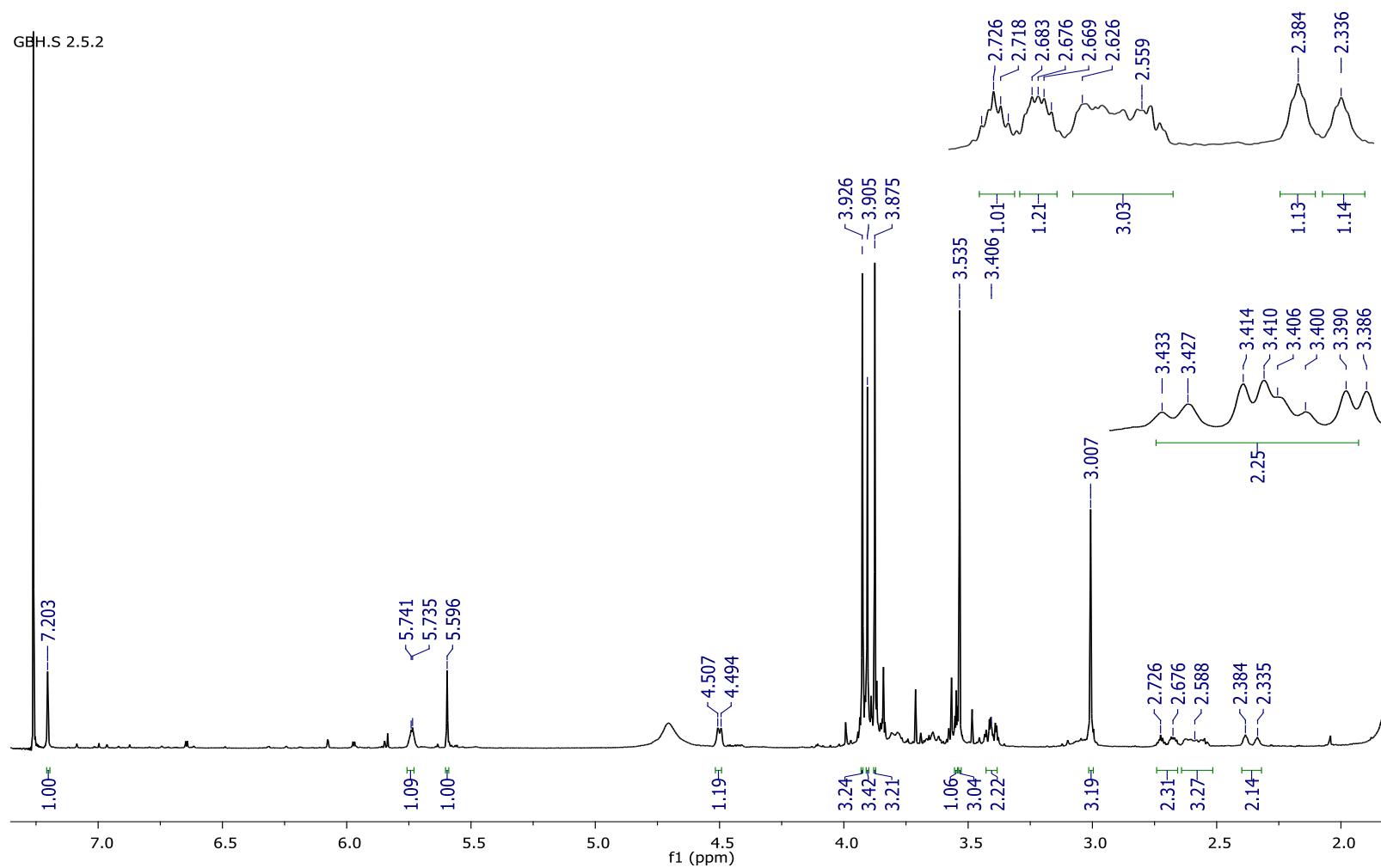
O composto (VII) foi isolado a partir da fração *n*-Hexano dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtido cerca de 9,4 mg do composto. O produto foi solubilizado em CDCl<sub>3</sub> e analisado por RMN de <sup>1</sup>H (Figura 24).

Inicialmente o espectro de RMN <sup>1</sup>H apresentou características similares com os alcaloides do tipo homolcorina<sup>12</sup>. As principais características espectrais observadas para esse composto podem ser resumidas em: (a) um hidrogênio com deslocamento em 7,20 ppm, atribuído a um hidrogênio aromático da posição H-10; (b) um multiplete em 5,74 ppm, integrando para um hidrogênio, atribuído a posição olefínica H-3; (c) um singlete em 5,59 ppm com integração para um hidrogênio; (d) três singletos em 3,92, 3,90 e 3,85 ppm, integrando para três hidrogênios cada, atribuído aos três grupos OMe no anel aromático; (e) um singlete em 3,53, com integração para três hidrogênios, atribuído a um grupo OMe alifático; (f) um singlete em 3,00 ppm referente ao grupo NMe, mais desblindado que o tipicamente observado, igualmente apresentando integração de três hidrogênios.

A substituição do anel aromático foi constatada pela presença dos grupos OMe aromáticos, atribuindo-se dessa forma, conforme observado para os derivados de homolcorina, dois OMe referentes as posições 8 e 9 e o terceiro na posição 7, não possuindo assim, substituição na posição 10. Referente a substituição da posição 6, sugere-se para os derivados de homolcorina a série lactona ou hemiacetal, assim, a presença de um singlete em 5,59 ppm é um indicativo que o composto em questão, é pertencente a série hemiacetal, possuindo como substituinte o grupamento OMe.

O deslocamento químico do grupo NMe em 3,00 ppm é indicativo conforme descrito na literatura que nitrogênio do grupo NMe encontra-se ionizado<sup>12,51</sup>. Possuindo dessa forma um maior deslocamento no espectro do que o habitualmente observado. Nesse sentido, sugere-se que o composto esteja na forma de sal ou na forma de *N*-óxido. Contudo, para a inequívoca determinação, faz-se necessário a análise de espectroscopia de massas de alta resolução.

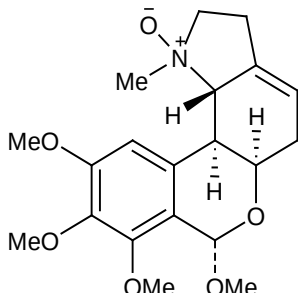




**Figura 24.** Espectro de RMN 1H do composto **(VII)** e ampliações (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz).

Essas características espectrais foram congruentes para o alcaloide 7-metoxi-O-metil licorenina, descrito por de ANDRADE *et al.* (2014)<sup>52</sup>, entretanto, com alguns sinais mais desblindados. Dessa forma, sugere-se que o composto isolado seja o alcaloide 7-metoxi-O-metil licorenina *N*-óxido, sendo necessário a análise de massas de alta resolução para a sua confirmação. A tabela de deslocamentos de RMN de <sup>1</sup>H está representada na Tabela 37 e para a sua completa elucidação estrutural necessita-se da realização das demais análises de RMN (<sup>13</sup>C, COSY, NOESY, HSQC e HMBC).

**Tabela 37.** Dados de RMN de <sup>1</sup>H do composto (VII).

| Estrutura                                                                           | Posição     | Composto (VII)                |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------------------------|
|                                                                                     |             | ( $\delta$ em ppm, J em HZ)   |
|  | 1           | 4,50 <i>br d</i> (5.2)        |
|                                                                                     | 2 $\alpha$  | 2,54-2.62 <i>m</i>            |
|                                                                                     | 2 $\beta$   | 2,38 <i>m</i>                 |
|                                                                                     | 3           | 5,74 <i>br d</i> (2.4)        |
|                                                                                     | 4a          | 2,67 <i>m</i>                 |
|                                                                                     | 6 $\beta$   | 5,59 <i>s</i>                 |
|                                                                                     | 10          | 7,20 <i>s</i>                 |
|                                                                                     | 10b         | 2,54-2,62 <i>m</i>            |
|                                                                                     | 11(2H)      | 2,54- 2,62 <i>m</i>           |
|                                                                                     | 12 $\alpha$ | 3,38 <i>m</i>                 |
|                                                                                     | 12 $\beta$  | 2,33 <i>m</i>                 |
|                                                                                     | 6-OMe       | 3,53 <i>s</i>                 |
|                                                                                     | 7-OMe       | 3,92 <i>s</i>                 |
|                                                                                     | 8-OMe       | 3,87 <i>s</i>                 |
|                                                                                     | 9-OMe       | 3,90 <i>s</i>                 |
|                                                                                     | NMe         | 3,00 <i>s</i>                 |
| Solvente                                                                            |             | CDCl <sub>3</sub><br>(400MHz) |

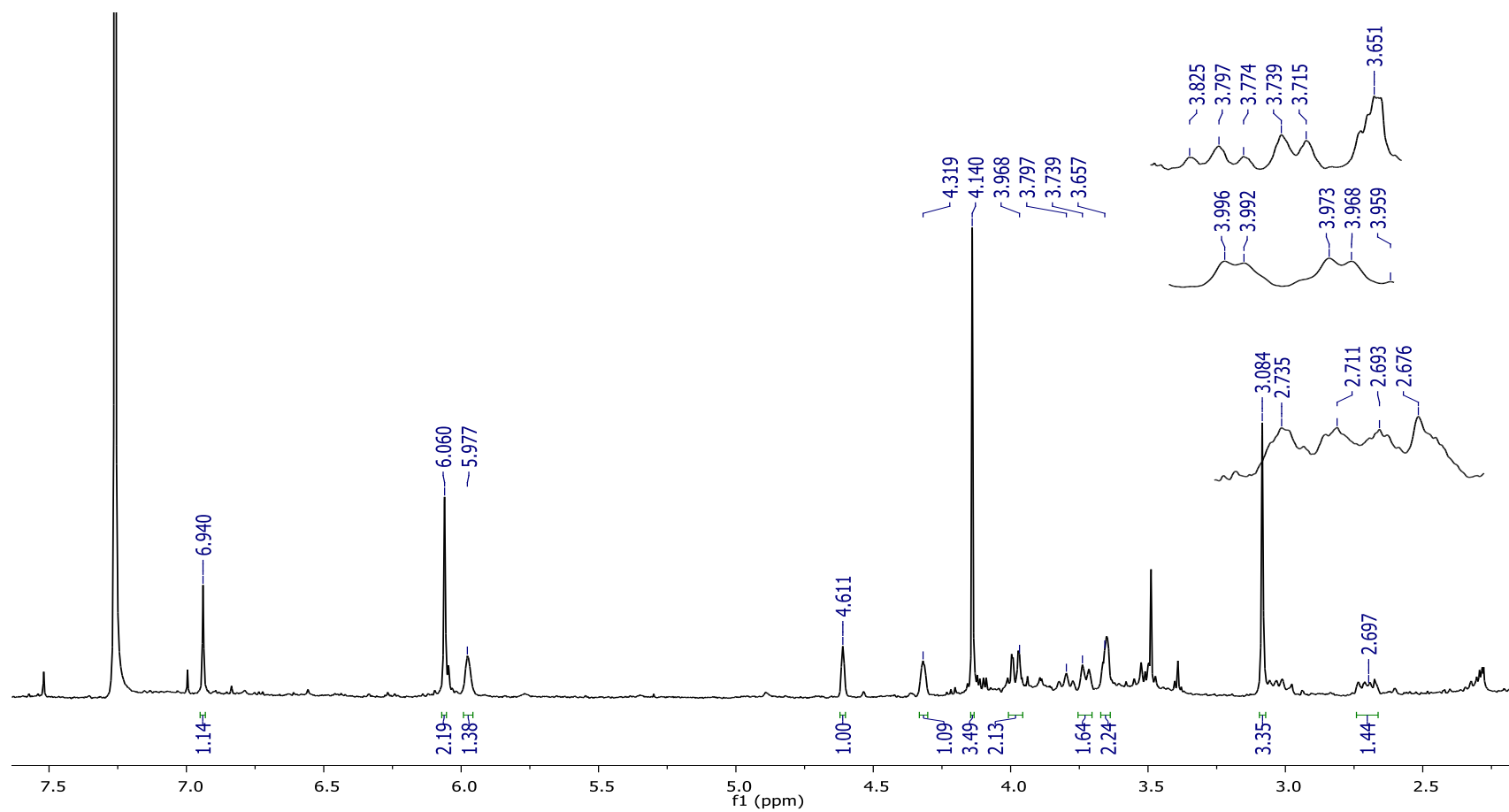
#### 4.2.1.1.4 Composto VIII

O composto (**VIII**) foi isolado a partir da fração acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtido cerca de 2,7 mg do composto. O produto foi solubilizado em  $\text{CDCl}_3$  e analisado por RMN de  $^1\text{H}$  (Figura 25).

A análise de RMN  $^1\text{H}$  inicialmente apresentou características adequadas com os alcaloides pertencente a série homolicorina<sup>12</sup>. As principais características observadas no espectro incluem: (a) um hidrogênio singleto com deslocamento em 6,94 ppm, atribuído a um hidrogênio aromático da posição H-10; (b) um singleto largo em 6,06 ppm, integrando para dois hidrogênios atribuído ao grupo  $\text{OCH}_2\text{O}$  do anel aromático; (c) um singleto em 5,97 ppm com integração para um hidrogênio, atribuído a ao hidrogênio olefínico H-3; (d) um singleto largo em 4,31 ppm, integrando para um hidrogênio, atribuição considerada adequada para a posição 2 substituída; (e) um singleto em 4,14 ppm com integração para três hidrogênios, referentes portanto aos grupos OMe aromático; (f) um singleto com integração para três hidrogênios em 3,03 ppm, atribuído ao grupo *N*-Me, mais desblindado que o tipicamente observado.

Para os alcaloides do tipo homolicorina que são substituídos no anel aromático pelo grupo  $\text{OCH}_2\text{O}$ , encontra-se tipicamente o hidrogênio da posição 10 não substituído, sugerindo dessa forma, que a posição 8 esteja substituída. Nesse sentido, a identificação do grupo OMe na região de metoxilos aromáticos, indica o mesmo como o substituinte. A substituição ou não da posição 6 para esses derivados indica a série lactona ou hemiacetal, assim, devido a ausência de hidrogênios da posição 6, sugere-se pertencer a série das lactonas. A desblindagem para a posição 2 é evidenciada pela substituição nessa posição e não sendo observado o grupo OMe alifático, sugere-se que o substituinte da posição 2 seja um grupamento OH.

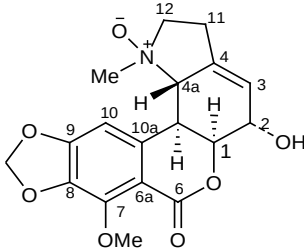
Para o grupo *N*Me que foi observado em 3,00 ppm é indicativo que o nitrogênio encontra-se ionizado, sugerindo que o composto possa estar na forma de sal ou na forma de *N*-óxido<sup>12,51</sup>. Necessitando-se da análise de massas de alta resolução para a sua confirmação.



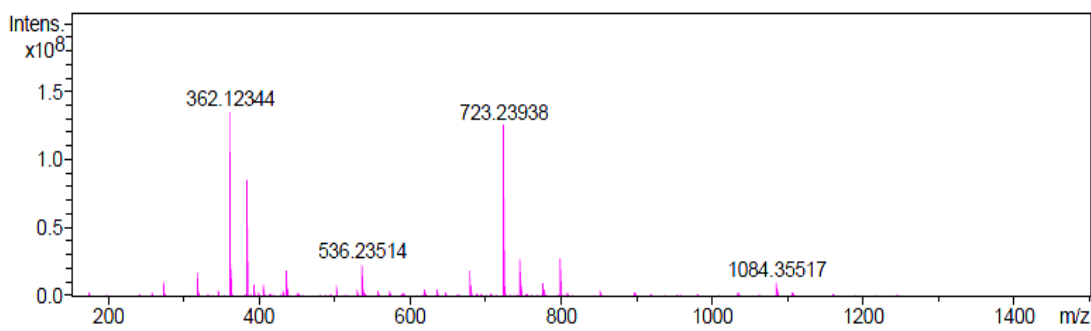
**Figura 25.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **(VIII)** e ampliações ( $\text{CDCl}_3$  - 400 MHz).

As características espectrais de RMN de  $^1\text{H}$  demonstrou-se uma semelhança considerável com o alcaloide candimina descrito por GIORDANI e colaboradores (2011)<sup>50</sup>, porém com os sinais mais desblindados, principalmente o grupo NMe. Nesse sentido, o composto isolado indica-se tratar do alcaloide candimina N-óxido, fazendo-se necessário a realização das demais análises de RMN ( $^{13}\text{C}$ , COSY, NOESY, HSQC e HMBC) para a completa elucidação estrutural. Sendo assim, os hidrogênios assinalados até o momento para o composto (**VIII**), encontram-se na Tabela 38.

**Tabela 38.** Alguns dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto (**VIII**).

| Estrutura                                                                          | Posição<br>( $\delta$ em ppm, J em<br>HZ) | Composto ( <b>VIII</b> )    |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------|
|                                                                                    |                                           |                             |
|  | <b>1</b>                                  | 4.61 br s                   |
|                                                                                    | <b>2<math>\beta</math></b>                | 4.31 m                      |
|                                                                                    | <b>3</b>                                  | 5.97 br s                   |
|                                                                                    | <b>4a</b>                                 | -                           |
|                                                                                    | <b>10</b>                                 | 6.94 s                      |
|                                                                                    | <b>10b</b>                                | -                           |
|                                                                                    | <b>11(2H)</b>                             | -                           |
|                                                                                    | <b>12<math>\alpha</math></b>              | -                           |
|                                                                                    | <b>12<math>\beta</math></b>               | 2.28 m                      |
|                                                                                    | <b>7-OMe</b>                              | 4.13 s                      |
|                                                                                    | <b>OCH<sub>2</sub>O</b>                   | 6.03 s                      |
|                                                                                    | <b>NMe</b>                                | 3,08 s                      |
|                                                                                    | <b>Solvente</b>                           | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz) |

A estrutura do alcaloide candimina N-óxido (**VIII**) pode ser confirmada através da análise de massas de alta resolução. Para o íon com  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  362,12344 foi calculado  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{NO}_7^+$  362,12343 conforme representado na Figura 26.



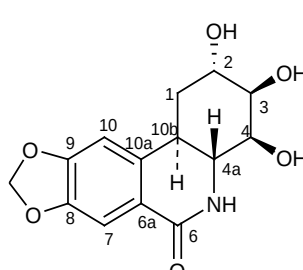
**Figura 26.** Espectro de massas de alta resolução do composto (**VIII**).

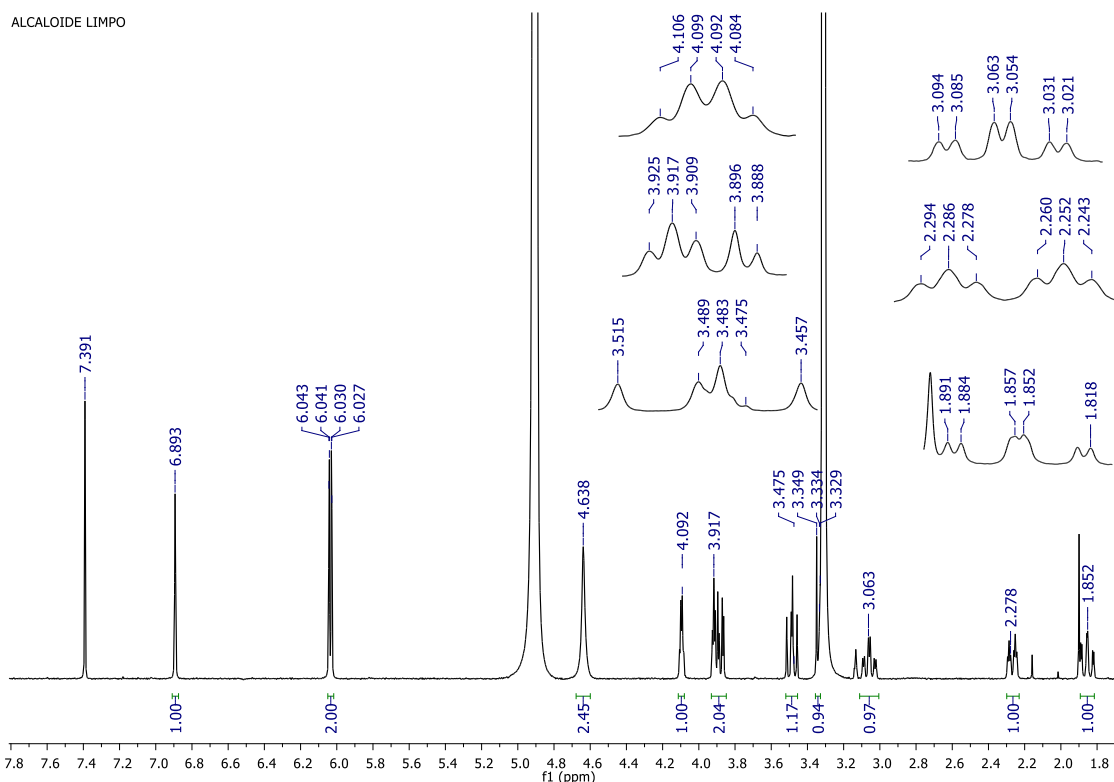
#### 4.2.1.2 Compostos conhecidos

##### 4.2.1.2.1 Composto II – 7-Deoxi-*trans*-dihidronarciclasine

O composto **(II)** foi isolado a partir da fração acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum diniz-cruzae* (cristalização espontânea), sendo obtido cerca de 8,4 mg do composto. O produto foi solubilizado em CD<sub>3</sub>OD e analisado inicialmente por RMN <sup>1</sup>H, não sendo possível a sua identificação, foram realizadas as demais análises bidimensionais, encontrando-se os espectros e a Tabela de dados bidimensionais no Anexo A.5, após a sua identificação realizou-se a comparação dos seus dados espectrais com a literatura<sup>53</sup> (Tabela 39 e Figura 27). Sendo necessário a realização da análise de RMN de <sup>1</sup>H para o composto **(III)**, em mesmo solvente que a literatura.

**Tabela 39.** Dados de RMN de <sup>1</sup>H do composto **(II)** em comparação com a literatura (PETTIT e MELODY, 2005).

| Estrutura                                                                           | Posição            | Composto (II)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | 7-deoxi- <i>trans</i> -narciclasine |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|----------------------------------------------|-------------------------------------|
|  | 1 $\alpha$         | 2,26 dt (13.6, 3.2)                          | 2,12 m                              |
|                                                                                     | 1 $\beta$          | 1,85 ddd (13.6, 12.8, 3.2)                   | 1,64 m                              |
|                                                                                     | 2                  | 4,09 q (3.2)                                 | 3,30 m                              |
|                                                                                     | 3                  | 3,91 t (3.2)                                 | 3,69 m                              |
|                                                                                     | 4                  | 3,88 dd (10.0, 3.2)                          | 3,69 m                              |
|                                                                                     | 4a                 | 3,48 dd (12.8, 10.0)                         | 3,86 m                              |
|                                                                                     | 7                  | 7,39 s                                       | 6,91 m                              |
|                                                                                     | 10                 | 6,89 s                                       | 6,91 m                              |
|                                                                                     | 10b                | 3,05 ddd (12.8, 12.8, 3.2)                   | 2,86 m                              |
|                                                                                     | OCH <sub>2</sub> O | 6,04 s                                       | 6,05 m                              |
|                                                                                     | Solvente           | CD <sub>3</sub> OD<br>(400MHz)               | CDCl <sub>3</sub><br>(300MHz)       |

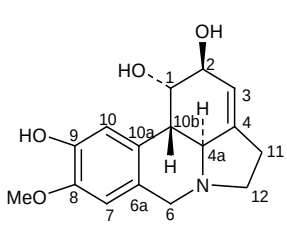


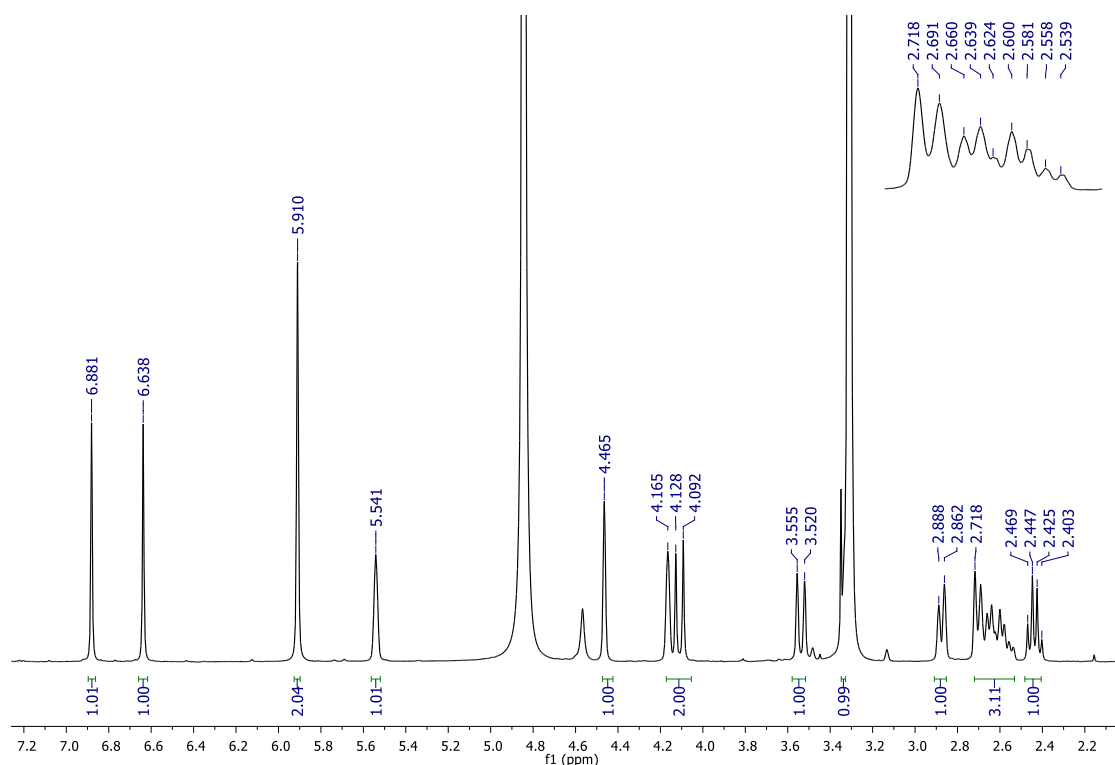
**Figura 27.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  dos compostos **(II)** em mistura e ampliações ( $\text{CD}_3\text{OD}$  - 400 MHz).

#### 4.2.1.2.2 Composto III – licorina

O composto **(III)** foi obtido da fração *n*-Hexano e acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum diniz-cruzae*, sendo no último, em forma de cristais, foram obtidos cerca de 11,5 mg do composto. O produto foi solubilizado em  $\text{CD}_3\text{OD}$  e analisado por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 40 e Figura 28), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>54</sup>

**Tabela 40.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **(III)** em comparação com a literatura (LIKHITWITAYAWUID et al., 1993).

| Estrutura                                                                         | Posição            | Composto (III)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | Licorina                        |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------|
|  | 1                  | 4,46 s                                        | 4,27 s                          |
|                                                                                   | 2 $\alpha$         | 4,16 br s                                     | 3,97 s                          |
|                                                                                   | 3                  | 5,54 s                                        | 5,37 s                          |
|                                                                                   | 4 $\alpha$         | 2,87 d (10.5)                                 | 2,60 d (10.6)                   |
|                                                                                   | 6 $\alpha$         | 3,54 d (14.4)                                 | 3,32 d (14.4)                   |
|                                                                                   | 6 $\beta$          | 4,12 d (14.4)                                 | 4,02 d (14.4)                   |
|                                                                                   | 7                  | 6,63 s                                        | 6,68 s                          |
|                                                                                   | 10                 | 6,88 s                                        | 6,81 s                          |
|                                                                                   | 10b                | 2,71 d (10.5)                                 | 2,50 m                          |
|                                                                                   | 11 (2H)            | 2,53-2,66 m                                   | 2,44 m                          |
|                                                                                   | 12 $\alpha$        | 2,44 q (8.8)                                  | 2,19 ddd (14.4; 8.6; 1.5)       |
|                                                                                   | 12 $\beta$         | 3,34 m                                        | 3,19 dd (14.4; 7.5)             |
|                                                                                   | OCH <sub>2</sub> O | 5,91 br l                                     | 5,94 s – 5,96 s                 |
|                                                                                   | Solvente           | CD <sub>3</sub> OD<br>(400MHz)                | DMSO-D <sub>6</sub><br>(300MHz) |



**Figura 28.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **(III)** e ampliações (CD<sub>3</sub>OD - 400 MHz).

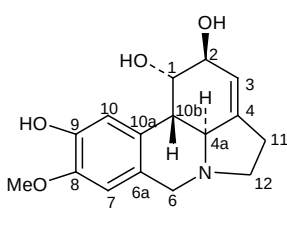
#### 4.2.1.2.3 Composto IV – pseudolicorina

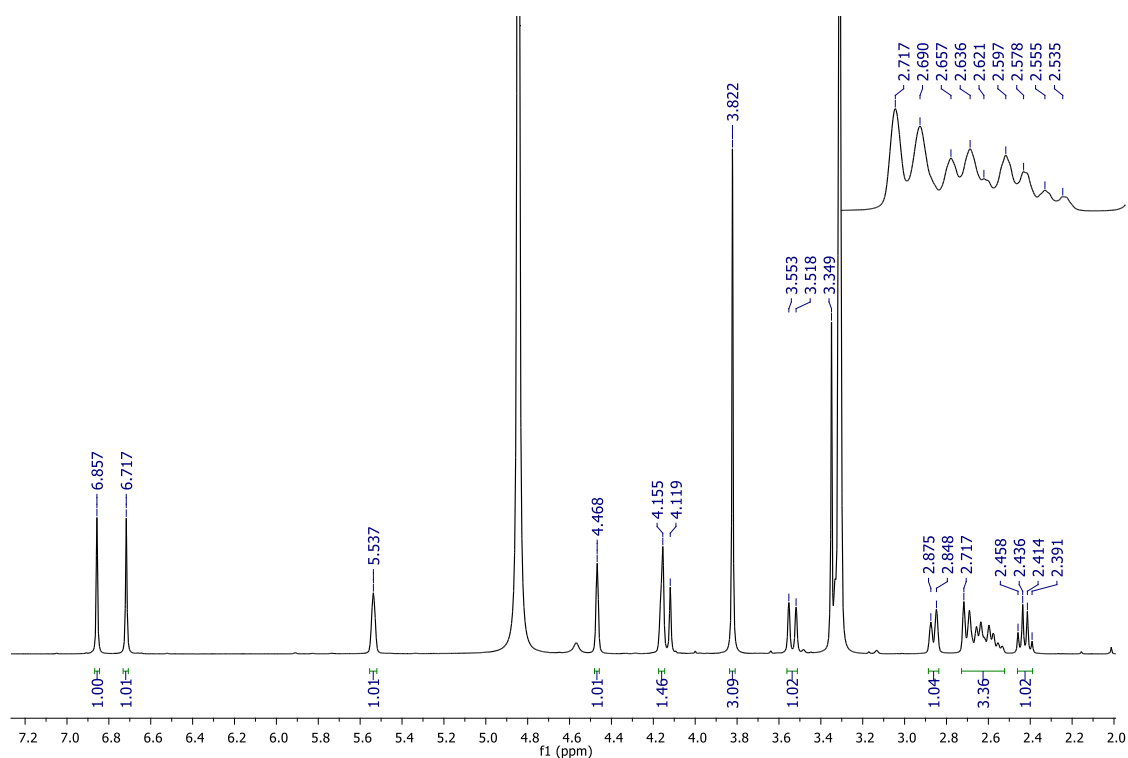
O composto **(IV)** foi obtido a partir da fração *n*-Hexano e acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum diniz-cruzae*, sendo no último em forma de cristais, foram



obtidos cerca de 11,8 mg do composto. O produto foi solubilizado em CD<sub>3</sub>OD e analisado por RMN <sup>1</sup>H (Tabela 41 e Figura 29), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>56</sup>.

**Tabela 41.** Dados de RMN de <sup>1</sup>H do composto (IV) em comparação com a literatura (LLABRÉS et al., 1986).

| Estrutura                                                                         | Posição     | Composto (IV)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | Pseudolicorina                                    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------|----------------------------------------------|---------------------------------------------------|
|  | 1           | 4,46 s                                       | 4,85 br s                                         |
|                                                                                   | 2 $\alpha$  | 4,15 br s                                    | 4,50 t                                            |
|                                                                                   | 3           | 5,53 s                                       | 5,60 t                                            |
|                                                                                   | 4a          | 2,87 br d (10.8)                             | 3,02 br d                                         |
|                                                                                   | 6 $\alpha$  | 3,55 d (14.4)                                | 3,68 br d                                         |
|                                                                                   | 6 $\beta$   | 4,11 d (14.4)                                | 4,16 d                                            |
|                                                                                   | 7           | 6,71 br s                                    | 6,71 s                                            |
|                                                                                   | 10          | 6,85 s                                       | 6,89 s                                            |
|                                                                                   | 10b         | 2,71 d (10.8)                                | 2,74 br d                                         |
|                                                                                   | 11 (2H)     | 2,53-2,65 m                                  | 2,6-2,7 m                                         |
|                                                                                   | 12 $\alpha$ | 2,43 q (8.8)                                 | 3,37 dd                                           |
|                                                                                   | 12 $\beta$  | 3,34 m                                       | 3,37 dd                                           |
|                                                                                   | 8-OMe       | 3,82 s                                       | 3,84 s                                            |
|                                                                                   | Solvente    | CD <sub>3</sub> OD<br>(400MHz)               | CDCl <sub>3</sub> /CD <sub>3</sub> OD<br>(200MHz) |

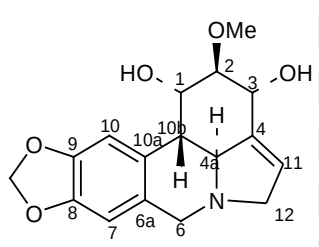


**Figura 29.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto (IV) e ampliações (CD<sub>3</sub>OD - 400 MHz).

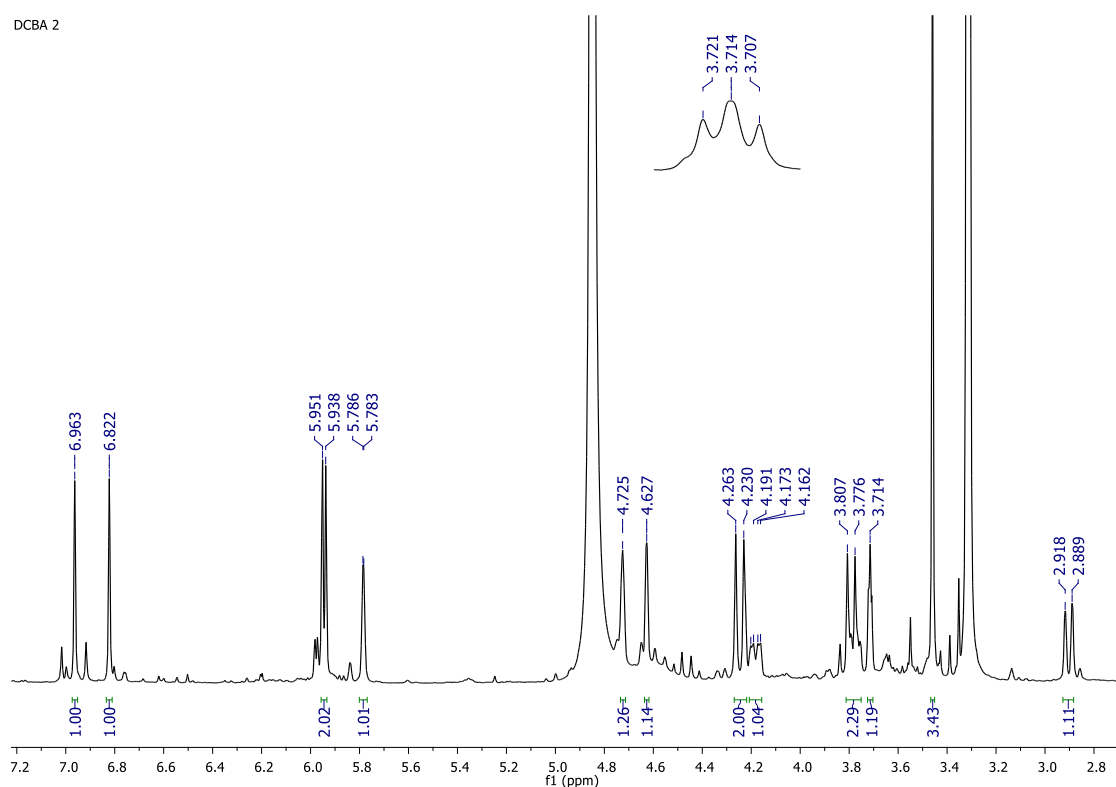
#### 4.2.1.2.4 Composto V – ungiminorina

O composto (**V**) foi obtido a partir da fração acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum diniz-cruzae*, sendo obtidos cerca de 2,4 mg do composto. O produto foi solubilizado em CD<sub>3</sub>OD e analisado por RMN <sup>1</sup>H (Tabela 42 e Figura 30), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>57</sup>.

**Tabela 42.** RMN de <sup>1</sup>H do composto (**V**) em comparação com a literatura (INGKANINAN, 2000).

| Estrutura                                                                          | Posição            | Composto (V)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | Ungiminorina                   |
|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------------|--------------------------------|
|  | 1                  | 4,72 br s                                   | 4,69 s                         |
|                                                                                    | 2                  | 3,70 br t (2.8)                             | 3,69 m                         |
|                                                                                    | 3                  | 4,62 br s                                   | 4,60 br d                      |
|                                                                                    | 4a                 | 4,17 br dd (11.6, 4.4)                      | 4,09 m                         |
|                                                                                    | 6 $\alpha$         | 3,78 m                                      | 3,69 m                         |
|                                                                                    | 6 $\beta$          | 4,24 br d (13.2)                            | 4,15 br d (12.9)               |
|                                                                                    | 7                  | 6,82 s                                      | 6,78 s                         |
|                                                                                    | 10                 | 6,96 s                                      | 6,93 s                         |
|                                                                                    | 10b                | 2,89 d (11.6)                               | 2,84 br d (11.3)               |
|                                                                                    | 11                 | 5,78 br d (1.2)                             | 5,75 br d (1.7)                |
|                                                                                    | 12 $\alpha$        | 3,78 m                                      | 3,69 m                         |
|                                                                                    | 12 $\beta$         | 4,24 br d (13.2)                            | 4,15 br d (12.9)               |
|                                                                                    | 2-OMe              | 3,46 s                                      | 3,44 s                         |
|                                                                                    | OCH <sub>2</sub> O | 5,94 d (1.2)                                | 5,92 s                         |
|                                                                                    | Solvente           | CD <sub>3</sub> OD<br>(400MHz)              | CD <sub>3</sub> OD<br>(600MHz) |

DCBA 2

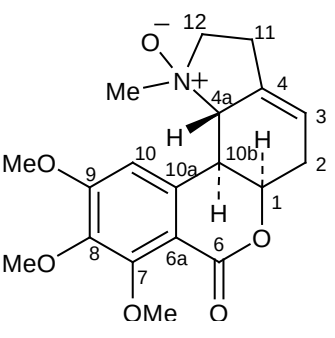


**Figura 30.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto (**V**) e ampliações (CD<sub>3</sub>OD - 400 MHz).

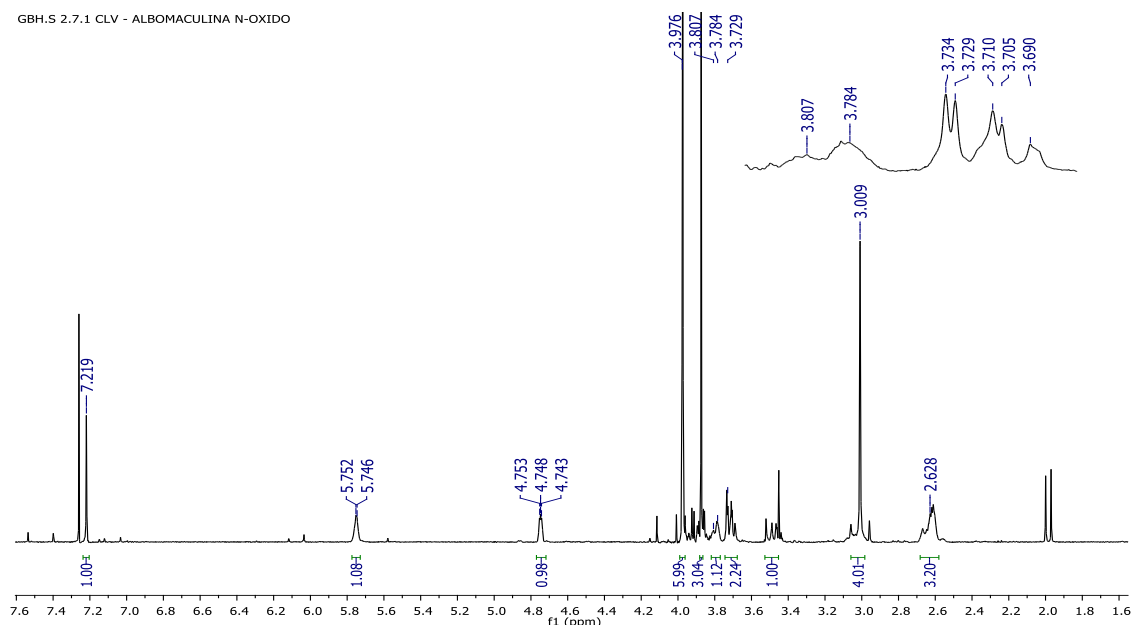
#### 4.2.1.2.5 Composto IX – albomaculina N-óxido

O composto **(IX)** foi obtido a partir da fração *n*-Hexano dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtido cerca de 17,2 mg do composto. O produto foi solubilizado em  $\text{CDCl}_3$  e analisado por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 43 e Figura 31), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>58</sup>. A estrutura também foi comprovada pela análise de espectrometria de massas de alta resolução, observando-se o íon com  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  362.15980 (calculado  $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{NO}_6^+$  362.15982), possuindo seu espectro de massas no Anexo A.6.

**Tabela 43.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **(IX)** em comparação com a literatura (OLIVEIRA, 2017).

| Estrutura                                                                           | Posição     | Composto (IX)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | Albomaculina N-óxido        |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------|----------------------------------------------|-----------------------------|
|  | 1           | 4.74 s                                       | 4,76 s                      |
|                                                                                     | 2 (2H)      | 2.58-2.69 m                                  | 2,71-2,59 m                 |
|                                                                                     | 3           | 5.75 s                                       | 5,76 s                      |
|                                                                                     | 4a          | 3.80 br d (9.2)                              | 3,80 br d                   |
|                                                                                     | 10          | 7.21 s                                       | 7,23 s                      |
|                                                                                     | 10b         | 3.73 dd (9.6, 2.0)                           | 3,74 dd (9,6; 2,0)          |
|                                                                                     | 11 $\alpha$ | 3,01-3,08 m                                  | 3,01-3,11 m                 |
|                                                                                     | 11 $\beta$  | 2.61-2.66 m                                  | 2,59-2,71 m                 |
|                                                                                     | 12 $\alpha$ | 3.69-3,70 m                                  | 3,65-3,72 m                 |
|                                                                                     | 12 $\beta$  | 3.42-3,52 m                                  | 3,42-3,52 m                 |
|                                                                                     | 7-OMe       | 3.97 s                                       | 3,99 s                      |
|                                                                                     | 8-OMe       | 3.87 s                                       | 3,88 s                      |
|                                                                                     | 9-OMe       | 3.97 s                                       | 3,98 s                      |
|                                                                                     | NMe         | 3.01 s                                       | 3,00 s                      |
|                                                                                     | Solvente    | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz)                  | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz) |

GBH.S 2.7.1 CLV - ALBOMACULINA N-OXIDO

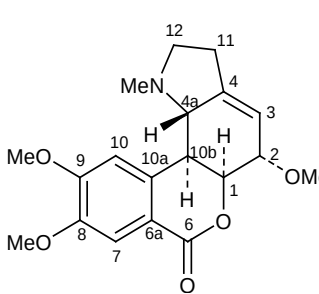


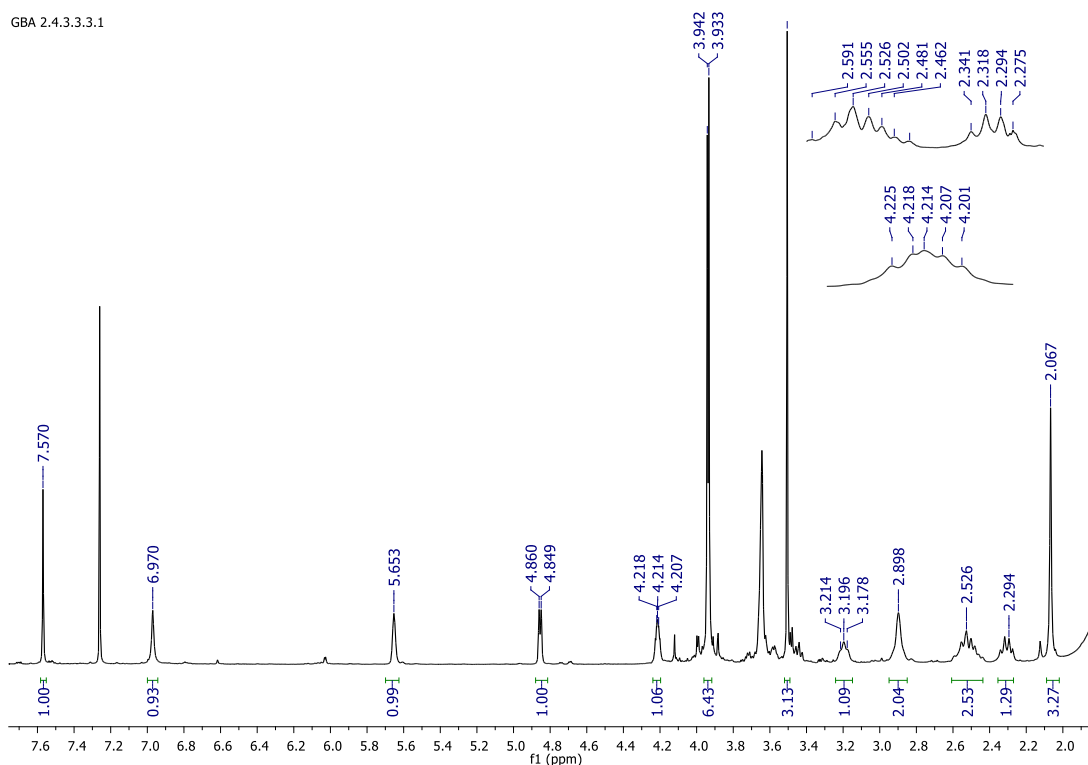
**Figura 31.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto (IX) e ampliações ( $\text{CDCl}_3$  - 400 MHz).

#### 4.2.1.2.6 Composto X – 2 $\alpha$ -metoxihomolicorina

O composto (X) foi obtido a partir da fração acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtidos cerca de 12,0 mg do composto. O produto foi solubilizado em  $\text{CDCl}_3$  e analisado por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 44 e Figura 32) sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>58</sup>.

**Tabela 44.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto (X) em comparação com a literatura (OLIVEIRA, 2017).

| Estrutura                                                                           | Posição     | Composto (X)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | 2 $\alpha$ -metoxihomolicorina |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------|---------------------------------------------|--------------------------------|
|  | 1           | 4.86 d (4.4)                                | 4,78 d (4,8)                   |
|                                                                                     | 2 $\beta$   | 4.21 m                                      | 4,14 s                         |
|                                                                                     | 3           | 5.65 s                                      | 5,57 s                         |
|                                                                                     | 4a          | 2.89 br s                                   | 2,79 s                         |
|                                                                                     | 7           | 7.57 s                                      | 7,50 s                         |
|                                                                                     | 10          | 6.97 s                                      | 6,87 s                         |
|                                                                                     | 10b         | 2.89 br s                                   | 2,79 s                         |
|                                                                                     | 11 (2H)     | 2.46 – 2.59 m                               | 2,34-2,53 m                    |
|                                                                                     | 12 $\alpha$ | 3.19 m                                      | 3,06-3,13 m                    |
|                                                                                     | 12 $\beta$  | 2.30 q (9.6)                                | 2,20 q (9,2)                   |
|                                                                                     | 2-OMe       | 3.50 s                                      | 3,44 s                         |
|                                                                                     | 8-OMe       | 3.93 s                                      | 3,86 s                         |
|                                                                                     | 9-OMe       | 3.94 s                                      | 3,87 s                         |
|                                                                                     | NMe         | 2.06 s                                      | 1,97 s                         |
|                                                                                     | Solvente    | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz)                 | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz)    |

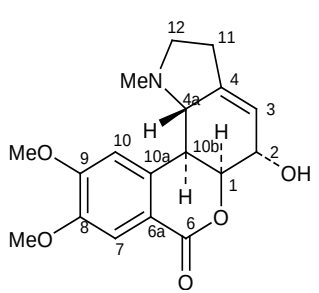


**Figura 32.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **(X)** e ampliações ( $\text{CDCl}_3$  - 400 MHz).

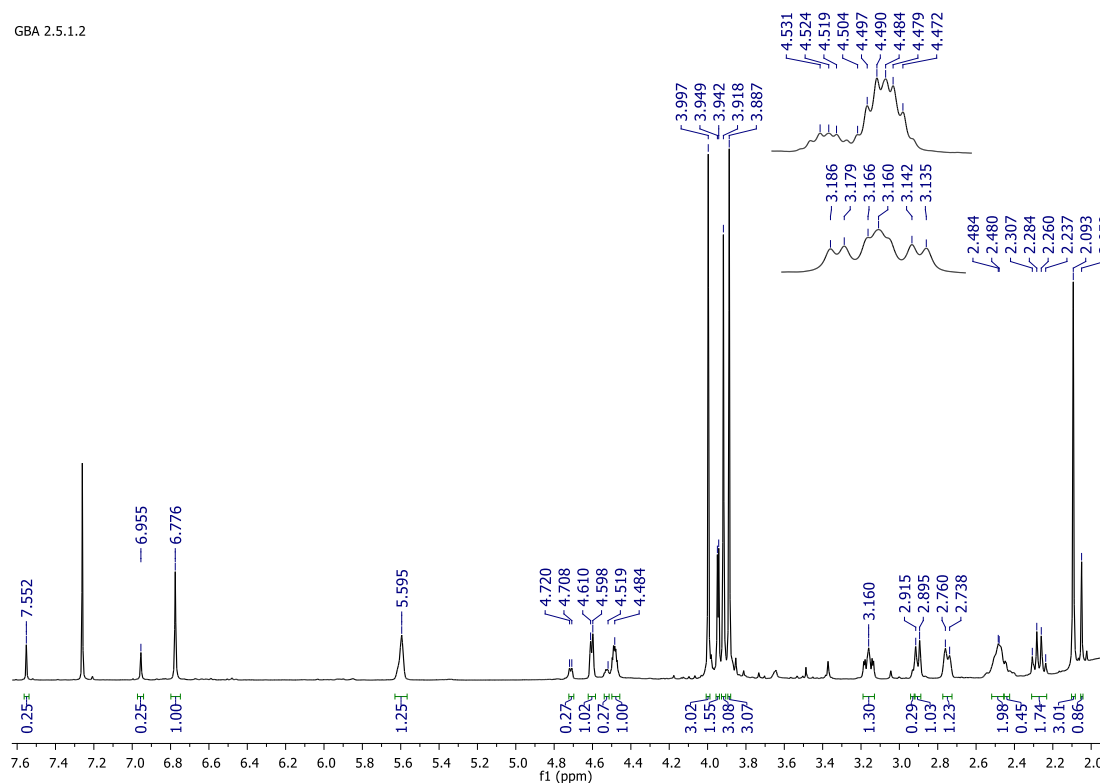
#### 4.2.1.2.7 Composto XI – 2 $\alpha$ -hidroxialbomaculina

O composto **(XI)** foi obtido em mistura com o alcaloide 2 $\alpha$ -hidroxialbomaculina a partir da fração acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtidos cerca de 6,0 mg do composto. O produto foi solubilizado em  $\text{CDCl}_3$  e analisado por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 45 e Figura 33), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>59</sup>.

**Tabela 45.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **(XI)** em comparação com a literatura (JEFFS et al., 1985).

| Estrutura                                                                         | Posição     | Composto (XI)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | 2 $\alpha$ -hidroxihomolicorina |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------|----------------------------------------------|---------------------------------|
|  | 1           | 4,72 br d (4.8)                              | 4,63 br s                       |
|                                                                                   | 2 $\beta$   | 4,52 m                                       | 4,40 br s                       |
|                                                                                   | 3           | 5,59 br s                                    | 5,72 br s                       |
|                                                                                   | 4a          | 2,76 br d (8.4)                              | 3,02 m                          |
|                                                                                   | 7           | 7,55 s                                       | 7,50 s                          |
|                                                                                   | 10          | 6,95 s                                       | 7,07 s                          |
|                                                                                   | 10b         | 2,91 br d (8.4)                              | 3,32 m                          |
|                                                                                   | 11 (2H)     | 2,44-2,54 m                                  | 2,50- 2-60 m                    |
|                                                                                   | 12 $\alpha$ | 3,16 ddd (9.6, 8.0, 2.8)                     | 3,20 m                          |
|                                                                                   | 12 $\beta$  | 2,28 q (9.6)                                 | 2,30 m                          |
|                                                                                   | 8-OMe       | 3,94 s                                       | 3,96 s                          |
|                                                                                   | 9-OMe       | 3,94 s                                       | 3,92 s                          |
|                                                                                   | NMe         | 2,05 s                                       | 2,09 s                          |
|                                                                                   | Solvente    | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz)                  | $\text{CDCl}_3$<br>(250MHz)     |

GBA 2.5.1.2



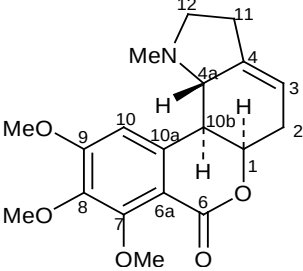
**Figura 33.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **(XI)** em mistura e ampliações ( $\text{CDCl}_3$  - 400 MHz).

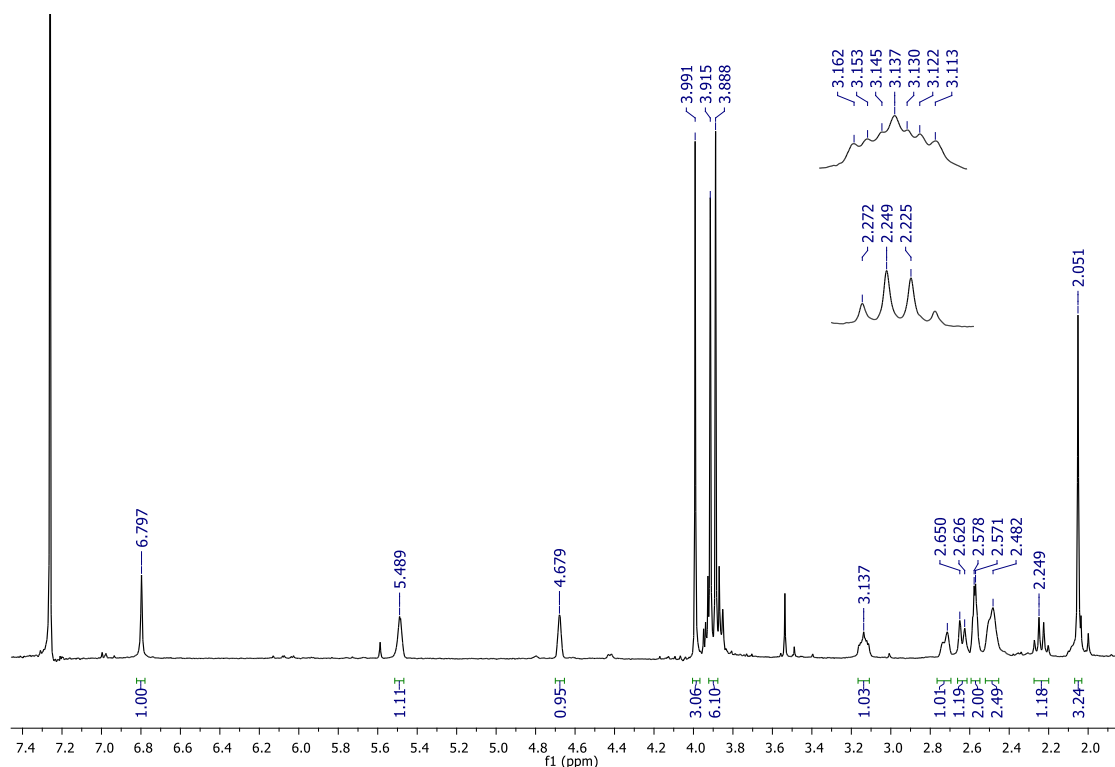
#### 4.2.1.2.8 Composto XII – albomaculina

O composto **(XII)** foi obtido a partir da fração *n*-Hexano e acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtidos cerca de 17,2 mg do composto.

O produto foi solubilizado em  $\text{CDCl}_3$  e analisado por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 46 e Figura 34), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>52</sup>.

**Tabela 46.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto (**XII**) em comparação com a literatura (de ANDRADE et al., 2014).

| Estrutura                                                                         | Posição                      | Composto ( <b>XII</b> )<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | albomaculina                |
|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------|-----------------------------|
|  | <b>1</b>                     | 4,67 br s                                              | 4,68 m                      |
|                                                                                   | <b>2 (2H)</b>                | 2,57-2,58 m                                            | 2,55-2,60 m                 |
|                                                                                   | <b>3</b>                     | 5,48 s                                                 | 5,48 m                      |
|                                                                                   | <b>4a</b>                    | 2,72 br d (9,4)                                        | 2,72 d (10,0)               |
|                                                                                   | <b>10</b>                    | 6,79 s                                                 | 6,78 s                      |
|                                                                                   | <b>10b</b>                   | 2,63 d (9,4)                                           | 2,63 d (10,0)               |
|                                                                                   | <b>11 (2H)</b>               | 2,45-2,52 m                                            | 2,45- 2-53 m                |
|                                                                                   | <b>12<math>\alpha</math></b> | 3,13 ddd (9,2, 6,8, 3,6)                               | 3,13 ddd (9,6; 7,2; 3,6)    |
|                                                                                   | <b>12<math>\beta</math></b>  | 2,23 q (9,2)                                           | 2,23 q (9,6)                |
|                                                                                   | <b>7-OMe</b>                 | 3,99 s                                                 | 3,99 s                      |
|                                                                                   | <b>8-OMe</b>                 | 3,88 s                                                 | 3,89 s                      |
|                                                                                   | <b>9-OMe</b>                 | 3,91 s                                                 | 3,91 s                      |
|                                                                                   | <b>NMe</b>                   | 2,05 s                                                 | 2,05 s                      |
|                                                                                   | <b>Solvente</b>              | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz)                            | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz) |



**Figura 34.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto (**XII**) e ampliações ( $\text{CDCl}_3$  - 400 MHz).

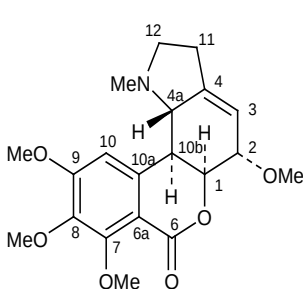




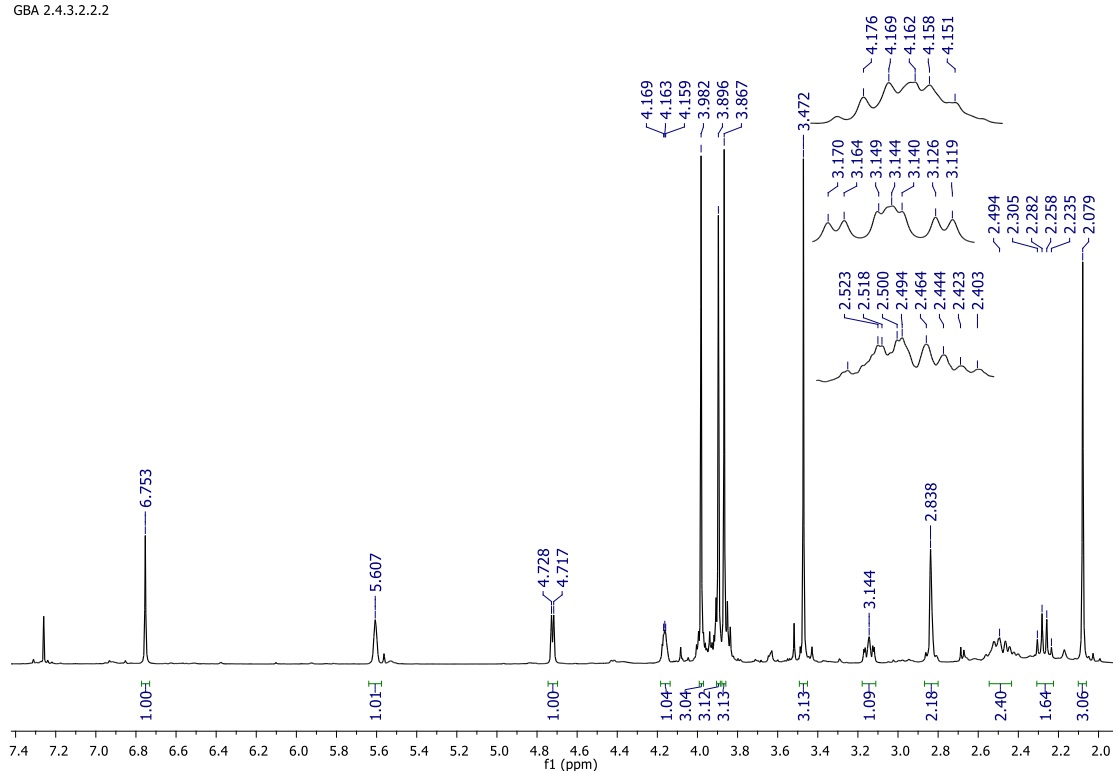
#### 4.2.1.2.10 Composto XIV – 2 $\alpha$ ,7-dimetoxihomolicorina

O composto (**XIV**) foi obtido a partir da fração *n*-Hexano e acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtidos cerca de 28,6 mg do composto. O produto foi solubilizado em CDCl<sub>3</sub> e analisado por RMN <sup>1</sup>H (Tabela 48 e Figura 36), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>50</sup>.

**Tabela 48.** Dados de RMN de <sup>1</sup>H do composto (**XIV**) em comparação com a literatura (GIORDANI et al., 2011).

| Estrutura                                                                          | Posição     | Composto (XIV)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | 2 $\alpha$ ,7-<br>dimetóxihomolicorina |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------|
|                                                                                    |             |                                               | ( $\delta$ em ppm, J em HZ)            |
|  | 1           | 4,72 <i>d</i> (4.4)                           | 4,73 <i>d</i> (4,5)                    |
|                                                                                    | 2 $\beta$   | 4.16 <i>m</i>                                 | 4,18 <i>m</i>                          |
|                                                                                    | 3           | 5.60 <i>br s</i>                              | 5,62 <i>br s</i>                       |
|                                                                                    | 4a          | 2.83 <i>br s</i>                              | 2,83 <i>s</i>                          |
|                                                                                    | 10          | 6.75 <i>s</i>                                 | 6,74 <i>s</i>                          |
|                                                                                    | 10b         | 2.83 <i>br s</i>                              | 2,83 <i>s</i>                          |
|                                                                                    | 11 $\alpha$ | 2,51 <i>br dd</i> (9.2, 2.0)                  | 2,52 <i>br dd</i> (9,0; 2,0)           |
|                                                                                    | 11 $\beta$  | 2,45 <i>br d</i> (9.2)                        | 2,46 <i>br d</i> (9,0)                 |
|                                                                                    | 12 $\alpha$ | 3.14 <i>ddd</i> (9.5, 8.4, 2.4)               | 3,14 <i>ddd</i> (9,5; 8,0; 2,5)        |
|                                                                                    | 12 $\beta$  | 2,27 <i>q</i> (9.5)                           | 2,27 <i>q</i> (9,5)                    |
|                                                                                    | 2-OMe       | 3.47 <i>s</i>                                 | 3,49 <i>s</i>                          |
|                                                                                    | 7-OMe       | 3.98 <i>s</i>                                 | 4,00 <i>s</i>                          |
|                                                                                    | 8-OMe       | 3.86 <i>s</i>                                 | 3,88 <i>s</i>                          |
|                                                                                    | 9-OMe       | 3.89 <i>s</i>                                 | 3,90 <i>s</i>                          |
|                                                                                    | NMe         | 2.07 <i>s</i>                                 | 2,08 <i>s</i>                          |
|                                                                                    | Solvente    | CDCl <sub>3</sub><br>(400MHz)                 | CDCl <sub>3</sub><br>(500MHz)          |

GBA 2.4.3.2.2.2



**Figura 36.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **(XIV)** e ampliações ( $\text{CDCl}_3$  - 400 MHz)..

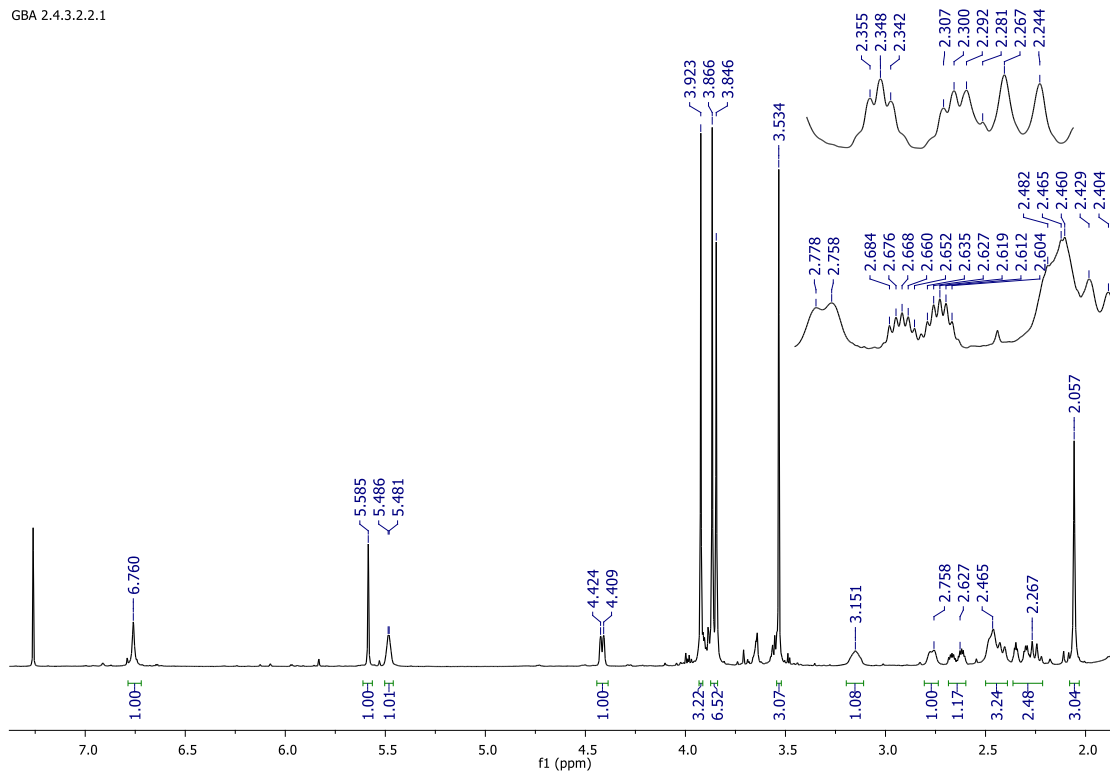
#### 4.2.1.2.11 Composto XV – 7-metoxi-O-metillicorenina

O composto **(XV)** foi isolado a partir da fração *n*-Hexano e acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtidos cerca de 11,1 mg do composto. O produto foi solubilizado em  $\text{CDCl}_3$  e analisado por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 49 e Figura 37), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>52</sup>.

**Tabela 49.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **(XV)** em comparação com a literatura (de ANDRADE et al., 2014).

| Estrutura | Posição     | Composto (XV)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | 7-metoxi-O-<br>metillicorenina   |
|-----------|-------------|----------------------------------------------|----------------------------------|
|           |             |                                              |                                  |
|           | 1           | 4.43 <i>br d</i> (6.0)                       | 4,40 <i>br d</i> (6.5)           |
|           | 2 $\alpha$  | 2.62 <i>ddt</i> (19.2, 6.0, 3.2)             | 2,67 <i>ddt</i> (19.0, 6.5, 3.0) |
|           | 2 $\beta$   | 2.30 <i>dt</i> (19.2, 3.2)                   | 2,29 <i>dt</i> (19.5, 3.0)       |
|           | 3           | 5.58 <i>br s</i>                             | 5,55 <i>br s</i>                 |
|           | 4a          | 2.77 <i>br d</i> (8.0)                       | 2,92 <i>br d</i> (10.0)          |
|           | 6 $\beta$   | 5.48 <i>br s</i>                             | 5,52 <i>s</i>                    |
|           | 10          | 6.76 <i>s</i>                                | 6,85 <i>s</i>                    |
|           | 10b         | 2.40-2.48 <i>m</i>                           | 2,47 <i>dd</i> (10.0, 2.0)       |
|           | 11(2H)      | 2.38- 2.50 <i>m</i>                          | 2,49- 2,58 <i>m</i>              |
|           | 12 $\alpha$ | 3.15 <i>m</i>                                | 3,22 <i>ddd</i> (10.5, 7.5, 3.0) |
|           | 12 $\beta$  | 2.26 <i>q</i> (9.2)                          | 2,42 <i>m</i>                    |
|           | 6-OMe       | 3.53 <i>s</i>                                | 3,51 <i>s</i>                    |
|           | 7-OMe       | 3.92 <i>s</i>                                | 3,89 <i>s</i>                    |
|           | 8-OMe       | 3.84 <i>s</i>                                | 3,82 <i>s</i>                    |
|           | 9-OMe       | 3.86 <i>s</i>                                | 3,87 <i>s</i>                    |
|           | NMe         | 2.05 <i>s</i>                                | 2,11 <i>s</i>                    |
|           | Solvente    | CDCl <sub>3</sub><br>(400MHz)                | CD <sub>3</sub> OD<br>(500MHz)   |

GBA 2.4.3.2.2.1

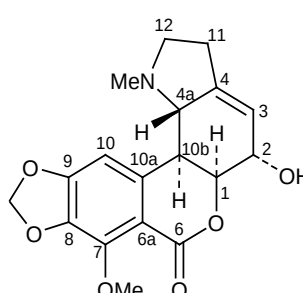


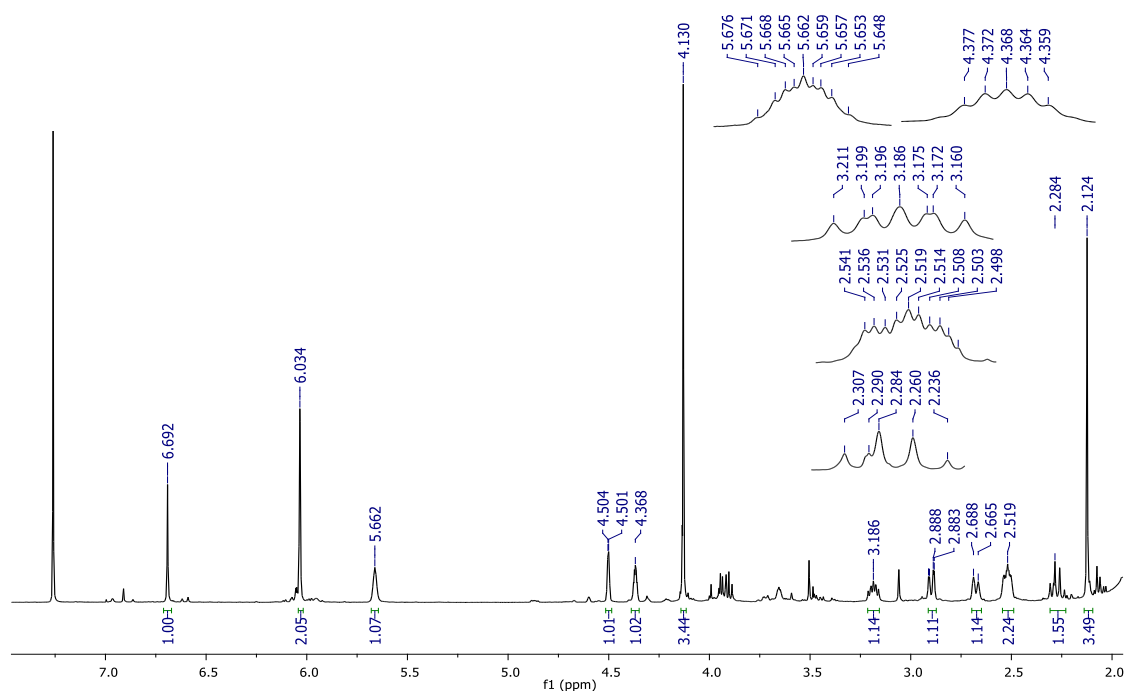
**Figura 37.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto (XV) e ampliações (CDCl<sub>3</sub> - 400 MHz).

#### 4.2.1.2.12 Composto XVI – candimina

O composto **(XVI)** foi isolado a partir da fração acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtidos cerca de 31,6 mg do composto. O produto foi solubilizado em  $\text{CDCl}_3$  e analisado por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 50 e Figura 38), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>50</sup>.

**Tabela 50.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **(XVI)** em comparação com a literatura (GIORDANI et al., 2011).

| Estrutura                                                                          | Posição            | Composto (XVI)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | Candimina                   |
|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------|
|  | 1                  | 4.50 br d (1.2)                               | 4.50 br d (1.5)             |
|                                                                                    | 2 $\beta$          | 4.36 m                                        | 4.37 dt (4.0, 1.5)          |
|                                                                                    | 3                  | 5.66 m                                        | 5.63 m                      |
|                                                                                    | 4a                 | 2.67 d (9.2)                                  | 2.63 d (9.5)                |
|                                                                                    | 10                 | 6.69 s                                        | 6.68 s                      |
|                                                                                    | 10b                | 2.88 dd (9.2, 2.0)                            | 2.85 dd (9.5, 2.0)          |
|                                                                                    | 11(2H)             | 2.49- 2.54 m                                  | 2.42- 2.55 m                |
|                                                                                    | 12 $\alpha$        | 3.18 m                                        | 3.15 ddd (9.5, 8.0, 3.0)    |
|                                                                                    | 12 $\beta$         | 2.28 q (9.2)                                  | 2.24 dd (9.5, 9.0)          |
|                                                                                    | 7-OMe              | 4.13 s                                        | 4.13 s                      |
|                                                                                    | OCH <sub>2</sub> O | 6.03 s                                        | 6.03 s                      |
|                                                                                    | NMe                | 2.12 s                                        | 2.09 s                      |
|                                                                                    | Solvente           | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz)                   | $\text{CDCl}_3$<br>(500MHz) |



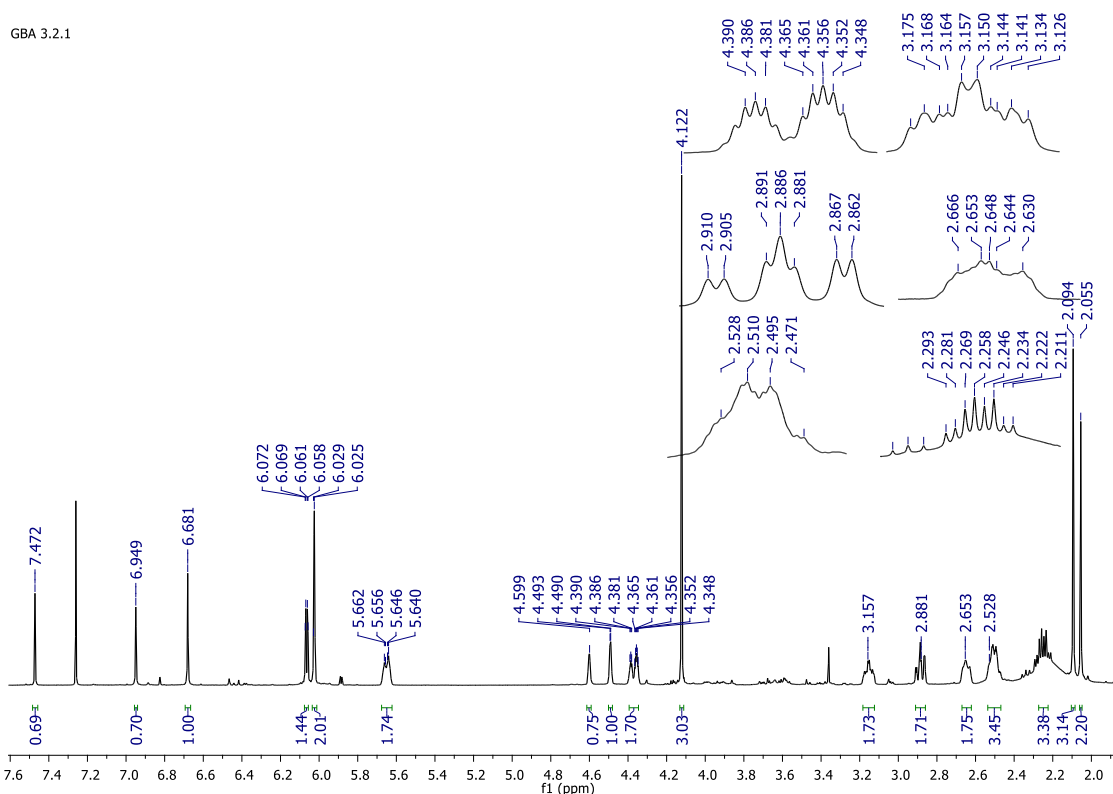
**Figura 38.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **(XVI)** e ampliações ( $\text{CDCl}_3$  - 400 MHz).

#### 4.2.1.2.13 Composto XVII – hippeastrina

O composto **(XVII)** foi obtido em mistura com o alcaloide candimina a partir da fração acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtidos cerca de 15,5 mg do composto. O produto foi solubilizado em  $\text{CDCl}_3$  e analisado por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 51 e Figura 39), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura (ALMANZA *et al.*, 1996).

**Tabela 51.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **(XVII)** em comparação com a literatura (ALMANZA *et al.*, 1996).

| Estrutura | Posição                      | Composto (XVII)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | hippeastrina                     |
|-----------|------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------|
|           | <b>1</b>                     | 4,59 <i>br s</i>                               | 4,62 <i>br s</i>                 |
|           | <b>2<math>\beta</math></b>   | 4,35 <i>m</i>                                  | 4,38 <i>br s</i>                 |
|           | <b>3</b>                     | 5,65 <i>br s</i>                               | 5,63 <i>br s</i>                 |
|           | <b>4a</b>                    | 2,65 <i>m</i>                                  | 2,62 <i>d</i> (9,5)              |
|           | <b>7</b>                     | 7,47 <i>s</i>                                  | 7,45 <i>s</i>                    |
|           | <b>10</b>                    | 6,94 <i>s</i>                                  | 6,92 <i>s</i>                    |
|           | <b>10b</b>                   | 2,88 <i>m</i>                                  | 2,85 <i>dd</i> (9,5; 2,5)        |
|           | <b>11(2H)</b>                | 2,47-2,53 <i>m</i>                             | 2,48 <i>m</i>                    |
|           | <b>12<math>\alpha</math></b> | 3,15 <i>m</i>                                  | 3,13 <i>ddd</i> (10,0; 8,0; 3,0) |
|           | <b>12<math>\beta</math></b>  | 2,21-2,29 <i>m</i>                             | 2,23 <i>ddd</i> (10,0; 9,0; 9,0) |
|           | <b>OCH<sub>2</sub>O</b>      | 6,07 <i>br 2d</i> (1,2)                        | 6,04 <i>2d</i> (1,5)             |
|           | <b>NMe</b>                   | 2,10 <i>s</i>                                  | 2,03 <i>s</i>                    |
|           | <b>Solvente</b>              | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz)                    | $\text{CDCl}_3$<br>(500MHz)      |



**Figura 39.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **(XVII)** obtido em mistura e ampliações ( $\text{CDCl}_3$  - 400 MHz).

#### 4.2.1.2.14 Composto XVIII e XIX – haemantidina e 6-epihaematidina

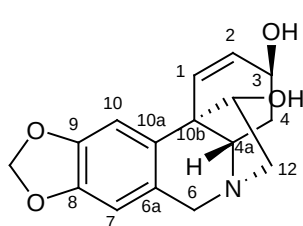
Os compostos **(XVIII)** e **(XIX)** foram obtidos em uma mistura de epímeros a partir da fração acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtido cerca de 3,5 mg do composto. Os produtos foram solubilizados em  $\text{CDCl}_3$  e analisados por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 52 e Figura 40), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>62,14</sup>. Sendo necessário para a confirmação da configuração absoluta desses alcaloides a realização da análise de DC, pois os esqueletos diferem-se entre si, pela orientação da ponte (5, 10b-etano), sendo haemantamina ( $\alpha$ ) e crinina ( $\beta$ ).

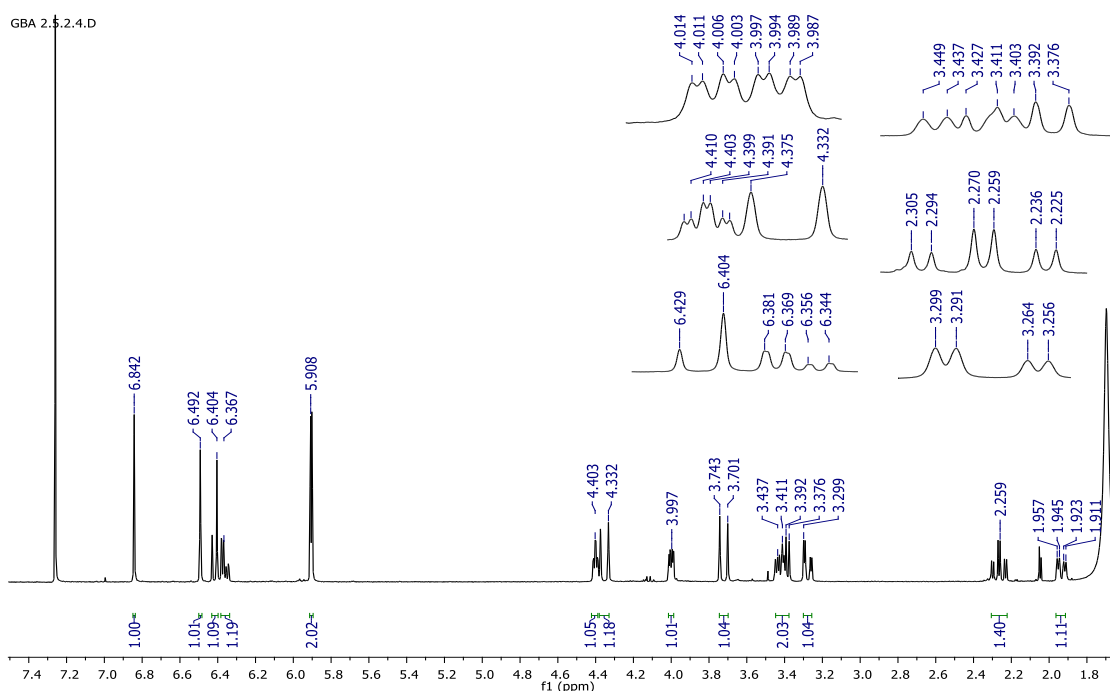


#### 4.2.1.2.15 Composto XX – 11-hidroxitatina

O composto (**XX**) foi isolado a partir da fração acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtidos cerca de 6,1 mg do composto. Os produtos foram solubilizados em  $\text{CDCl}_3$  e analisados por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 53 e Figura 41), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>63</sup>. Faz-se necessário para a confirmação da configuração absoluta desse alcaloide a realização da análise de DC.

**Tabela 53.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto (**XX**) em comparação com a literatura (EVIDENTE et al, 1986).

| Estrutura                                                                          | Posição            | Composto (XX)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | 11-Hidroxitatina                   |
|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|----------------------------------------------|------------------------------------|
|  | 1                  | 6,40 d (10.0)                                | 6,41 d (9,9)                       |
|                                                                                    | 2                  | 6,36 dd (10.0, 4.8)                          | 6,19 dd (9.9, 4.8)                 |
|                                                                                    | 3                  | 4,40 ddd (4.4, 4.4, 1.6)                     | 4,28 ddd (4.8, 4.8, 1,5)           |
|                                                                                    | 4 $\alpha$         | 2,25 ddd (13.6, 13.6, 4.4)                   | 2,28 ddd (13.6, 13.6, 4.8)         |
|                                                                                    | 4 $\beta$          | 1,94 ddd (13.6, 4.8, 1.2)                    | 1,85 ddd (13.6, 4.8, 1.5)          |
|                                                                                    | 4a                 | 3,37-3,44 m                                  | 3,47 dd (13.6, 4.8)                |
|                                                                                    | 6 $\alpha$         | 3,74 d (17.0)                                | 3,84 d (16.9)                      |
|                                                                                    | 6 $\beta$          | 4,33 d (17.0)                                | 4.35 d (16.9)                      |
|                                                                                    | 7                  | 6,49 s                                       | 6,56 s                             |
|                                                                                    | 10                 | 6,84 s                                       | 6,94 s                             |
|                                                                                    | 11                 | 3,99 ddd (6.8, 3.6, 1.2)                     | 3,98 dd (7.0, 3.7)                 |
|                                                                                    | 12-endo            | 3,27 dd (14.0, 3.2)                          | 3,20 dd (13.6, 3.7)                |
|                                                                                    | 12-exo             | 3,37-3,44 m                                  | 3,50 dd (13.6, 7.0)                |
|                                                                                    | OCH <sub>2</sub> O | 5,89 d (1.2), 5.90 d (1.2)                   | 5,89 s                             |
|                                                                                    | Solvente           | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz)                  | $\text{CD}_3\text{OD}$<br>(270MHz) |



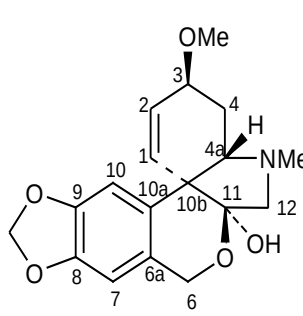
**Figura 41.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto (**XX**) e ampliações ( $\text{CDCl}_3$  - 400 MHz).

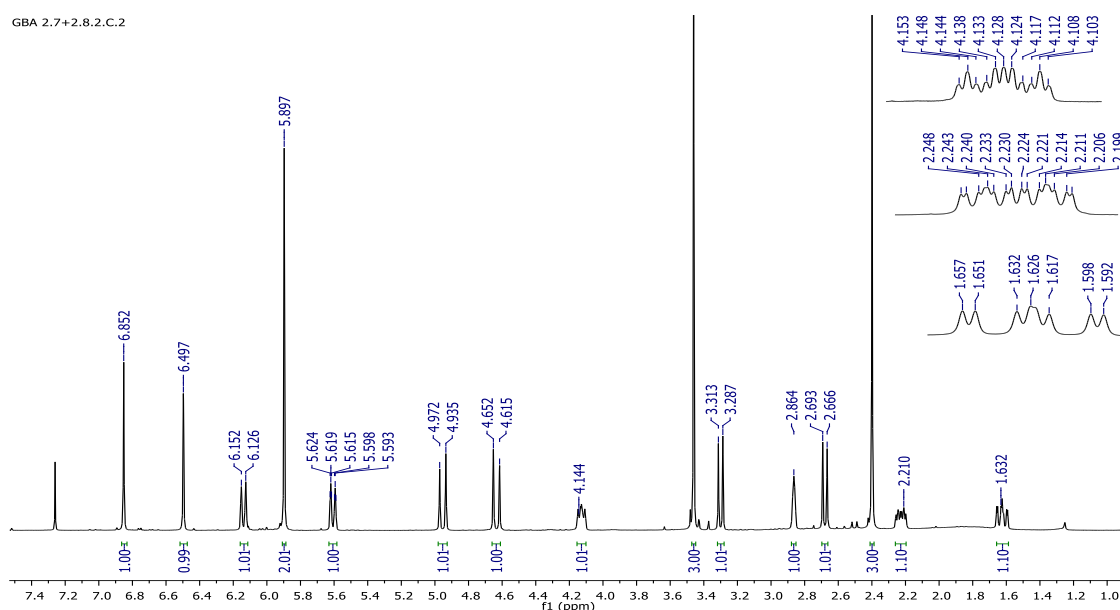


#### 4.2.1.2.16 Composto XXI – tazetina

O composto **(XXI)** foi obtido a partir da fração *n*-Hexano e acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo na última em forma de cristais, obteve-se cerca de 22,6 mg do composto. O produto foi solubilizado em  $\text{CDCl}_3$  e analisado por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 54 e Figura 42), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>64</sup>.

**Tabela 54.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **(XXI)** em comparação com a literatura (GHOSAL et al., 1984).

| Estrutura                                                                          | Posição            | Composto (XXI)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | tazetina                         |
|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------|
|  | 1                  | 5.60 <i>dt</i> (10.4, 2.0)                    | 5.60 <i>ddd</i> (10.5, 2.0, 1.5) |
|                                                                                    | 2                  | 6.14 <i>d</i> (10,0)                          | 6.15 <i>ddd</i> (10.5, 2.0, 1.2) |
|                                                                                    | 3                  | 4.13 <i>ddd</i> (2.0, 6.0, 12.8)              | 4.13 <i>m</i>                    |
|                                                                                    | 4a                 | 2.86 <i>br s</i>                              | 2.83 <i>m</i>                    |
|                                                                                    | 4 $\alpha$         | 2.22 <i>m</i>                                 | 2.20 <i>m</i>                    |
|                                                                                    | 4 $\beta$          | 1.63 <i>ddd</i> (2.4, 10.0, 13.6)             | 1.60 <i>m</i>                    |
|                                                                                    | 6 $\alpha$         | 4.63 <i>d</i> (14.8)                          | 4.65 <i>d</i> (14.7)             |
|                                                                                    | 6 $\beta$          | 4.95 <i>d</i> (14.8)                          | 4.95 <i>dd</i> (14.7, 0.5)       |
|                                                                                    | 7                  | 6.50 <i>s</i>                                 | 6.50 <i>s</i>                    |
|                                                                                    | 10                 | 6.85 <i>s</i>                                 | 6.85 <i>s</i>                    |
|                                                                                    | 12 $\alpha$        | 2.68 <i>d</i> (10.4)                          | 2.65 <i>d</i> (10.5)             |
|                                                                                    | 12 $\beta$         | 3.30 <i>d</i> (10.4)                          | 3.30 <i>d</i> (10.5)             |
|                                                                                    | 3-OMe              | 3.46 <i>s</i>                                 | 3.45 <i>s</i>                    |
|                                                                                    | OCH <sub>2</sub> O | 5.90 <i>s</i>                                 | 5.90 <i>s</i>                    |
|                                                                                    | NMe                | 2.40 <i>s</i>                                 | 2.40 <i>s</i>                    |
|                                                                                    | Solvente           | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz)                   | $\text{CDCl}_3$<br>(90MHz)       |

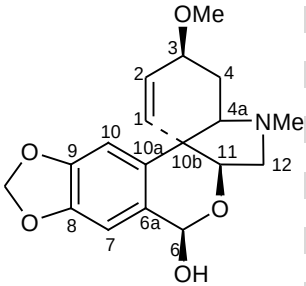


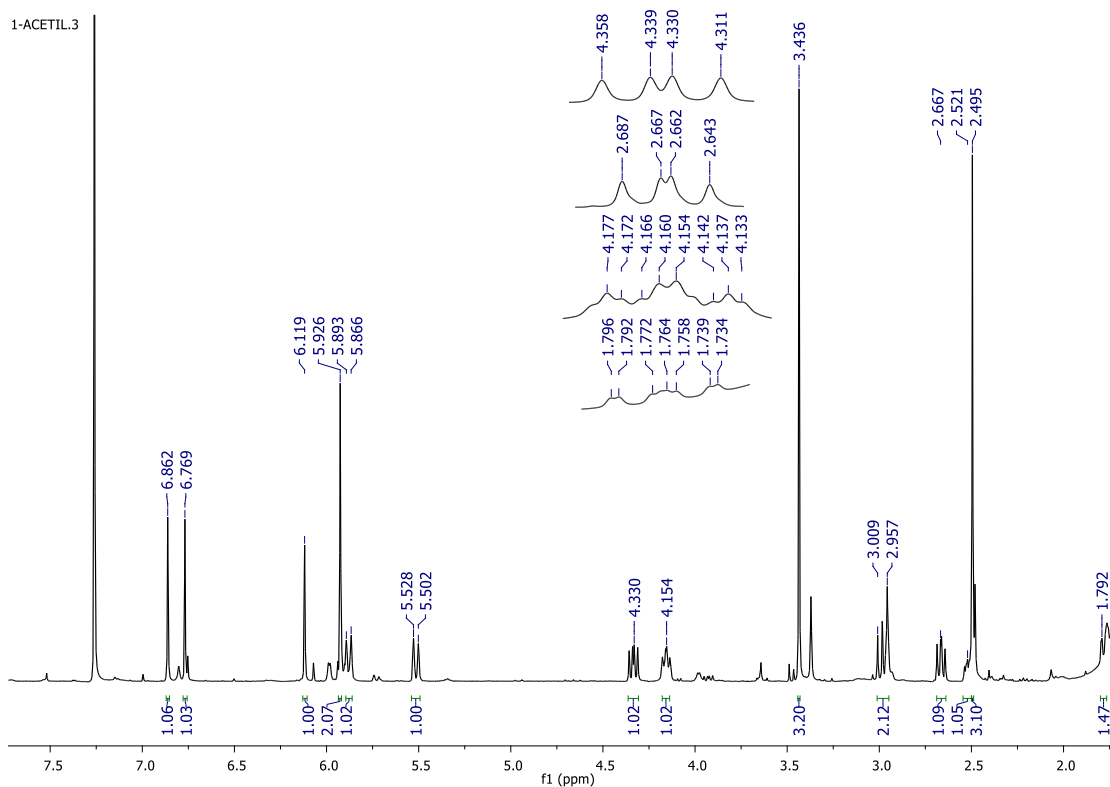
**Figura 42.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **(XXI)** e ampliações ( $\text{CDCl}_3$  - 400 MHz).

#### 4.2.1.2.17 Composto XXII – pretazetina

O composto (**XXII**) foi isolado a partir da fração acetato de etila ácido e básico e da fração *n*-Hexano dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtidos cerca de 8,2 mg do composto. O produto foi solubilizado em  $\text{CDCl}_3$  e analisado por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 55 e Figura 43), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>65</sup>.

**Tabela 55.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto (**XXII**) em comparação com a literatura (ZHANG et al, 2006).

| Estrutura                                                                          | Posição                      | Composto ( <b>XXII</b> )<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | Pretazetina                 |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------|
|  | <b>1</b>                     | 5,52 <i>d</i> (10.4)                                    | 5,52 <i>d</i> (10.4)        |
|                                                                                    | <b>2</b>                     | 5,89 <i>d</i> (10.8)                                    | 5,89 <i>d</i> (10.8)        |
|                                                                                    | <b>3</b>                     | 4,13-4,18 <i>m</i>                                      | 4,14-4,18 <i>m</i>          |
|                                                                                    | <b>4a</b>                    | 2,95-3,00 <i>m</i>                                      | 2,96-3,01 <i>m</i>          |
|                                                                                    | <b>4<math>\alpha</math></b>  | 2,49-2,66 <i>m</i>                                      | 2,48-2,55 <i>m</i>          |
|                                                                                    | <b>4<math>\beta</math></b>   | 1,78 <i>ddd</i> (13.2, 9.6, 2.0)                        | 1,77 <i>dd</i> (11.2, 10.0) |
|                                                                                    | <b>6</b>                     | 6,11 <i>s</i>                                           | 6,13 <i>s</i>               |
|                                                                                    | <b>7</b>                     | 6,76 <i>s</i>                                           | 6,77 <i>s</i>               |
|                                                                                    | <b>10</b>                    | 6,86 <i>s</i>                                           | 6,87 <i>s</i>               |
|                                                                                    | <b>11</b>                    | 4,33 <i>dd</i> (11.2, 7.6)                              | 4,43 <i>dd</i> (11.2, 7.2)  |
|                                                                                    | <b>12<math>\alpha</math></b> | 2,95-3,00 <i>m</i>                                      | 2,96-3,01 <i>m</i>          |
|                                                                                    | <b>12<math>\beta</math></b>  | 2,67 <i>dd</i> (9.6, 8.0)                               | 2,67 <i>dd</i> (9.6; 8.0)   |
|                                                                                    | <b>OMe</b>                   | 3,43 <i>s</i>                                           | 3,44 <i>s</i>               |
|                                                                                    | <b>OCH<sub>2</sub>O</b>      | 5,92 <i>s</i>                                           | 5,93 <i>s</i>               |
|                                                                                    | <b>NMe</b>                   | 2,52 <i>s</i>                                           | 2,50 <i>s</i>               |
|                                                                                    | <b>Solvente</b>              | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz)                             | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz) |

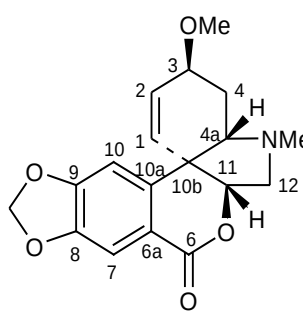


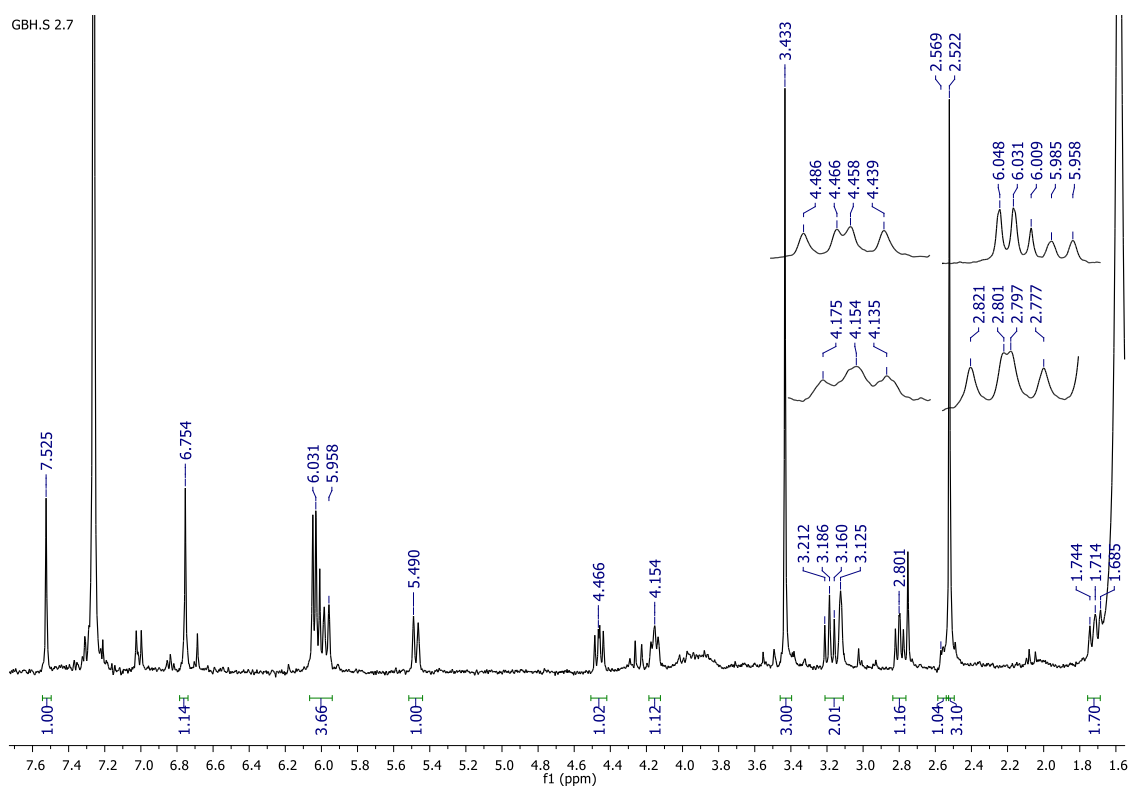
**Figura 43.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **(XXII)** e ampliações ( $\text{CDCl}_3$  - 400 MHz).

#### 4.2.1.2.18 Composto XXIII – 3-*epí*macronina

O composto **(XXIII)** foi a partir da fração *n*-Hexano dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtidos cerca de 2,7 g do composto. O produto foi solubilizado em  $\text{CDCl}_3$  e analisado por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 56 e Figura 44), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura (KIHARA *et al.*, 1987).

**Tabela 56.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto (XXIII) em comparação com a literatura (KIHARA et al., 1987).

| Estrutura                                                                         | Posição            | Composto (XXIII)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | 3-epimacronina                |
|-----------------------------------------------------------------------------------|--------------------|-------------------------------------------------|-------------------------------|
|  | 1                  | 5,49 <i>br d</i> (10,0)                         | 5,44 <i>ddd</i> (10,0; 2,2)   |
|                                                                                   | 2                  | 5,95 <i>d</i> (10,0)                            | 5,97 <i>d</i> (10,0)          |
|                                                                                   | 3                  | 4,15 <i>t</i> (8,0)                             | 4,12 <i>m</i>                 |
|                                                                                   | 4a                 | 3,12 <i>br s</i>                                | 3,10 <i>m</i>                 |
|                                                                                   | 4 $\alpha$         | 1,71 <i>m</i>                                   | 1,70 <i>m</i>                 |
|                                                                                   | 4 $\beta$          | 2,56 <i>m</i>                                   | 2,55 <i>m</i>                 |
|                                                                                   | 7                  | 7,52 <i>s</i>                                   | 7,52 <i>s</i>                 |
|                                                                                   | 10                 | 6,75 <i>s</i>                                   | 6,73 <i>s</i>                 |
|                                                                                   | 11                 | 4,46 <i>dd</i> (11,2, 8,0)                      | 4,43 <i>dd</i> (11,0; 8,0)    |
|                                                                                   | 12 $\alpha$        | 3,17 <i>t</i> (10,0)                            | 3,16 <i>dd</i> (11,0; 10,0)   |
|                                                                                   | 12 $\beta$         | 2,79 <i>dd</i> (10,0, 8,0)                      | 2,76 <i>dd</i> (10,0; 8,0)    |
|                                                                                   | 3-OMe              | 3,43 <i>s</i>                                   | 3,40 <i>s</i>                 |
|                                                                                   | OCH <sub>2</sub> O | 6,03 <i>br s</i>                                | 6,01 <i>s</i>                 |
|                                                                                   | NMe                | 2,52 <i>s</i>                                   | 2,50 <i>s</i>                 |
|                                                                                   | Solvente           | CDCl <sub>3</sub><br>(400MHz)                   | CDCl <sub>3</sub><br>(100MHz) |

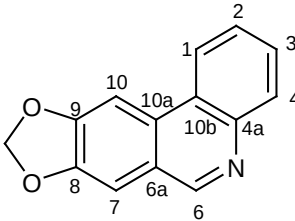


**Figura 44.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto (XXIII) e ampliações (CDCl<sub>3</sub> - 400 MHz).

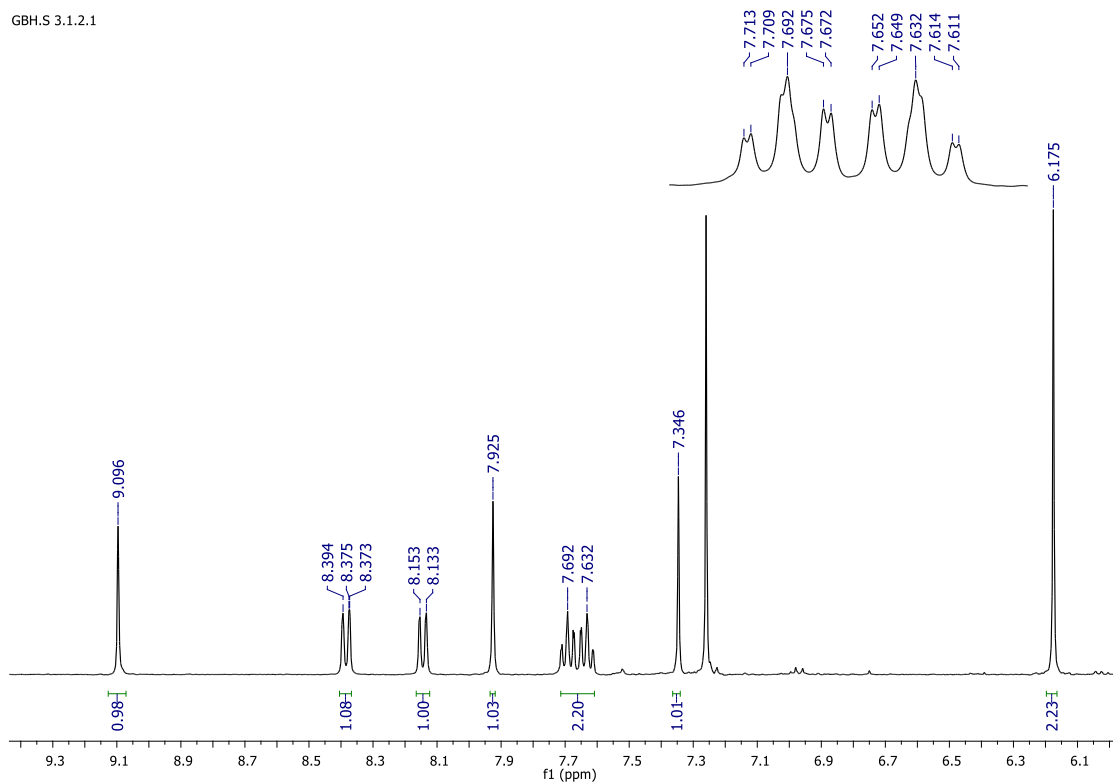
#### 4.2.1.2.19 Composto XXIV – trisfaeridina

O composto **(XXIV)** foi obtido a partir da fração *n*-Hexano dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtidos cerca de 3,9 mg do composto. O produto foi solubilizado em  $\text{CDCl}_3$  e analisado por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 57 e Figura 45), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>67</sup>.

**Tabela 57.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto **(XXIV)** em comparação com a literatura (SUAU et al., 1990).

| Estrutura                                                                          | Posição                | Composto (XXIV)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | trisfaeridina                  |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|------------------------------------------------|--------------------------------|
|  | 1                      | 8,37 dd (8.0, 1.5)                             | 8,36 dddd (8.0, 1.8, 1.0, 1.0) |
|                                                                                    | 2                      | 7,63 ddd (8.0, 7.0, 1.5)                       | 7,61 ddd (8.0, 7.0, 1.7)       |
|                                                                                    | 3                      | 7,69 ddd (8.0, 7.0, 1.5)                       | 7,67 ddd (7.0, 7.0, 1.8)       |
|                                                                                    | 4                      | 8,14 d (8.0, 1.5)                              | 8,11 ddd (7.0, 1.7, 1.0)       |
|                                                                                    | 6                      | 9,10 s                                         | 9,06 s                         |
|                                                                                    | 7                      | 7,34 s                                         | 7,32 s                         |
|                                                                                    | 10                     | 7,92 s                                         | 7,89 s                         |
|                                                                                    | $\text{OCH}_2\text{O}$ | 6,17 s                                         | 6,15 s                         |
|                                                                                    | Solvente               | $\text{CDCl}_3$                                | $\text{CDCl}_3$                |
|                                                                                    |                        | (400MHz)                                       | (200MHz)                       |

GBH.S 3.1.2.1

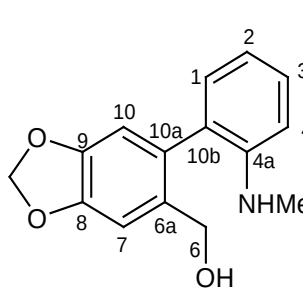


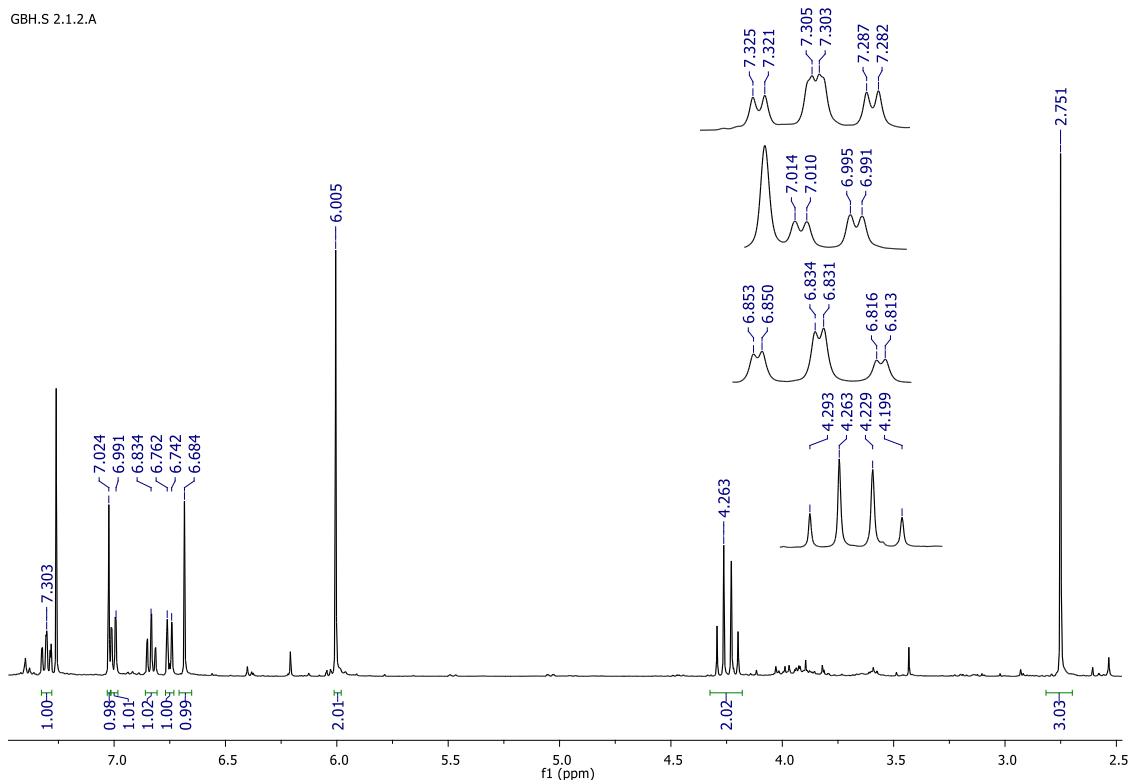
**Figura 45.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto **(XXIV)** e ampliações ( $\text{CDCl}_3$  - 400 MHz).

#### 4.2.1.2.20 Composto XXV – ismina

O composto (**XXV**) foi isolado a partir das frações *n*-Hexano e acetato de etila dos bulbos de *Hippeastrum glaucescens*, sendo obtidos cerca de 9,0 mg do composto. O produto foi solubilizado em  $\text{CDCl}_3$  e analisado por RMN  $^1\text{H}$  (Tabela 58 e Figura 46), sendo seus dados espectrais comparados com a literatura<sup>67</sup>.

**Tabela 58.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  do composto (**XXV**) em comparação com a literatura (SUAU et al., 1990).

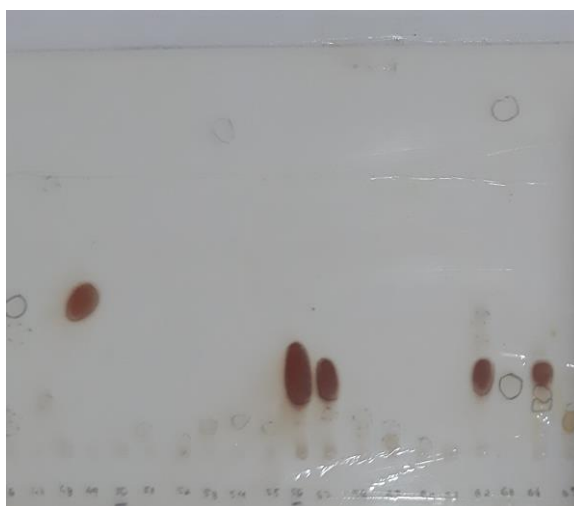
| Estrutura                                                                          | Posição                | Composto (XXV)<br>( $\delta$ em ppm, J em HZ) | ismina                      |
|------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------|
|  | 1                      | 6,98 dd (7.6, 1.6)                            | 6,98 dd (7.3, 1.7)          |
|                                                                                    | 2                      | 6,82 ddd (7.6, 7.2, 1.2)                      | 6,81 ddd (7.3, 7.3, 1.1)    |
|                                                                                    | 3                      | 7,30 ddd (8.0, 7.2, 1.6)                      | 7,28 ddd (8.0, 7.3, 1.7)    |
|                                                                                    | 4                      | 6,74 d (8.0, 1.0)                             | 6,73 d (8.1, 1.1)           |
|                                                                                    | 6                      | 4,27 d (12.0)                                 | 4,26 d (12.0)               |
|                                                                                    | 6'                     | 4.20 d (12.0)                                 | 4.20 d (12.0)               |
|                                                                                    | 7                      | 7,02 s                                        | 7,00 s                      |
|                                                                                    | 10                     | 6,68 s                                        | 6,67 s                      |
|                                                                                    | $\text{OCH}_2\text{O}$ | 6,00 s                                        | 5,99 s                      |
|                                                                                    | NMe                    | 2,75 s                                        | 2,73 s                      |
|                                                                                    | Solvente               | $\text{CDCl}_3$<br>(400MHz)                   | $\text{CDCl}_3$<br>(200MHz) |



**Figura 46.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto (**XXV**) e ampliações ( $\text{CDCl}_3$  - 400 MHz).

#### 4.2.2 Flavonoides

Alguns compostos apresentaram coloração divergente do tipicamente observado (coloração alaranjada) após serem analisados por CCDC (reveladas com reagente Dragendorff). Conforme aumentava o tempo de realização das mesmas, aumentava a intensidade da coloração dos (Figura 47). Esses compostos foram solubilizados em  $\text{CDCl}_3$  e analisados por RMN de  $^1\text{H}$ . No entanto, não foi possível até o presente momento a sua completa caracterização. Os mesmos foram também avaliados por CG-EM.

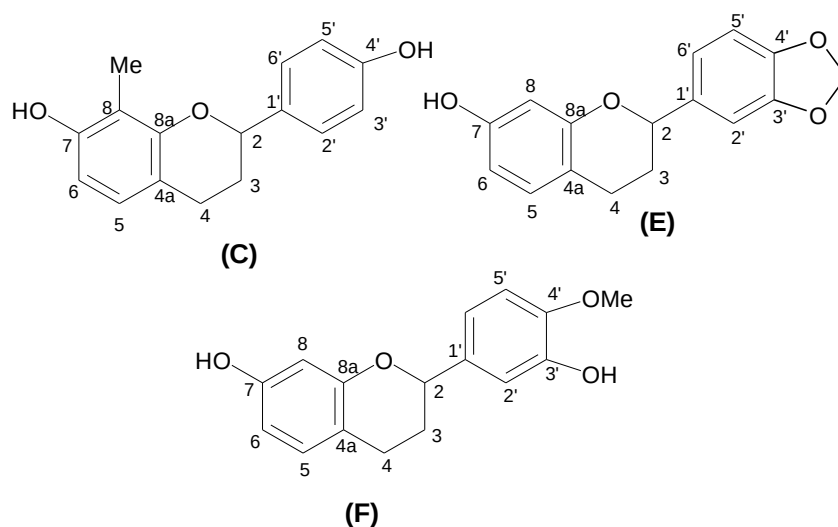


**Figura 47.** CCDC das subfrações de AcOEt ácido de *Hippeastrum glaucescens* revelada com reagente Dragendorff.

A análise de CG-EM destes 8 compostos isolados evidenciaram que 4 já haviam sido detectados no extrato AcOEt ácido, apresentando fragmentações:  $m/z$  270,  $m/z$  272,  $m/z$  226 e  $m/z$  256. Embora o CG-EM da fração *n*-Hex não tivesse evidenciado sua presença (devido a sua concentração), três destes compostos foram também isolados da fração *n*-Hex. Esses compostos foram denominados de composto **(A)** até composto **(H)** e estão representados na Tabela 60.

Através das análises realizadas e comparação com a literatura<sup>68,69</sup>, esses compostos demonstram pertencer a classe dos flavonoides (alguns do tipo flavan). Embora não sejam comumente isolados para o gênero *Hippeastrum*, eles estão descritos na literatura para alguns gêneros da família<sup>43</sup>.

Esses compostos obtidos ainda estão em processo de identificação e até o momento, pode-se sugerir a estrutura para 3 destes (Figura 48); contudo, para a inequívoca identificação dos mesmos, faz se necessário a análise de RMN bidimensional e a comparação dos dados com a literatura. Dessa forma, serão realizadas as suas discussões ao final de sua completa elucidação. Os compostos propostos são: 4',7-Dihidroxi-8-metilflavan **(C)**, 7-Hidroxi-3',4-metilenodioxiflavan **(E)**, 3',7-Dihidroxi-4'-metoxiflavan **(F)**, possuindo seus espectros de massas obtidos por CG-EM e RMN de  $^1\text{H}$  no Anexo A.7.

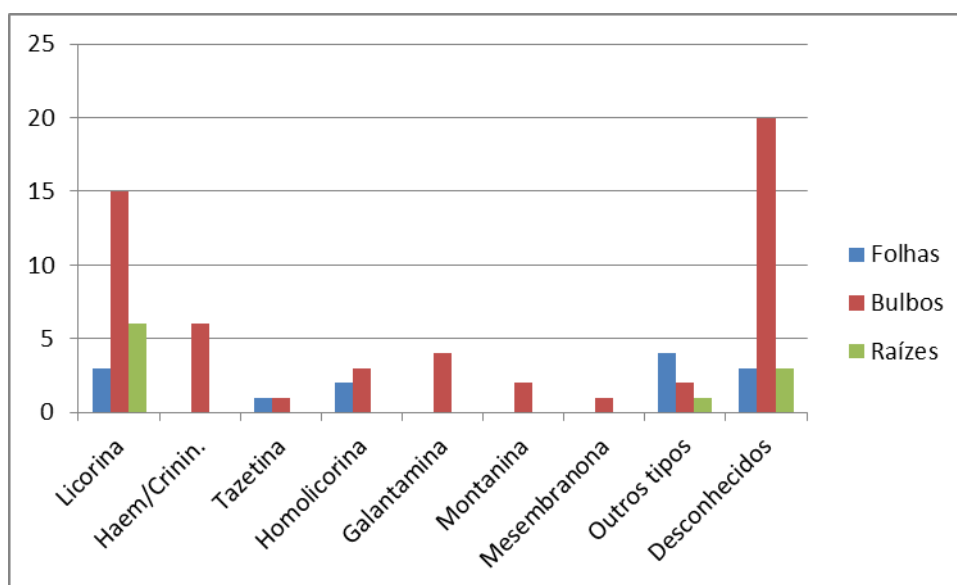


**Figura 48.** Estruturas dos flavonoides propostos para os compostos **(C)**, **(E)** e **(F)**.



### 4.3 Resumo dos resultados

Nesse trabalho, foram identificados por CG-EM para os extratos obtidos da extração ácido base do *Hippeastrum diniz-cruzae* um total 39 alcaloides conhecidos e detectados 24 desconhecidos, possuindo diferentes tipos de esqueletos e sendo a fração dos bulbos a mais rica em alcaloides, conforme Figura 49. As análises para as frações não finalizadas evidenciaram a presença de ainda mais compostos, ressaltando-se que essas análises serão revisadas com um novo índice de kovats.

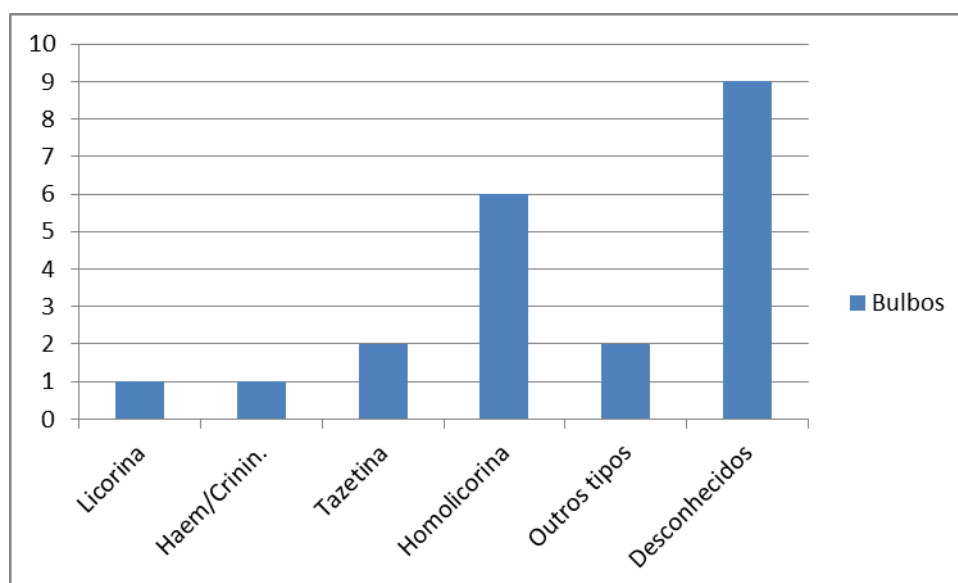


**Figura 49.** Compostos identificados das frações AcOEt ácido e frações enriquecidas das Folhas, Bulbos e Raízes de *Hippeastrum diniz-cruzae*.

A pesquisa realizada levou ao isolamento para o *Hippeastrum diniz-cruzae* de 5 compostos, desses 1 alcaloide é inédito, denominado cruzinina, sendo realizada a sua completa elucidação estrutural por CG-EM, RMN uni e bidimensional, Dicroísmo Circular e, principalmente, Cristalografia de Raios-X. Este composto apresentou uma característica única dentro dos alcaloides de Amaryllidaceae, evidenciada pela estereoquímica das posições H-1 e H-10b. Os demais alcaloides isolados e tipos de esqueleto pertencentes estão descritos na Tabela 59.

Para o *Hippeastrum glaucescens* foram detectado por CG-EM nos extratos obtidos da extração ácido base um total de 12 alcaloides conhecidos e 9 não identificados pela biblioteca de alcaloides, possuindo diferentes tipos de esqueletos conforme Figura 50. As análises para as frações não finalizadas evidenciaram a

presença de ainda mais compostos, ressaltando-se que essas análises serão revisadas com um novo índice de Kovats.



**Figura 50.** Compostos identificados da fração AcOEt ácido e frações enriquecidas dos Bulbos de *Hippeastrum glaucescens*.

A pesquisa realizado levou a obtenção para o *Hippeastrum glaucescens* de 20 compostos (4 obtidos em mistura) e 3 são relatados pela primeira vez: 2 $\alpha$ -7-dimetóxihomolicorina *N*-óxido, 7-Metoxi-*O*-metillicorenina *N*-óxido e Candimina *N*-óxido. Sendo necessário para o alcaloide Metoxi-*O*-metillicorenina *N*-óxido a realização de massas de alta resolução, assim como, para ambos os compostos as análise de RMN de  $^{13}\text{C}$  e bidimensionais, para as suas completas elucidações estruturais. Os demais alcaloides obtidos e tipos de esqueleto pertencentes estão descritos na Tabela 59.

**Tabela 59.** Compostos obtidos do *Hippeastrum diniz-cruzae*.

continua

| ( )                                    | Alcaloides                 | Massa (mg) | Frações                    |
|----------------------------------------|----------------------------|------------|----------------------------|
| <b><i>Hippeastrum diniz-cruzae</i></b> |                            |            |                            |
| <b>Tipo homolicorina</b>               |                            |            |                            |
| (I)                                    | Cruzinina                  | 50,0       | DCFH.C, DCFH.S 2, DCBH.S 3 |
| <b>Tipo narciclasina</b>               |                            |            |                            |
| (II)                                   | 7-deoxi-trans-narciclasine | 8,4        | DCBA.C 4                   |
| <b>Tipo licorina</b>                   |                            |            |                            |
| (III)                                  | Licorina                   | 11,5       | DCBA.C 1, DCBH.S 15.5      |

|                                       |                                            |      |                                                             |
|---------------------------------------|--------------------------------------------|------|-------------------------------------------------------------|
| (IV)                                  | Pseudolicorina                             | 11,8 | DCABA.C3, DCBA 12                                           |
| (V)                                   | Ungimiorina                                | 2,4  | DCBA 12prep.                                                |
| <b><i>Hippeastrum glaucescens</i></b> |                                            |      |                                                             |
| <b>Tipo homolicorina</b>              |                                            |      |                                                             |
| (VI)                                  | 2 $\alpha$ -7-dimetóxihomolicorina N-óxido | 6,0  | GBH.S 2.7.3, GBH.S 2.7.2.2clv                               |
| (VII)                                 | 7-Metoxi-O-metillicorenina N-óxido         | 9,4  | GBH.S 2.6.5.2clv, GBH.S 2.7.12.2clv                         |
| (VIII)                                | Candimina N-óxido                          | 2,7  | GBA 2.4.3.3.3.3                                             |
| (IX)                                  | Albomaculina N-óxido                       | 17,2 | GBH.S 2.4prep., GBH.S 2.7.1clv                              |
| (X)                                   | 2 $\alpha$ -metoxihomolicorina             | 12   | GBA 2.4.3.2.4.1, GBA 2.4.3.3.3.1                            |
| (XI)                                  | 2 $\alpha$ -hidroxihomolicorina (Mistura)  | 6,0  | GBA 2.5.1.2                                                 |
| (XII)                                 | Albomaculina                               | 23,7 | GBH.P1, GBH.S 2.1prep., GBA 2.7.2.2                         |
| (XIII)                                | 2 $\alpha$ -hidroxialbomaculina            | 9,5  | GBH.S 2.5.6, GBA 2.5.1.2                                    |
| (XIV)                                 | 2 $\alpha$ ,7-dimetoxihomolicorina         | 28,6 | GBH.P2, GBH.S 2.2prep., GBA 2.4.3.2.2.2                     |
| (XV)                                  | 7-Metoxi-O-metillicorenina                 | 11,1 | GBH.S 2.3.2.2.1clv, GBA 2.4.3.2.2.1                         |
| (XVI)                                 | Candimina                                  | 31,6 | GBA 2.4.3.3.3.2, GBA 2.4.3.3.4.2, GBA 3.2.1                 |
| (XVII)                                | Hippeastrina (Mistura)                     | 15,5 | GBA 2.4.3.3.3.5.3, GBA 3.2.1                                |
| <b>Tipo haemantamina/crinina</b>      |                                            |      |                                                             |
| (XVIII)                               | Haemantidina (Mistura)                     | 3,5  | GBA 2.4.3.3.5.5.6                                           |
| (XIX)                                 | 6- <i>epi</i> haemantidina (Mistura)       | 3,5  | GBA 2.4.3.3.5.5.6                                           |
| (XX)                                  | 11-Hidroxivitatina                         | 6,1  | GBA 2.5.2.4                                                 |
| <b>Tipo tazetina</b>                  |                                            |      |                                                             |
| (XXI)                                 | Tazetina                                   | 22,6 | GBH.S 2.3.2.4clv, GBH.S 2.4.2.3.5clv, GBA 2.8.1, GBA 2.10.2 |
| (XXII)                                | Pretazetina                                | 8,2  | GBLA 2.3.4.1.1, GBH.S JUNT.3, GBA 2.8.2                     |
| (XXIII)                               | 3- <i>Epimacronina</i>                     | 2,7  | GBH.S 2.7prep.                                              |
| <b>Tipo narciclasina</b>              |                                            |      |                                                             |
| (XXIV)                                | Trisfaeridina                              | 3,9  | GBH.S 3.1.2.1                                               |
| <b>Outros tipos</b>                   |                                            |      |                                                             |
| (XXV)                                 | Ismina                                     | 9,0  | GBH.S 2.1.2.1clv, GBA 2.10.1                                |

final

Foram isolados outros 8 compostos da espécie *Hippeastrum glaucescens*, que indicaram tratar-se de flavonoides (Tabela 60), no qual, todos esses compostos estão em processo de análise a fim de determinar suas estruturas químicas.

**Tabela 60.** Flavonoides isolados da espécie *Hippeastrum glaucescens*.

| Compostos                     | Massa<br>(mg) | Fração                                         |
|-------------------------------|---------------|------------------------------------------------|
| <b>Flavonoides</b>            |               |                                                |
| Flavonoide m/z 226 <b>(A)</b> | 3,8           | GBLA 4.2.1.1.3, GBLA 4.2.1.2.2, GBLA 4.2.2.1.2 |
| Flavonoide m/z 226 <b>(B)</b> | 1,6           | GBLA 4.2.2.1.9                                 |
| Flavonoide m/z 256 <b>(C)</b> | 6,8           | GBLA 4.2.2.2.2, GBH.S 3.1.2.4                  |
| Flavonoide m/z 256 <b>(D)</b> | 5,0           | GBLA 4.2.2.2.4, GBLA 4.2.2.2.5                 |
| Flavonoide m/z 270 <b>(E)</b> | 25,8          | GBLA 4.2.2.2.1, GBLA 4.2.2.3.2, GBH.S 3.8.1.4  |
| Flavonoide m/z 272 <b>(F)</b> | 17,3          | GBLA 4.2.3.1.2, GBLA 4.2.3.2.1, GBH.S 3.1.2.3  |
| Flavonoide m/z 284 <b>(G)</b> | 3,2           | GBLA 4.2.2.2.7                                 |
| Flavonoide m/z 286 <b>(H)</b> | 2,0           | GBLA 4.2.2.1.3                                 |

## 5. CONCLUSÃO

As espécies brasileiras *Hippeastrum diniz-cruzae* e *Hippeastrum glaucescens* (família Amaryllidaceae) apresentaram capacidade de biossíntese de uma ampla variedade estrutural, dentro do grupo dos alcaloides de Amaryllidaceae. Estas espécies podem ser consideradas fontes de alcaloides de Amaryllidaceae, especialmente dos esqueletos tipo licorina e homolicorina;

A espécie *Hippeastrum diniz-cruzae* apresentou uma biossíntese dentro do grupo dos derivados de homolicorina absolutamente única, com uma importante variação na configuração absoluta no acoplamento oxidativo fenólico. A caracterização do composto cruzinina através de estudos de RMN e difratometria de Raio-X confirma uma estereoquímica incomum para as posições C-1 e C-10b no núcleo fundamental dos derivados de homolicorina. Não obstante, a espécie *H. diniz-cruzae* foi capaz de biossintetizar um derivado de narciclasina, esqueleto-tipo relativamente incomum dentro do gênero *Hippeastrum*.

O estudo químico para a espécie *Hippeastrum glaucescens* determinou a presença de alguns compostos inéditos derivados *N*-óxido. Mesmo aplicando-se metodologia comumente detalhada para estudos anteriores em alcaloides de Amaryllidaceae, esta espécie forneceu três bases inéditas e uma já determinada derivadas de *N*-óxido, algo relativamente incomum nos estudos até a presente data. Os experimentos de RMN e massas de alta resolução foram determinantes para as estruturas propostas, mesmo que estudos de RMN 2D devem corroborar esta caracterização. Ainda assim, 22 alcaloides são relatados pela primeira vez para esta espécie neste presente estudo. Não obstante, derivados fenólicos foram isolados aplicando-se extração para alcaloides. Mesmo não sendo comum a purificação de alguns polifenóis a partir de frações enriquecidas em alcaloides, é digno de relato a presença substancial destes metabólitos para a espécie *H. glaucescens*. Os estudos espectrais até o presente indicam tratar-se de derivados de flavonoides para estes polifenóis.

Dentro do presente estudo, evidencia-se a importância das técnicas instrumentais, especialmente o CG-EM e o RMN, para o estudo químico em alcaloides de Amaryllidaceae. A partir destas técnicas, foi possível a determinação

da grande variedade estrutural dos metabolitos presentes nas espécies *H. diniz-cruzae* e *H. glaucescens*. Assim, as caracterizações até o presente alcançadas somadas as confirmações que serão obtidas proximamente, revelam uma importante fonte de compostos naturais oriundos destas espécies para futuros estudos de atividade biológicas, dentro dos mais variados alvos biológicos comumente aplicados aos alcaloides de Amaryllidaceae.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 QUEIROZ, F. E.; WOLFENDER, L. J.; VIEIRA, C. P. **Princípios ativos de plantas superiores**. 2ª edição. São Carlos: Ed.UFSCar, 2014, 234p.
  
- 2 ATANASOV, A.G.; WALTENBERGER, B.; PFERSCHY-WENZIG, E.M.; LINDER, T.; WAWROSCHE, C.; UHRIN, P.; TEMML, V.; WANG, L.; SCHWAIGER, S.; HEISS, E. H.; ROLLINGER, J. M.; SCHUSTER, D.; BREUSS, J. M.; BOCHKOV, V.; MIHOVILOVIC, M. D.; KOPP, B.; BAUER, R.; DIRSCH, V. M.; STUPPNER, H. Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: a review. *Biotechnol Adv.*, **33 (8)**, 1582-1614, 2015.
  
- 3 PINTO, A. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P. e EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. *Quim. Nova.*, **25**, 45-61, 2002.
  
- 4 ALMEIDA, M. R.; LIMA, J. A.; SANTOS, N. P.; PINTO, A. C. Pereirina: o primeiro alcaloide isolado no Brasil? *Rev. bras. Farmacogn.*, **19(4)**, 942-952, 2009.
  
- 5 HOSTETTMANN, K.; QUEIROS, E. F. e VIEIRA, P. C. **Princípios ativos de plantas superiores**. São Carlos: Ed. UFSCar, (Série de texto da Escola de Verão em Química, Vol. IV), 2003. 152p
  
- 6 MARTINEZ, S. T.; SANTOS, A. P.; PINTO, A. C. A Determinação Estrutural do Alcaloide Pirrolizidínico Monocrotalina: Exemplo dos Desafios da Química de Produtos Naturais Até os Anos Sessenta do Século XX. *Rev. Virtual de Química.*, **5(2)**, 300-311, 2013.
  
- 7 VIEGAS JR, C.; BOLZANI, V. S. e BARREIRO, E. J. Os produtos naturais e a química moderna. *Quím. Nova*, **29(2)**, 326-337, 2006.
  
- 8 NEWMAN, D. J.; CRAG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *J. Nat. Prod.*, **79**, 629-661, 2016.
  
- 9 Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em 20 de julho de 2019.
  
- 10 LOUW, C. A. M.; REGNIER, T. J. C.; KORSTEN, L. Medicinal bulbous plants of South Africa and their traditional relevance in the control of infectious diseases, *J.*

*Ethnopharmacol.*, **82**, 147-154, 2002.

11 JIN, Z., Amaryllidaceae and *Sceletium* alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*, **28**, 1126-1142, 2011.

12 BASTIDA, J.; LAVILLA, R.; VILADOMAT, F. Chemical and biological aspects of *Narcissus* alkaloids. In: MUÑOZ-TORRERO, D. **The Alkaloids**. Amsterdam, The Netherlands, Elsevier Scientific Publishing, Volume 63, 2006, p. 87-179.

13 PETTIT, G. R. ; GADDAMIDI, V. ; HERALD, D. L. ;. SINGH, S. B. ;. CRAGG, G. M.; SCHIMIDT, J. M. ; Antineoplastic agents, 120. *Pancratium littorale*. *J. Nat. Prod.*, **49 (6)**, 995-1002, 1986.

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

15 GABRIELSEN, B.; MONATH, T.P.; HUGGINS, J. W.; KEFAUVER, D. F.; PETTIT, G. R.; GROSZEK, G.; HOLLINGSHEAD, M.; KIRSI, J. J.; SHANNON, W. M.; SCHUBERT, E. M.; DARE, J.; UGARKAR, B.; USSERY, M. A.; PHELAN, M. J. Antiviral (RNA) activity of selected Amaryllidaceae isoquinoline constituents and synthesis of related substances. *J. Nat. Prod.*, **55(11)**, 1569-1581, 1992.

16 STAFFORD, G. I.; PEDERSEN, M. E.; STADEN, J. V.; JAGER, A. K. Review on plants with CNS-effects used in traditional South African medicine against mental diseases, *J Ethnopharmacol.*, **119**, 513–537, 2008.

17 JIN, Z. Amaryllidaceae and *Sceletium* alkaloids, *Nat. Prod. Rep.*, **30**, 849–868, 2013.

18 DUTILH, J. H. A.; OLIVEIRA, R. S. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB43>>. Acessado em: 21 de julho de 2018.

19 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: pollencharacters. *Acta Bot. Bras.*, **27**, 661-668, 2013.

20 CHASE, M. W.; REVEAL, J. L.; FAY, M. F. A subfamilial classification for the



expanded asparagalean families Amaryllidaceae, Asparagaceae and Xanthorrhoeaceae. *Bot. J. Linn. Soc.*, **161**, 132-136, 2009.

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

22 OLIVEIRA, R. C.; SEMIR, J.; DUTILH, J. H. A. Four new endemic species of *Hippeastrum* (Amaryllidaceae) from Serra da Canastra, Minas Gerais State, Brazil. *Phytotaxa.*, **145(1)**, 38-46, 2013.

23 DUTILH, J. H. A. **Biossistemática de quatro espécies de *Hippeastrum* Herb. (Amaryllidaceae)**. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996. 153p.

24 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), *Quím. Nova*, **31(8)**, 2042-2046, 2008.

25 de ANDRADE, J. P.; PIGNI, N. B.; TORRAS-CLAVERIA, L.; GUOU, Y.; BERKOV, S.; REYES-CHILPAC, R.; AMRANI, A. E.; ZUANAZZI, J. A.; CODINA, C.; VILADOMATA, F.; BASTIDA, J. Alkaloids from the *Hippeastrum* genus: chemistry and biological activity, *Rev. Latinoamer. Quím.*, **40(2)**, 83-98 2012.

26 DE ANDRADE, J. P.; GIORDANI, R. B.; TORRAS-CLAVERIA, L.; PIGNI, N. B.; BERKOV, S.; FONT-BARDIA; M., CALVET, T.; KONRATH, E.; BUENO, K.; SACHETT, L. G.; DUTILH, J. H.; BORGES, W. S.; VILADOMAT, F.; HENRIQUES, A. T.; NAIR, J. J.; ZUANAZZI, J. A. S. e BASTIDA, J. The Brazilian Amaryllidaceae as a source of acetylcholinesterase inhibitory alkaloids. *Phytochem. Rev.*, **15(1)**, 147-160, 2016.

27 GIORDANI, R. B.; WEIZENMANN, M.; ROSENBERG, D. B.; De CARLI, G. A.; BOGO, M. R.; ZUANAZZI, J. A. S.; TASCA, T. *Trichomonas vaginalis* nucleoside triphosphate diphosphatase and 5'-nucleotidase activities are inhibited by lycorine and candimine, *Parasitol Int.*, **59**, 226-237, 2010.

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

- 29 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*. *Pharmacol., Biochem. Behav.*, **85**, 148-154, 2006.
- 30 GIORDANI, R. B.; VIEIRA, P. B.; WEIZENMANN, M.; ROSEMBERG, D. B.; SOUZA, A. P.; BONORINO, C.; DE CARLI, G. A.; BOGO, M. R.; ZUANAZZI, J. A.; TASCA, T. Lycorine induces cell death in the amitochondriate parasite, *Trichomonas vaginalis*, via an alternative non-apoptotic death pathway. *Phytochemistry*, **72**, 645–650, 2011a.
- 31 ROSA, M. D. **Avaliação da atividade anti-Acanthamoeba castellanii de frações alcalóidicas de diferentes espécies da família Amaryllidaceae e da licorina**. Dissertação mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2017. 75p.
- 32 Pacific Bulb Society. *Hippeastrum Species One*. 2014. Disponível em: <<http://www.pacificbulbsociety.org/pbswiki/index.php/HippeastrumSpeciesOne>>. Acessado em 10 de julho de 2018.
- 33 AMARAL, A. C. **Amaryllidaceae Jaume St.-Hill.: levantamento das espécies do Distrito Federal, Brasil, e estudos de multiplicação in vitro**. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília, Brasília, 2007. 115p.
- 34 HOFMANN JUNIOR, A. E.; SEBBEN, C.; SOBRAL, M. E. G.; DUTILH, J.; HENRIQUES, A. T.; ZUANAZZI, J. A. S. Alkaloids of *Hippeastrum glaucescens*. *Biochem. Syst. Ecol.*, **31(12)**, 1455-1456, 2003.
- 35 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). *Rev. bras. Farmacogn.*, **14**, 7-14. 2004.
- 36 López, S.; Bastida, J.; Viladomat, F.; Codina, C. Acetylcholinesterase inhibitory activity of some Amaryllidaceae alkaloids and Narcissus extracts. *Life Science*, **71**, 2521-2529, 2002.
- 37 SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. ; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (org.). **Farmacognosia: da planta ao**

**medicamento.** 6<sup>a</sup> ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da Universidade UFRGS / Ed. da UFSC, edição 2010. 1102p.

38 DE DEWICK, P. M. **Medicinal natural products:** a biosynthetic approach, 2<sup>a</sup> edição. England: Josh Wiley & Sons LTD, 2002. 507p.

39 NAIR, J. J.; RÁROVA, L.; STRNAD, M.; BASTIDA, J.; STADEN, J. V. Mechanistic Insights to the Cytotoxicity of Amaryllidaceae Alkaloids. *Nat. Prod. Commun.*, **10 (1)**, 171-182, 2015.

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

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

42 MAELICKE, A.; SAMOCHOCKI, M.; JOSTOCK, R.; FEHRENBACHER, A.; LUDWIG, J.; ALBUQUERQUE, E. X.; ZERLIN, M. Allosteric sensitization of nicotinic receptors by galantamine: A new treatment strategy for Alzheimer's disease. *Biol. Psych.*, **49**, 279–288, 2001.

43 MIKŠÁTKOVÁ, P.; LANKOVÁ, P.; HUML, L.; LAPČÍK, O. Isoflavonoids in the Amaryllidaceae family. *Nat Prod Res.*, **28(10)**, 690-700, 2014.

44 HRAZDINA, G. *Biochim. Biophys. Acta, Proteins Proteomics*, **955**, 301-309, 1988.

45 FU, K.L.; LI, X.; YE, J.; LU, L.; XU X.K.; LI, H.L.; ZHANG, W. D.; SHEN, Y. H. Chemical constituents of *Narcissus tazetta* var. *chinensis* and their antioxidant. *Activities Fitoterapia.*, **113**, 110-116, 2016.

46 Web of Science. Disponível em:<[http://apps-webofknowledge.ez43.periodicos.capes.gov.br/Search.do?product=WOS&SID=7Bbb yuzjen5a8edzOoL&search\\_mode=GeneralSearch&prID=bfb5d0eb-2994-4287-bce1-b50085c40eb6](http://apps-webofknowledge.ez43.periodicos.capes.gov.br/Search.do?product=WOS&SID=7Bbb yuzjen5a8edzOoL&search_mode=GeneralSearch&prID=bfb5d0eb-2994-4287-bce1-b50085c40eb6)>. Acessado em 28 de julho de 2019.

47 KITSON, F.G.; LARSEN, B.S.; MCEWEN, C.N. **Gas Chromatography and Mass Spectrometry. A practical guide.** San Diego, CA, USA: Academic Press, 1996. 381p

48 BERKOV, S.; ROMANI, S.; HERRERA, M.; VILADOMAT, F.; CODINA,

- C.; MOMEKOV, G.; IONKOVA, I.; BASTIDA, J. Antiproliferative alkaloids from *Crinum zeylanicum*. *Phytother. Res.*, **25**, 1686-1692, 2011.
- 49 KREH, M.; MATUSCH, R.; WITTE, L. Capillary gas chromatography-mass spectrometry of Amaryllidaceae alkaloids. *Phytochemistry*, **38**, 773-776, 1995.
- 50 GIORDANI, R. B.; DE ANDRADE, J. P.; VERLI, H.; DUTILH, J. H.; HENRIQUES, A. T.; BERKOV, S.; BASTIDA, J.; ZUANAZZIA, J. A. S. Alkaloids from *Hippeastrum morelianum* Lem. (Amaryllidaceae), *Magn. Reson. Chem.*, **49**, 668-672, 2011b.
- 51 KIHARA, M.; XU, L.; KONISHI, K.; NAGAO, Y.; KOBAYASHI, S.; SHINGU, T. Incartine, a biosynthetic intermediate, from flowers of *Lycoris incarnata*. *Heterocycles*, **34**, 1299-1301, 1992.
- 52 de ANDRADE, J. P.; GUO, Y.; FONT-BARDIA, M.; CALVET, T.; DUTILH, J.; VILADOMAT, F.; CODINA, C.; NAIR, J. J.; ZUANAZZI, J. A. S. e BASTIDA, J. Crinine-type alkaloids from *Hippeastrum aulicum* and *H. calyptratum*. *Phytochemistry*, **103**, 188-195, 2014.
- 53 PETTIT, R. G.; MELODY, N. Antineoplastic Agents. 527. Synthesis of 7-Deoxynarcistatin, 7-Deoxy-trans-dihydronarcistatin, and trans-Dihydronarcistatin 1. *J. Nat. Prod.*, **68**, 207-211, 2005.
- 54 LIKHITWITAYAWUID, K.; ANGERHOFER, C.K.; CHAI, H.; PEZZUTO, J.M.; CORDELL, G.A.; RUANGRUNGSI, N. Cytotoxic and antimalarial alkaloids from the bulbs of *Crinum amabile*. *J. Nat. Prod.*, **56**, 1331-1338, 1993.
- 55 MORAES, C. T. **Estudo fitoquímico das partes aéreas de Worsleya procera (Lem.) Traub (Amaryllidaceae)**. Dissertação de Mestrado em Química. Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2016. 186p
- 56 LLABRÉS, J. M.; VILADOMAT, F.; BASTIDA, J.; CODINA, C.; SERRANO, M.; RUBIRALTA, M.; FELIZ, M. Phenanthridine alkaloids from *Narcissus assoanus*. *Phytochemistry*, **25**, 2637-2638, 1986.
- 57 INGGANINAN, K.; HAZEKAMP, A.; DE BEST, H. C. M.; IRTH, H.; TJADEN, U. R.; VAN DER HEIJDEN, R.; VAN DER GREEF, J.; VERPOORTE, R. The Application of HPLC with On-Line Coupled UV/MS-Biochemical Detection for Isolation of an Acetylcholinesterase Inhibitor from *Narcissus* 'Sir Winston Churchill'. *J. Nat. Prod.*, **63(6)**, 803-806, 2000.

- 58 OLIVEIRA, M. V. L. **Estudo químico em alcaloides de *Hippeastrum regiane* (L.) Herb, Amaryllidaceae**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2017. 140p
- 59 JEFFS, P. W.; ABOU-DONIA, A.; CAMPAU, D. Structures of 9 - O - Demethylhomolycorine and 5a-Hydroxyhomolycorine. Alkaloids of *Crinum defixum*, *C. scabrum*, and *C. latifolium* . Assignment of Aromatic Substitution Patterns from 1H-Coupled 13C Spectra, *J. Org. Chem.*, **50**, 1732-1737, 1985.
- 60 SHITARA, N.; HIRASAWA, Y.; HASUMI, S.; SASAKI, T.; MATSUMOTO, M.; WONG, C. P.; KANEDA, T.; ASAKAWA, Y.; MORITA, H. Four new Amaryllidaceae alkaloids from *Zephyranthes candida*, *Journal of Natural Medicines*, **68**, 610-614, 2014.
- 61 ALMANZA, G. R.; FERNÁNDEZ, J.M.; WAKORI, E. W. T.; VILADOMAT, F.; CODINA, C. e BASTIDA, J. Alkaloids from *Narcissus* CV. Salome. *Phytochemistry*, **43**, 1375-1378, 1996.
- 62 PABUÇÇUOĞLU, V.; RICHOMME, P.; GOZLER, T.; KIVAÇAK, B.; FREYER, A. J.; SHAMMA, M. Four new crinine-type alkaloids from *Sternbergia species*. *J. Nat. Prod.*, **52(4)**, 785-791, 1989.
- 63 EVIDENTE, A. Identification of 11-Hydroxyvitattatine in *Sternbergia lutea*. *J. Nat. Prod.*, **49**, 1986.
- 64 GHOSAL, S.; KUMAR, Y. e SINGH, S. Glucosyloxy alkaloids from *Pancratium biflorum*. *Phytochemistry*, **23(5)**, 167-11711, 1984.
- 65 ZHANG, F. M.; TU, Y.Q.; LIU, J.D.; FAN, X.H.; SHI, L.; HU, X.D.; WANG, S.H.; ZHANG, Y.Q. A general approach to crinine-type Amaryllidaceae alkaloids: total syntheses of (±)-haemanthidine, (±)-pretazettine, (±)-tazettine, and (±)-crinamine. *Tetrahedron*, **62**, 9446–9455, 2006.
- 66 KIHARA, M.; KOIKE, T.; IMAKURA, Y.; KIDA, K.; SHINGU, T. e SHIGERU KOBAYASHI. Alkaloidal Constituents of *Hymenocallis rotata* HERB. (Amaryllidaceae). *Chem. Pharm. Bull.*, **35(3)**, 1070-1075, 1987.
- 67 SUAÚ, R., Gomez, A. I., e RICO, R. Ismine and related alkaloids from *Lapiedra martinezii*. *Phytochemistry*, **29(5)**, 1110-1712, 1990.
- 68 González, A. M.; Bonilla, F. J. L.; Hernández, J. C. C.; Padrón, J. I.; Sánchez-

Pinto, L.; Less, J. B. B. Flavans of dragon's blood from *Dracaena draco* and *Dracaena tamaranae*. *Biochem. Syst. Ecol.*, **32** (2), 2004, 179-184.

69 GOTO, H.; TERAOKA, Y.; SHUJI, A. Synthesis of various kinds of isoflavones, isoflavanes, and biphenyl-ketones and their 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical-scavenging activities. *Chem. Pharm. Bull.*, **57**, 346-360, 2009.

# ANEXOS

## Anexo A.1. Dados de CG-EM das frações AcOEt ácido e frações enriquecidas de *Hippeastrum diniz-cruzae*

**Tabela 61.** Dados de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria dos compostos identificados nas frações AcOEt ácido e frações enriquecidas de *Hippeastrum diniz-cruzae*.

continua

| Compostos                    | Hippeastrum diniz-cruzae |                |                                                                                           |
|------------------------------|--------------------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
|                              | RT                       | M <sup>+</sup> | EM                                                                                        |
| Tipo Licorina                |                          |                |                                                                                           |
| Pseudolicorina               | 25.44                    | 289            | 228(100), 229(66), 289(29), 270(21), 288(20), 230(10), 214(8), 254(8), 252(7), 147(7)     |
| 3,4-Dihidro-1-acetillicorina | 29.13                    | 331            | 330(100), 331(41), 254(30), 270(28), 272(23), 253(50)                                     |
| Licorina                     | 30.07                    | 287            | 226(100), 227(75), 268(20), 287(16), 250(15), 147(14), 186(14), 119(10), 91(10), 77(8)    |
| Assoanine                    | 27.51                    | 267            | 266 (100), 267(48), 250(29), 222(15), 251(11), 180(8), 193(6), 192(6), 126(4), 191(4)     |
| Sternbergina                 | 29.52                    | 331            | 228(100), 229(79), 331 (23), 270(22), 230(15), 242(14), 252(11), 272(8), 254(8), 271(8)   |
| 1-O-Acetil-caranine          | 26.63                    | 313            | 226(100), 252(90), 227(51), 313(42), 253(20), 250(13), 271(11), 224(9), 43(9), 270(8)     |
| Dihidrolicorina              | 24.90                    | 289            | 288(100), 289(32), 147(5), 272(5), 290(5), 270(4), 226(4), 119(4), 214(3), 91(3)          |
| Anidrollicorina              | 26.30                    | 251            | 250(100), 251(41), 192(20), 191(15), 252(9), 193(8), 248(8), 163(7), 96(7), 125(6)        |
| 2-O-Acetillicorina           | 31.41                    | 329            | 268(100), 250(89), 269(86), 226(66), 252(59), 270(39), 227(30), 251(27), 240(24), 222(23) |
| 11,12-Dehidroanidrollicorina | 27.99                    | 249            | 248(100), 249(60), 190(23), 95(22), 191(10), 81(10), 163(8), 250(8), 123(8), 189(6)       |
| 1-O-Acetillicorina           | 29.57                    | 329            | 226(100), 227(71), 268(23), 329(22), 240(10), 269(9), 256(7), 211(60), 266(39)            |
| Hippamina                    | 28.91                    | 301            | 226(100), 227(91), 71(25), 85(19), 250(18), 125(18), 228(14), 252(14), 268(12), 301(12)   |
| Hippadina                    | 29.90                    | 263            | 263(100), 262(28), 177(24), 150(18), 264(17), 131(16), 75(11), 178(10), 205(10), 175(7)   |
| Galantina                    | 29.99                    | 317            | 242(100), 243(87), 284(23), 345(19), 266(17), 244(13), 268(11), 43(10), 256(10), 252(7)   |
| Oxoassoanine                 | 33.43                    | 281            | 281(100), 280(35), 238(22), 282(20), 236(16), 266(13), 194(11), 223(10), 139(10), 220(9)  |
| Ungiminorine                 | 32.35                    | 317            | 212(100), 268(97), 214(82), 299(57), 242(53), 250(44), 224(44), 240(39), 147(25), 225(24) |
| Tipo Haemantamina/Crinina    |                          |                |                                                                                           |



|                                  |       |     |                                                                                            |
|----------------------------------|-------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| Crinamina                        | 28.01 | 273 | 272(100), 181(46), 240(37), 153(34), 128(31), 211(30), 115(30), 212(27), 226(26), 214(24)  |
| 8-O-Demetilmaritidina            | 26.37 | 273 | 201(100), 273(89), 189(70), 230(40), 157(36), 56(35), 202(33), 175(32), 129(32), 174(29)   |
| 11-Hidroxivitatina               | 29.21 | 287 | 258(100), 181(27), 128(19), 259(17), 211(16), 115(16), 186(16), 153(13), 214(11), 223(11)  |
| Vitatina (crinina)               | 25.79 | 271 | 271(100), 187(80), 199(79), 115(45), 128(42), 56(40), 228(36), 157(36), 200(32), 173(30)   |
| 11-oxohaemantamina               | 22.25 | 299 | 271(100), 270(26), 272(18), 256(8), 238(7), 172(6), 224(6), 185(5), 210(5), 226(5)         |
| Hippeastidina                    | 27.99 | 319 | 319(100), 233(89), 234(61), 218(48), 288(46), 232(45), 206(37), 246(31), 217(27), 304(25)  |
| <b><u>Tipo Tazetina</u></b>      |       |     |                                                                                            |
| Tazetina                         | 26.40 | 331 | 247 (100), 331(32), 70(28), 115(25), 298(226), 211(20), 230(18), 201(16), 316(16), 227(14) |
| <b><u>Tipo Homolicorina</u></b>  |       |     |                                                                                            |
| Homolicorina                     | 30.28 | 315 | 109, (100), 108(30), 110(95), 178(39), 94(35), 82(33), 81(28), 93(22), 150(19), 77(16)     |
| 8-O-Demetilhomolicorina          | 28.56 | 301 | 109(100), 108(30), 110(78), 164(42), 94(40), 82(33), 81(26), 93(25), 77(20), 121(18)       |
| 2-Hidroxihomolicorina            | 27.49 | 332 | 125(100), 96(33), 124(8), 126(8), 80(3), 151(3), 82(3)                                     |
| <b><u>Tipo Galantamina</u></b>   |       |     |                                                                                            |
| Galantamina                      | 24.66 | 287 | 286(100), 216(67), 287(66), 174(55), 128(43), 115(43), 165(40), 152(38), 244(38), 153(35)  |
| Licoramina                       | 24.97 | 289 | 288(100), 115(16), 44(15), 202(12), 154(10), 187(10), 42(9), 189(8), 188(8)                |
| Licoraminona                     | 25.31 | 287 | 286(100), 287(64), 202(42), 218(32), 159(32), 187(30), 188(30), 174(27), 42(26), 128(24)   |
| 3-O-acetilsanguinina             | 27.64 | 273 | 256(100), 315(83), 254(63), 218(55), 189(53), 255(45), 272(41), 43(40), 226(35), 181(31)   |
| <b><u>Tipo Montanina</u></b>     |       |     |                                                                                            |
| Pancracine                       | 23.54 | 287 | 287(100), 204(30), 203(26), 214(25), 286(24), 243(24), 270(20), 199(19), 232(17), 360(17)  |
| 2-O-Metilpancracine (Montanina)  | 28.06 | 301 | 301(100), 270(84)                                                                          |
| <b><u>Tipo Mesembranona</u></b>  |       |     |                                                                                            |
| 6- <i>Epimense</i> branol (NP)   | 23.08 | 291 | 290(100), 291(87), 218(68), 200(45), 219(41), 201(32), 291(18)                             |
| <b><u>Tipo Narciclasinaa</u></b> |       |     |                                                                                            |
| Trisfaeridina                    | 22.70 | 223 | 223(100), 222(52), 138(31), 167(26), 224(20), 164(15), 166(15), 127(13), 139(13), 153(12)  |
| <b><u>Outros tipos</u></b>       |       |     |                                                                                            |
| Galantidol                       | 24.18 | 281 | 281(100), 262(31), 264(19), 194(16), 102(15)                                               |
| O-Metiltiramina                  | 6.53  | 151 | 121(100), 122(78), 65(45), 73(24), 32(20), 44(12), 31(7)                                   |
| Hordenina                        | 8.35  | 165 | 58(100), 30(7), 42(6), 77(5), 59(4), 51(3), 44(2), 78(2), 91(2), 57(1)                     |

|                                                  |       |     |                                                                                             |
|--------------------------------------------------|-------|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------|
| N-Metiltiramina                                  | 10.06 | 151 | 107(100), 94(36), 150(31), 77(29), 108(10), 91(9), 39(8), 65(8), 51(6), 79(5)               |
| Tiramina                                         | 13.93 | 137 | 108(100), 137(59), 121(33), 109(21), 39(20), 107(18), 42(13), 31(10), 44(8)                 |
| <b>Não identificados</b>                         |       |     |                                                                                             |
| Desconhecido (Derivado O-Metiltiramina)          | 42.48 | -   | 122(100), 121(29), 43(22), 107(17), 55(14), 109(13), 95(11)                                 |
| Desconhecido (m/z 223)                           | 20.28 | -   | 223(100), 253(45), 254(44), 297(43), 152(28), 224(23), 153(17), 296(16), 222(15), 165(15)   |
| Desconhecido (m/z 148)                           | 20.43 | -   | 148(100), 119(80), 223(46), 284(41), 300(387), 242(35), 215(26), 280(25), 224(22), 241(21)  |
| Desconhecido (m/z 315)                           | 21.80 | -   | 315(100), 211(73), 185(62), 188(53), 298(38), 223(27), 212(27), 186(24), 316(22), 77(20)    |
| Desconhecido (Derivado 11,12-Dehidrolicorina)    | 24.04 | -   | 252(100), 250(48), 253(43), 166(15), 251(15), 224(14), 254(12), 194(10), 192(10), 139(9)    |
| Desconhecido (m/z 203)                           | 25.80 | -   | 203(100), 175(71), 190(55), 202(36), 157(338), 151(27), 159(25), 128(25), 145(23), 142(230) |
| Desconhecido (m/z 361)                           | 26.43 | -   | 361(100), 213(70), 161(69), 376(48), 343(36), 362(32), 150(29), 128(24), 215(23), 185(20)   |
| Desconhecido (Derivado Deacetilcantabricina)     | 26.61 | -   | 204(100), 275(82), 187(77), 203(68), 202(61), 176(52), 145(50), 188(47), 161(47), 115(44)   |
| Desconhecido (Derivado Norpluvine)               | 27.09 | -   | 228(100), 229(62), 273(60), 272(35), 230(15), 274(14), 214(13), 186(12), 213(10), 185(9)    |
| Desconhecido (Derivado O-Metilnorberladina)      | 27.78 | -   | 137(100), 166(35)                                                                           |
| Desconhecido (Derivado O-Metillicorina)          | 28.16 | -   | 109(100), 108(16), 110(9), 43(5), 70(4), 58(3), 81(3), 44(3), 71(3), 191(2)                 |
| Desconhecido (Derivado Papiramina)               | 28.29 | -   | 272(100), 120(75), 304(71), 286(69), 262(52), 316(44), 115(40), 261(40), 91(39), 181(39)    |
| Desconhecido (m/z 264)                           | 29.03 | -   | 264(100), 265(61)                                                                           |
| Desconhecido (m/z 228)                           | 29.77 | -   | 228(100), 252(39), 270(28), 210(17), 222(16), 214(16), 288(14), 194(14), 213(13), 110(13)   |
| Desconhecido (m/z 224)                           | 29.88 | -   | 224(100), 225(50), 250(24), 166(23), 281(13), 299(13), 226(13), 165(11), 191(6)             |
| Desconhecido (Derivado 8-O-Demetilhomolicorina)  | 30.92 | -   | 109(100), 108(25), 110(7), 42(3), 66(0,8), 164(0,6), 44(0,3), 52(0,3)                       |
| Desconhecido (Derivado Pseudolicorina)           | 32.20 | -   | 228(100), 229(78), 252(11), 41(9), 111(9), 82(9), 91(6), 77(5), 115(4)                      |
| Desconhecido (m/z 278)                           | 31.80 | -   | 278(100), 279(71), 235(30), 263(21), 178(18), 177(13), 150(13), 280(12), 236(11), 151(11)   |
| Desconhecido (Derivado Phenanthridina)           | 31.88 | -   | 238(100), 239(70), 192(35)                                                                  |
| Desconhecido (Derivado Dihidro-1-acetillicorina) | 32.20 | -   | 330(100), 270(45), 331(43), 271(33), 272(27)                                                |
| Desconhecido (m/z 294)                           | 32.86 | -   | 294(100), 295(83), 296(15), 221(12), 250(10), 237(10), 279(10), 194(9), 148(7), 251(6)      |
| Desconhecido (m/z 280)                           | 33.21 | -   | 280(100), 281(72), 236(25), 282(14), 251(11), 194(11), 220(10), 139(8), 266(8), 238(7)      |
| Desconhecido (Tipo homolicorina)                 | 26.36 | -   | 109(100), 108(26), 41(10)                                                                   |
| Desconhecido (Derivado O-Demetillicoramina)      | 25.33 | -   | 274(100), 275(24), 44(41), 173(17), 131(14), 91(13), 145(12), 77(12), 160(12), 174(11)      |

## Anexo A.2. Dados de CG-EM das frações AcOEt ácido e frações enriquecidas de *Hippeastrum glaucescens*

**Tabela 62.** Dados de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria dos compostos identificados nas frações AcOEt ácido e frações enriquecidas de *Hippeastrum glaucescens*.

continua

| Compostos                               | RT    | Hippeastrum glaucescens |                                                                                           |
|-----------------------------------------|-------|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                         |       | M <sup>+</sup>          | EM                                                                                        |
| <b><u>Tipo Licorina</u></b>             |       |                         |                                                                                           |
| 11,12-Dehidroanidrolícorina             | 24.01 | 249                     | 248(100), 249(62), 190(25), 250(13), 81(5)                                                |
| <b><u>Tipo Haemantamina/Crinina</u></b> |       |                         |                                                                                           |
| Haemantamina                            | 24.35 | 272                     | 272(100), 214(16), 301(140, 240(13), 273(12), 211(11), 242(10), 226(9), 128(7), 155(7)    |
| <b><u>Tipo Tazetina</u></b>             |       |                         |                                                                                           |
| Epimacronina                            | 26.79 | 329                     | 245(100), 201(74), 329(31), 244(26), 197(23), 314(21), 255(21), 246(16), 225(16), 241(15) |
| Tazetina                                | 24.55 | 331                     | 247(100), 331(34), 298(21), 70(16), 115(15), 201(15), 248(15), 316(14), 199(13), 71(13)   |
| <b><u>Tipo Homolícorina</u></b>         |       |                         |                                                                                           |
| Homolícorina                            | 25.94 | 315                     | 109(100), 108(20), 110(7), 82(2), 94(2), 81(1), 178(1), 77(1), 93(1), 92(1)               |
| Nerinina                                | 26.77 | 347                     | 109(100), 108(19), 110(7), 82(2), 94(2), 81(1), 93(1), 193(1), 221(1), 77(1)              |
| 8-O-Demetilhomolícorina                 | 28.56 | 301                     | 109(100), 108(30), 110(78), 164(42), 94(40), 82(33), 81(26), 93(25), 77(20), 121(18)      |
| 2-Metoxi-8-O-demetilhomolícorina        | 28.42 | 331                     | 139(100), 124(61), 140(9), 94(3), 179(2), 81(2), 141(1), 136(<1), 144(<1), 173(<1)        |
| Candimina                               | 30.69 | 345                     | 125(100), 96(31), 126(9), 124(7), 95(3), 81(2), 77(2), 68(<1)                             |
| 2-Hidroxihomolícorina                   | 27.84 | 332                     | 125(100), 96(28), 124(14), 139(9), 126(8), 94(5), 178(3), 81(2), 77(2), 82(2)             |

**Outros tipos**

|               |       |     |                                                                                       |
|---------------|-------|-----|---------------------------------------------------------------------------------------|
| Galantidol    | 22.86 | 281 | 281(100), 263(44), 231(26), 264(22), 252(19), 190(14), 131(9), 115(9), 164(9), 232(8) |
| Trisfaeridina | 19.21 | 223 | 223(100), 222(38), 138(23), 224(16), 165(8), 167(7), 137(7), 139(6), 166(4)           |

**Não identificados**

|                                              |       |   |                                                                                          |
|----------------------------------------------|-------|---|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Desconhecido (Tipo Homolicorina)             | 26.68 | - | 109(100), 108(19), 110(7), 82(3), 94(2), 91(1), 66(<1), 80(8), 122(<1), 420(<1)          |
| Desconhecido (Derivado 2-Metoxihomolicorina) | 28.53 | - | 139(100), 124(67), 140(9), 96(7), 94(5), 178(2), 81(2), 77(2), 82(1), 95(1)              |
| Desconhecido (m/z 139)                       | 29.21 | - | 139(100), 124(55), 140(9), 125(4), 94(3), 96(3), 81(1), 95(1), 193(1), 221(1)            |
| Desconhecido (Tipo Homolicorina)             | 26.73 | - | 109(100), 108(13)                                                                        |
| Desconhecido (Derivado 2-Metoxipratosina)    | 27.51 | - | 309(100), 294(66), 310(18), (278(13)                                                     |
| Desconhecido m/z (270)                       | 23.60 | - | 148(100), 270(85), 147(43), 135(30), 271(15), 89(14), 149(10), 91(8), 65(8), 161(7)      |
| Desconhecido (m/z 272)                       | 24.82 | - | 272(100), 150(81), 135(45), 137(30), 162(17), 273(17), 107(16), 77(15), 147(12), 123(14) |
| Desconhecido (m/z 226)                       | 17.21 | - | 226(100), 104(44), 225(25), 77(17), 135(17), 211(15), 227(14), 91(14), 78(13), 209(13)   |
| Desconhecido (m/z 256)                       | 23.22 | - | 256(100), 120(92), 137(78), 121(26), 150(26), 79(18), 108(12)                            |

final

### Anexo A.3. Dados de CG-EM das frações não finalizadas de *Hippeastrum diniz-cruzae*

**Tabela 63.** Dados de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria das frações não finalizadas de *Hippeastrum diniz-cruzae*.

continua

| <i>Hippeastrum diniz-cruzae</i>             |       |       |                | Frações não finalizadas                                                                   |  |
|---------------------------------------------|-------|-------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| Compostos                                   | RT    | %     | M <sup>+</sup> | EM                                                                                        |  |
| <b><u>DCFA 2.3</u></b>                      |       |       |                |                                                                                           |  |
| O-Metiltiramina <b>(1)</b>                  | 6.53  | 21,21 | 151            | 121(100), 122(78), 65(45), 73(24), 32(20), 44(12), 31(7)                                  |  |
| Galantamina <b>(2)</b>                      | 21.05 | 29,55 | 287            | 286(100), 216(67), 287(66), 174(55), 128(43), 115(43), 165(40), 152(38), 244(38), 153(35) |  |
| O-metilnorbeladina <b>(3)</b>               | 24.03 | 42,89 | 273            | 137(100), 121(22), 91(13), 65(11), 107(10), 138(9), 81(9), 79(8), 93(7), 122(7)           |  |
| Hordenina <b>(4)</b>                        | 7.68  | 6,33  | 165            | 58(100), 30(7), 42(6), 77(5), 59(4), 51(3), 44(2), 78(2), 91(2), 57(1)                    |  |
| <b><u>DCFA 3</u></b>                        |       |       |                |                                                                                           |  |
| 1-O-(3'-acetoxibutanoil)licorina <b>(5)</b> | 29.78 | 100   | 415            | 226(100), 227(66), 250(42), 268(25), 65(19), 207(19), 77(19), 251(18), 192(16), 165(15)   |  |
| <b><u>DCBH.S 2.2</u></b>                    |       |       |                |                                                                                           |  |
| Desconhecido (m/z 248) <b>(6)</b>           | 25.52 | 54,30 | -              | 248(100), 349(47), 276(33), 318(26), 249(15), 96(11), 142(11), 350(9), 334(6), 94(6)      |  |
| Tazetina <b>(7)</b>                         | 24.33 | 1,43  | 331            | 247(100), 331(25), 70(21), 298(20), 201(20), 248(17), 230(163), 227(15), 211(14), 115(13) |  |
| Desconhecido (m/z 148) <b>(8)</b>           | 23.46 | 44,26 | -              | 148(100), 270(83), 147(41), 135(32), 271(14), 149(10), 89(10), 161(7), 136(6), 91(5)      |  |

**DCBH.S 2.3**

|                            |       |     |   |                                                                                      |
|----------------------------|-------|-----|---|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Desconhecido (m/z 248) (6) | 25.59 | 100 | - | 248(100), 349(47), 276(33), 318(26), 249(15), 96(11), 142(11), 350(9), 334(6), 94(6) |
|----------------------------|-------|-----|---|--------------------------------------------------------------------------------------|

**DCBH.S 4.1**

|                                 |       |     |     |                                                                                     |
|---------------------------------|-------|-----|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 11,12-Dehidroanidrolícorina (9) | 27.75 | 100 | 249 | 248(100), 249(60), 190(23), 95(22), 191(10), 81(10), 163(8), 250(8), 123(8), 189(6) |
|---------------------------------|-------|-----|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|

**DCBH.S 8.1**

|                             |       |       |   |                                                                                           |
|-----------------------------|-------|-------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| Desconhecido (m/z 278) (10) | 29.79 | 44,22 | - | 278(100), 279(71), 235(30), 263(21), 178(18), 177(13), 150(13), 280(12), 236(11), 151(11) |
|-----------------------------|-------|-------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------|

|                                 |       |       |     |                                                                                     |
|---------------------------------|-------|-------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 11,12-Dehidroanidrolícorina (9) | 25.86 | 38,05 | 249 | 248(100), 249(60), 190(23), 95(22), 191(10), 81(10), 163(8), 250(8), 123(8), 189(6) |
|---------------------------------|-------|-------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|

|                |       |      |     |                                                                                        |
|----------------|-------|------|-----|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Hippamina (11) | 26.74 | 1,02 | 301 | 226(100), 227(78), 250(26), 282(20), 301(20), 147(12), 252(12), 251(9), 211(8), 271(6) |
|----------------|-------|------|-----|----------------------------------------------------------------------------------------|

|                   |       |      |     |                                                                                           |
|-------------------|-------|------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ungiminorina (12) | 29.97 | 0,83 | 317 | 268(100), 299(58), 212(54), 242(49), 214(44), 250(36), 224(24), 225(22), 240(20), 316(17) |
|-------------------|-------|------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------|

|                             |       |       |   |                                                                                    |
|-----------------------------|-------|-------|---|------------------------------------------------------------------------------------|
| Desconhecido (m/z 264) (13) | 30.33 | 15,34 | - | 264(100), 265(56), 178(11), 266(9), 206(79), 206(7), 150(5), 177(4), 103(4), 89(4) |
|-----------------------------|-------|-------|---|------------------------------------------------------------------------------------|

|                               |       |      |   |                                                                      |
|-------------------------------|-------|------|---|----------------------------------------------------------------------|
| Desconhecido (Hippadina) (14) | 28.08 | 0,51 | - | 262(100), 263(70), 203(13), 204(12), 102(11), 202(9), 150(7), 101(7) |
|-------------------------------|-------|------|---|----------------------------------------------------------------------|

**DCBH.S 10.2**

|                   |       |     |     |                                                                                            |
|-------------------|-------|-----|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| Hipeastidina (15) | 23.79 | Tra | 319 | 319(100), 233(62), 288(40), 234(34), 318(26), 232(24), 320(20), 290(19), 55(197), 291(192) |
|-------------------|-------|-----|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------|

|                                 |       |      |     |                                                                                     |
|---------------------------------|-------|------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 11,12-Dehidroanidrolícorina (9) | 24.10 | 0,47 | 249 | 248(100), 249(60), 190(23), 95(22), 191(10), 81(10), 163(8), 250(8), 123(8), 189(6) |
|---------------------------------|-------|------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|

|                   |       |      |     |                                                                                         |
|-------------------|-------|------|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| Haemantamina (16) | 24.18 | 1,11 | 272 | 272(100), 181(18), 273(18), 240(15), 242(15), 211(14), 214(10), 186(10), 115(9), 212(9) |
|-------------------|-------|------|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------|

|               |       |       |     |                                                                               |
|---------------|-------|-------|-----|-------------------------------------------------------------------------------|
| Lícorina (17) | 25.97 | 42,71 | 287 | 226(100), 227(66), 268(20), 286(17), 250(16), 147(8), 119(5), 228(9), 269(54) |
|---------------|-------|-------|-----|-------------------------------------------------------------------------------|

|                             |       |       |   |                                                                                           |
|-----------------------------|-------|-------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| Desconhecido (m/z 335) (18) | 23.97 | 55,65 | - | 335(100), 304(40), 286(31), 316(21), 336(18), 120(18), 292(15), 320(13), 262(11), 260(10) |
|-----------------------------|-------|-------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------|

**DCBH.S 10.3**

|                |       |       |     |                                                                                         |
|----------------|-------|-------|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| Hippadina (19) | 29.71 | 18,60 | 263 | 263(100), 262(28), 177(24), 150(18), 264(17), 131(16), 75(11), 178(10), 205(10), 175(7) |
|----------------|-------|-------|-----|-----------------------------------------------------------------------------------------|

|                                                          |       |       |   |                                                                                          |
|----------------------------------------------------------|-------|-------|---|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Desconhecido (Derivado 11,12-Dehidroanidrolícorina) (20) | 24.09 | 81,40 | - | 252(100), 250(48), 253(43), 166(15), 251(15), 224(14), 254(12), 194(10), 192(10), 139(9) |
|----------------------------------------------------------|-------|-------|---|------------------------------------------------------------------------------------------|

**DCBH.S 12.3**

|                             |       |       |   |                                                                                           |
|-----------------------------|-------|-------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| Desconhecido (m/z 278) (10) | 29.81 | 60,69 | - | 278(100), 279(71), 235(30), 263(21), 178(18), 177(13), 150(13), 280(12), 236(11), 151(11) |
|-----------------------------|-------|-------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------|

|                                 |       |       |     |                                                                                     |
|---------------------------------|-------|-------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 11,12-Dehidroanidrolícorina (9) | 26.56 | 24,94 | 249 | 248(100), 249(60), 190(23), 95(22), 191(10), 81(10), 163(8), 250(8), 123(8), 189(6) |
|---------------------------------|-------|-------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|

|                                      |       |       |     |                                                                                            |
|--------------------------------------|-------|-------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2-O-Metilpancracina (Montanina) (21) | 26.77 | 14,36 | 301 | 301(100), 270(83), 257(36), 223(34), 226(29), 115(29), 252(28), 185(28), 229(225), 197(19) |
|--------------------------------------|-------|-------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------|

**DCBH.S 9, 11, 13, 16**

|                                                          |       |       |   |                                                                                          |
|----------------------------------------------------------|-------|-------|---|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Desconhecido (Derivado 11,12-Dehidroanidrolícorina) (20) | 24.09 | 18,09 | - | 252(100), 250(48), 253(43), 166(15), 251(15), 224(14), 254(12), 194(10), 192(10), 139(9) |
|----------------------------------------------------------|-------|-------|---|------------------------------------------------------------------------------------------|

|                         |       |       |     |                                                                                          |
|-------------------------|-------|-------|-----|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Vitatina (Crinina) (22) | 23.78 | 62,24 | 271 | 271(100), 187(80), 199(79), 115(45), 128(42), 56(40), 228(36), 157(36), 200(32), 173(30) |
|-------------------------|-------|-------|-----|------------------------------------------------------------------------------------------|

|                                              |       |       |   |                                                                                        |
|----------------------------------------------|-------|-------|---|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Desconhecido (Derivado Acetil-caranina) (23) | 24.51 | 17,73 | - | 123(100), 226(53), 252(53), 313(41), 77(23), 124(12), 314(11), 139(10), 224(9), 393(8) |
|----------------------------------------------|-------|-------|---|----------------------------------------------------------------------------------------|

|                                                  |       |       |     |                                                                                            |
|--------------------------------------------------|-------|-------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tazetina (7)                                     | 23.34 | 1,93  | 331 | 247 (100), 331(32), 70(28), 115(25), 298(226), 211(20), 230(18), 201(16), 316(16), 227(14) |
| <b><u>DCBA.S 1.2.2</u></b>                       |       |       |     |                                                                                            |
| 11,12-Dehidroanidrolícorina (9)                  | 27.69 | 10,21 | 249 | 248(100), 249(60), 190(23), 95(22), 191(10), 81(10), 163(8), 250(8), 123(8), 189(6)        |
| 2-O-Metilpancracina (Montanina) (21)             | 24.15 | 2,60  | 301 | 301(100), 270(83), 257(36), 223(34), 226(29), 115(29), 252(28), 185(28), 229(225), 197(19) |
| Lícorina (17)                                    | 29.75 | 9,33  | 287 | 226(100), 227(75), 268(20), 287(16), 250(15), 147(14), 186(14), 119(10), 91(10), 77(8)     |
| Desconhecido (m/z 264) (13)                      | 32.35 | 1,71  | -   | 264(100), 265(56), 178(11), 266(9), 206(79), 206(7), 150(5), 177(4), 103(4), 89(4)         |
| Desconhecido (m/z 294) (24)                      | 30.62 | 0,10  | -   | 294(100), 295(83), 296(15), 221(12), 250(10), 237(10), 279(10), 194(9), 148(7), 251(6)     |
| Desconhecido (m/z 224) (25)                      | 29.84 | 5,50  | -   | 224(100), 225(50), 250(24), 166(23), 281(13), 299(13), 226(13), 165(11), 191(6)            |
| Desconhecido (m/z 278) (10)                      | 31.73 | 70,52 | -   | 278(100), 279(71), 235(30), 263(21), 178(18), 177(13), 150(13), 280(12), 236(11), 151(11)  |
| <b><u>DCBA.S 1.2.3</u></b>                       |       |       |     |                                                                                            |
| 11,12-Dehidroanidrolícorina (9)                  | 27.72 | 2,74  | 249 | 248(100), 249(60), 190(23), 95(22), 191(10), 81(10), 163(8), 250(8), 123(8), 189(6)        |
| Desconhecido (m/z 278) (10)                      | 31.78 | 74,62 | -   | 278(100), 279(71), 235(30), 263(21), 178(18), 177(13), 150(13), 280(12), 236(11), 151(11)  |
| Desconhecido (m/z 226) (26)                      | 29.76 | 20,39 | -   | 226(100), 227(78), 44(35), 18(28), 28(24), 28(21), 147(18), 268(16), 119(15), 111(14)      |
| Desconhecido (m/z 224) (25)                      | 29.85 | 2,22  | -   | 224(100), 225(50), 250(24), 166(23), 281(13), 299(13), 226(13), 165(11), 191(6)            |
| <b><u>DCBA.S 1.3</u></b>                         |       |       |     |                                                                                            |
| Desconhecido (m/z 278) (10)                      | 31.8  | 100   | -   | 278(100), 279(71), 235(30), 263(21), 178(18), 177(13), 150(13), 280(12), 236(11), 151(11)  |
| <b><u>DCBA 2.1</u></b>                           |       |       |     |                                                                                            |
| Lícoramina (27)                                  | 24,68 | 83,43 | 289 | 288(100), 115(16), 44(15), 202(12), 154(10), 187(10), 42(9), 189(8), 188(8)                |
| Desconhecido (m/z 315) (28)                      | 26.11 | 10,31 | -   | 315(100), 211(73), 185(62), 188(53), 298(38), 223(27), 212(27), 186(24), 316(22), 77(20)   |
| Desconhecido (Derivado N-maritidina) (29)        | 12.26 | 6,24  | -   | 44(100), 108(41), 42(39), 91(29), 120(29), 107(28), 77(27), 121(21), 65(20), 149(15)       |
| <b><u>DCBA 2.2</u></b>                           |       |       |     |                                                                                            |
| Dehidrolícorina (30)                             | 26.09 | 83,33 | 289 | 288(100), 289(32), 147(5), 272(5), 290(5), 270(4), 226(4), 119(4), 214(3), 91(3)           |
| Desconhecido m/z 278 (10)                        | 31.83 | 16,66 | -   | 278(100), 279(71), 235(30), 263(21), 178(18), 177(13), 150(13), 280(12), 236(11), 151(11)  |
| <b><u>DCBA 2.3</u></b>                           |       |       |     |                                                                                            |
| Desconhecido (m/z 315) (28)                      | 26.10 | 16,74 | -   | 315(100), 211(73), 185(62), 188(53), 298(38), 223(27), 212(27), 186(24), 316(22), 77(20)   |
| Desconhecido m/z 278 (10)                        | 31.81 | 83,25 | -   | 278(100), 279(71), 235(30), 263(21), 178(18), 177(13), 150(13), 280(12), 236(11), 151(11)  |
| <b><u>DCBA.S 3.2</u></b>                         |       |       |     |                                                                                            |
| Desconhecido (Derivado O-Demetillicoramina) (31) | 22.34 | 4,16  | -   | 274(100), 275(24), 44(41), 173(17), 131(14), 91(13), 145(12), 77(12), 160(12), 174(11)     |

|                                    |       |       |     |                                                                                          |
|------------------------------------|-------|-------|-----|------------------------------------------------------------------------------------------|
| 8-O-demetilmaritidina <b>(32)</b>  | 22.54 | 94,10 | 273 | 201(100), 273(89), 189(70), 230(40), 157(36), 56(35), 202(33), 175(32), 129(32), 174(29) |
| Desconhecido (m/z 294) <b>(24)</b> | 30.62 | Tra   | -   | 294(100), 295(83), 296(15), 221(12), 250(10), 237(10), 279(10), 194(9), 148(7), 251(6)   |
| Desconhecido (m/z 344) <b>(33)</b> | 27.44 | 1,72  | -   | 344(100), 345(36), 59(19), 77(19), 75(16), 135(11), 115(10), 193(7), 253(6), 91(6)       |

**DCBA.S 3.3**

|                                        |       |       |     |                                                                                           |
|----------------------------------------|-------|-------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| 11,12-Dehidroanidrolícorina <b>(9)</b> | 27.75 | 0,68  | 249 | 248(100), 249(60), 190(23), 95(22), 191(10), 81(10), 163(8), 250(8), 123(8), 189(6)       |
| 11-Hidroxivitatina <b>(34)</b>         | 29.16 | 24,62 | 287 | 258(100), 181(27), 128(19), 259(17), 211(16), 115(16), 186(16), 153(13), 214(11), 223(11) |
| Hamaine <b>(35)</b>                    | 29.19 | 24,82 | 287 | 258(100), 181(31), 223(29), 115(25), 128(24), 153(24), 224(23), 211(18), 152(18), 259(18) |
| Pseudolícorina <b>(36)</b>             | 30.88 | 49,86 | 289 | 228(100), 229(66), 289(29), 270(21), 288(20), 230(10), 214(8), 254(8), 252(7), 147(7)     |

**DCBA.S 4.2**

|                                    |       |       |     |                                                                                          |
|------------------------------------|-------|-------|-----|------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2-Hidroxihomolícorina <b>(37)</b>  | 33.73 | 0,57  | 332 | 125(100), 96(33), 124(8), 126(8), 80(3), 151(3), 82(3)                                   |
| Desconhecido (m/z 315) <b>(28)</b> | 26.10 | 99,42 | -   | 315(100), 211(73), 185(62), 188(53), 298(38), 223(27), 212(27), 186(24), 316(22), 77(20) |

**DCRA 1**

|                                    |       |       |   |                                                                                           |
|------------------------------------|-------|-------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| Desconhecido (m/z 294) <b>(24)</b> | 32.6  | 0,87  | - | 294(100), 295(83), 296(15), 221(12), 250(10), 237(10), 279(10), 194(9), 148(7), 251(6)    |
| Desconhecido (m/z 344) <b>(33)</b> | 27.45 | 66,8  | - | 344(100), 345(36), 59(19), 77(19), 75(16), 135(11), 115(10), 193(7), 253(6), 91(6)        |
| Desconhecido (m/z 278) <b>(10)</b> | 31.82 | 35,31 | - | 278(100), 279(71), 235(30), 263(21), 178(18), 177(13), 150(13), 280(12), 236(11), 151(11) |

**DCRA 2**

|                                                         |       |       |     |                                                                                           |
|---------------------------------------------------------|-------|-------|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| Desconhecido (Derivado 2-O-Metiltiramina) <b>(38)</b>   | 7.30  | 2,52  |     | 122(100), 121(94), 93(33), 65(18), 123(6), 63(4), 62(3), 66(3), 64(1), 182(<1)            |
| O-Demetillicoramina <b>(39)</b>                         | 23.32 | 1,78  | 331 | 274(100), 275(69), 188(7), 174(5), 175(5), 115(4), 258(4), 77(2), 182(1), 256(<1)         |
| Anidrolícorina <b>(40)</b>                              | 24.33 | 2,13  | 251 | 250(100), 251(41), 192(20), 191(15), 252(9), 193(8), 248(8), 163(7), 96(7), 125(6)        |
| 11,12-Dehidroanidrolícorina <b>(9)</b>                  | 25.90 | 14,49 | 249 | 248(100), 249(60), 190(23), 95(22), 191(10), 81(10), 163(8), 250(8), 123(8), 189(6)       |
| Desconhecido (Derivado 2-O-Metilpancracina) <b>(41)</b> | 26.09 | 0,23  | -   | 301(100), 270(91), 223(24), 198(18), 115(17), 188(15), 229(135), 269(12), 242(10), 300(9) |
| Desconhecido (Derivado 6-Epimensembranol) <b>(42)</b>   | 26.62 | 0,21  | -   | 291(100), 290(90), 218(51), 175(45), 292(27), 145(9)                                      |
| Hippadina <b>(19)</b>                                   | 28.10 | 1,85  | 263 | 263(100), 262(28), 177(24), 150(18), 264(17), 131(16), 75(11), 178(10), 205(10), 175(7)   |
| Dehidrolícorina <b>(30)</b>                             | 28.63 | 23,99 | 289 | 288(100), 289(32), 147(5), 272(5), 290(5), 270(4), 226(4), 119(4), 214(3), 91(3)          |
| Pseudolícorina <b>(36)</b>                              | 28.97 | 6,35  | 289 | 228(100), 229(66), 289(29), 270(21), 288(20), 230(10), 214(8), 254(8), 252(7), 147(7)     |
| Galantina <b>(43)</b>                                   | 29.70 | 1,21  | 317 | 243(100), 242(88), 319(18), 316(16), 244(15), 268(14), 298(14), 300(12), 266(11), 224(11) |
| Ungminorina <b>(12)</b>                                 | 30.03 | 6,21  | 317 | 268(100), 299(58), 212(54), 242(49), 214(44), 250(36), 224(24), 225(22), 240(20), 316(17) |
| Desconhecido (m/z 264) <b>(13)</b>                      | 30.39 | 13,52 | -   | 264(100), 265(56), 178(11), 266(9), 206(79), 206(7), 150(5), 177(4), 103(4), 89(4)        |



|                                    |       |      |   |                                                                                           |
|------------------------------------|-------|------|---|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| Desconhecido (m/z 294) <b>(24)</b> | 30.52 | Tra  | - | 294(100), 295(83), 296(15), 221(12), 250(10), 237(10), 279(10), 194(9), 148(7), 251(6)    |
| Desconhecido (m/z 344) <b>(33)</b> | 25.79 | 2,11 | - | 344(100), 345(36), 59(19), 77(19), 75(16), 135(11), 115(10), 193(7), 253(6), 91(6)        |
| Desconhecido (m/z 289) <b>(44)</b> | 26.56 | 0,85 | - | 289(100), 272(23), 270(19), 227(17), 92(13), 161(12), 201(12), 105(11), 162(11), 256(10)  |
| Desconhecido (m/z 278) <b>(10)</b> | 29.83 | 22,4 | - | 278(100), 279(71), 235(30), 263(21), 178(18), 177(13), 150(13), 280(12), 236(11), 151(11) |

**DCRA 3**

|                                                               |       |       |     |                                                                                            |
|---------------------------------------------------------------|-------|-------|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------|
| O-Metiltiramina <b>(1)</b>                                    | 7.29  | 0,12  | 151 | 121(100), 122(78), 65(45), 73(24), 32(20), 44(12), 31(7)                                   |
| Anidrolícorina <b>(40)</b>                                    | 24.33 | 2,26  | 251 | 250(100), 251(41), 192(20), 191(15), 252(9), 193(8), 248(8), 163(7), 96(7), 125(6)         |
| 11,12-Dehidroanidrolícorina <b>(9)</b>                        | 25.88 | 3,55  | 249 | 248(100), 249(60), 190(23), 95(22), 191(10), 81(10), 163(8), 250(8), 123(8), 189(6)        |
| 2-O-Metilpancracina (Montanina) <b>(21)</b>                   | 26.09 | 1,35  | 301 | 301(100), 270(83), 257(36), 223(34), 226(29), 115(29), 252(28), 185(28), 229(225), 197(19) |
| Haemantamina <b>(16)</b>                                      | 26.24 | 0,38  | 272 | 272(100), 181(18), 273(18), 240(15), 242(15), 211(14), 214(10), 186(10), 115(9), 212(9)    |
| Desconhecido (Derivado 6- <i>Epimense</i> branol) <b>(42)</b> | 26.63 | 0,50  | -   | 291(100), 290(90), 218(51), 175(45), 292(27), 145(9)                                       |
| Pancracina <b>(45)</b>                                        | 27.22 | 0,45  | 287 | 287(100), 288(22), 243(19), 286(18), 199(16), 223(15), 185(15), 214(14), 242(9), 244(7)    |
| Hamaine <b>(35)</b>                                           | 27.39 | 0,72  | 287 | 258(100), 181(31), 223(29), 115(25), 128(24), 153(24), 224(23), 211(18), 152(18), 259(18)  |
| Lícorina <b>(17)</b>                                          | 28.03 | 64,00 | 287 | 226(100), 227(75), 268(20), 287(16), 250(15), 147(14), 186(14), 119(10), 91(10), 77(8)     |
| Dihidrolícorina <b>(30)</b>                                   | 28.60 | 0,80  | 289 | 288(100), 289(32), 147(5), 272(5), 290(5), 270(4), 226(4), 119(4), 214(3), 91(3)           |
| Pseudolícorina <b>(36)</b>                                    | 28.98 | 1,06  | 289 | 228(100), 229(66), 289(29), 270(21), 288(20), 230(10), 214(8), 254(8), 252(7), 147(7)      |
| Assoanine <b>(46)</b>                                         | 29.29 | 3,72  | 267 | 266(100), 267(46), 268(6), 208(6), 104(3), 77(1), 86(<1)                                   |
| Galantina <b>(43)</b>                                         | 29.72 | 4,69  | 317 | 243(100), 242(88), 319(18), 316(16), 244(15), 268(14), 298(14), 300(12), 266(11), 224(11)  |
| Ungminorina <b>(12)</b>                                       | 30.05 | 6,73  | 317 | 268(100), 299(58), 212(54), 242(49), 214(44), 250(36), 224(24), 225(22), 240(20), 316(17)  |
| Desconhecido (m/z 264) <b>(13)</b>                            | 30.37 | 3,35  | -   | 264(100), 265(56), 178(11), 266(9), 206(79), 206(7), 150(5), 177(4), 103(4), 89(4)         |
| Desconhecido (Metilpseudolícorina) <b>(47)</b>                | 30.99 | Tra   | -   | 242(100), 243(88), 286(34), 302(23), 284(22), 244(17), 240(10)                             |
| Desconhecido (m/z 278) <b>(10)</b>                            | 29.82 | 6,09  | -   | 278(100), 279(71), 235(30), 263(21), 178(18), 177(13), 150(13), 280(12), 236(11), 151(11)  |

**DCRA 4**

|                                        |       |     |     |                                                                                     |
|----------------------------------------|-------|-----|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|
| 11,12-Dehidroanidrolícorina <b>(9)</b> | 27.77 | Tra | 249 | 248(100), 249(60), 190(23), 95(22), 191(10), 81(10), 163(8), 250(8), 123(8), 189(6) |
|----------------------------------------|-------|-----|-----|-------------------------------------------------------------------------------------|

Anexo A.4. Dados de CG-EM das frações não finalizadas de *Hippeastrum glaucescens*

Tabela 64. Dados de Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria das frações não finalizadas de *Hippeastrum glaucescens*.

continua

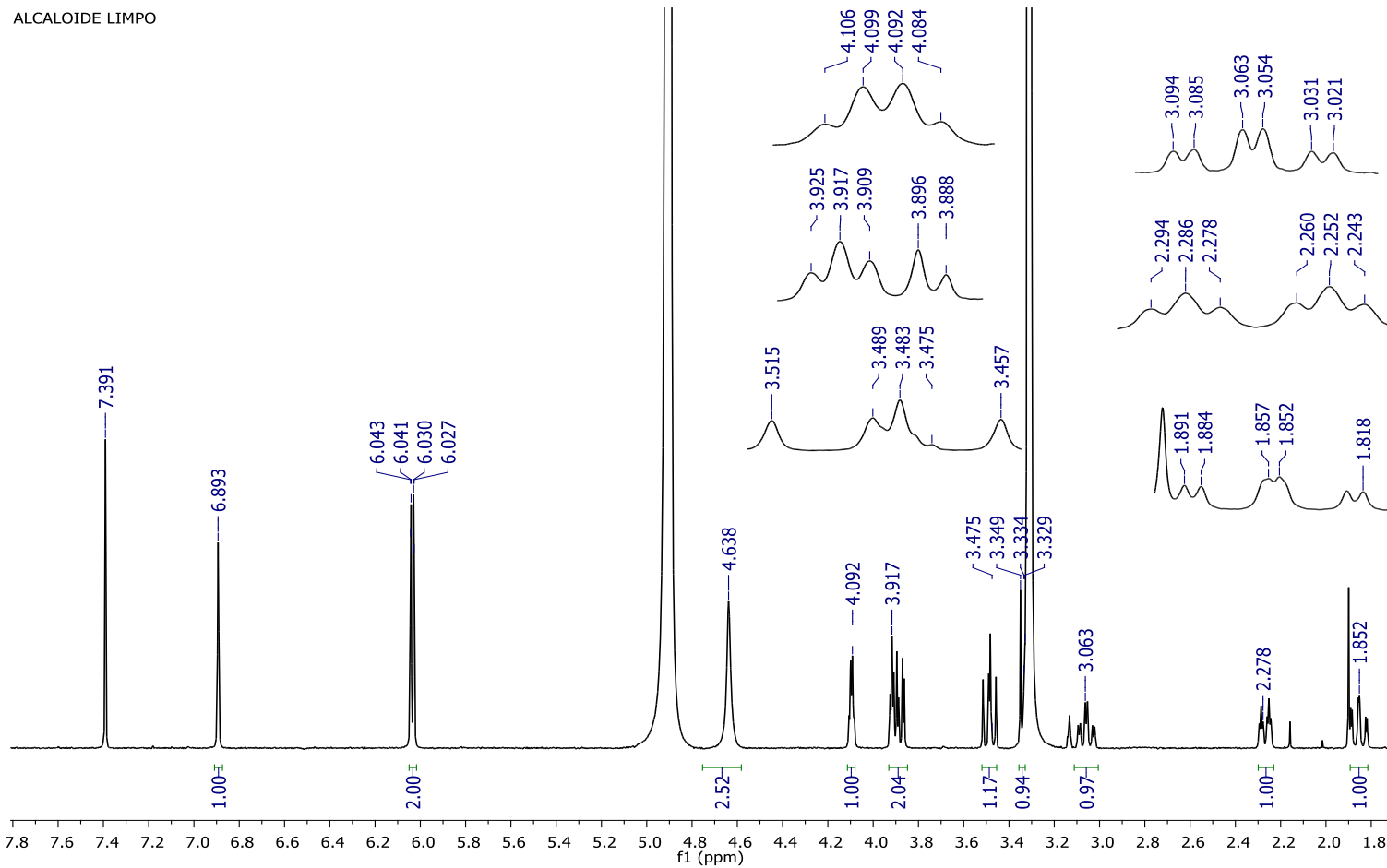
| <i>Hippeastrum glaucescens</i> |       |     |                | Frações não finalizadas                                                           |  |
|--------------------------------|-------|-----|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------|--|
| Compostos                      | RT    | %   | M <sup>+</sup> | EM                                                                                |  |
| <u>GBLA 2.2.5</u>              |       |     |                |                                                                                   |  |
| Desconhecido (m/z 107) (48)    | 21.11 | 100 | -              | 107(100), 204(25), 144(25), 75(18), 77(15), 89(13), 59(8), 108(8), 159(8), 172(7) |  |
| <u>GBLA 3.3.3</u>              |       |     |                |                                                                                   |  |

|                                                           |       |       |     |                                                                                          |
|-----------------------------------------------------------|-------|-------|-----|------------------------------------------------------------------------------------------|
| Desconhecido (Derivado Nerinina) <b>(49)</b>              | 25.72 | 0,98  | -   | 109(100), 108(19), 110(7), 82(2), 94(2), 81(1), 93(1), 193(1), 221(1), 77(1)             |
| Licorenina <b>(35)</b>                                    | 26.39 | 42,52 | 317 | 109(100), 108(15), 110(8), 94(6), 221(5), 81(2), 82(2), 330(2), 42(2), 31(1)             |
| 8-O-demetilhomolicorina <b>(50)</b>                       | 30.82 | 54,07 | 301 | 109(100), 108(21), 110(8), 94(4), 81(3), 82(3), 42(2), 93(2), 107(1), 67(1)              |
| Desconhecido (m/z 329) <b>(51)</b>                        | 26.58 | 2,40  | -   | 329(100), 268(81), 44(66), 264(44), 296(44), 266(44), 252(39), 311(38), 236(38), 154(34) |
| <b><u>GBLA 3.3.4</u></b>                                  |       |       |     |                                                                                          |
| Nerinina <b>(52)</b>                                      | 30.82 | 12,88 | 347 | 109(100), 108(22), 110(8), 94(4), 81(4), 82(3), 42(2), 93(2), 107(1), 67(1)              |
| 8-O-demetilhomolicorina <b>(53)</b>                       | 30.82 | 14,42 | 301 | 109(100), 108(21), 110(8), 94(4), 81(3), 82(3), 42(2), 93(2), 107(1), 67(1)              |
| Ungerine <b>(54)</b>                                      | 32.61 | 0,10  | 329 | 124(100), 139(96), 125(30), 96(24), 42(11), 78(10), 65(10), 53(8), 140(8), 94(8)         |
| Desconhecido (Derivado 2-metoxihomolicorina) <b>(55)</b>  | 32.72 | 4,90  | -   | 139(100), 124(67), 140(9), 96(7), 94(5), 178(2), 81(2), 77(2), 82(1), 95(1)              |
| Desconhecido (m/z 139) <b>(56)</b>                        | 33.46 | 67,68 | -   | 139(100), 124(55), 140(9), 125(4), 94(3), 96(3), 81(1), 95(1), 193(1), 221(1)            |
| <b><u>GBLA 4.2.5.2</u></b>                                |       |       |     |                                                                                          |
| Desconhecido (m/z 150) <b>(57)</b>                        | 28.48 | 100   | -   | 150(100), 135(81), 77(67), 107(55), 137(49), 162(49), 272(46), 131(31), 147(29), 207(24) |
| <b><u>GBLA 4.2.6.2</u></b>                                |       |       |     |                                                                                          |
| Desconhecido (m/z 361) <b>(58)</b>                        | 26.54 | 80,25 | -   | 361(100), 213(6), 161(60), 376(46), 343(30), 362(25), 215(16), 128(13), 115(12), 229(12) |
| Desconhecido (m/z 203) <b>(59)</b>                        | 25.92 | 19,75 | -   | 190(100), 175(81), 129(27), 189(27), 145(26), 202(26), 203(18), 191(12), 105(11), 43(10) |
| <b><u>GBA 1.1.2</u></b>                                   |       |       |     |                                                                                          |
| Desconhecido (Derivado Nerinina) <b>(60)</b>              | 26.38 | 23,69 | -   | 109(100), 108(19), 110(7), 82(2), 94(2), 81(1), 93(1), 193(1), 221(1), 77(1)             |
| Desconhecido (Derivado 2-hydroxihomolicorina) <b>(61)</b> | 32.60 | Tra   | -   | 125(100), 96(56)                                                                         |
| Desconhecido (Derivado 2-metoxihomolicorina) <b>(62)</b>  | 33.42 | 76,01 | -   | 139(100), 124(67), 140(9), 96(7), 94(5), 178(2), 81(2), 77(2), 82(1), 95(1)              |
| Desconhecido (m/z 247) <b>(63)</b>                        | 28.24 | 0,28  | -   | 247(100), 70(79), 42(68), 152(63), 71(62), 153(53), 77(52), 63(47), 115(45), 89(34)      |

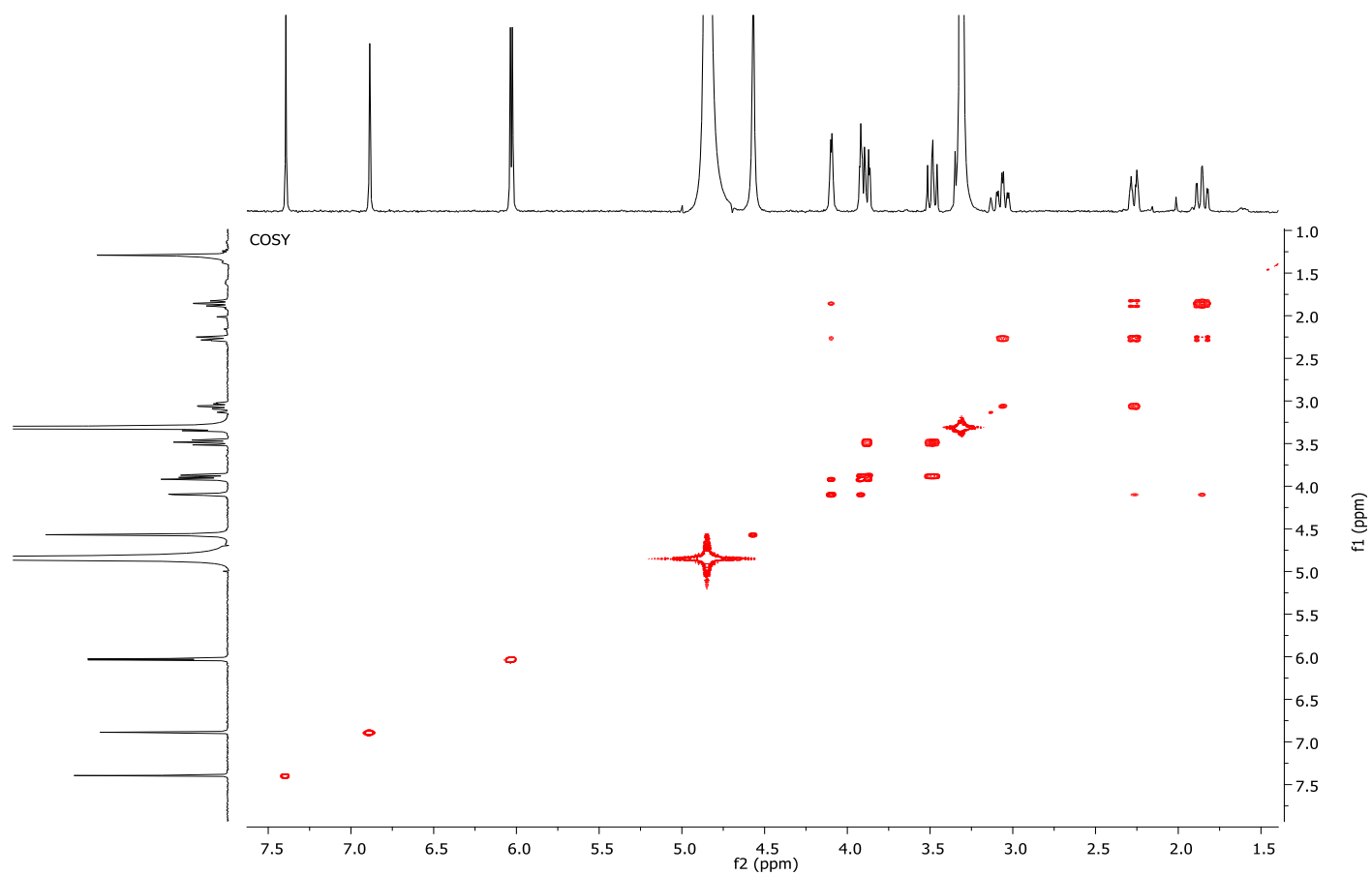
## Anexo A.5. Dados de RMN uni e bidimensional do composto (II)

**Tabela 65.** Dados espectrais de RMN uni e bidimensional do composto (II). \*Deslocamento conforme literatura, sendo necessário a análise de  $^{13}\text{C}$  para realizar a comparação.

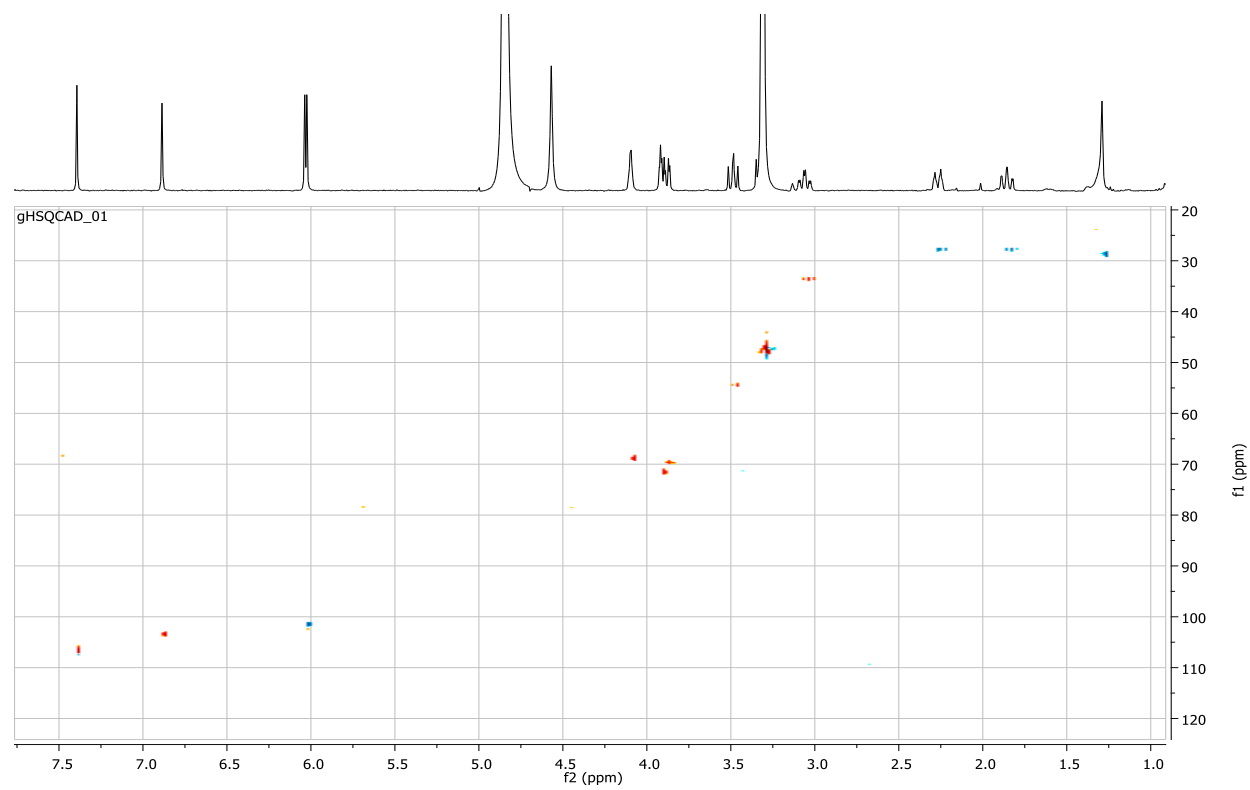
| Posição                     | H $\delta$ | H $\delta$ (J em Hz)         | COSY                                | NOESY                            | HSQC    | HMBC    |
|-----------------------------|------------|------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|---------|---------|
| <b>1<math>\alpha</math></b> | 2,26       | <i>dt</i> (13.6, 3.2)        | H1 $\beta$ , H2, H10b               | H1 $\beta$ , H2, H10, H10b       | 28.1 t  |         |
| <b>1<math>\beta</math></b>  | 1,85       | <i>ddd</i> (13.6, 12.8, 3.2) | H1 $\alpha$ , H2, H10b              | H1 $\beta$ , H2, H4a, H10, H10b  |         | -       |
| <b>2</b>                    | 4.09       | <i>q</i> (3.2)               | H1 $\alpha$ , H1 $\beta$ , H3       | H1 $\alpha$ , H1 $\beta$ , H3    | 68.8 t  | -       |
| <b>3</b>                    | 3,91       | <i>t</i> (3.2)               | H2, H4                              | H2, H4                           | 71.4 t  | -       |
| <b>4</b>                    | 3.88       | <i>dd</i> (10.0, 3.2)        | H3, 4a                              | H4a, H10b                        | 69.6 t  | -       |
| <b>4a</b>                   | 3.48       | <i>dd</i> (12.8, 10.0)       | H4, H10b                            | H1 $\beta$ , H4, H10b,           | 54,7    | -       |
| <b>6</b>                    | -          | -                            | -                                   | -                                | 164,4*  | -       |
| <b>6a</b>                   | -          | -                            | -                                   | -                                | 122.7 s | -       |
| <b>7</b>                    | 7,39       | <i>s</i>                     | H10                                 | -                                | 103.6 s | -       |
| <b>8</b>                    | -          | -                            | -                                   | -                                | 146.6 s | -       |
| <b>9</b>                    | -          | -                            | -                                   | -                                | 151,8   | -       |
| <b>10</b>                   | 6,89       | <i>s</i>                     | H7, H10b                            | H1 $\alpha$ , H1 $\beta$         | 103.4 s | C6a, C8 |
| <b>10a</b>                  | -          | -                            | -                                   | -                                | 138,1*  | -       |
| <b>10b</b>                  | 3.05       | <i>ddd</i> (12.8, 12.8, 3.2) | H1 $\alpha$ , H1 $\beta$ , H4a, H10 | H1 $\alpha$ , H1 $\beta$ H4, H4a | 33.6 q  | -       |
| <b>OCH<sub>2</sub>O</b>     | 6,04       | <i>br d</i>                  | -                                   | -                                | 101.7 s | C8      |



**Figura 51.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto (II) e ampliações ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz).

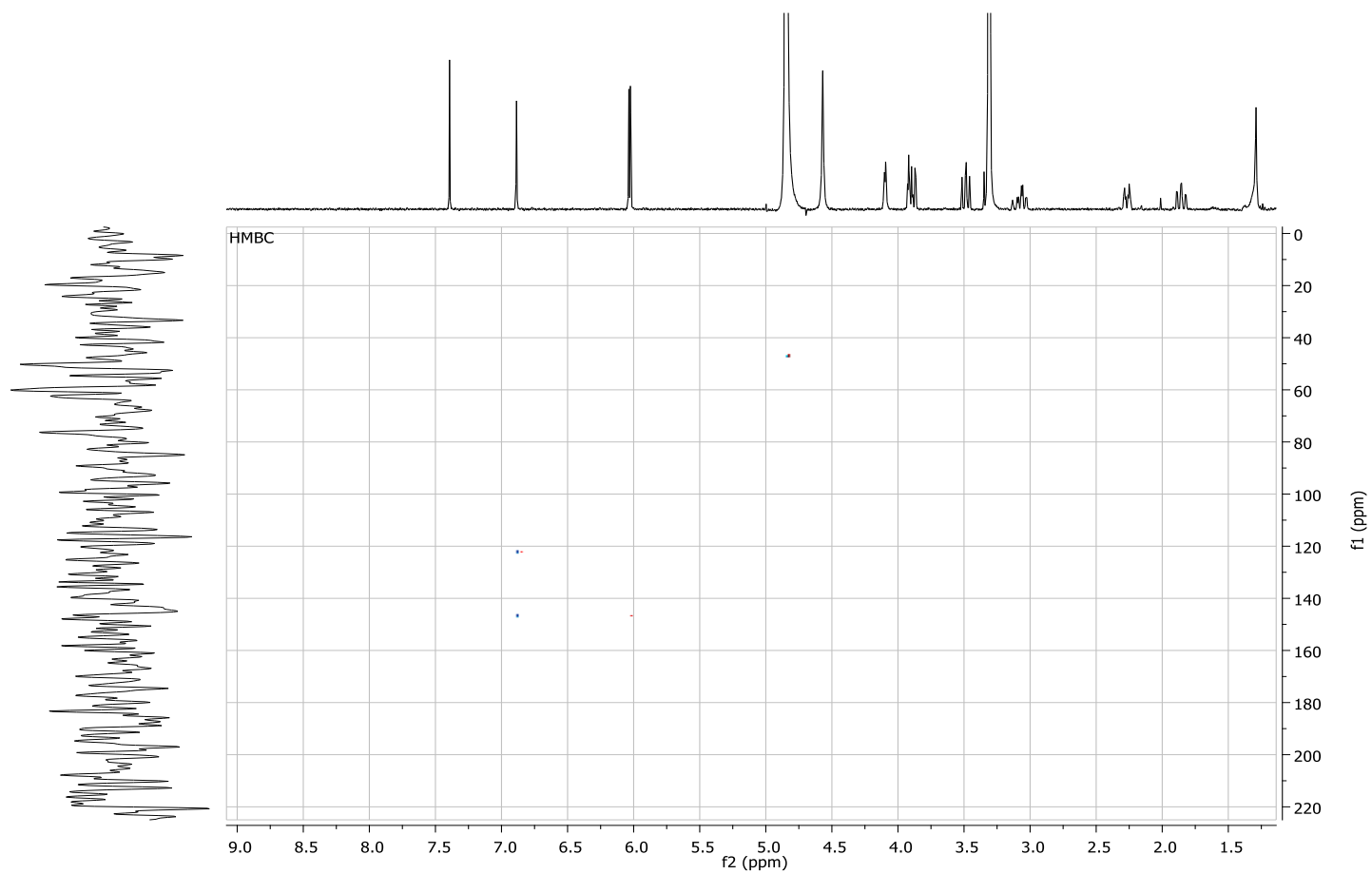


**Figura 52.** Espectro de COSY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  do composto **(II)** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz).

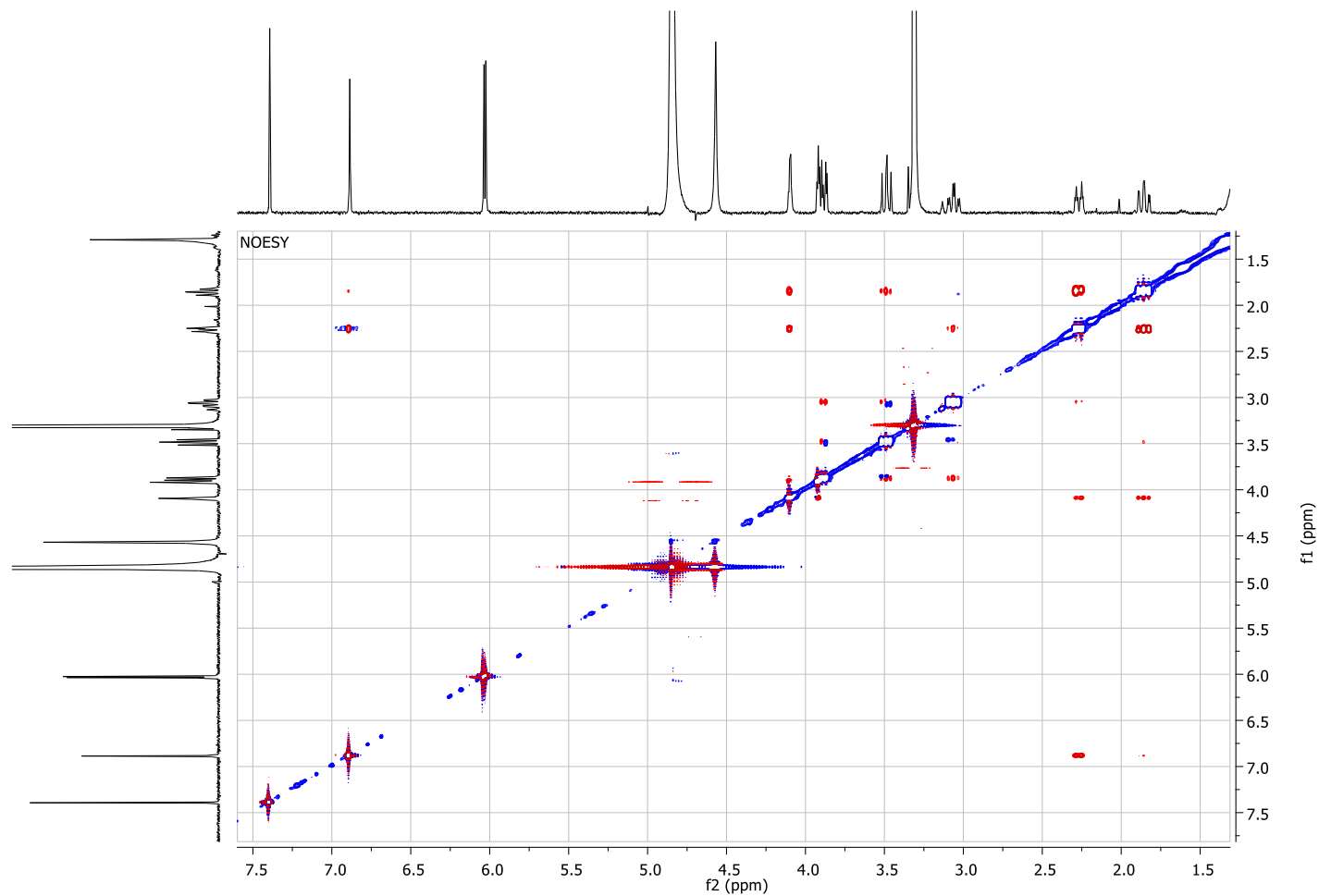


**Figura 53.** Mapa de contornos HSQC do composto **(II)** ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz).





**Figura 54.** Mapa de contornos HMBC do composto **(II)** (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz).



**Figura 55.** Espectro de NOESY  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  do composto **(II)** (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz).

### Anexo A.6. Espectro de massas de alta resolução do composto (IX)

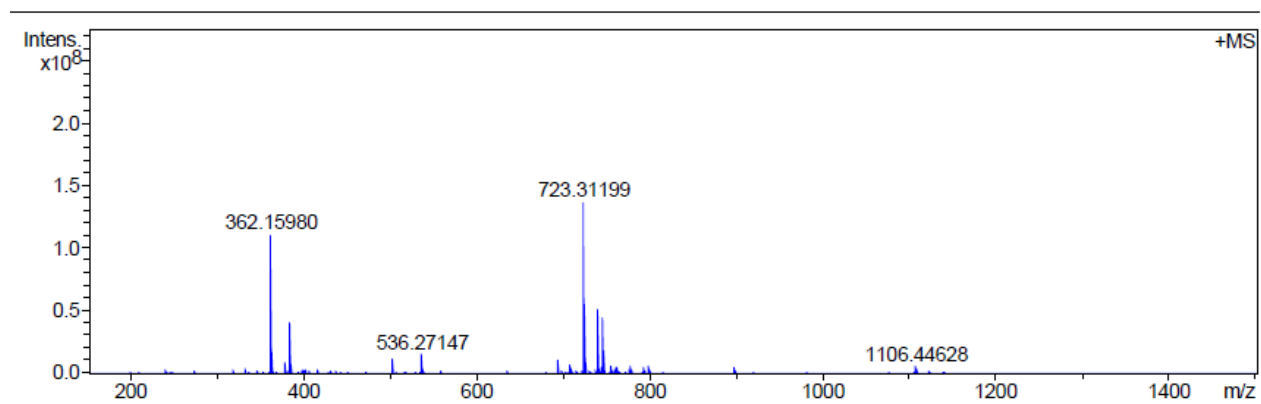
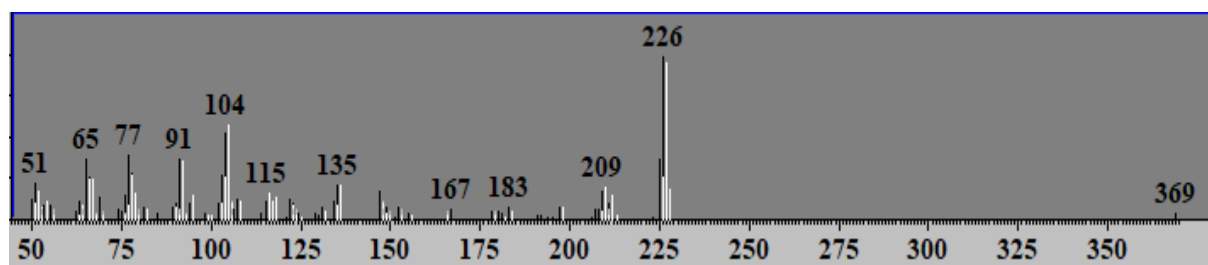
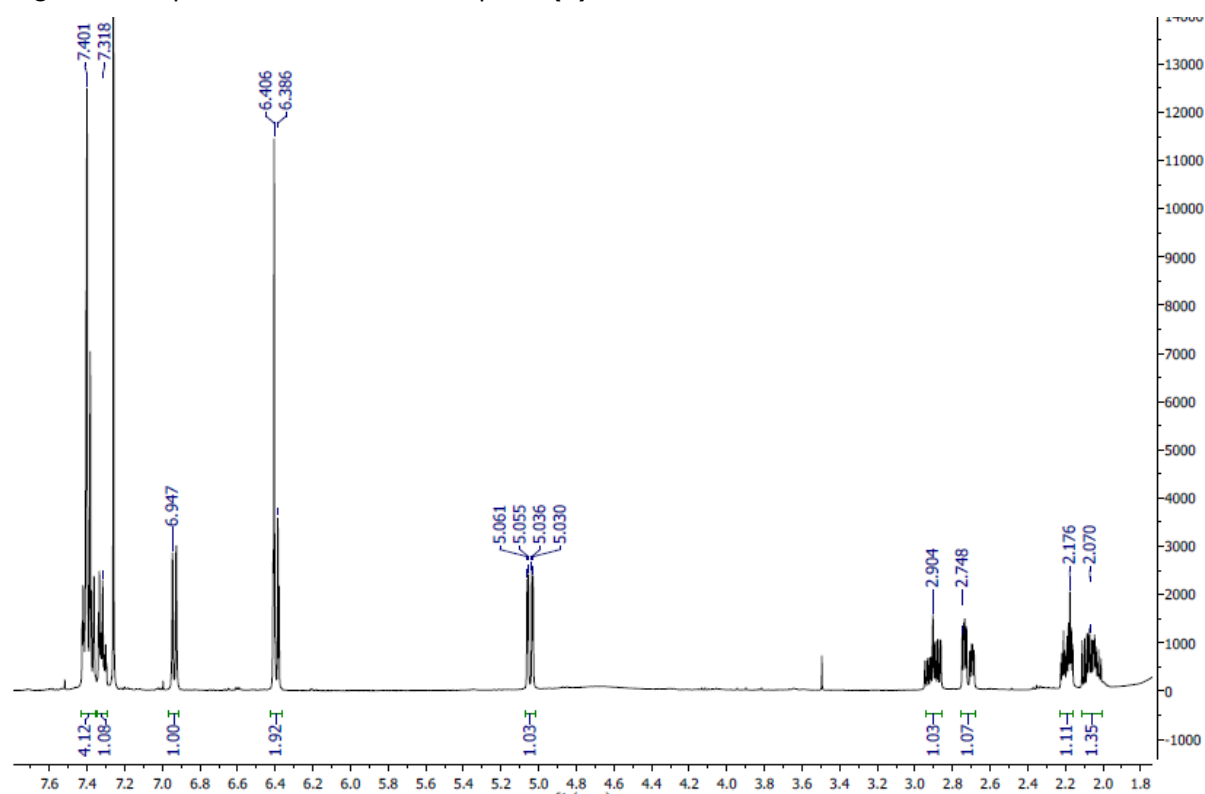


Figura 56. Espectro de massas de alta resolução do composto (IX).

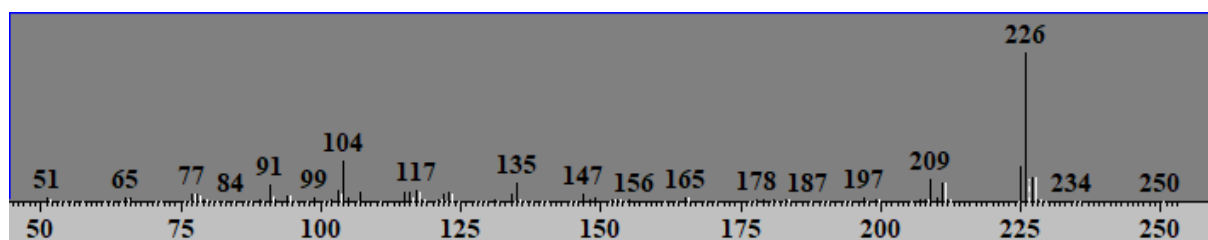
**Anexo A.7. Espectros de massas e de RMN de  $^1\text{H}$  dos compostos (A) até (H)**



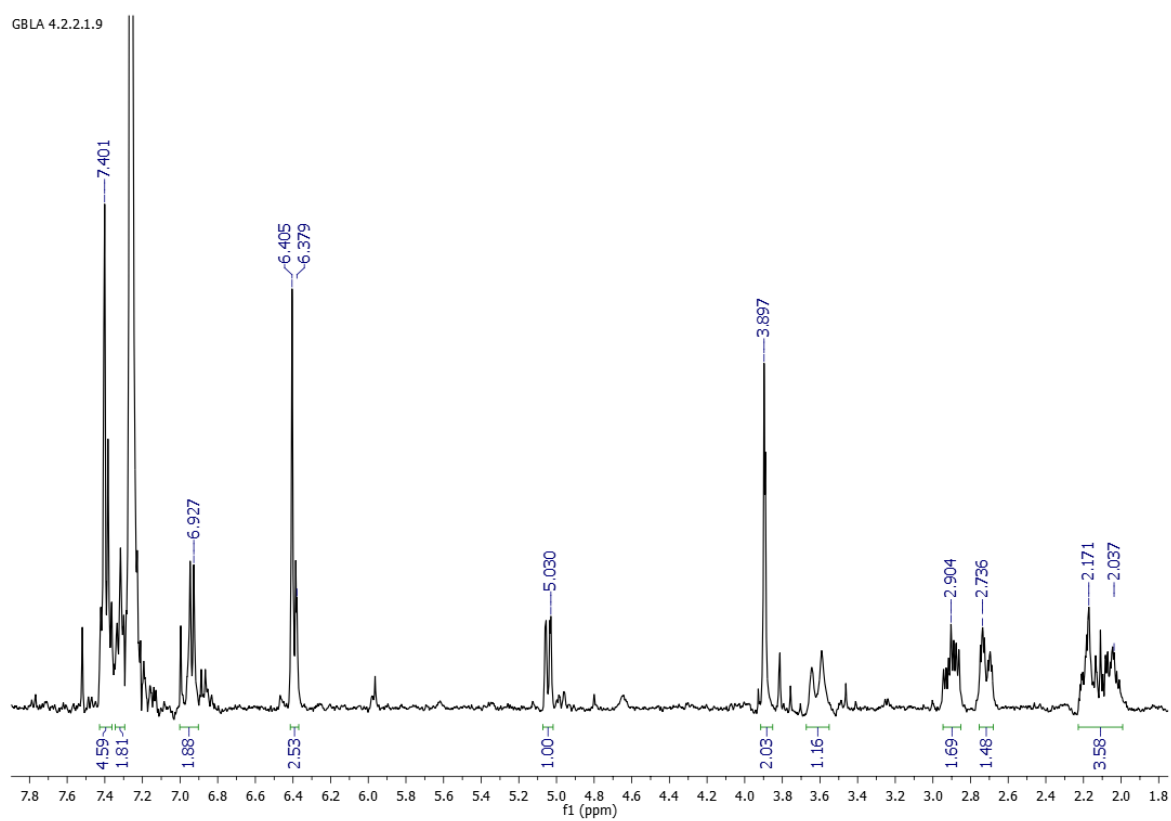
**Figura 57.** Espectro de massas do composto (A).



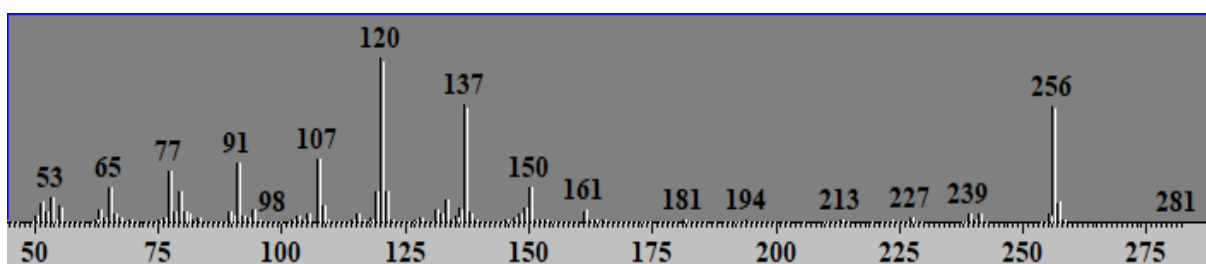
**Figura 58.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto (A).



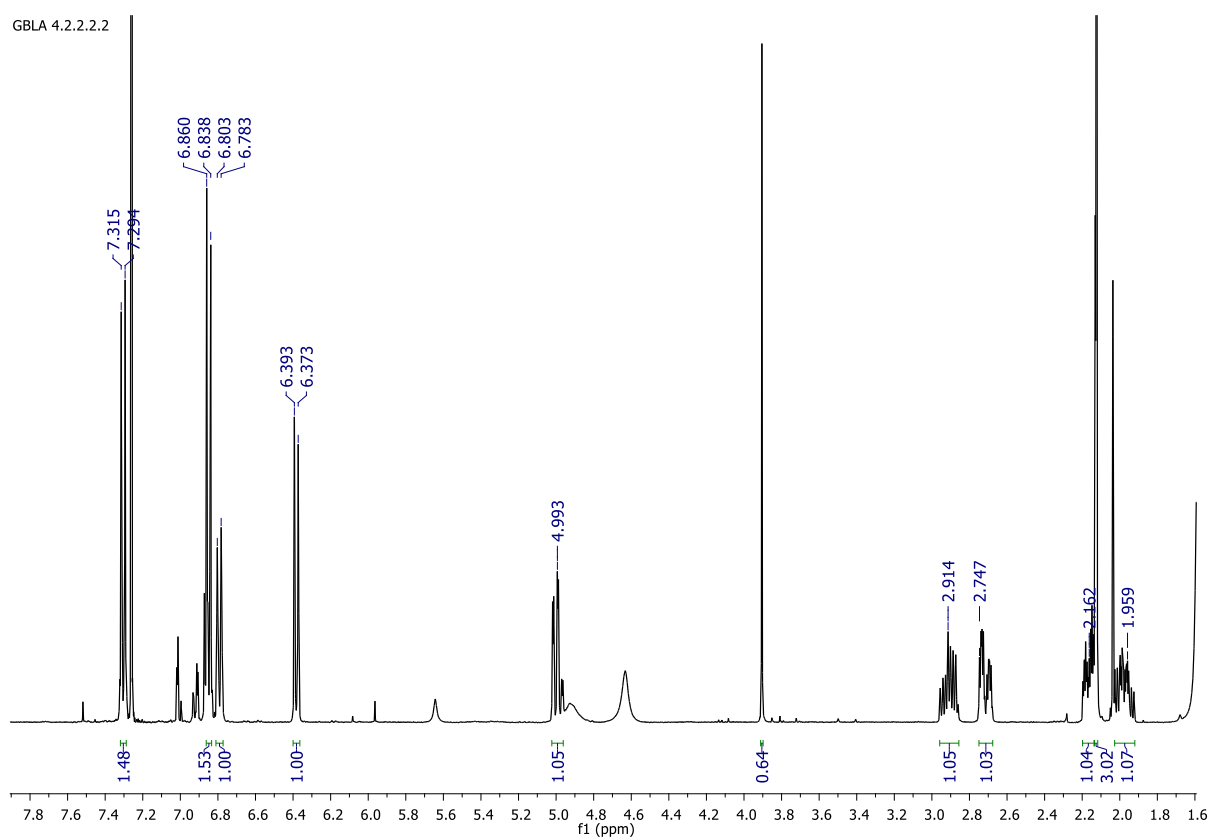
**Figura 59.** Espectro de massas do composto **(B)**.



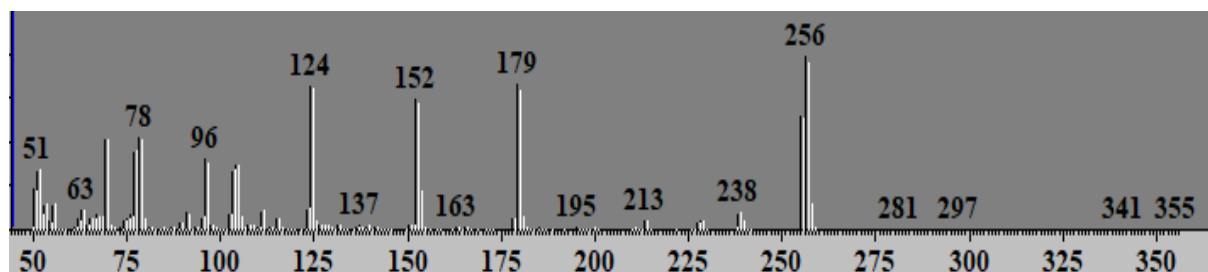
**Figura 60.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto **(B)**.



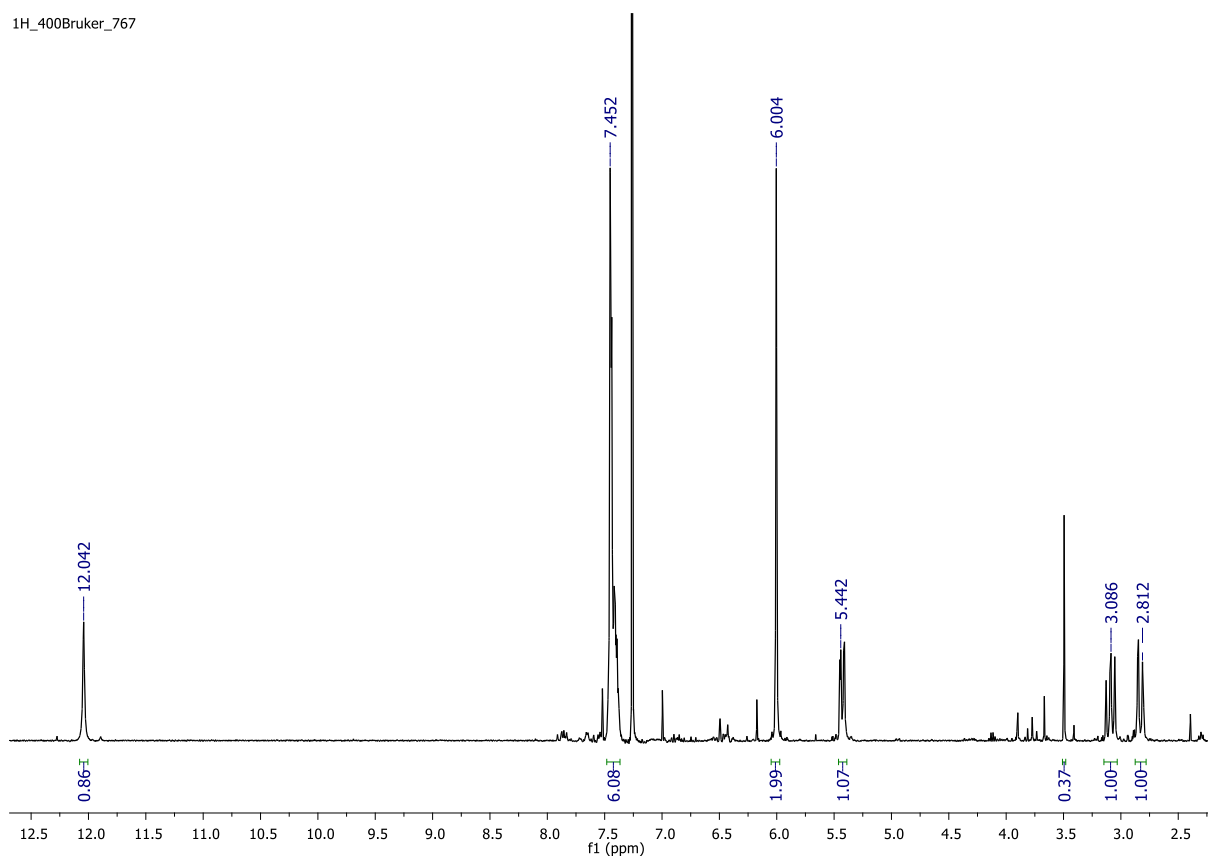
**Figura 61.** Espectro de massas do composto (C).



**Figura 62.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto (C).



**Figura 63.** Espectro de massas do composto (D).



**Figura 64.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto (D).

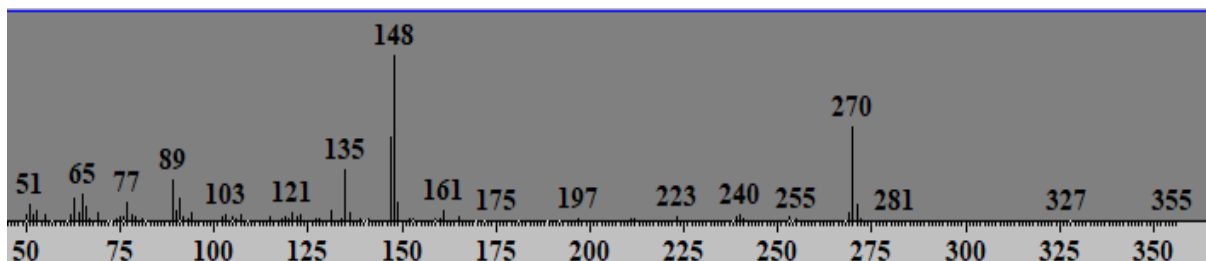


Figura 65. Espectro de massas do composto (E).

GBH.S 3.8.1.4

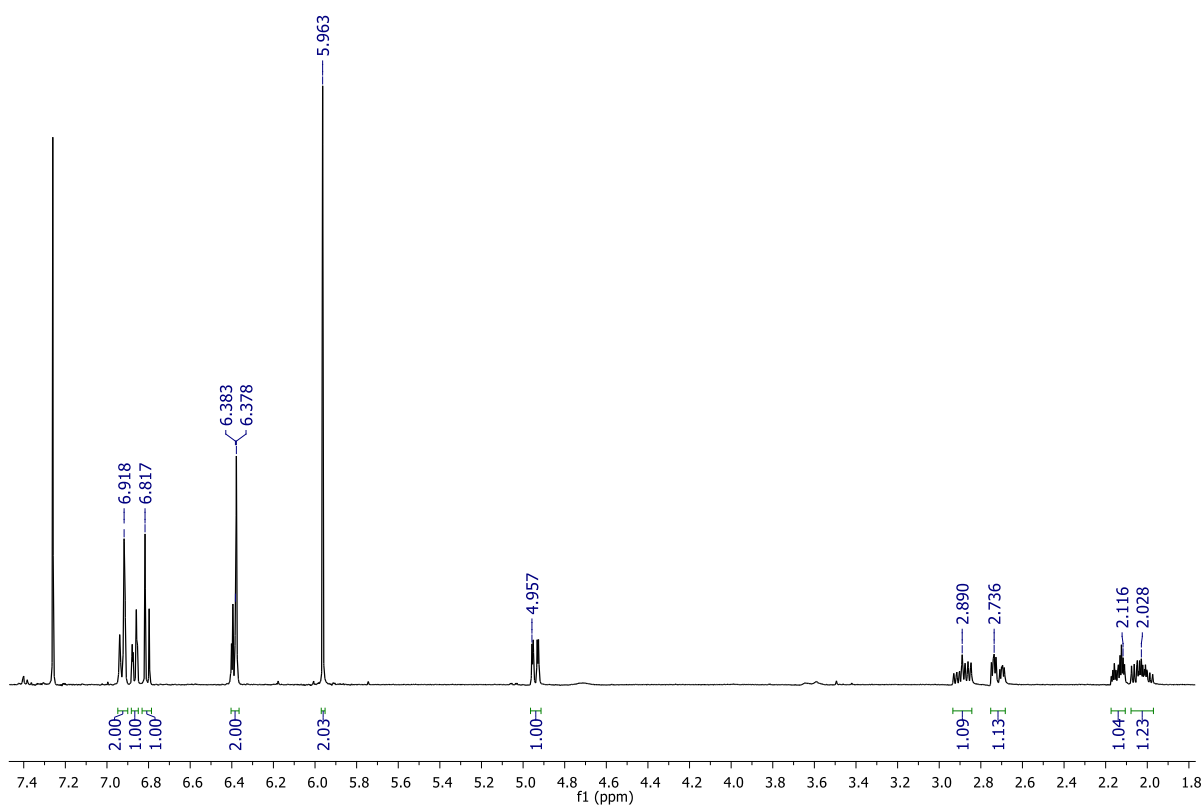


Figura 66. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto (E).



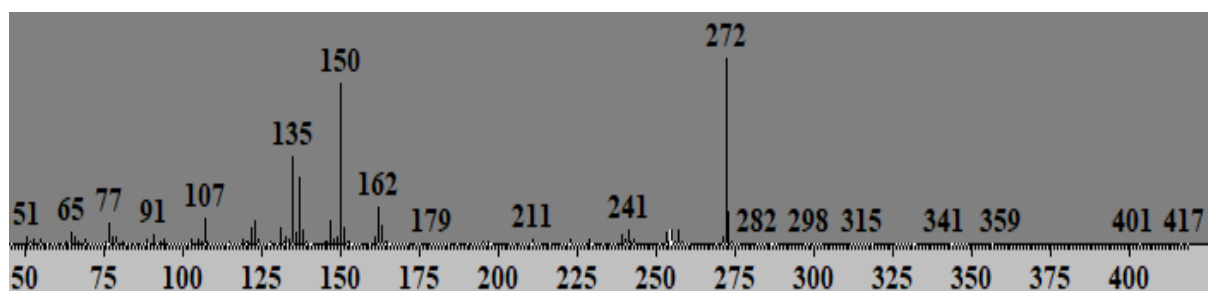


Figura 67. Espectro de massas do composto (F).

GBH.S 3.1.2.3

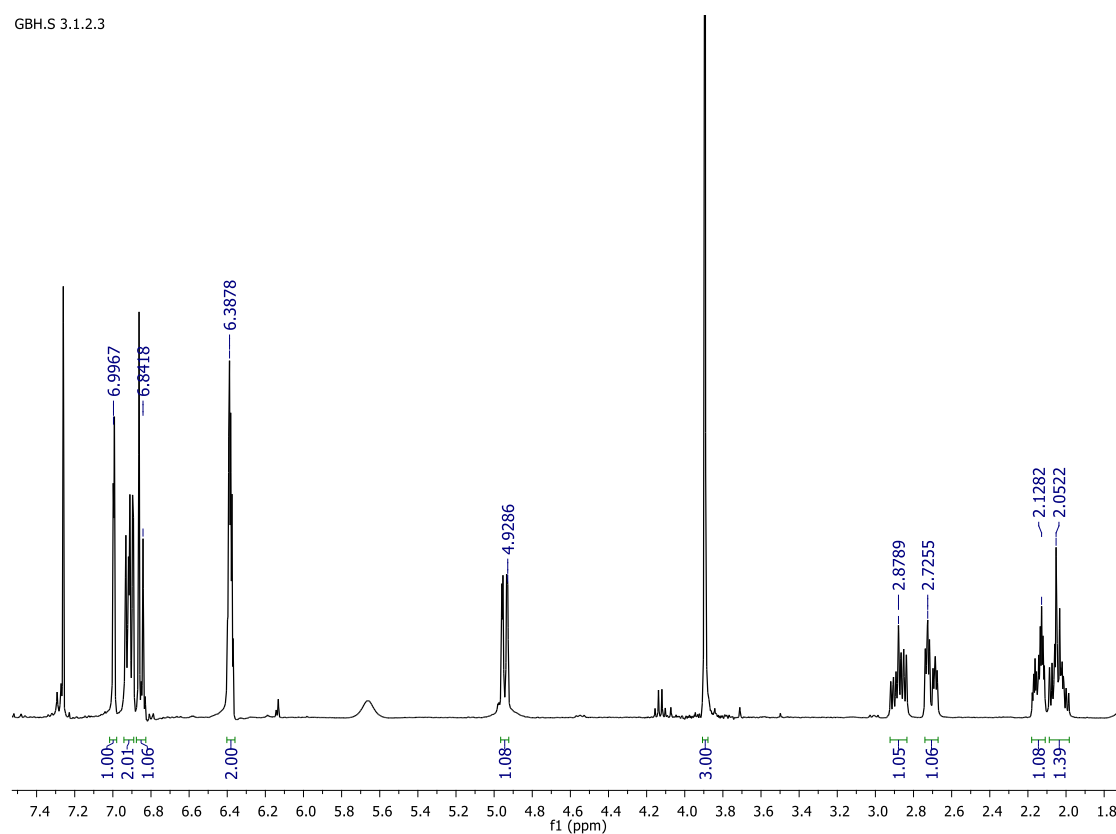


Figura 68. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto (F).

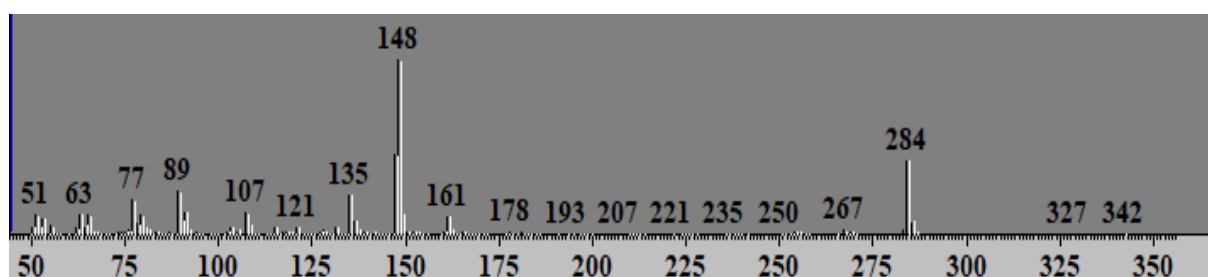


Figura 69. Espectro de massas do composto (G).

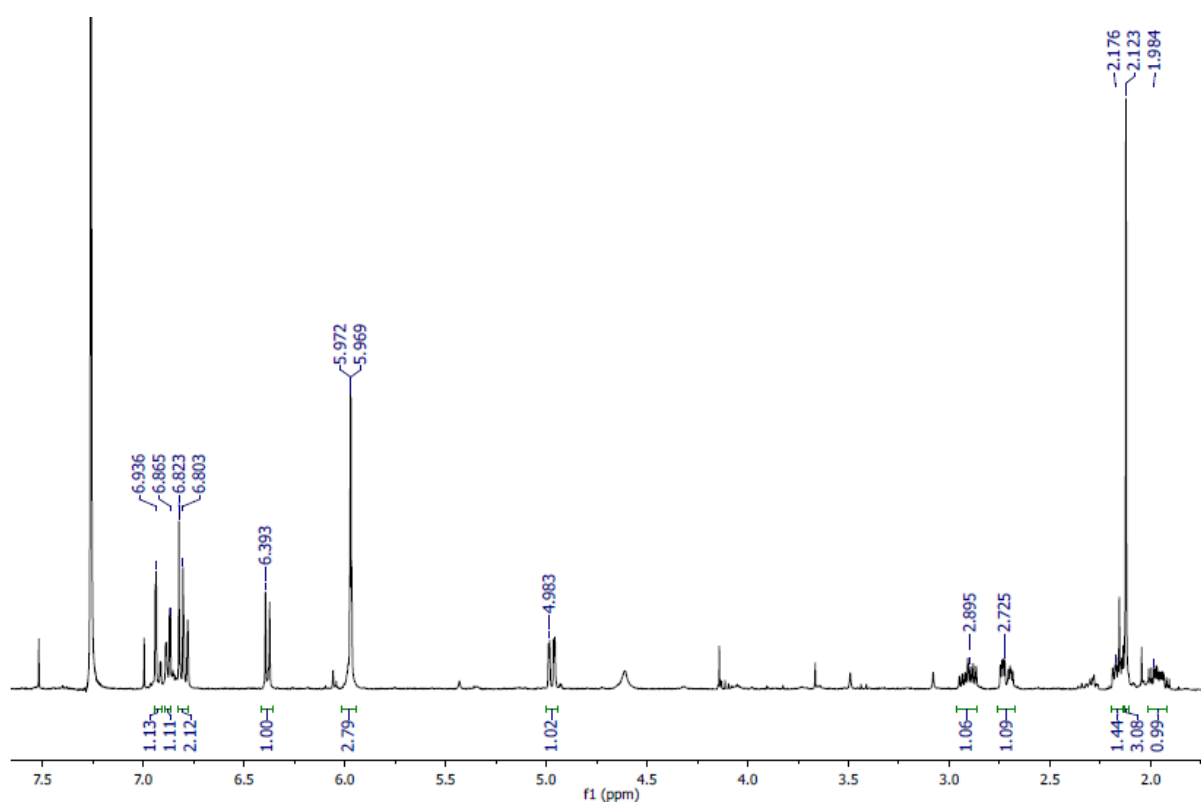


Figura 70. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto (G).

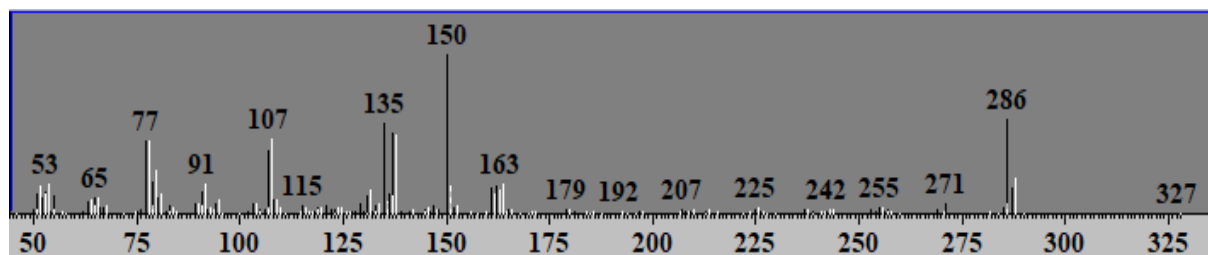


Figura 71. Espectro de massas do composto (H).

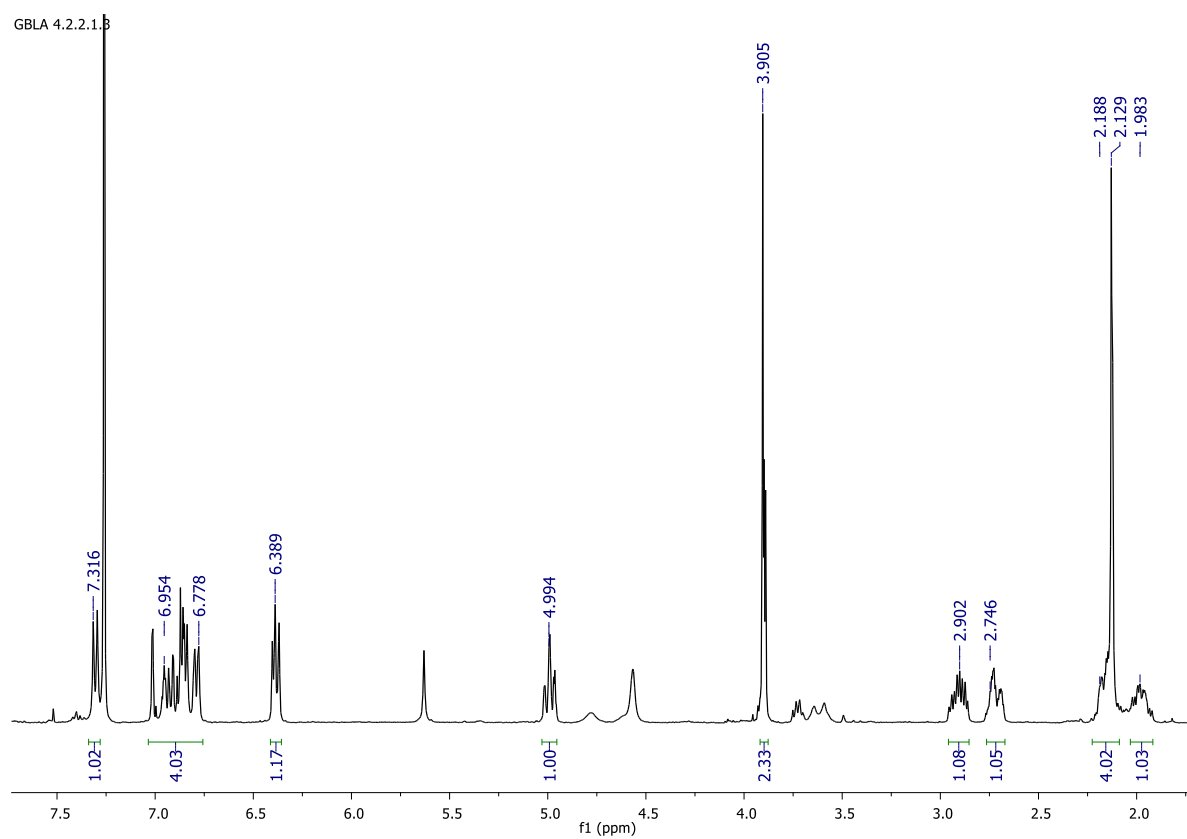


Figura 72. Espectro de RMN <sup>1</sup>H do composto (H).

