

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

QUÍMICA BACHARELADO EM QUÍMICA TECNOLÓGICA

Isolamento e caracterização Estrutural de Alcaloides em *Ocotea diospyrifolia* (Lauraceae)

Júlia Umada Barbosa

Campo Grande – MS

2025

Júlia Umada Barbosa

Isolamento e caracterização Estrutural de Alcaloides em *Ocotea diospyrifolia* (Lauraceae)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no Instituto de Química
como requisito básico para a conclusão do Curso de Química
Bacharelado em Química Tecnológica

Orientador (a): Denise Brentan da Silva

Campo Grande - MS

2025

JULIA UMADA BARBOSA

**ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DE ALCALOIDES
EM *OCOTEA DIOSPYRIFOLIA* (LAURACEAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado pela
Banca Examinadora para obtenção do Grau de
bacharel, no Curso de Química da Universidade da
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Campo Grande, 14 de julho de 2025.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Denise Brentan da Silva - Doutorado - UFMS – Orientador

Profa. Laís Azevedo Rodrigues - Doutorado - UFMS

Profa. Ana Camila Micheletti - Doutorado - UFMS

RESUMO

A bioprospecção de produtos naturais é uma estratégia fundamental na busca por novas moléculas com potencial terapêutico, especialmente os alcaloides, reconhecidos por sua diversidade estrutural e ampla gama de atividades farmacológicas. A família Lauraceae, amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais, é destacada por seu rico conteúdo de metabólitos secundários, como terpenos, polifenóis, fenilpropanoides e alcaloides, especialmente nos gêneros do continente americano, como *Ocotea*. Dentre eles, *Ocotea diospyrifolia* (Meisn.) Mez é uma espécie nativa da América do Sul, tradicionalmente utilizada por comunidades locais no tratamento de resfriados e inflamações, embora seus compostos ativos ainda estejam pouco explorados. Estudos preliminares demonstraram atividade antioxidante, antimicrobiana, acaricida, citotóxica e anti-inflamatória em extratos e óleos essenciais da espécie. Diante disso, este trabalho teve como objetivo isolar, purificar e caracterizar estruturalmente alcaloides presentes na fração alcaloídica de *O. diospyrifolia*, visando ampliar o conhecimento fitoquímico da espécie e avaliar seu potencial como fonte de compostos bioativos. O material vegetal foi coletado em áreas do Cerrado e Pantanal, seco, triturado e submetido à extração por etanol 70%. A fração alcaloídica foi obtida por marcha alcaloídica e posteriormente purificada por cromatografia líquida de alta eficiência em escala semipreparativa (CLAE-DAD). As substâncias isoladas foram analisadas por espectrometria de massas de alta resolução (CLAE-DAD-EM) e submetidas às técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) uni e bidimensionais. Ao todo, foram obtidas 37 frações, das quais quatro apresentaram espectros compatíveis com alcaloides já descritos: reticulina, boldina, isoboldina e laurotetanina. Esta última foi confirmada por análise HMBC, com correlações de longo alcance entre os hidrogênios e carbonos do anel heterocíclico. A análise da fração bruta por CLAE-DAD-EM indicou a presença de outras estruturas aporfínicas e isocoridínicas ainda não isoladas. Além disso, testes biológicos prévios revelaram atividade antileucêmica de aproximadamente 40% da fração contra a linhagem KG-1, sugerindo um efeito citotóxico relevante. A partir desses resultados, conclui-se que *O. diospyrifolia* constitui uma fonte promissora de alcaloides com potencial farmacológico, especialmente para o desenvolvimento de novos protótipos bioativos voltados ao tratamento de doenças neoplásicas. O presente estudo contribui para a valorização da biodiversidade brasileira e do conhecimento etnofarmacológico, reforçando a importância de estudos integrados em fitoquímica e biologia celular.

Palavras-chave: *Ocotea diospyrifolia*. Alcaloides aporfínicos. Produtos naturais. Fitoquímica.

ABSTRACT

Natural products are recognized as valuable sources of bioactive molecules with therapeutic potential and are widely used as starting points for the development of new drugs and phytotherapeutics. Among these, alkaloids stand out for their structural diversity and broad spectrum of pharmacological activities, making them important targets in the bioprospecting of plant species. The Lauraceae family, widely distributed in tropical and subtropical regions, is notable for its richness in secondary metabolites such as terpenes, polyphenols, phenylpropanoids, and especially alkaloids. Within this family, the genus *Ocotea* is particularly relevant, with *Ocotea diospyrifolia* (Meisn.) Mez being a native South American species traditionally used for treating colds, inflammation, and other ailments. Although preliminary studies have reported antioxidant, antimicrobial, acaricidal, cytotoxic, and anti-inflammatory activities in extracts and essential oils of this species, its bioactive compounds remain largely uncharacterized at the molecular level. This study aimed to isolate, purify, and structurally characterize alkaloids from the alkaloid-rich fraction of *O. diospyrifolia*, thereby contributing to the phytochemical knowledge of the species and identifying potential bioactive compounds. Plant material was collected in the Cerrado and Pantanal biomes, dried, ground, and extracted with 70% ethanol. The alkaloid fraction was obtained through acid-base partitioning and purified by semi-preparative high-performance liquid chromatography (HPLC-DAD). Isolated compounds were analyzed by high-resolution mass spectrometry (UHPLC-HRMS) and nuclear magnetic resonance (1D and 2D NMR). A total of 37 fractions were obtained, and four alkaloids were identified: reticuline, boldine, isoboldine, and laurotetanine, the latter being confirmed through long-range correlations in HMBC spectra. The crude alkaloid extract also showed signals compatible with other aporphine- and isocorydine-type alkaloids. Furthermore, previous biological assays revealed approximately 40% anti-leukemic activity against the KG-1 cell line, indicating a relevant cytotoxic potential. These results highlight *O. diospyrifolia* as a promising source of alkaloids with pharmacological relevance, especially for developing new bioactive prototypes targeting neoplastic diseases. This study also reinforces the value of Brazilian biodiversity and ethnopharmacological knowledge through integrated phytochemical and bioactivity research.

Keywords: *Ocotea diospyrifolia*. Aporphine alkaloids. Natural products. Phytochemistry.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Exemplos de esqueletos de alcaloides.....	11
Figura 2 - <i>Ocotea diospyrifolia</i> (Meisn.) Mez	17
Figura 3 - Cromatograma a 220 nm da fração alcaloídica obtido por CLAE-DAD	22
Figura 2 - Cromatogramas de pico base obtidos em modo de ionização positivo do extrato bruto, fração alcaloídica e picos isolados de <i>Ocotea diospyrifolia</i>	25
Figura 3 - Fórmula estrutural da Norisocorydina e da Norcorydina	27
Figura 4 - Espectro de massas do P6	28
Figura 5 - Espectro de RMN de ¹ H do P6	28
Figura 6 - Fórmula estrutural da Laurotetanina	28
Figura 7 - Correlações observadas entre os deslocamentos químicos de hidrogênios e carbonos no HMBC da substância isolada P7	31
Figura 8 - Espectro de massas do P7.....	32
Figura 9 - Mapa de contornos HMBC do P7.....	32
Figura 10 - Mapa de contornos HSQC do P7.....	33
Figura 11 - Espectro de RMN de ¹ H do P7.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Picos coletados a partir da purificação da fração alcaloídica por CLAE-DAD em escala semipreparativa	23
Tabela 2 - Dados espectrais relativos aos alcaloides obtidos a partir de purificação por CLAE-DAD e analisados por CLAE-DAD-EM	26
Tabela 3 - Dados de RMN ^1H (δ) de P6, Norisorydina e Norcorydina	27
Tabela 4 - Dados de RMN ^1H (δ) e ^{13}C (δ) de P7 e Laurotetanina	30

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 FAMÍLIA LAURACEAE	12
1.2 GÊNERO OCOTEA.....	14
2. JUSTIFICATIVA	18
3. OBJETIVOS	18
3.1 GERAL	18
3.2 ESPECÍFICOS.....	18
4. METODOLOGIA DA PESQUISA.....	19
4.1 MATERIAL VEGETAL.....	19
4.2 EXTRAÇÃO E OBTENÇÃO DA FRAÇÃO ALCALOÍDICA	19
4.3 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA A DETECTO DE ARRANJO DE DIODOS E ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CLAE- DAD-EM).....	20
4.4 ISOLAMENTO DOS ALCALOIDES A PARTIR DA FRAÇÃO ALCALOÍDICA.....	21
4.5 ANÁLISES POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN).....	21
5. RESULTADOS	22
5.1 RENDIMENTOS DOS EXTRATOS E FRAÇÃO ALCALOÍDICA.....	22
5.2 ISOLAMENTO DOS ALCALOIDES POR CLAE-DAD.....	22
5.3 ANÁLISES POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA AO DETECTOR DE ARRANJO DE DIODOS E ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CLAE-DAD-EM).....	24
5.4 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DOS ALCALOIDES ISOLADOS.....	26
5.4.1 NORISOCORYDINA/NORCORYDINA (P6).....	27
5.4.2 LAUROTETANINA (P7).....	28
6. CONCLUSÕES.....	33
7. REFERÊNCIAS	34

1. INTRODUÇÃO

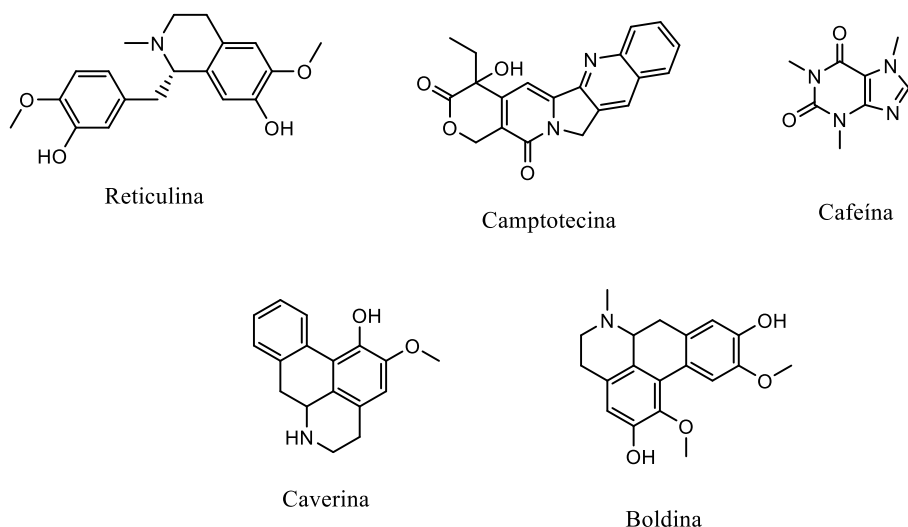
Os produtos naturais (PNs) são substâncias produzidas por organismos vivos, como plantas, animais e microrganismos, amplamente reconhecidos por sua diversidade estrutural e variedade de efeitos biológicos (Les et al., 2024). Também conhecidos como metabólitos primários e secundários, esses compostos são essenciais para a sobrevivência do organismo, ou originados por rotas enzimáticas especializadas, que evoluíram ao longo do tempo como resposta a pressões ambientais, conferindo vantagens adaptativas aos organismos produtores (Bourgaud et al., 2001).

De forma geral, os produtos naturais podem ser classificados em dois grandes grupos, os metabólitos primários e os secundários. Os metabólitos primários incluem compostos essenciais para o crescimento e manutenção celular, como açúcares, ácidos graxos, aminoácidos e ácidos nucleicos. Já os metabólitos secundários, embora não diretamente envolvidos na sobrevivência básica do organismo, apresentam estruturas químicas mais complexas e desempenham funções específicas, como defesa contra predadores, atração de polinizadores e competição ecológica (Wu e Chappell, 2008). Por sua diversidade estrutural e funcional, os metabólitos secundários são amplamente utilizados na busca de novos fármacos, como também são alvos de estudos fitoquímicos.

Historicamente, os produtos naturais despertaram grande interesse na pesquisa científica, especialmente por seu papel central no desenvolvimento de fármacos. Diversas classes terapêuticas, como antibióticos, anticancerígenos, anti-inflamatórios, antioxidantes e antidepressivos, têm origem em compostos naturais ou em suas estruturas derivadas (Alum et al., 2025).

Entre 1981 e 2019, cerca de 50% dos fármacos aprovados são produtos naturais ou derivados destes, com destaque para os fármacos antineoplásicos, dos quais 79% têm origem em produtos naturais ou seus derivados (Newman e Cragg, 2020). Esses dados evidenciam o valor e a importância dos produtos naturais no desenvolvimento de novos agentes terapêuticos como, por exemplo, alcaloides, flavonoides e terpenos (Katz e Baltz, 2016).

Figura 1 – Exemplos de esqueletos de alcaloides.



Os alcaloides constituem uma importante classe de metabólitos secundários amplamente reconhecida por sua diversidade estrutural (Figura 1) e pelas propriedades farmacológicas marcantes. São compostos nitrogenados, geralmente incorporando átomos de nitrogênio em estruturas heterocíclicas, o que os torna altamente bioativos. A importância dos alcaloides para a saúde humana e para o desenvolvimento de novos fármacos é amplamente documentada, posicionando-os como um reservatório promissor para a descoberta de agentes terapêuticos (Katz e Baltz, 2016; Russo et al., 2011). Muitos desses compostos apresentam atividades analgésica, anticancerígena, antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante, antidepressiva e antiparasitária, sendo utilizados tanto na medicina humana quanto veterinária, e até mesmo na agricultura (Hutchings et al., 2019).

Dentre as principais subclasses de alcaloides, destacam-se os alcaloides indólicos, derivados do aminoácido triptofano e caracterizados pela presença do núcleo indol. Compostos como a camptotecina são notáveis por sua atividade antitumoral e têm sido amplamente estudados em diferentes contextos farmacológicos (Zhao et al., 2021). Outra classe relevante são os alcaloides benzilisoquinolínicos (BIAs), com cerca de 2.500 compostos descritos até o momento (Silva Teles et al., 2019). Um exemplo importante é a berberina, que apresenta propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias (Imenshahidi e Hosseinzadeh, 2016), enquanto a reticulina tem sido associada a efeitos anti-inflamatórios significativos (Alves et al., 2024; Katchborian-Neto et al., 2023).

As propriedades antimicrobianas dos alcaloides também são amplamente reconhecidas, com destaque para compostos produzidos por actinobactérias, como a actinorrodina, um agente antibacteriano identificado em actinomicetos (Katz e Baltz, 2016).

Além dos alcaloides previamente discutidos, merecem destaque os alcaloides aporfínicos, que são derivados biossintéticos do núcleo isoquinolínico e apresentam uma estrutura tetracíclica condensada, com um átomo de nitrogênio caracteristicamente localizado na posição 5a do sistema 4H-dibenzoquinolina. Essa classe é reconhecida por sua ampla gama de atividades biológicas e pela diversidade estrutural que favorece interações moleculares com diferentes alvos farmacológicos. Entre seus representantes mais conhecidos está a boldina, um alcaloide isolado de *Peumus boldus*, comumente associado a efeitos antioxidantes e hepatotivos. Estudos também demonstraram seu potencial anticâncer, evidenciado pela inibição do crescimento de células de câncer de mama em modelos in vitro e in vivo (Katchborian-Neto et al., 2023).

Os alcaloides aporfínicos vêm sendo investigados por diversas outras atividades farmacológicas relevantes. A caverina, um alcaloide noraporfínico, demonstrou notável atividade antiprotozoal contra parasitas dos gêneros *Leishmania* e *Trypanosoma cruzi* (Fournet et al., 2007). Já a nantenina, outro representante da classe, atua como bloqueador da contração muscular mediada pela translocação de íons cálcio (Ca^{2+}) e apresenta efeitos antagonistas sobre receptores $\alpha 1$ -adrenérgicos, o que pode ter implicações terapêuticas em distúrbios cardiovasculares e neurológicos (Yamaguchi et al., 2012). Além disso, derivados halogenados da predicentrina, também pertencentes a essa classe, mostraram capacidade de inibir a enzima topoisomerase II, um alvo importante no tratamento de diversos tipos de câncer (Woo et al., 1999; Yamaguchi et al., 2012).

Estudos mais recentes ainda indicam que alcaloides aporfínicos possuem potencial como agentes antileucêmicos, reforçando seu interesse nesta área de estudo (Liu et al., 2025). Outra aplicação relevante está relacionada à inibição da enzima acetilcolinesterase (AChE), envolvida na degradação do neurotransmissor acetilcolina. A maioria das substâncias com essa atividade são alcaloides, incluindo diversos compostos aporfínicos, como demonstrado por diferentes estudos (Yamaguchi et al., 2012; Barbosa-Filho et al., 2006; Berkov et al., 2008). Essa propriedade torna tais compostos potenciais candidatos para o tratamento de doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer, sendo a galantamina um exemplo clínico já aprovado para esse fim (López et al., 2002).

Diante de tantas atividades relevantes, a bioprospecção de alcaloides tem se beneficiado do avanço de estratégias analíticas modernas. Ferramentas como a metabolômica não direcionada têm permitido a identificação rápida de alcaloides bioativos,

mesmo em extratos complexos, e sua aplicação tem se mostrado especialmente eficaz na triagem de potenciais marcadores anti-inflamatórios (Katchborian-Neto et al., 2023).

Além disso, técnicas como a cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (CLAE-EM) e a organização dos dados de espectrometria de massas por redes moleculares têm se consolidado como métodos robustos na elucidação e anotação estrutural de compostos naturais (Chagas-Paula et al., 2015; Alves et al., 2024). O uso de bancos de dados personalizados, contendo informações espectrais de compostos já isolados, tem aprimorado a confiabilidade dessas anotações e possibilitado uma exploração mais assertiva do potencial terapêutico dos alcaloides (Alves et al., 2024).

1.1 FAMÍLIA LAURACEAE

A família Lauraceae, amplamente distribuída em regiões tropicais e subtropicais, é reconhecida como uma das mais primitivas famílias de plantas com flores, pertencente à subclasse *Magnoliidae*. Compreende aproximadamente 50 a 55 gêneros e entre 2.500 e 3.500 espécies, em sua maioria árvores e arbustos aromáticos, com exceção do gênero *Cassytha*, composto por trepadeiras parasitas (Farias et al., 2023). No Brasil, essa família apresenta mais de 400 espécies registradas (Baitello et al., 2003), sendo muitas utilizadas tradicionalmente para o tratamento de cólicas, dores estomacais, diarreias e inflamações (Bieski et al., 2015). Essa ampla distribuição inclui o Sudeste Asiático, Madagascar, América do Sul e costa leste do Brasil, com uma notável diversidade também presente na China, onde se encontram 25 gêneros e 445 espécies (Farias et al., 2023). O registro fóssil da família no Hemisfério Norte, desde o Cretáceo Médio até o Plioceno, reforça sua antiga presença e diversificação (Li et al., 2011).

Botanicamente, as espécies de Lauraceae são caracterizadas por folhas simples, alternas, geralmente elípticas ou obovadas, rijas e aromáticas. Seus frutos costumam ser envoltos por uma cúpula, sendo comum a presença de células oleaginosas com óleos essenciais, células mucilaginosas e cristais de oxalato de cálcio (Betim et al., 2020). Estudos anatômicos também revelam aspectos evolutivos da cutícula e do complexo estomático, sugerindo caracteres plesiomórficos importantes para a taxonomia do grupo (Trofimov e Rohwer, 2018).

Quimicamente, a Lauraceae é uma das famílias mais ricas em metabólitos secundários, incluindo óleos essenciais, alcaloides isoquinolínicos, neolignanas, flavonoides, lignanas, cumarinas, dibenzocicloheptanoides, fenilpropanoides e compostos como o safrol, frequentemente utilizado como marcador quimiotaxonômico (Feng et al., 2022; Passos et al., 2022; Yamaguchi et al., 2012; Cansian et al., 2010). Os óleos essenciais da família são misturas complexas ricas em terpenos, com destaque para os sesquiterpenos e furanosesquiterpenoides em espécies asiáticas (Hayashi e Komae, 1980). O safrol, por sua vez, possui ampla aplicação industrial como repelente, fixador em perfumes e em medicamentos com ação sudorífica, antirreumática e antipirética (Cansian et al., 2010). Os alcaloides isoquinolínicos, especialmente os aporfínicos e benzilisoquinolínicos, somam mais de 425 compostos descritos em 189 espécies da família, e apresentam grande relevância biológica e farmacológica (Yamaguchi et al., 2012).

Essa diversidade fitoquímica confere à família Lauraceae um grande potencial terapêutico. Diversos estudos apontam atividades medicinais importantes para espécies da família, incluindo efeitos antioxidantes, antimicrobianos, antifúngicos, anti-inflamatórios, antiprotozoários, citotóxicos, neuroprotetores e inseticidas (Cansian et al., 2010; Alcantara et al., 2021; Fournet et al., 2007; Liu et al., 2025; Morais et al., 1998; Figueiredo et al., 2018). A *boldina*, por exemplo, um alcaloide aporfínico encontrado em diversas espécies da família, tem demonstrado efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e anticâncer, além de atuar como agente antipirético e inibidor da enzima acetilcolinesterase (Katchborian-Neto et al., 2023; Yamaguchi et al., 2012). Da mesma forma, a *reticulina*, um alcaloide benzilisoquinolínico, que exibiu atividade anti-inflamatória em modelos in vivo (Alcantara et al., 2021).

Outros compostos da família Lauraceae também se destacam por suas atividades farmacológicas específicas. A própria caaverina; a nantenina e seus derivados atuam como bloqueadores de contração muscular e antagonistas α 1-adrenérgicos (Yamaguchi et al., 2012); derivados da *predicentrina* são inibidores da enzima topoisomerase II, com potencial aplicação em terapias anticâncer (Woo et al., 1999); e a *coclaurina* tem sido relatada com atividade antiviral contra o HIV (Silva et al., 2002). Além disso, espécies da família têm demonstrado inibição da agregação plaquetária, com efeitos antiplaquetários e antitrombóticos associados a suas neolignanas (Araujo et al., 2001).

A importância econômica da Lauraceae também merece destaque. Espécies como o abacate (*Persea americana*) e a canela (*Cinnamomum zeylanicum*) são amplamente

utilizadas na culinária e na indústria alimentícia. O pau-rosa (*Aniba rosaeodora*), por sua vez, foi intensamente explorado para a produção de perfumes, como o clássico Chanel Nº 5, o que levou a espécie à beira da extinção (Marques, 2001). Assim, a combinação de relevância ecológica, diversidade química e valor medicinal e econômico torna a família Lauraceae um foco privilegiado de interesse científico e farmacobotânico.

1.2 GÊNERO OCOTEA

O gênero *Ocotea*, pertencente à família Lauraceae, é um dos mais diversos e amplamente distribuídos em regiões tropicais e subtropicais, com destaque para biomas como a Mata Atlântica, a Amazônia e a Caatinga. Estima-se que compreenda entre 350 e 400 espécies, das quais aproximadamente 160 a 170 estão presentes no Brasil, sendo muitas delas endêmicas (Alcântara et al., 2021). A alta diversidade do gênero, especialmente daquelas com ocorrência em regiões Neotropicais, associada à variação morfológica e química entre espécies, torna sua delimitação taxonômica complexa, sendo considerado um grupo polifilético por análises filogenéticas recentes (Trofimov e Rohwer, 2018; Alves et al., 2024). Nesse contexto, ferramentas como a quimofenética e abordagens metabolômicas têm auxiliado na elucidação das relações filogenéticas e na diferenciação entre espécies (Alves et al., 2024).

Distribuído principalmente na América Central, América do Sul, Antilhas, África e Ilhas Canárias, *Ocotea* possui grande importância ecológica, econômica e medicinal. No Brasil, várias espécies apresentam distribuição restrita a áreas montanhosas do Sudeste, como a Serra do Mar e a Serra da Mantiqueira, como o caso de *O. curucutuensis*, uma espécie endêmica de grande relevância ecológica e farmacológica (Palazzo et al., 2009). Muitas espécies do gênero estão atualmente listadas como ameaçadas de extinção (Silva et al., 2017).

Morfológicamente, *Ocotea* é caracterizado por folhas alternas, penínervias, inflorescências do tipo tirso-paniculada ou botrioide, e flores trímeras que podem ser bissexuais, polígamas ou unissexuais. Os estames, geralmente em número de nove, são férteis e apresentam anteras com quatro lóculos (Silva et al., 2017). Na anatomia foliar, observa-se a presença comum de células oleaginosas ricas em óleos essenciais e, em algumas espécies, também células mucilaginosas (Betim et al., 2020). As folhas são hipostomáticas, com estômatos paracíticos e formas estomáticas elípticas, circulares ou

rômbricas, estas últimas consideradas plesiomórficas em alguns grupos (Trofimov e Rohwer, 2018). A mesofila é tipicamente dorsiventral, e a nervura central costuma conter esclerênquima ao redor do feixe vascular (Betim et al., 2020). Em *O. nutans*, foi registrada pela primeira vez a ocorrência de braquiesclereídeos e cristais de oxalato de cálcio nos pecíolos e caules (Betim et al., 2020).

Quimicamente, *Ocotea* representa um dos gêneros mais relevantes da Lauraceae, destacando-se pela produção de alcaloides isoquinolínicos, especialmente os aporfínicos e benzilisoquinolínicos, além de neolignanas, lignanas, flavonoides, terpenoides, sesquiterpenlactonas, alilfenóis e cumarinas (Salleh e Ahmad, 2017; Alves et al., 2024). Entre os principais alcaloides identificados estão a reticulina (*O. duckei*), caaverina (*O. lancifolia*), dicentrina (*O. puberula*), ocoteína, leucoxina (*O. acutifolia*), nantenina e coclaurina (Silva et al., 2017; Yamaguchi et al., 2012). Alguns desses compostos apresentam propriedades medicinais comprovadas, incluindo ação anti-inflamatória, antiprototozoária, citotóxica e neuroprotetora. A lignana yangambina, por exemplo, isolada de *O. duckei*, atua como antagonista do fator ativador de plaquetas (PAF) (Barbosa-Filho et al., 2008).

Os flavonoides também têm sido cada vez mais detectados em espécies de *Ocotea*, principalmente como glicosídeos derivados de catequina, epicatequina, quercetina e kaempferol (Alves et al., 2024). A proporção entre flavonas e flavonóis pode indicar aspectos evolutivos entre as espécies do gênero. Além disso, muitas espécies produzem óleos essenciais (EOs) com composições químicas complexas e altamente variáveis conforme a parte da planta, o ambiente e a estação do ano (Xavier et al., 2020). Os constituintes mais comuns incluem β -cariofileno, germacreno D, óxido de cariofileno, biciclogermacreno e α -bisabolol, além de monoterpenos e fenilpropanoides como o safrol e a 6-metoxielemicina (Cansian et al., 2010; Silva et al., 2021).

Tradicionalmente, espécies de *Ocotea* são utilizadas em diversas culturas como plantas medicinais, culinárias e aromáticas. No Brasil, é o gênero mais empregado das Lauraceae medicina tradicional (Passos et al., 2022). Exemplos de uso incluem o tratamento de ancilostomíase com o caule de *O. cymbarum*, o uso estomáquico de *O. pulchella*, e a aplicação de *O. odorifera* no manejo de distúrbios neurológicos, edemas, febres e dermatoses (Xavier et al., 2020; Alcântara et al., 2021).

Do ponto de vista farmacológico, diversas espécies demonstraram atividades anti-inflamatórias, antimicrobianas, antioxidantes, anticolinesterásicas, acaricidas, citotóxicas,

antiprotozoárias e até mesmo cardiovasculares e moluscicidas (Cansian et al., 2010; Weber et al., 2018; Silva et al., 2021; Xavier et al., 2020). Os óleos essenciais de espécies como *O. nigrescens* e *O. duckei* exibiram efeitos antiplaquetários e hipotensores, respectivamente (Barbosa-Filho et al., 2008; Xavier et al., 2020). Além disso, a reticulina demonstrou potencial depressor do sistema nervoso central (Moraes et al., 1998; Silva et al., 2017).

Figura 2 – *Ocotea diospyrifolia* (Meisn.) Mez



A espécie *Ocotea diospyrifolia* (Meisn.) Mez, também conhecida popularmente como canela-amarela (Figura 2), pertence ao gênero *Ocotea*, inserido na família Lauraceae. Essa espécie é nativa da América do Sul, com ocorrência registrada na Argentina, Paraguai e Brasil, sendo encontrada em diferentes biomas brasileiros, como a Mata Atlântica (com registros em Alfenas-MG e Curitiba-PR), o Cerrado e o Pantanal, especialmente no estado de Mato Grosso do Sul (Santos et al., 2013 ; Liu et al., 2025). Em áreas de florestas ripárias do Pantanal, *O. diospyrifolia* destaca-se por sua tolerância ao fogo, mantendo sua abundância mesmo após eventos de queima frequentes. Essa característica parece estar relacionada à presença de compostos fenólicos e células esclereides em sua casca, que conferem resistência térmica, com início de decomposição térmica apenas a partir de 200,19 °C (Manrique-Pineda et al., 2021; Rocha et al., 2015).

Do ponto de vista morfológico, a espécie apresenta um pecíolo com forma plano-convexa em corte transversal da região proximal [Santos e Oliveira, 1995]. As células epidérmicas foliares exibem paredes anticlinais semelhantes às observadas em outras espécies do grupo *Ocotea cernua* [Trofimov e Rohwer, 2018].

Em termos químicos, *O. diospyrifolia* é reconhecida como uma fonte rica de metabólitos secundários, incluindo alcaloides, lignanas, neolignanas e flavonoides [Alves et al., 2024; Weber et al., 2018]. Um dos achados mais relevantes até o momento é o isolamento de um novo alcaloide aporfínico, a 6aS,7S-(-)-11-hidroxi-7-metoxi-1,2-metilenodioxo-aporfina, denominado diospirifolina, cuja estrutura apresenta um padrão de substituição em C-7 não previamente descrito para o gênero *Ocotea* (Silva et al., 2021). A espécie também biossintetiza lignoides e, embora parte dos compostos presentes em seus extratos já tenham sido anotados em estudos fitoquímicos, ainda há lacunas importantes quanto à caracterização estrutural completa dessas substâncias.

Nesse sentido, um estudo recente conduzido por Liu et al. (2025) empregou ferramentas de metabolômica integradas à plataforma GNPS (Global Natural Product Social Molecular Networking) para mapear o perfil químico de diferentes espécies vegetais, incluindo *O. diospyrifolia*. A partir da utilização combinada de LC-DAD-EM análise estatística multivariada e agrupamento por similaridade estrutural, foram anotadas diversas classes de compostos com predominância de alcaloides aporfínicos, os quais foram associados, de forma preliminar, à atividade citotóxica in vitro observada frente a linhagens leucêmicas. No entanto, o estudo se restringiu à anotação de classes químicas com base em dados espectrométricos e não realizou o isolamento ou a identificação estrutural detalhada desses alcaloides. Isso representa uma limitação significativa, uma vez que a correlação direta entre os constituintes específicos da planta e seus efeitos farmacológicos permanece obscura.

Os extratos e óleos essenciais de *O. diospyrifolia* já demonstraram diversas atividades biológicas, como atividade anti-inflamatória significativa por dupla inibição das vias de COX e LOX, reduzindo o edema em modelos in vivo com eficácia de aproximadamente 40 a 50% (Alves et al., 2024; Silva et al., 2021). A espécie também apresentou atividade antibacteriana contra sorotipos de *Salmonella enterica*, sendo o extrato de acetato de etila o mais efetivo, potencialmente devido à presença de alcaloides e esteroides [Weber et al., 2018]. Além disso, foram observadas propriedades acaricidas contra larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, com eficácia superior a 95% na

concentração de 40% [Santos et al., 2013], bem como atividade antioxidante in vitro, atividade hemolítica (com taxa de 50% a 1000 mg/mL), toxicidade moderada frente a *Artemia salina* ($CL_{50} = 602,81 \mu\text{g/mL}$) e efeito fitotóxico com inibição do crescimento do hipocótilo de *Lactuca sativa* em 46,43% com solução a 1% m/v [Fabri et al., 2019].

Apesar desse conjunto promissor de propriedades, a caracterização dos alcaloides ainda se encontra em estágio incipiente. A ausência de dados estruturais detalhados limita tanto a compreensão dos mecanismos de ação biológica quanto o desenvolvimento de marcadores químicos para a padronização de extratos vegetais.

2. JUSTIFICATIVA

A investigação química de *Ocotea diospyrifolia*, com ênfase na identificação e elucidação estrutural de seus alcaloides, é essencial para compreender os compostos responsáveis pelas atividades citotóxicas já observadas em extratos da espécie. Apesar dos relatos de uso tradicional e dos dados preliminares que indicam ação frente a linhagens leucêmicas, os princípios ativos envolvidos ainda não foram devidamente isolados nem descritos em nível molecular.

Entre os possíveis responsáveis, destacam-se os alcaloides, metabólitos reconhecidos por sua complexidade estrutural e pelas múltiplas atividades farmacológicas, incluindo propriedades antitumorais, anti-inflamatórias e imunomodulatórias. A elucidação dessas estruturas contribui diretamente para o entendimento dos mecanismos de ação biológica, além de abrir caminho para o desenvolvimento de novos protótipos terapêuticos.

3. OBJETIVOS

3.1 GERAL

Isolar e caracterizar estruturalmente os alcaloides presentes em *Ocotea diospyrifolia*.

3.2 ESPECÍFICOS

Dentre os objetivos específicos deste trabalho constam os seguintes:

1. Obter o extrato hidroetanólico das partes selecionadas de *Ocotea diospyrifolia* por meio do processo de percolação.
2. Realizar o fracionamento do extrato com foco na obtenção de uma fração enriquecida em alcaloides, utilizando uma abordagem de marcha química.

3. Analisar a composição química da fração alcaloídica por meio de espectrometria de massas acoplada à cromatografia líquida (CLAE-EM).
4. Isolar os alcaloides presentes na fração bioativa por técnicas cromatográficas apropriadas.
5. Realizar a caracterização estrutural dos alcaloides isolados por meio de métodos espectrométricos, como RMN, EM e UV.

4. METODOLOGIA DA PESQUISA

4.1 MATERIAL VEGETAL

As partes aéreas *Ocotea diospyrifolia* foram coletadas no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, nos biomas Cerrado e Pantanal. A espécie foi identificada taxonomicamente pelos professores Flávio Macedo Alves e Geraldo Damasceno Junior, sendo o espécime depositado no herbário (CGMS) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS) com número de exsicata CGMS 34954. Além disso o estudo também foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético (SisGen) sob o número A63DB37.

As partes aéreas foram secas em estufa com circulação de ar a 40 °C. Após a secagem, o material foi triturado em moinho de facas até a obtenção de um pó homogêneo e armazenado em recipientes herméticos, protegidos da luz e da umidade, até o momento das análises.

4.2 EXTRAÇÃO E OBTENÇÃO DA FRAÇÃO ALCALOÍDICA

As partes aéreas secas e trituradas de *O. diospyrifolia* foram submetidas a extração por percolação utilizando como solvente extrator etanol/água (7:3) e 480,69 g de material vegetal. Foram utilizados 10 L de solvente extrator total. O extrato obtido foi concentrado por evaporação rotativa, resultando em 1,7 L de extrato bruto em fase aquosa, do qual uma alíquota de 100 mL foi retirada e seca por liofilização para determinação de rendimento.

O extrato bruto foi submetido a uma marcha química para obtenção da fração alcaloídica. Inicialmente, 350 mL do extrato bruto foram basificados com hidróxido de sódio até alcança um pH entre 8 e 9, e submetidos a uma partição líquido-líquido com clorofórmio. Foram realizadas quatro extrações sequenciais com 100 mL de clorofórmio cada, totalizando 400 mL de fase orgânica.

A fase orgânica obtida foi submetida a uma nova partição líquido-líquido com ácido clorídrico a 5% em meio aquoso. Foram realizadas quatro extrações, utilizando 150 mL de solução por lavagem, totalizando 600 mL de fase aquosa. A fase aquosa foi, então, tratada com solução de hidróxido de sódio até atingir pH 9.

Por fim, foi realizada uma última partição líquido-líquido com clorofórmio, utilizando 150 mL de solvente por lavagem em quatro extrações sequenciais. Este procedimento de marcha química foi repetido diversas vezes até que 1,6 L do extrato bruto tivesse sido processado. A fase orgânica final foi concentrada em evaporador rotativo e completamente seca, sendo armazenada em recipientes herméticos, protegidos da luz e da umidade.

4.3 ANÁLISES POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA A AO DETECTOR DE ARRANJO DE DIODOS E ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CLAE-DAD-EM)

Os extratos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector de arranjo de diodos e a um espectrômetro de massas de alta resolução (CLAE-DAD-EM). Utilizou-se um cromatógrafo Shimadzu UFLC (Tóquio, Japão), equipado com duas bombas LC-20AD, um autoinjeter SIL-20A, um detector de arranjo de diodos SPD-M20A, um controlador CBM-20A e um forno de coluna CTO-20A. O sistema foi acoplado a um espectrômetro de massas MicrOTOF-Q III (Bruker Daltonics), operando com fonte de ionização por eletrospray (IES) e analisador híbrido do tipo QqTOF (quadrupolo acoplado a tempo de voo).

As amostras foram solubilizadas em uma mistura de metanol e água (7:3, v/v) na concentração de 2 mg/mL e filtradas em filtros seringa com membranas de PTFE de porosidade de 0,22 µm. Em seguida, 1 µL de cada amostra foi injetado no sistema cromatográfico.

As análises foram realizadas em uma coluna Kinetex® C18 (2,6 µm, 100 Å, 150 × 2,1 mm; Phenomenex), acoplada a uma pré-coluna do mesmo material. As análises foram realizadas com uma vazão de 0,3 mL/min e a coluna foi mantida a 50 °C durante as análises. A fase móvel utilizada foi composta por água (fase A) e acetonitrila (fase B), ambas contendo 0,1% (v/v) de ácido fórmico. O gradiente foi aplicado da seguinte forma: 0–2 min (3% B), 2–25 min (3–25% B), 25–40 min (25–80% B) e 40–43 min (80% B, isocrático). As análises foram conduzidas no modos de ionização positivo. Os parâmetros operacionais do

espectrômetro de massas incluíram gás nebulizador (N₂, 4 bar) e gás de secagem (N₂, 9 L/min).

A anotação das substâncias foi realizada com base nos dados de massas acuradas, padrões de fragmentação e espectros UV, por comparação com dados disponíveis na literatura. As fórmulas moleculares foram atribuídas considerando erro inferior a 8 ppm e valores de mSigma inferiores a 30.

4.4 ISOLAMENTO DOS ALCALOIDES A PARTIR DA FRAÇÃO ALCALOÍDICA

A fração alcaloídica foi submetida a purificação em cromatógrafo Shimadzu UFLC (Tóquio, Japão), equipado com duas bombas LC-20AD, um autoinjeter SIL-20A, um detector de arranjo de diodos SPD-M20A, um controlador CBM-20A e um forno de coluna CTO-20A. O sistema foi acoplado a um espectrômetro de massas MicrOTOF-Q III (Bruker Daltonics), operando com fonte de ionização por eletrospray (ESI) e analisador híbrido do tipo QqTOF (quadrupolo acoplado a tempo de voo), utilizando uma coluna C18 Shim-pack ODS (H) da Shimadzu (25 cm × 20 mm de diâmetro interno, 5 µm).

A fase móvel foi composta por água deionizada (solvente A) e acetonitrila (solvente B), ambos contendo 0,02% de ácido trifluoroacético (TFA), com fluxo de 9 mL/min. O gradiente de eluição aplicado foi o seguinte: 0–5 min (30% B), 5–15 min (30–50% B), 15–25 min (50% B), 25–30 min (50-60% B), 30-35 min (60% B), 35-50 min (60-100% B), 50-55 min (100-30%) e 55-60 min (30% B, isocrático).

Foram coletadas 37 frações sendo estas enumeradas de acordo com a figura 1. Por fim, as frações com maior concentração de acetonitrila foram secas em capela de suspensão a temperatura ambiente, enquanto as frações ricas em água foram secas por liofilização.

4.5 ANÁLISES POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

Dois picos cromatográficos (P7 e P6) foram selecionados para análise por Ressonância Magnética Nuclear (RMN), a fim de obter informações estruturais dos compostos. Os espectros foram adquiridos em um espectrômetro Bruker Avance Neo 500, operando a 11,75 T.

As amostras correspondentes aos picos 7 e 6 foram solubilizadas em clorofórmio- d_4 e metanol- d_4 , respectivamente. A escolha do solvente foi determinada com base na polaridade dos compostos e na solubilidade observada durante os testes preliminares.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. RENDIMENTOS DOS EXTRATOS E FRAÇÃO ALCALOÍDICA

A extração por percolação da amostra de *Ocotea diospyrifolia* resultou em um extrato bruto com massa aproximada de 39,5 g, correspondendo a um rendimento de 8,23% em relação à massa da planta seca. A partir desse extrato bruto, realizou-se uma marcha química, com o objetivo de enriquecer a fração em alcaloides. A massa final obtida da fração alcaloídica foi de 1,7014 g, com rendimento de 0,35%.

5.2. ISOLAMENTO DOS ALCALOIDES POR CLAE-DAD

A fração alcaloídica foi submetida a purificação por CLAE-DAD em escala semipreparativa, sendo coletados 37 picos cromatográficos cujos tempos de retenção variaram entre 5 e 63 minutos (Figura 3). Os picos foram coletados e enumerados conforme ilustrado no cromatograma da Figura 1 e com as massas obtidas sumarizadas na Tabela 1.

Figura 3. Cromatograma a 220 nm da fração alcaloídica obtido por CLAE-DAD de *O. diospyrifolia*.

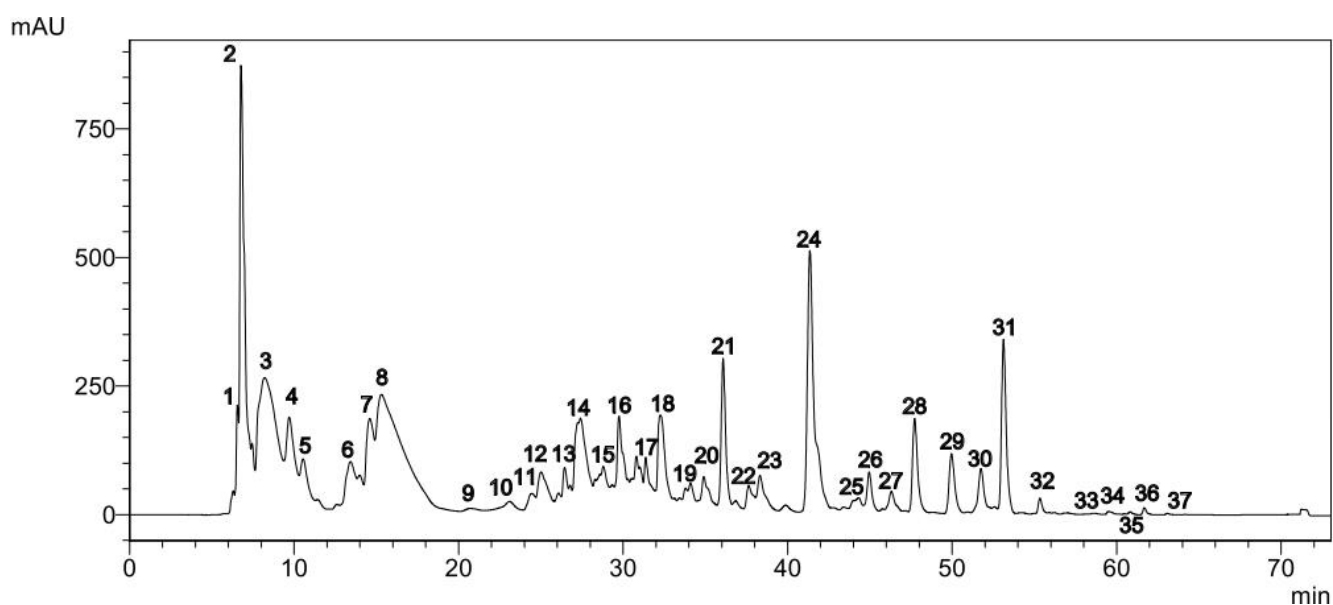


Tabela 1. Picos coletados a partir da purificação da fração alcaloídica por CLAE-DAD em escala semipreparativa

Pico	TR (min)	Massa (mg)	Rendimento (%)
1	6,39	1,90	4,79
2	6,90	1,53	3,86
3	7,58	3,44	8,67
5	10,29	4,56	11,49
6	12,90	2,09	5,27
7	14,31	2,63	6,63
8	14,91	2,19	5,52
11	24,17	1,40	3,53
13	26,30	0,85	2,14
14.1	27,03	0,62	1,56
14.2	28,02	2,61	6,58
15	28,58	2,12	5,34
16	29,50	0,73	1,84
17	31,26	1,08	2,72
18	32,01	2,73	6,88
21	35,78	1,84	4,64
23	38,10	2,05	5,17
24.1	40,82	0,45	1,13
24.2	40,82	0,52	1,31
26	44,68	0,97	2,45
27	46,00	0,58	1,46
28	47,48	0,87	2,19
30	51,30	0,34	0,86
31	52,80	1,57	3,96

TR: tempo de retenção.

5.3 ANÁLISES POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA AO DETECTOR DE ARRANJO DE DIODOS E ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CLAE-DAD-EM)

O extrato bruto etanólico de *O. diospyrifolia*, bem como sua fração alcaloídica e alguns dos picos isolados foram analisados por CLAE-DAD-EM e os cromatogramas encontram-se ilustrados na figura 4.

Tomando como base o tempo de retenção, o UV e a fórmula molecular, dois picos (P5 e P7) indicando compatibilidade com alcaloides já relatados na *O. Diospyrifolia*, como Boldina, Isoboldina e Reticulina. Tais alcaloides compõe a fração alcaloídica que apresentou atividade antileucêmica de aproximadamente 40% diante da linhagem KG-1 (Liu et al., 2025). Entretanto, fazem-se necessários experimentos adicionais para identificação completa.

Figura 4. Cromatogramas de pico base obtidos em modo de ionização positivo do extrato bruto, fração alcaloídica e picos isolados de *Ocotea diospyrifolia*.

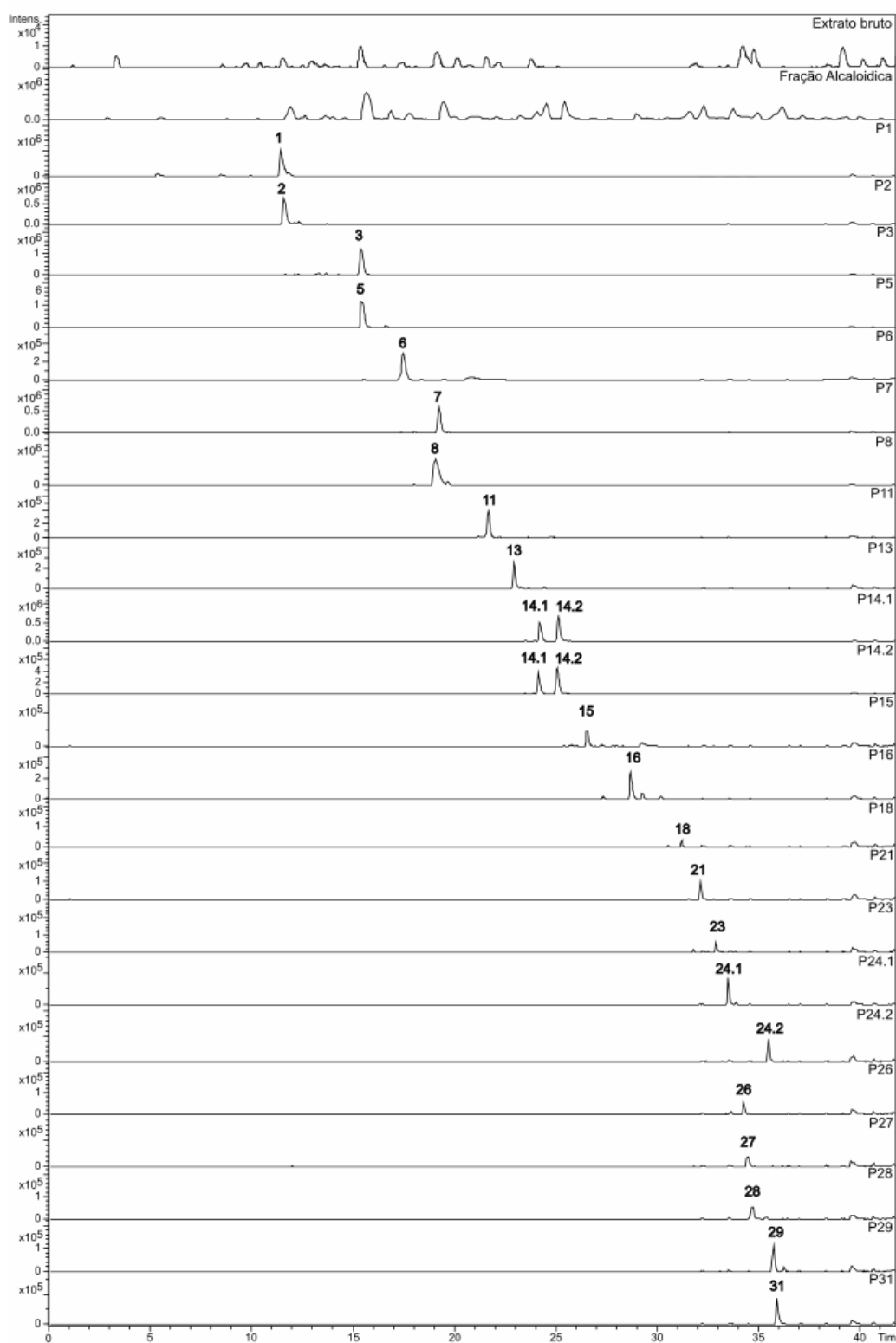


Tabela 2: Dados espectrais relativos aos alcaloides obtidos a partir de purificação por CLAE-DAD e analisados por CLAE-DAD-EM

PICO	TR (min)	UV (nm)	FM	<i>m/z</i> [M+H] ⁺
1	11,5	285		346,1629
2	11,6	265	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	328,1535
3	15,4	282	C ₁₉ H ₂₁ NO ₅	344,1481
5	15,5	282	C ₁₉ H ₂₃ NO ₄	330,1714
6	17,5	271	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	328,1554
7	19,3	281	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	328,1556
8	19,1	307	C ₁₈ H ₁₇ NO ₄	328,1499
11	21,7	278	C ₁₈ H ₂₉ NO ₈	388,1774
13	22,9	269	C ₂₁ H ₂₃ NO ₆	386,1600
14	24,1 25,1	281	C ₂₂ H ₂₇ NO ₆	402,1908
15	26,4	274	C ₂₂ H ₂₅ NO ₆	400,1747
16	28,6	275, 305	C ₂₂ H ₁₄ N ₄ O ₂	367,1182
18	31,1	-	C ₂₅ H ₃₁ NO ₈	474,2121
21	32	270, 308	C ₂₀ H ₂₁ NO ₆	372,1454
23	32,8	282, 308	C ₂₁ H ₂₃ NO ₆	386,1598
24.1	33,4	271, 308	C ₂₃ H ₂₁ NO ₆	408,1424
24.2	35,4	280, 305	C ₂₄ H ₂₃ NO ₆	422,1588
26	34,2	280, 304	C ₂₁ H ₂₃ NO ₆	386,1600
27	34,4	273	C ₂₁ H ₂₃ NO ₆	386,1405
28	34,7	284, 308	C ₁₇ H ₁₇ N ₃ O ₈	392,1087
30	35,7	270, 305	C ₂₃ H ₂₅ NO ₈	444,1655
31	35,9	280, 308	C ₂₁ H ₂₁ NO ₆	384,1450

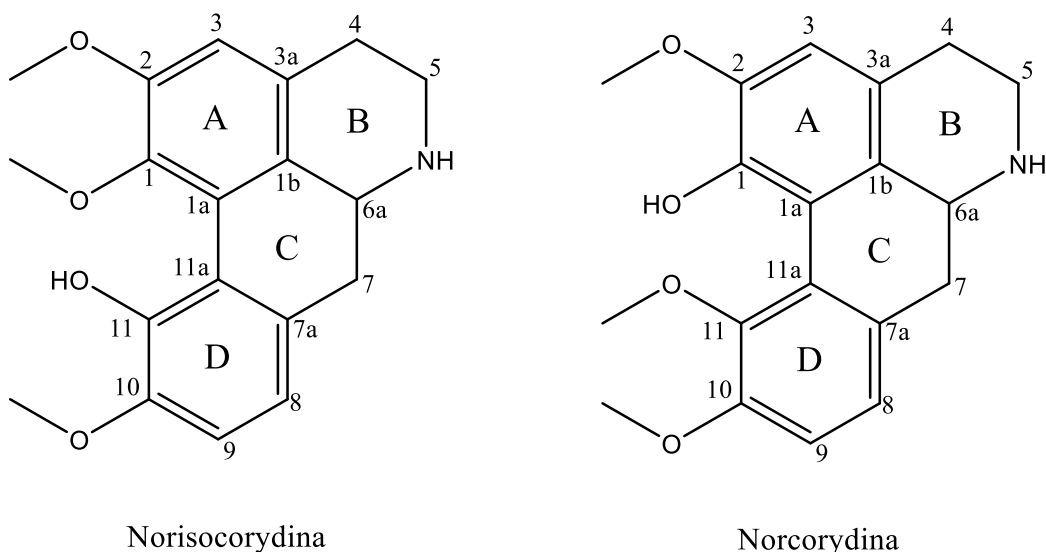
FM: fórmula molecular; TR: tempo de retenção.

5.4 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DOS ALCALOIDES ISOLADOS

Com o intuito de identificar estruturalmente os compostos, foram inicialmente selecionados os picos 6 e 7 para as análises por RMN, uma vez que apresentaram alta pureza cromatográfica. Inicialmente, foram utilizados os espectros de massas para determinar a fórmula molecular, em seguida, foi feito um levantamento bibliográfico das fórmulas moleculares propostas com um esqueleto de alcaloide aporfínico. Por fim, foram obtidos espectros de RMN de ¹H, ¹³C, HSQC e HMBC, visando à caracterização estrutural dos alcaloides.

5.4.1 NORISOCORYDINA/NORCORYDINA (P6)

Figura 5 – Fórmula estrutural da Norisocorydina e da Norcorydina



A fração 6 resultou em um sólido amorfo de coloração amarela e boa solubilidade em clorofórmio.

No espectro de massas (Figura 6) no modo de ionização positivo, identifica-se um sinal intenso em m/z 328,1554 $[M+H]^+$, compatível com a fórmula molecular $C_{19}H_{21}NO_4$, apresentando um erro de -3,3 ppm.

O espectro de RMN 1H da substância 6 (Figura 7) apresentou três simpletos com integral para três hidrogênios, podendo ser associados a grupos metilas, com dois deles com deslocamento entre 3,0 e 4,0, sendo característicos de metoxilas. Na região de hidrogênios aromáticos (δ 6,0 – 8,0) são observados um singlete e dois dupletos com $J = 8,22$ Hz, indicando uma substituição *ortho* no anel D (Tabela 3).

Na região com δ 2,5 – 4,5 tem-se dois duplos dupletos (δ 3,06; δ 4,24) e um tripleto (δ 2,77), os quais são condizentes com os hidrogênios dos anéis B e C da norisocorydina (Lopes et al., 2009) ou da norcorydina (Dhar et al., 1972). Apenas com o espectro de RMN de 1H não foi possível concluir qual das duas substâncias se trata, sendo indicado a obtenção de espectros bidimensionais. Entretanto, ambas as substâncias já foram relatadas no gênero *Ocotea* (Castro et al., 1996).

Tabela 3 – Dados de RMN ^1H (δ) de P6, Norisorydina e Norcorydina.

H	P6	Norisorydina	Norcorydina
	^1H (δ) ^a	^1H (δ) ^{a1}	^1H (δ) ^{b2}
3	6,94 (s)	6,66 (s)	6,00
4	-	3,35 (ddd)	3,32
4a	2,77 (t)	2,8 (dd)	-
5	-	3,02 (ddd)	3,00
5a	4,23 (dd)	3,59 (dd)	-
6a	-	3,85	-
7	3,04 (dd)	3,07 (dd)	-
7a	-	2,90 (dd)	2,78
8	7,11 (d)	6,76 (d)	6,02
9	7,22 (d)	6,79 (d)	6,21
H ₃ COC2	3,91 (s)	3,84 (s)	-
H ₃ COC1	3,73 (s)	3,66 (s)	-
H ₃ COC10	3,94 (s)	3,84 (s)	-

^a(500MHz, CDCl₃); ^b(CDCl₃); ¹(Lopes et al., 2009); ²(Dhar et al., 1972).

Figura 6 – Espectro de massas do P6

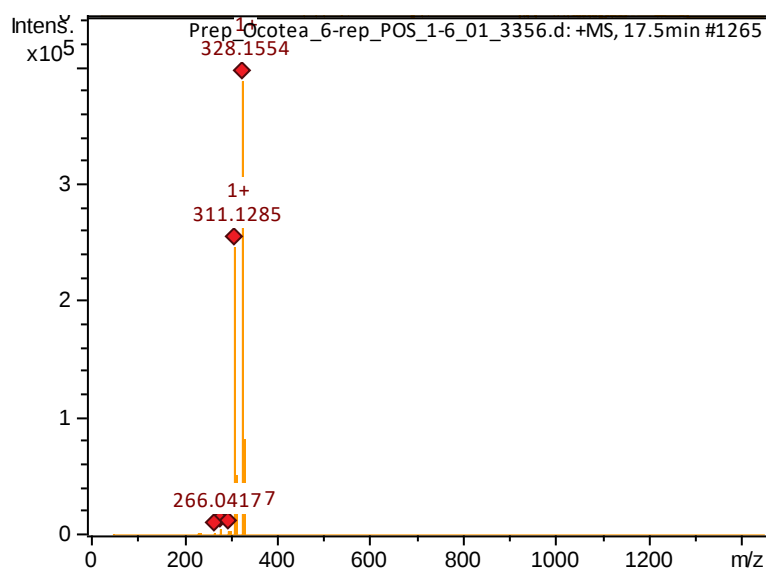
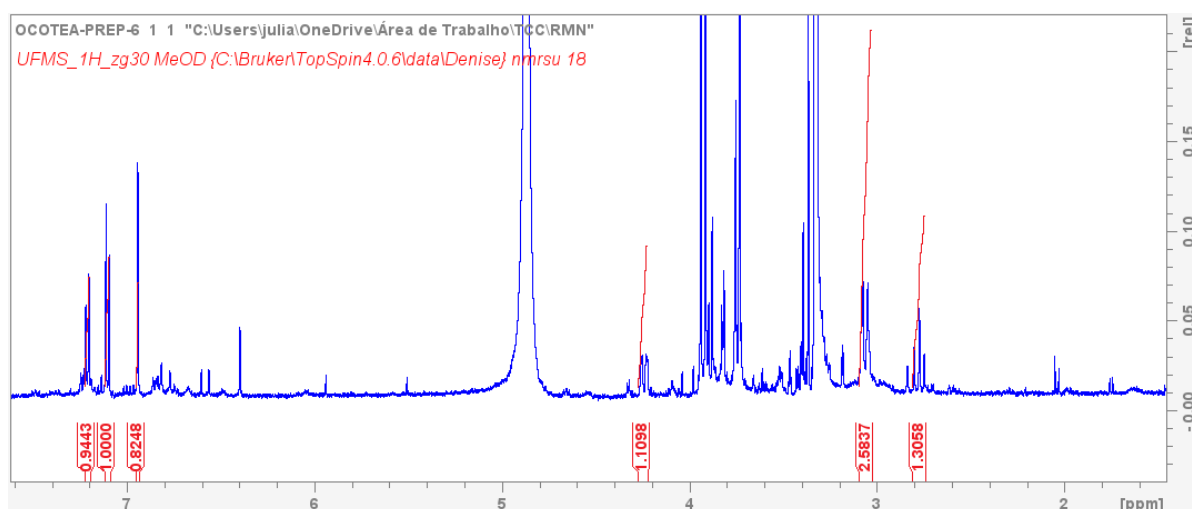
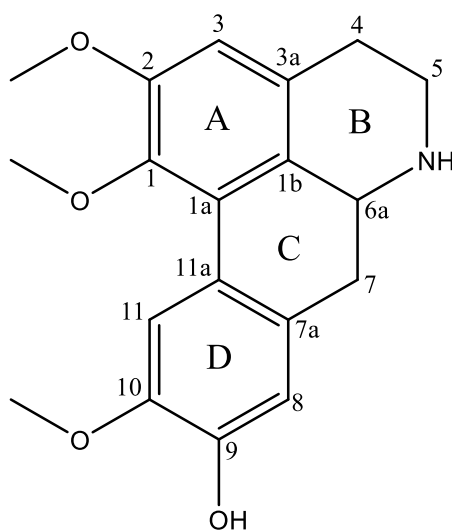


Figura 7 – Espectro de RMN de ^1H do P6 em Metanol



5.4.2 LAUROTETANINA (P7)

Figura 8 – Fórmula estrutural da Laurotetanina



Laurotetanina

A substância isolada P7 mostrou solubilidade em metanol, bem como aspecto amorfo e cor amarelada. Em seu espectro de massas em alta resolução obtido em modo de ionização positivo (Figura 9) foi possível observar um íon intenso em m/z 328,155 $[\text{M}+\text{H}]^+$, compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_4^+$, com erro de 2,7 ppm e mSigma de 1,7. Além desse íon, também foi possível observar um íon intenso de m/z 311,1290 ($\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{O}_4^+$) relativo à fragmentação na fonte de ionização, representando a perda de uma molécula de NH_3 (17 u).

Analisando o espectro de RMN ^1H da substância 7 (Figura 13) na região de hidrogênios aromáticos (δ 6,0 – 8,0) é possível observar três singletos integrando para um hidrogênio cada. Esses deslocamentos correspondem com os hidrogênios aromáticos dos anéis A e D, sendo compatível com as substituições em C1, C2, C9 e C10.

Além disso, outros dois singletos foram observados no espectro de RMN ^1H , com deslocamentos de δ 3,91 e 3,70 com integrais para 6 e 3 hidrogênios, respectivamente. Esses sinais são característicos de metoxilas aromáticas confirmando a presença de três substituintes OCH_3 . Além disso o sinal em δ 4,60 (s) não apresentou correlação com carbono no HSQC e confirmou a presença de uma hidroxila como substituinte.

No espectro de RMN ^1H , o sinal duplo duplete em δ 4,27 é compatível com H6a, o qual apresentou correlação com o carbono δ 54,3 no HSQC. A multiplicidade deste sinal corrobora o acoplamento com os dois hidrogênios H7, por fim o seu deslocamento corresponde ao de hidrogênios próximos a grupos aminas.

A partir do espectro de HSQC foi possível identificar os carbonos do tipo CH_2 , incluindo o do anel heterocíclico, e seus hidrogênios correlacionados. No espectro de HMBC, observou-se que o hidrogênio 3 em 6,86 ppm apresenta correlação com os carbonos a 146,3 ppm (C1), 155,0 ppm (C2), 127,7 ppm (C1a), 121,9 ppm (C3a) e 26,1 ppm (C4). Essas correlações permitiram a ancoragem da posição do hidrogênio 3 no anel A, possibilitando a construção da estrutura do núcleo aromático. Com base nessas informações, os hidrogênios dos grupos metileno (CH_2) foram alocados nos carbonos 4, 5 e 7. Por fim, a estrutura elucidada correspondeu à laurotetanina, previamente descrita na literatura (Gan et al., 2009).

A laurotetanina já foi anteriormente relatada no gênero *Ocotea* e testada sua atividade antiprotozoária, entretanto não apresentou resultados significativos (Fournet et al., 2007).

Tabela 4. Dados de RMN ^1H (δ) e ^{13}C (δ) de P7 e Laurotetanina

H/C	Substância isolada P7		Laurotetanina	
	^1H (δ) ^a (J em Hz)	^{13}C (δ) ^{a,#}	^1H (δ) ^{b1}	^{13}C (δ) ^{b1}
1	-	146,3	-	145,6
1a	-	127,7	-	127,9

1b	-	127,3	-	127,2
2	-	155,0	-	153,9
3	6,86 (s)	111,7	6,72 (s)	111,9
3a	-	121,9	-	129,7
4	-	26,1	-	28,8
4 α	3,27 (<i>ddl</i> , 4,5 e 16,3)	-	3,06 (<i>m</i>)	-
4 β	3,05 (<i>m</i>)	-	2,76 (<i>m</i>)	-
5	-	42,4	-	43,5
5 α	3,40 (<i>td</i> , 4,8 e 12,5)	-	3,00 (<i>m</i>)	-
5 β	3,74 (<i>dd</i> , 6,0 e 11,9)	-	3,35 (<i>m</i>)	-
6a	4,29 (<i>dd</i> , 4,5 e 14,5)	54,3	6,79 (<i>dd</i>)	54,7
7	-	34,0	-	36,4
7 α	2,95 (<i>dd</i> , 4,4 e 14,5)	-	2,72 (<i>m</i>)	-
7 β	2,86 (<i>t</i> , 13,5)	-	2,61 (<i>dd</i>)	-
7a	-	127,3	-	130,1
8	6,79 (s)	115,8	6,71 (s)	115,7
9	-	147,8	-	147,3
10	-	147,9	-	147,7
11	8,05 (s)	113,2	7,99 (s)	113,2
11a	-	123,9	-	124,5
OCH ₃ -C1	3,70 (s)	61,0	3,63 (s)	56,5
OCH ₃ -C2	3,91 (s)	57,0	3,90 (s)	56,3
OCH ₃ -C10	3,91 (s)	57,0	3,90 (s)	60,4

^a(500MHz, CDCl₃); ^b(CDCl₃); ¹(Zhou et al., 2009); #: atribuídos de acordo com o as correlações observadas no HSQC.

Figura 9. Correlações observadas entre os deslocamentos químicos de hidrogênios e carbonos no HMBC da substância isolada P7.

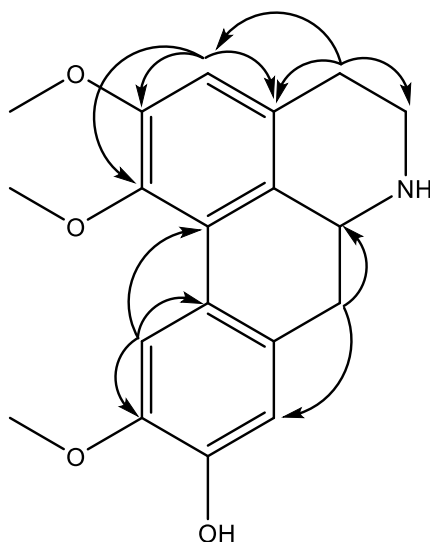


Figura 10 – Espectro de massas do P7

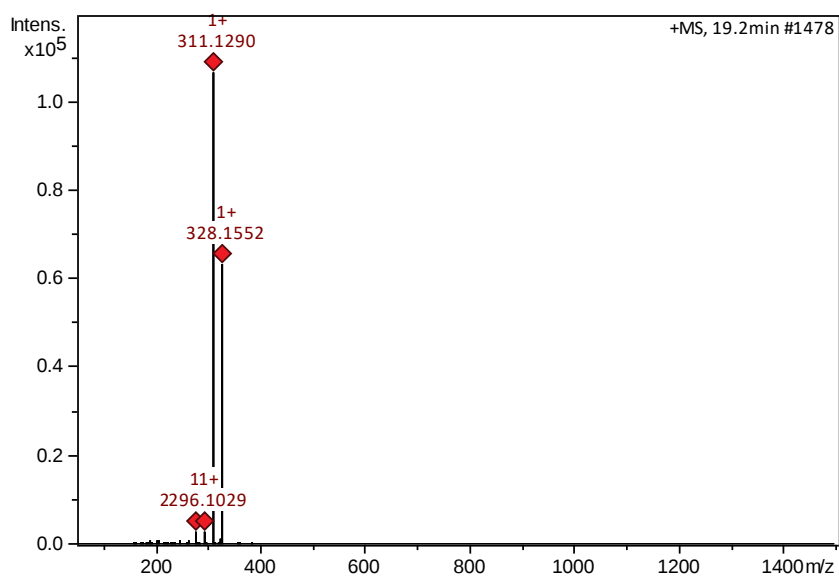


Figura 11 – Mapa de contornos HMBC do P7

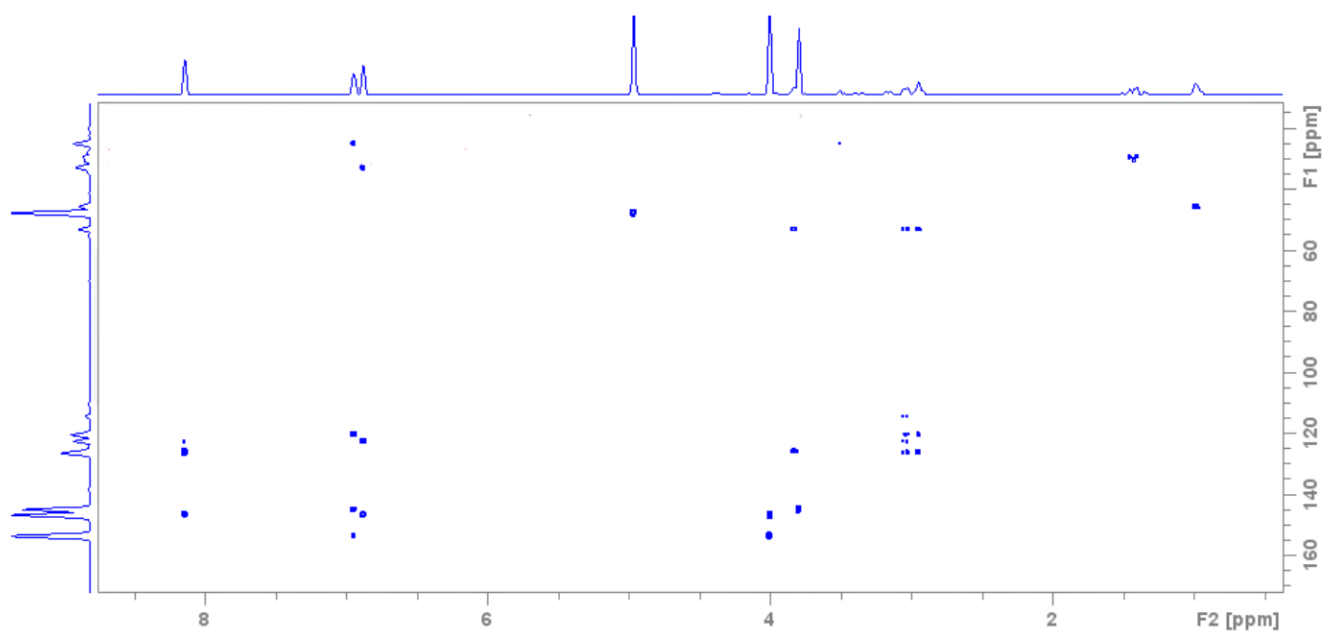


Figura 12 – Mapa de contorno HSQC do P7

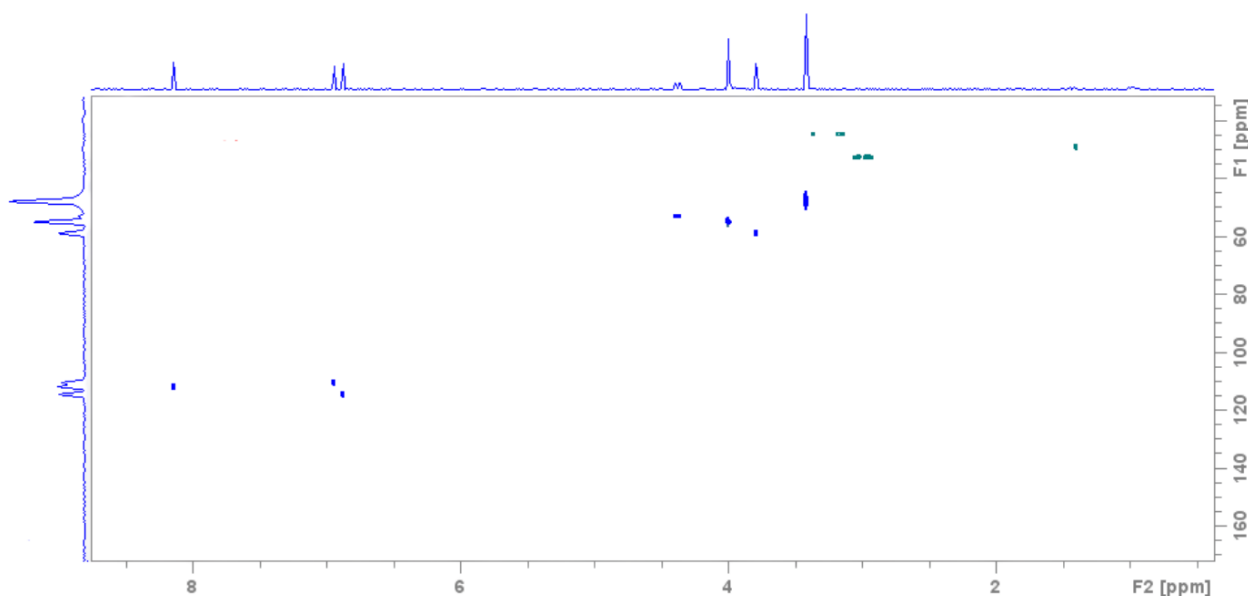
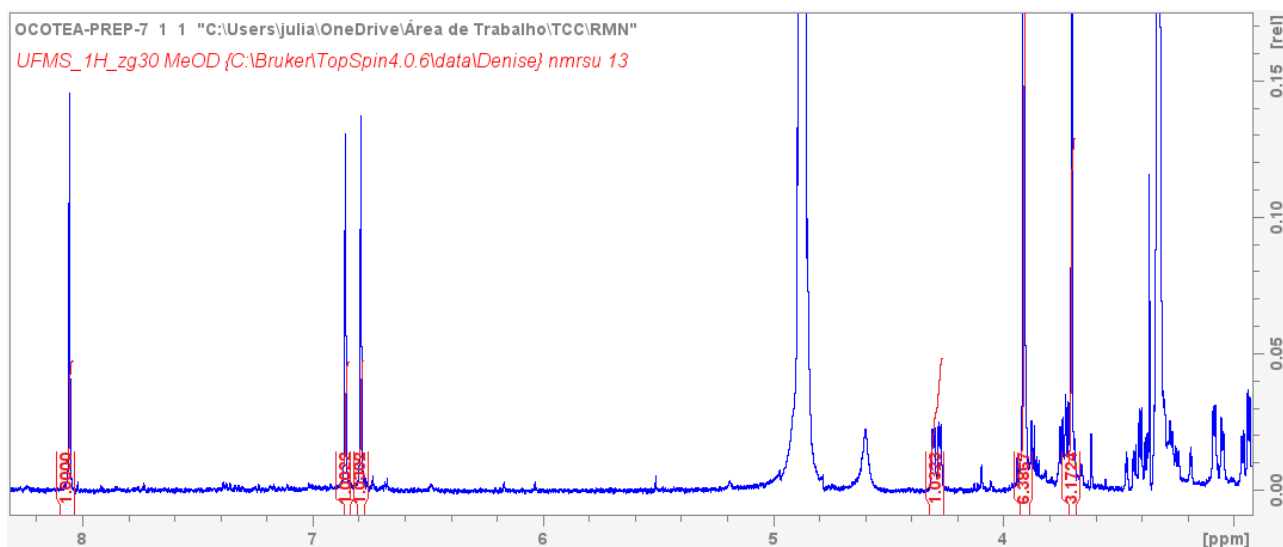


Figura 13 – Espectro de RMN de ^1H do P7



6. CONCLUSÕES

Os objetivos propostos neste trabalho foram atendidos, permitindo o isolamento e a caracterização estrutural de alcaloides presentes na fração alcaloídica das folhas de *Ocotea diospyrifolia* (Meisn.) Mez. Por meio de técnicas cromatográficas e espectroscópicas, foram identificados os alcaloides Norisocorydina/Isocorydina e Laurotetanina, sendo este último confirmado estruturalmente com base em correlações observadas no espectro de RMN-HMBC. A análise espectrométrica da fração alcaloídica também indicou a presença de outros compostos com estruturas compatíveis com alcaloides do tipo aporfínico e

isocoridínico ainda não identificados. Além disso, dados biológicos prévios demonstraram efeito citotóxico significativo da fração alcaloídica sobre a linhagem leucêmica KG-1, sugerindo o envolvimento direto desses metabólitos na atividade observada. Assim, foi possível responder ao problema central desta pesquisa, que buscava identificar alguns dos constituintes químicos responsáveis pelos efeitos farmacológicos atribuídos a essa espécie na medicina tradicional.

Como perspectivas futuras, destaca-se a importância de estudos complementares de atividade biológica com os compostos isolados individualmente, bem como a ampliação das análises químicas com técnicas de espectrometria de massas de alta resolução associada a ferramentas de metabolômica e molecular networking. Sugere-se ainda a avaliação de outros órgãos da planta (casca, frutos, sementes), além de investigações em diferentes épocas do ano, para compreensão do perfil químico sazonal da espécie. Estudos futuros podem também incluir ensaios de mecanismos de ação celular, visando validar os compostos como potenciais candidatos a fármacos para o tratamento de doenças neoplásicas.

7. REFERÊNCIAS

ALCÂNTARA, B. G. V. de et al. Bioprospecting and ethnopharmacological studies in the Lauraceae family as a source of anti-inflammatory compounds. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 264, p. 113378, 2021. DOI: 10.1016/j.jep.2020.113378.

ALCÂNTARA, B. G. V. de et al. Metabolomic characterization of an anti-inflammatory extract from *Aniba firmula* (Nees & Mart.) Mez (Lauraceae) based on UHLC-HRMS/MS and multivariate analysis. *Chemistry & Biodiversity*, v. 20, n. 9, p. e202300650, 2023. DOI: 10.1002/cbdv.202300650.

ALMEIDA, J. D. C. et al. *Ocotea odorifera* Essential Oil and Safrole as Potential Antibacterial and Efflux Pump Inhibitors. *Antibiotics*, v. 9, n. 5, p. 247, 2020. DOI: 10.3390/antibiotics9050247.

ALUM, E. U. et al. Natural product-based inhibitors of quorum sensing: A novel approach to combat antibiotic resistance. *Biochemistry and Biophysics Reports*, v. 43, p. 102111, 2025. DOI: 10.1016/j.bbrep.2025.102111.

ALVES, M. F. et al. High-Resolution Tandem Mass Spectrometry for Metabolic Profiling of *Ocotea* (Lauraceae) Species. *Chemistry & Biodiversity*, v. 22, n. 3, p. e202402227, 2025. DOI: 10.1002/cbdv.202402227.

ALVES, M. F. et al. LC-MS/DIA-based untargeted metabolomics reveals novel alkaloid profiles in *Ocotea* species. *RSC Advances*, v. 14, n. 19, p. 10481-10498, 2024. DOI: 10.1039/D4RA01384K.

ARANTES, J. P. et al. An approach to combat multidrug-resistant *K. pneumoniae* strain: *Ocotea diospyrifolia* essential oil and the aminoglycoside amikacin. *Microbial Pathogenesis*, v. 193, p. 106782, 2024. DOI: 10.1016/j.micpath.2024.106782.

BARBOSA-FILHO, J. M. et al. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v. 16, p. 258-285, 2006.

BETIM, F. C. M. et al. Microscopy and histochemistry of *Ocotea nutans* (Nees) Mez (Lauraceae). *Flora*, v. 273, p. 151708, 2020. DOI: 10.1016/j.flora.2020.151708.

BERKOV, S. et al. Screening of selected Indian medicinal plants for acetylcholinesterase inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 109, p. 359–363, 2008

BIESKI, I. G. C. et al. Ethnobotanical study of medicinal plants traditionally used in a community of the Brazilian Cerrado. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 175, p. 196-207, 2015. DOI: 10.1016/j.jep.2015.09.006.

BORGES, D. G. L. et al. Discovery of potential ovicidal natural products using metabolomics. *PLoS ONE*, v. 14, n. 1, p. e0211237, 2019. DOI: 10.1371/journal.pone.0211237.

BOURGAUD, F., GRAVOT, A., MILESI, S., et al., 2001. Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant Sci. J.* 161, 839–851

CAMUESCO, D. et al. The intestinal anti-inflammatory effect of quercitrin is associated with an improvement in cytokine production and neutrophil infiltration in TNBS-induced colitis in mice. *British Journal of Pharmacology*, v. 154, n. 7, p. 1517-1526, 2008.

CANSIAN, R. L. et al. Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de canela-sassafrás (*Ocotea odorífera* (Vell.) Rowher). *Perspectiva*, Erechim, v. 34, n. 127, p. 123-133, set. 2010.

CONCEIÇÃO, R. S. et al. In vitro acaricide activity of *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez. (Lauraceae) extracts and identification of the compounds from the active fractions. *Ticks and Tick-borne Diseases*, v. 8, p. 275-282, 2017. DOI: 10.1016/j.ttb.2017.01.011.

DAMASCENO-JUNIOR, G. A. et al. Fire-tolerance strategies in woody species from Pantanal riparian forests, Brazil. *Flora*, v. 285, p. 151978, 2021. DOI: 10.1016/j.flora.2021.151978.

DONG, S.-H. et al. Advanced technologies targeting isolation and characterization of natural products. *Trends in Analytical Chemistry*, v. 175, p. 117711, 2024. DOI: 10.1016/j.trac.2024.117711.

FARIAS, K. S. et al. Global distribution of the chemical constituents and antibacterial activity of essential oils in Lauraceae family: A review. *South African Journal of Botany*, v. 155, p. 214-222, 2023. DOI: 10.1016/j.sajb.2023.02.028.

FENG, H. et al. The application of chemical composition analysis of plant essential oils and their antibacterial and antioxidant activities: A review. *Heliyon*, v. 8, n. 12, p. e12013, 2022. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e12013.

FIGUEIREDO, A. et al. First report of the effect of *Ocotea elegans* essential oil on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Veterinary Parasitology*, v. 252, p. 131-136, 2018. DOI: 10.1016/j.vetpar.2018.09.004.

FOURNET, A.; FERREIRA, M. E.; ROJAS DE ARIAS, A.; GUY, I.; GUINAUDEAU, H.; HEINZEN, H. Phytochemical and antiprotozoal activity of *Ocotea lancifolia*. *Fitoterapia*, v. 78, p. 382-384, 2007.

IMENSHAHIDI, M.; HOSSEINZADEH, H. Berberine and barberry (*Berberis vulgaris*): A review. *Phytotherapy Research*, v. 30, n. 10, p. 1550-1563, 2016. DOI: 10.1002/ptr.5461.

HAYASHI, N., KOMAE, H., 1980. Chemistry and distribution of sesquiterpene furans in Lauraceae. *Biochem. Syst. Ecol.* 8, 381–383.

HUTCHINGS, M.I.; TRUMAN, A.W.; WILKINSON, B. Antibiotics: Past, present and future. *Curr. Opin. Microbiol.* 2019, 51, 72–80

JAIN, M. et al. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and extracts of *Mentha longifolia* (Linn.) Hudson (syn. *Mentha sylvestris* L.) from Kumaon Region. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 124, n. 2, p. 210-213, 2009.

KATCHBORIAN-NETO, A. et al. Bioprospecting-based untargeted metabolomics identifies alkaloids as potential anti-inflammatory bioactive markers of *Ocotea* species (Lauraceae). *Phytomedicine*, v. 120, p. 155060, 2023. DOI: 10.1016/j.phymed.2023.155060.

KATZ, L.; BALTZ, R. H. Natural product discovery: past, present, and future. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, v. 43, n. 2-3, p. 155-176, 2016. DOI: 10.1007/s10295-015-1723-5.

LES, F.; VALERO, M. S.; ARRUEBO, M. P. Natural Product Chemistry and Biological Research. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 25, n. 7, p. 3774, 2024. DOI: 10.3390/ijms25073774.

LI, L. et al. Molecular phylogenetic analysis of the *Persea* group (Lauraceae) and its biogeographic implications on the evolution of tropical and subtropical Amphi-Pacific disjunctions. *American Journal of Botany*, v. 98, n. 9, p. 1520-1536, 2011. DOI: 10.3732/ajb.1100008.

LIU, S. et al. Deciphering Steroidal and Aporphine Alkaloids as Antileukemic Agents by Approaches of Molecular Networking and in Vitro Assays. *ACS Omega*, 2025. DOI: 10.1021/acsomega.4c10160.

LIU, X. et al. Chemical composition and antioxidant properties of the essential oil from the leaves of *Machilus thunbergii* Sieb. et Zucc. (Lauraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, v. 81, p. 45-48, 2018.

LÓPEZ, S. et al. Acetylcholinesterase inhibitory activity of some Amaryllidaceae alkaloids and *Narcissus* extracts. *Life Sciences*, v. 71, p. 2521-2529, 2002

MACHADO, M. B. C. et al. Essential oils from *Ocotea* species: Chemical variety, biological activity, and potential uses in the industry. *Fitoterapia*, v. 162, p. 105273, 2022. DOI: 10.1016/j.fitote.2022.105273.

MANRIQUE-PINEDA, D. A.; DE SOUZA, E. B.; PARANHOS FILHO, A. C.; CÁCERES ENCINA, C. C.; DAMASCENO-JUNIOR, G. A. Fire, flood and monodominance of *Tabebuia aurea* in Pantanal. *Forest Ecology and Management*, v. 479, p. 118599, 2021.

MORAIS, L. C. S. L.; BARBOSA-FILHO, J. M.; ALMEIDA, R. N. 1998a. Central depressant effects of reticuline extracted from *Ocotea duckei* in rats and mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 62: 57-61.

PALAZZO, M. C.; AGIUS, B. R.; WRIGHT, B. S.; et al. Chemical compositions and cytotoxic activities of leaf essential oils of four Lauraceae tree species from Monteverde, Costa Rica. *Rec. Nat. Products*, v. 3, p. 32–37, 2009

PASSOS, P. H. C. et al. Lauraceae Family: A Review of the Chemical Compounds and Biological Activities. *Biomolecules*, v. 10, n. 6, p. 869, 2020. DOI: 10.3390/biom10060869.

ROCHA, M.; SANTOS JÚNIOR, C. C.; DAMASCENO-JÚNIOR, G. A.; POTT, V. J.; POTT, A. Effect of fire on a monodominant floating mat of *Cyperus giganteus* Vahl in a neotropical wetland. *Brazilian Journal of Biology*, v. 75, p. 114–124, 2015.

SALLEH, W. M. N. H. W.; AHMAD, F. Phytochemistry and Biological Activities of the Genus *Ocotea* (Lauraceae): A Review on Recent Research Results (2000-2016). *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, v. 7, n. 5, p. 204-218, 2017. DOI: 10.7324/JAPS.2017.70534.

SANTOS, L. B. et al. Efficacy of extracts from plants of the Brazilian Pantanal against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 22, n. 4, p. 532-538, 2013. DOI: 10.1590/S1984-29612013000400013.

SHI, M. et al. Molecular regulation in medicinal plants: A review. *Journal of Integrative Plant Biology*, v. 66, n. 3, p. 574-596, 2024. DOI: 10.1111/jipb.13634.

SILVA, J. K. R. da et al. Chemical Diversity, Biological Activity, and Genetic Aspects of Three *Ocotea* Species from the Amazon. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 18, n. 5, p. 1081, 2017. DOI: 10.3390/ijms18051081.

SILVA TELES, M.M.R.; PINHEIRO, A.A.V.; DIAS, C.S.; TAVARES, J.F.; FILHO, J.M.B.; DA CUNHA, E.V.L., 2019. Alkaloids of the Lauraceae. *The Alkaloids: Chemistry and Biology*, 82, 147–304

TROFIMOV, D.; ROHWER, J. G. Epidermal features allowing identification of evolutionary lineages in the *Ocotea* complex (Lauraceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, v. 31, p. 17-35, 2018.

WEBER, L. D. et al. Composição química e atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos e óleo essencial de *Ocotea diospyrifolia* (Meisn.) Mez. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 19, n. 1, p. 116-124, 2018. DOI: 10.1590/s1519-99402018000100011.

WOO, S. H. et al. Topoisomerase II inhibition by aporphine alkaloids. *Biochemical Pharmacology*, v. 57, p. 1141-1145, 1999

WU, Y.; CHAPPELL, J. The value of plant natural products. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 19, n. 2, p. 145-152, 2008. DOI: 10.1016/j.copbio.2008.02.007.

XAVIER, J. K. A. M. et al. Chemical diversity and biological activities of essential oils from *Licaria*, *nectrandra* and *Ocotea* species (Lauraceae) with occurrence in Brazilian biomes. *Biomolecules*, v. 10, art. 869, 2020.

YAMAGUCHI, K. K. L. et al. Investigação do potencial antioxidante e anticolinesterásico de 20 espécies da família Lauraceae. *Acta Amazonica*, v. 42, n. 4, p. 541-546, 2012. DOI: 10.1590/S0044-59672012000400011.

ZHAO, W.; LIU, J.; CHEN, Y. Advances in the biosynthesis of naturally occurring benzyloisoquinoline alkaloids. *Frontiers in Plant Science*, v. 16, p. 1548471, 2025. DOI: 10.3389/fpls.2025.1548471.