



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE QUÍMICA

**ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE ALCALOIDES PIPERIDÍNICOS
MINORITÁRIOS PRESENTES NAS FLORES DE *Senna spectabilis* (Fabaceae)**

PAULO CÉSAR GOMES DE LIMA

Uberlândia/MG

2026

**ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE ALCALOIDES PIPERIDÍNICOS
MINORITÁRIOS PRESENTES NAS FLORES DE *Senna spectabilis* (Fabaceae)**

PAULO CÉSAR GOMES DE LIMA

Trabalho de conclusão de curso apresentado como
requisito para aprovação no curso de Bacharelado
em Química Industrial do Instituto de Química da
Universidade Federal de Uberlândia.

Área de concentração: Química Orgânica

Orientador: Prof. Dr. Marcos Pivatto

Coorientador: Me. Isabela Lopes e Cytrângolo

Uberlândia/MG

2026

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

L732
2026 Lima, Paulo Cesar Gomes de, 2003-
Isolamento e caracterização dos alcaloides piperidínicos polares
presentes na fração alcaloídica obtida das flores de *Senna
spectabilis* [recurso eletrônico] / Paulo Cesar Gomes de Lima. -
2026.

Orientador: Marcos Pivatto.

Coorientadora: Isabela Lopes e Cytrângolo.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade
Federal de Uberlândia, Graduação em Química Industrial.

Modo de acesso: Internet.

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Tecnologia química. I. Pivatto, Marcos, 1979-, (Orient.). II.
Cytrângolo, Isabela Lopes e, 2001-, (Coorient.). III. Universidade
Federal de Uberlândia. Graduação em Química Industrial. IV. Título.

CDU: 660.2

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

**ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE ALCALOIDES PIPERIDÍNICOS
MINORITÁRIOS PRESENTES NAS FLORES DE *Senna spectabilis* (Fabaceae)**

PAULO CÉSAR GOMES DE LIMA

Trabalho de conclusão de curso apresentado como
requisito para aprovação no curso de bacharelado
em Química Industrial do Instituto de Química da
Universidade Federal de Uberlândia.

Área de concentração: Química Orgânica

Banca examinadora:

Prof. Dr. Marcos Pivatto – Orientador (UFU)

Prof. Dr. Alberto de Oliveira – Examinador (UFU)

Dr^a. Gáveni Barbosa Valério – Examinadora (UFU)

Uberlândia, 03 de agosto de 2026.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos professores Marcos Pivatto, Amanda Danuello e a mestre Isabela Lopes pela orientação, motivação, conhecimento e disciplinas lecionadas durante a minha trajetória acadêmica.

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas de iniciações científicas concedidas e às fundações: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Biodiversidade e Produtos Naturais (INCT-BioNat) pelo financiamento durante o desenvolvimento deste trabalho. Além da Rede de Laboratórios Multiusuários (RELAM) pelos recursos e tempo disponibilizados.

Agradeço imensamente aos meus pais, Célia Maciel e Márcio Pessoa, que sempre me apoiaram, aconselharam e parabenizaram meus pequenos passos, nada que eu tente escrever expressará o que sinto, amo vocês.

Agradeço a Hemilly Mares, minha namorada, por ser meu alicerce em momentos difíceis e o motivo da minha alegria. Pela preocupação e apoio em épocas de prova e no desenvolvimento deste trabalho, você é perfeita.

Agradeço em especial ao Diogo Henrique e Mateus Ribeiro pelos anos dividindo o “pensionato” e construindo memórias insuperáveis, obrigado pelo companheirismo e conversas.

Agradeço aos colegas de laboratório pelas conversas descontraídas e pelas respostas às dúvidas frequentes.

Agradeço aos amigos da graduação que fazem parte da minha vida, nunca me esquecerei de vocês.

Agradeço a minha família e amigos de Penápolis-SP, que mesmo longe nunca deixaram de torcer e faziam questão de me encontrar nas ligeiras visitas ao longo dos anos.

*Eu penso muito sobre tudo, não posso evitar, vou de uma ideia para outra.
E todos esses planos viram um sonho, que vejo crescer, progredir, vejo pessoas felizes através deles.*

Ayrton Senna

RESUMO

Senna spectabilis pertence à família Fabaceae, popularmente conhecida como cássia, cássia do nordeste e fedegoso. É uma árvore comumente utilizada na arborização de centros urbanos e no âmbito da química de produtos naturais é uma fonte importante de metabólitos especiais, principalmente os alcaloides piperidínicos majoritários: (–)-cassina e (–)-espectralina. Esses compostos têm despertado o interesse científico em razão da comprovada inibição da acetilcolinesterase, enzima relacionada à doença de Alzheimer. Existem relatos na literatura sobre a presença de epímeros da (–)-cassina e (–)-espectralina no C-6 do núcleo piperidínico, chamados de 6-*iso*-cassina e 6-*iso*-espectralina. O interesse nestes diastereômeros ganha destaque devido às alterações da estereoquímica que resultam em propriedades físico-químicas diferentes e possivelmente podem alterar as propriedades biológicas. Dessa forma, os objetivos deste trabalho visam ampliar o conhecimento sobre os alcaloides piperidínicos presentes em *S. spectabilis*, sendo este estudo direcionado para o isolamento e identificação dos metabólitos minoritários, utilizando técnicas cromatográficas, como a cromatografia em camada delgada (CCD), a cromatografia em coluna (CC), a cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) e a cromatografia a gás com detector de ionização em chama (CG-DIC). Assim, estes compostos foram isolados e as estruturas determinadas por espectrometria de massas (EM) e espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H (RMN ^1H). Dessa forma, *S. spectabilis* provou ser uma fonte importante de metabólitos especiais, cuja separação necessitou da utilização de técnicas modernas como a CLAE-EM e CG-DIC. Assim, estes diastereômeros e homólogos constituem a base para futuros estudos voltados para a determinação da estereoquímica absoluta dos centros estereogênicos, assim como para avaliação biológica e compreensão dos mecanismos de ação.

Palavras-chave: *Senna spectabilis*, alcaloides piperidínicos, epímeros, espectrometria de massas.

ABSTRACT

Senna spectabilis belongs to the Fabaceae family and is popularly known as cassia. This species is widely used in urban landscaping and is considered an important source of specialized metabolites, particularly the major piperidine alkaloids (–)-cassine and (–)-spectaline. These compounds have attracted scientific interest due to their acetylcholinesterase inhibitory activity, an enzyme associated with Alzheimer’s disease. Previous studies have reported the occurrence of epimers of (–)-cassine and (–)-spectaline at C-6 of the piperidine ring, known as 6-*iso*-cassine and 6-*iso*-spectaline. The investigation of these diastereomers is relevant because changes in stereochemistry may result in different physicochemical properties and potentially affect their biological activities. Therefore, this study aimed to expand the knowledge of the piperidine alkaloids present in *S. spectabilis*, focusing on the isolation and identification of minor metabolites. Chromatographic techniques, including thin-layer chromatography (TLC), column chromatography (CC), high-performance liquid chromatography (HPLC), and gas chromatography with flame ionization detection (GC-FID), were employed for the separation of the compounds. The isolated metabolites were identified by mass spectrometry (MS) and ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy (¹H NMR). The results demonstrated that *S. spectabilis* is an important source of specialized metabolites, whose separation required the application of advanced analytical techniques, particularly HPLC-MS and GC-FID. The isolated diastereomers and homologues provide a basis for future studies aimed at determining the absolute stereochemistry of their stereogenic centers, as well as evaluating their biological activities and elucidating their mechanisms of action.

Keywords: *Senna spectabilis*, piperidine alkaloids, epimers, mass spectrometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produtos naturais utilizados a milênios antes de Cristo que são comercializados atualmente.	11
Figura 2 - Alcaçuz (A) e papoula (B), plantas medicinais utilizadas pela civilização mesopotâmica.	12
Figura 3 - PNs de grande relevância histórica.	13
Figura 4 - Brazilina, extraída do pau-brasil, e seu produto de oxidação brasileína.	13
Figura 5 - Alcaloides com ação sobre o SNC.	15
Figura 6 - Principais aminoácidos que fazem parte das vias biossintéticas dos alcaloides verdadeiros.	16
Figura 7 - Alcaloides com potencial farmacológico.	17
Figura 8 - Cerrado no Brasil.	18
Figura 9 - <i>Senna spectabilis</i> : árvore e detalhes, flores, folhas, frutos, sementes e casca.	19
Figura 10 - Alcaloides piperidínicos isolados de <i>Senna spectabilis</i> e derivados Semissintéticos.	19
Figura 11 - Esquema da extração líquido-líquido do extrato etanólico das flores de <i>S. spectabilis</i> .	25
Figura 12 - CCD das frações obtidas da extração líquido-líquido.	26
Figura 13 - CCD das frações obtidas da CC PIC01.	27
Figura 14 - CCD das frações alcaloídicas obtidas da CC PIC02.	28
Figura 15 - CCD das frações alcaloídicas obtidas da CC PIC03.	29
Figura 16 - CG-DIC das frações alcaloídicas obtidas da CC PIC03.	30
Figura 17 - CG-DIC das frações PICLAE01-F ₀₂₋₀₇ (19b) e PICLAE01-F ₁₁₋₁₃ (20b).	32
Figura 18 - EM-IES-(+) em alta resolução do alcaloide 19b .	33
Figura 19 -EM/EM-IES-(+) do alcaloide 19b .	33
Figura 20 - Proposta de mecanismo para a eliminação de água de 19b .	34
Figura 21 - Espectro de RMN de ¹ H do alcaloide 19b (400 MHz, CDCl ₃)	34
Figura 22 - Ampliação do espectro 20 (δ 1,10–3,80) de 19b .	35
Figura 23 - EM-IES-(+) em alta resolução do alcaloide 20b .	36
Figura 24 - EM/EM-IES-(+) do alcaloide 20b .	37
Figura 25 - Proposta de mecanismo para a eliminação de água de 20b .	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados de RMN do alcaloide **19b**.

35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CC - Cromatografia em coluna

CCD - Cromatografia em camada delgada

CDCl₃ - Clorofórmio deuterado

CG - Cromatografia a gás

CH₂Cl₂ - Diclorometano

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência

d - Duplete

d.i. - Diâmetro interno

EEFI-Ss - Extrato etanólico das flores de *Senna spectabilis*

EM - Espectrômetro de massas

AcOEt - Acetato de etila

FE - Fase estacionária

FM - Fase móvel

HOAc - Ácido acético

IClPt - Revelador iodocloroplatinato

m - Multiplete

MeOH - Metanol

NH₄OH - Hidróxido de amônio

PN - Produtos naturais

QPN - Química de produtos naturais

RMN - Ressonância magnética nuclear

s - Singleto

t - Tripleto

t_R - Tempo de retenção

UV - Ultravioleta

TMS - Tetrametilsilano

δ - Deslocamento químico (ppm)

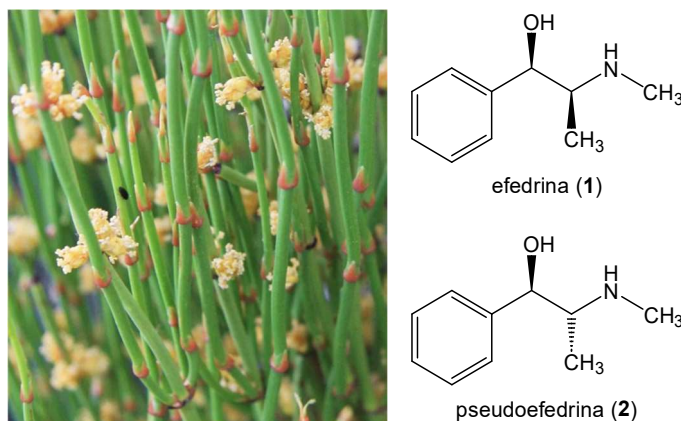
SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
1.1. Alcaloides	15
1.2. Presença de <i>Senna spectabilis</i> no Cerrado brasileiro	17
2. OBJETIVOS	20
2.1. Objetivo geral.....	20
2.2. Objetivos específicos	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1. Materiais	21
3.1.1. Instrumentação	21
3.1.2. Solventes	21
3.1.3. Reagentes.....	22
3.1.4. Revelador iodocloroplatinato (IClPt)	22
3.2. Técnicas cromatográficas.....	22
3.2.1. Cromatografia em camada delgada (CCD)	22
3.2.2. Cromatografia em coluna (CC).....	22
3.2.3. Cromatografia a gás (CG)	23
3.2.4. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	23
3.3. Técnicas espectroscópicas.....	24
3.3.1. Ressonância magnética nuclear (RMN)	24
3.4. Metodologia experimental	24
3.4.1. Coleta do material vegetal e preparo do extrato etanólico das flores de <i>Senna spectabilis</i>	24
3.4.2. Extração líquido-líquido do extrato etanólico.	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	26
4.1. Avaliação qualitativa dos alcaloides presentes nas frações de <i>S. spectabilis</i> do extrato (EEFI-Ss).	26
4.2. Avaliação cromatográfica por CG-DIC das frações alcaloídicas.....	29
4.3. Isolamento por CLAE dos alcaloides mais polares (R_f 0,51).....	31
4.4. Caracterização do alcaloide 6-iso-cassina (19b).	32
4.5. Caracterização do alcaloide 6-iso-espectralina (20b).....	36
5. CONCLUSÃO	38

1. INTRODUÇÃO

Os produtos naturais (PN) são a classe de compostos produzidos por seres vivos, tais como: plantas, animais e microrganismos. O uso de produtos naturais (PN) está atrelado aos primórdios da humanidade, sendo indispensável, do ponto de vista nutricional, medicinal e tecnológico, desde o consumo de plantas e outros recursos na era paleolítica pelos hominídeos. O que pode ser constatado na alimentação, sendo que grande parte era a base de plantas e fica evidenciado pelo desgaste nos dentes de fosseis, provocado por materiais vegetais cobertos de grãos, e em equipamentos de caça onde foi observada a presença de fibras e madeiras em ferramentas de pedra (Harmand, *et al.*, 2015). Além disso, a química de produtos naturais (QPN) também está interligada ao progresso da química medicinal, sendo recorrente a citação de diversas plantas com potencial medicinal, de onde foram isolados compostos que serviram como inspiração para desenvolvimento de fármacos ao longo de milhares de anos. Como por exemplo, o extrato do caule de *Ephedra* (Ephedraceae), em que muitas espécies apresentam os alcaloides efedrina (1) e (–)-pseudoefedrina (2), utilizado na medicina chinesa há mais de 5000 anos e, atualmente, na indústria farmacêutica como princípio ativo de estimulantes e descongestionantes, respectivamente (Firmo *et al.*, 2011; Caveney *et al.*, 2001) (Figura 1).

Figura 1 - Produtos naturais utilizados a milênios antes de Cristo que são comercializados atualmente.



Fonte: Foto adaptado de animalia-life.club (2023) e estruturas desenhadas pelo próprio autor.

As antigas civilizações utilizavam da flora local como fonte de alimento e, muitas vezes, como remédios com o objetivo de curar doenças e alívio da dor (Monteiro; Brandelli, 2017). Um dos relatos mais antigos sobre a utilização de plantas, com fins terapêuticos, datam de 2600 a.C. pelos mesopotâmicos que utilizavam o alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*) (Figura 2A),

para o tratamento de problemas respiratórios, e a papoula (*Papaver somniferum*) (Figura 2B), utilizada como sedativo (Newman *et al.*, 2000).

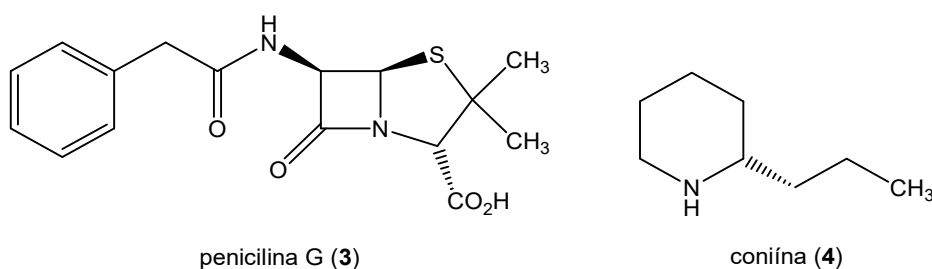
Figura 2 - Alcaçuz (A) e papoula (B), plantas medicinais utilizadas pela civilização mesopotâmica.



Fonte: Adaptado de Medicina Natural (2018) e Agro 2.0 (2020).

Apesar de se tratar de uma prática milenar, como visto, as plantas medicinais são consideradas fontes diretas para o tratamento de doenças e da saúde, principalmente em países em desenvolvimento, o que reforça a necessidade e importância do aprofundamento nos estudos dos PNs (Sharma; Kumar, 2011; Rosa *et al.*, 2011). Ao longo do tempo, o conhecimento popular sobre os PN foi transmitido entre as gerações, avançando em paralelo com o desenvolvimento científico e tecnológico, e alavancando também a química medicinal. Um exemplo de grande relevância científica é a penicilina (3) (Figura 3), descoberta pelo cientista britânico Alexander Fleming, representa um marco na história da ciência, inaugurando a era dos antibióticos. Essa descoberta foi responsável por diminuir expressivamente o número de mortes causadas por doenças infecciosas, mantendo, ainda hoje, sua relevância científica, servindo de inspiração para o desenvolvimento de novos fármacos (Calixto; Cavalheiro, 2012). Entretanto, o uso de PNs, de forma inconsequente, também pode resultar em malefícios para a saúde humana, como casos de envenenamentos. A morte de Sócrates, é um exemplo desse uso, cuja descrição dos sintomas, relata efeitos provocados pelo alcaloide coníina (4) (Figura 3), encontrado em plantas do gênero *Conium maculatum*. Este metabólito atua como um bloqueador neuromuscular, levando à paralisia e consequentemente à morte (Fiamoncini; Demarque; Crnkovic, 2023).

Figura 3 - PNs de grande relevância histórica.

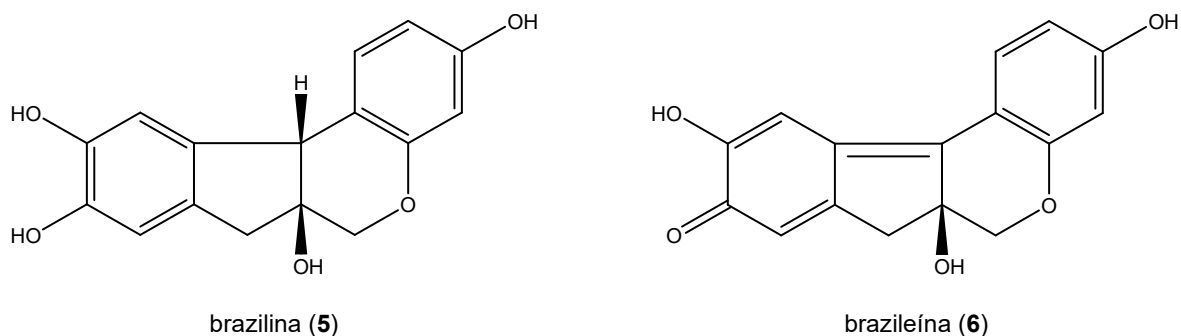


Fonte: Autor.

No Brasil, a utilização de plantas no tratamento de doenças é marcada pela influência da cultura africana e indígena. A história indica que os escravizados vindos do continente africano portavam plantas medicinais que utilizavam para cura das suas enfermidades e nos rituais religiosos. A miscigenação do povo brasileiro, tanto pessoal quanto cultural, contribuiu para aumentar o conhecimento das plantas medicinais ao longo dos anos, resultando posteriormente em estudos mais bem direcionados, chamados de etnodirigidos (Pinto *et al.*, 2017). Era comum entre os indígenas utilizar da biodiversidade local em benefício próprio, sendo os conhecimentos das ervas locais transmitidos através das gerações e nesses ciclos os conhecimentos eram ampliados e aprimorados (Nogueira; Montanari; Donnicci, 2009).

Além da finalidade terapêutica, os PNs marcaram a época da colonização portuguesa ao evidenciar o potencial econômico e químico de especiarias e corantes (Viegas Junior; Bolzani; Barreiro, 2006). Um exemplo é o pigmento avermelhado extraído do pau-brasil (*Cesalpinia echinata*), utilizado no tingimento de roupas e como tinta para escrever. A brazilina (5) (Figura 4), um derivado catecólico, foi extraída do lenho do pau-brasil, que facilmente se oxida à brazileína (6) (Figura 4) quando exposta ao ar e à luz (Viegas Junior; Bolzani; Barreiro, 2006).

Figura 4 - Brazilina, extraída do pau-brasil, e seu produto de oxidação brazileína.



Fonte: Autor.

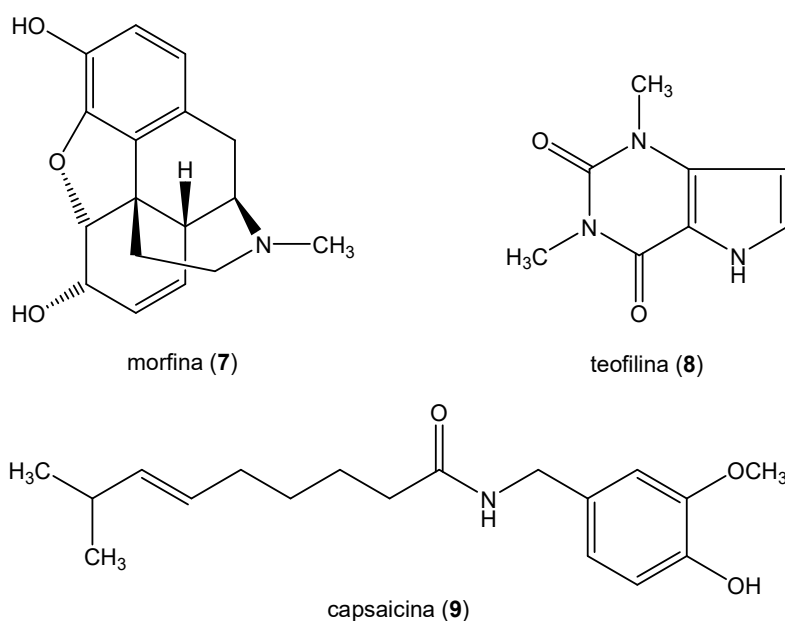
A diversidade estrutural presente nos PNs chama a atenção, acima de tudo, pelas diferentes atividades biológicas, que estão relacionadas com a atuação destes compostos sobre enzimas e proteínas através de ligações químicas específicas (Khokon *et al.*, 2011; Katz *et al.*, 2015). De forma geral, o metabolismo dos seres vivos pode ser classificado em metabolismo primário, também chamado de metabolismo central, altamente conservador, e metabolismo especializado, também chamado de metabolismo secundário, que produz uma grande diversidade de compostos em diferentes níveis de espécie, órgãos, tecidos e células (Pott, *et al.*, 2019). Vallarino e colaboradores (2018) comprovaram através de experimentos que morangos cultivados em ambiente doméstico apresentaram desregulação geral dos metabólitos especiais quando comparado a morangos selvagens, enquanto os metabólitos primários foram mantidos, comprovando a complexa regularização que essa classe de compostos está sujeita. Os metabólitos secundários são compostos químicos produzidos pelas plantas, microrganismos (fungos e bactérias) e animais, através de reações enzimáticas, visando a adaptação, atração de polinizadores para reprodução, proteção etc. (Monteiro; Brandelli, 2017). Já os compostos oriundos do metabolismo primário, estão presentes de maneira universal nos seres vivos, fazem parte as macromoléculas como carboidratos, proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos e, no caso das células vegetais, a clorofila (Monteiro; Brandelli, 2017).

Diferente do metabolismo primário, o metabolismo secundário consiste em micromoléculas, geralmente produzidas em pequena escala, que se caracterizam como elementos de diferenciação e especialização, que não são necessariamente vitais para o organismo. Entretanto, estas substâncias desempenham um papel importante na interação das plantas com o meio ambiente como reguladores de defesa, de crescimento e desenvolvimento, e em conjunto a outros fatores, podem gerar vantagens competitivas e adaptativas, como facilitadores de absorção de micronutrientes (Erb, M.; Kliebenstein D. J. 2020). Foi através dessa observação que as plantas passaram a despertar o interesse humano, visando a exploração dos metabólitos especiais com potencial farmacológico. Ainda dentro do contexto da química dos PNs, o metabolismo especializado também pode ser classificado quanto às características estruturais dos metabólitos produzidos e pelas rotas sintéticas, tais como terpenoides, compostos fenólicos e compostos nitrogenados, também chamados de alcaloides (Fiamoncini; Demarque; Crnkovic, 2023; Ziegler ; Facchini, 2008).

1.1. Alcaloides

Os alcaloides constituem um importante e complexo grupo de compostos nitrogenados, comumente encontrados nas plantas atuando no sistema de defesa, apresentam importantes atividades biológicas, atuando principalmente sobre o sistema nervoso central (SNC) (Kursinszki; Ludányi; Szoke, 2008), como por exemplo a morfina (7), a teofilina (8) e a capsaicina (9) (Figura 5).

Figura 5 - Alcaloides com ação sobre o SNC.



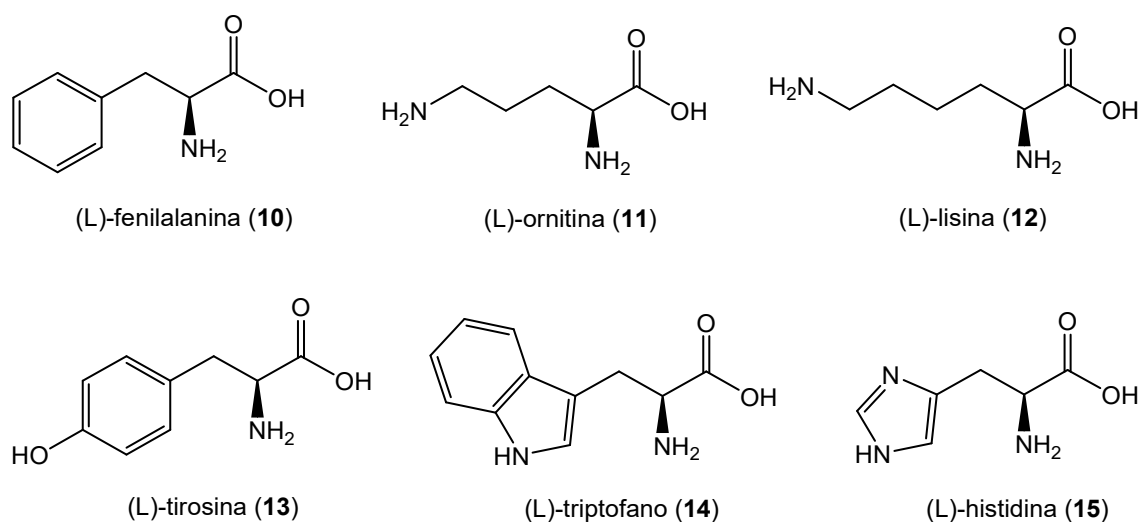
Fonte: Autor.

Os alcaloides são um grupo diverso, tanto do ponto de vista estrutural quanto em aplicações biológicas, tais como: antimalárica (Pivatto *et al.*, 2014), anticâncer (Marques; Lopes, 2015), antiarrítmica (Álvarez; Vassort, 2010), vasodilatadora, analgésica e estimulante (Fiamoncini; Demarque; Crnkovic, 2023). A versatilidade dessa classe de metabólitos é evidenciada pelo uso de diferentes extratos vegetais na medicina tradicional, pelos raizeiros, comunidades quilombolas ou xamãs/pajés (povos originários) (Nogueira; Montanari; Donnicci, 2009). Do ponto de vista acadêmico, os pesquisadores têm investido na busca por novas estruturas moleculares que possam ser utilizadas como medicamentos ou como inspiração para o desenvolvimento de novos fármacos (Albuquerque; Hanazaki, 2006).

Sob a perspectiva da descoberta e desenvolvimento de novos fitofármacos nitrogenados, o estudo das rotas biossintéticas e seus mecanismos, pode auxiliar na compreensão do potencial de ação destes compostos. Sendo uma classe diversa, os alcaloides são compostos com

característica básicas e podem ser classificados de acordo com a rota em que são produzidos: alcaloides verdadeiros, protoalcaloides e pseudoalcaloides. Os alcaloides verdadeiros são compostos que tem origem biossintética nos aminoácidos, como a fenilalanina (**10**), a ornitina (**11**), a lisina (**12**), a tirosina (**13**), o triptofano (**14**) e a histidina (**15**) (Figura 6), apresentam ao menos um anel heterocíclico com um átomo de nitrogênio, como por exemplo a morfina (**7**). Os protoalcaloides também são compostos nitrogenados, derivados de aminoácidos, no entanto, o nitrogênio não está inserido em um anel heterocíclico. O composto **9** é um exemplo dessa classe. Já os pseudoalcaloides são compostos nitrogenados, porém o nitrogênio, não é derivado diretamente de aminoácidos, sendo oriundo de etapas biossintéticas como a transaminação. Um exemplo é o composto **8**, que é obtido através de vias biossintéticas alternativas, nesse caso através do metabolismo das purinas (ou metilxantinas) (Figura 5) (Alves; Bragagnolo, 2002).

Figura 6 - Principais aminoácidos que fazem parte das vias biossintéticas dos alcaloides verdadeiros.

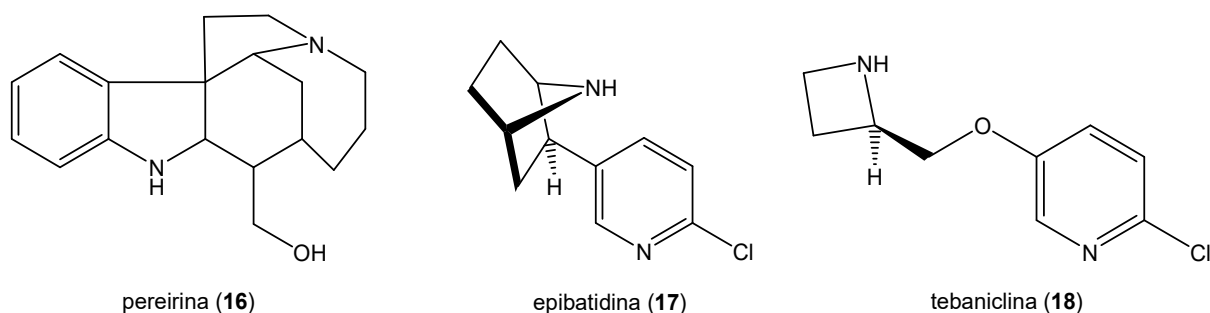


Fonte: Autor.

No Brasil (século XIX), um marco na história da QPNs foi o primeiro isolamento do alcaloide pereirina (**16**) (Figura 7), relatado pelo farmacêutico brasileiro Ezequiel Corrêa dos Santos, a partir das cascas do pau-pereira (*Geissospermum vellosii* sin. *G. laeve*) (Almeida *et al.*, 2009). O extrato da planta já era conhecido e utilizado na medicina popular e por indígenas no tratamento principalmente da febre amarela, tonturas e distúrbios digestivos. Era feito um preparado aquoso a partir da fervura das cascas da planta, que era utilizado no banho de pacientes (Almeida *et al.*, 2009).

A produção de alcaloides não se restringe às plantas, também são produzidos por fungos, bactérias e animais (Cechinel Filho; Zanchett, 2020). A epibatidina (**17**) (Figura 7) é um exemplo de substância encontrada na pele de um sapo (*Epipedobates tricolor*), endêmico da região Amazônica, principalmente no Equador, com potente ação analgésica (Cechinel Filho; Zanchett, 2020). Este composto foi usado como modelo para a obtenção de análogos mais potentes que a morfina, como a tebaniclina (**18**) (Figura 7), entretanto, seus efeitos gastrointestinais adversos impediram a continuidade dos estudos (Cechinel Filho e Zanchett, 2020).

Figura 7 - Alcaloides com potencial farmacológico.



Fonte: Autor.

Os estudos com alcaloides e seus derivados sintéticos marcam intensa presença na história da QPN, sendo que os avanços nos métodos de separação e o aprimoramento de técnicas espectroscópicas e espectrométricas são fundamentais para a descoberta e desenvolvimento de novos compostos bioativos (Barbosa; Barbieri; Fill; Crnkovic, 2025).

1.2. Presença de *Senna spectabilis* no Cerrado brasileiro

O Cerrado constitui cerca de 22% do território nacional e incide sobre os estados de Goiás, Tocantins, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Bahia, Maranhão, Piauí, Rondônia, Paraná, São Paulo e Distrito Federal (Figura 8), além de fazer parte da flora de países vizinhos como Bolívia e Paraguai (Ribeiro; Walter 2008). Desse modo, a biodiversidade deste bioma, que abriga desde campos abertos até florestas ombrófilas e compreende mais de 12 mil espécies vegetais catalogadas cientificamente (Malheiros, 2021), atribui valor à pesquisa fitoquímica e contribui para a descoberta de novos fármacos. Nesse sentido, o Cerrado é privilegiado pela abrangência territorial e vasta diversidade botânica, fundamentais para

fomentar insumos que possam ser usados diretamente ou servir de inspiração para o desenvolvimento de fármacos e/ou agroquímicos (Ribeiro, 2016).

Figura 8 - Cerrado no Brasil.



Fonte: Adaptado pelo autor utilizando paintmaps.com.

Dentre as diversas espécies encontradas no Cerrado brasileiro também está *Senna spectabilis* (sin. *Cassia spectabilis*) (Figura 9), que é uma árvore que apresenta relatos de uso na medicina popular e bastante estudada pela comunidade científica, devido à diversidade química e propriedades biológicas. *S. spectabilis* também é usada como planta ornamental, na urbanização das cidades e na recuperação de áreas degradadas, devido à sua floração, distribuição global e rapidez de crescimento (Selegato *et al.*, 2017). Conhecida popularmente como cássia do nordeste, tula-de-besouro, pau-de-ovelha, entre outros, é considerada uma árvore de grande porte capaz de chegar a 9 metros de altura. Relatos na literatura, descrevem que na medicina tradicional extratos dessa planta já foram utilizados para tratar: prisão de ventre, insônia, ansiedade, epilepsia, malária, disenteria e dor de cabeça (Nkantchoua, 2018).

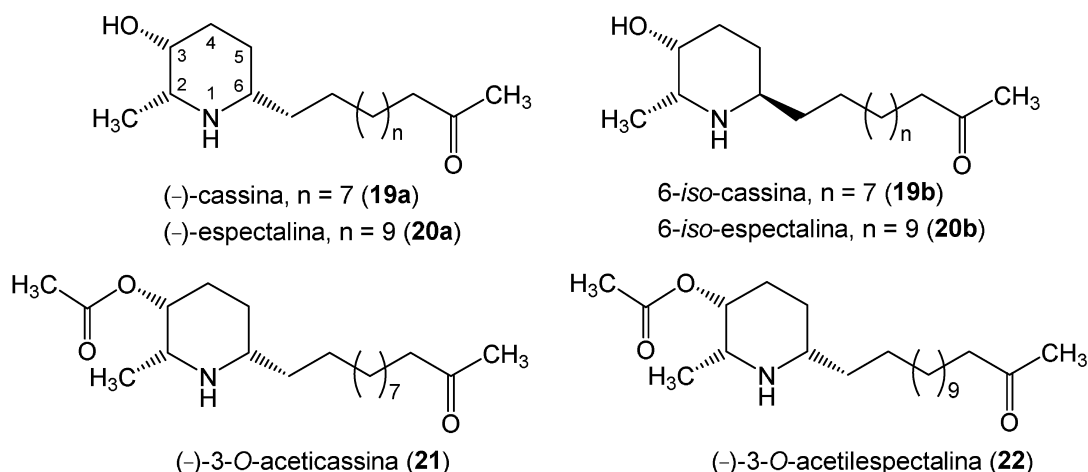
Figura 9 - *Senna spectabilis*: árvore e detalhes, flores, folhas, frutos, sementes e casca.



Fonte: Adaptado de Lorenzi (2002).

As atividades biológicas descritas estão relacionadas a presença de metabólitos especiais encontrados nas folhas, flores e frutos de *S. spectabilis* (Selegato *et al.*, 2017), sendo que os alcaloides piperidínicos (–)-cassina (**19a**) e (–)-espectalina (**20a**) são os compostos majoritários (Figura 10). Relatos na literatura reportam a presença de outros alcaloides em menores concentrações, incluindo os diastereômeros (–)-6-*iso*-cassina (**19b**) e 6-*iso*-espectalina (**20b**) (Figura 10), que são epímeros no C-6 de **19a** e **20a**, respectivamente (Christofidis *et al.*, 1977). Viegas Júnior e colaboradores (2004), prepararam os derivados semissintéticos (–)-3-*O*-acetilcassina (**21**) e a (–)-3-*O*-acetilespectalina (**22**) (Figura 10), a partir de **19a** e **20a**, respectivamente, que apresentaram grande potencial de inibição da acetilcolinesterase, uma importante enzima relacionada a doença de Alzheimer (Viegas Jr. *et al.*, 2004). Os derivados acetilados (**21** e **22**) também foram avaliados quanto a atividade antimalárica (Pivatto *et al.*, 2014), o que despertou o interesse para a preparação de outros derivados semissintéticos, assim como para o isolamento dos diastereômeros **19b** e **20b** para serem avaliados quanto ao potencial antimalárico.

Figura 10 - Alcaloides piperidínicos isolados de *Senna spectabilis* e derivados semissintéticos.



Fonte: Autor.

De acordo com Silva *et al.* (2011), resultados preliminares indicam que **20b** foi capaz de reduzir a peroxidação lipídica em convulsões induzidas em ratos, elevando a taxa de sobrevivência e reduzindo a quantidade de animais convulsionados. Outra constatação importante deste trabalho, é o efeito sobre o sistema nervoso central (SNC) apresentado por **20b**, atuando como um potencial neuroprotetor, em ensaios de depressão. Estudos indicam que a produção excessiva de radicais livres e seu desequilíbrio em função de defesas antioxidantes podem estar relacionadas às doenças neurodegenerativas e nesse sentido os compostos **19b** e **20b** podem ser importantes candidatos para o desenvolvimento de novos fármacos (Silva *et al.*, 2011).

A partir dos resultados apresentados e da análise das estruturas dos pares homólogos **19a/20a** e **19b/20b**, que diferem em duas unidades metilênicas ($-\text{CH}_2-$) na cadeia lateral alquílica, o que resulta em uma difícil tarefa de isolamento destes metabólitos, devido à grande semelhança nas propriedades físico-químicas. Assim, os métodos de separação mais comuns como a cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia em coluna (CC), têm sido pouco eficientes no isolamento desses alcaloides, sendo que na CCD os pares homólogos aparecem como uma única mancha (mesmo R_f) (Pivatto *et al.*, 2014). A existência da mistura de pares homólogos, assim como da presença de estereoisômeros foi constatada em nosso grupo de pesquisa, através de análises utilizando a espectrometria de massas (EM) (Pivatto *et al.*, 2005), sendo que a diferença na atividade biológica dos homólogos **19a/20a** já foi constatada em estudos (Pivatto *et al.*, 2014), e corroboram para a necessidade do desenvolvimento de uma metodologia eficiente de separação dos homólogos **19b/20b**, que são epímeros de **19a/20a**, para posterior avaliação biológica. Estes dados nos motivaram para a proposta deste estudo de isolamento e elucidação estrutural dos compostos **19b** e **20b**, com o objetivo de contribuir para o conhecimento das estruturas químicas, principalmente do ponto de vista da estereoquímica, e que implicações podem resultar das interações destes diferentes compostos com os alvos biológicos e nos mecanismos de ação.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Realizar o isolamento e a identificação estrutural dos alcaloides piperidínicos minoritários que são mais polares que os compostos majoritários (–)-cassina e (–)-espectralina,

e estão presentes na fração diclorometano (CH_2Cl_2), obtida do extrato etanólico das flores de *Senna spectabilis*.

2.2. Objetivos específicos

- Obter a fração concentrada em alcaloides piperidínicos a partir do extrato etanólico das flores de *Senna spectabilis*.
- Fracionar através de processos cromatográficos a fração alcaloídica.
- Avaliar as frações concentradas em alcaloides piperidínicos mais polares por CCD.
- Isolar e identificar os compostos minoritários através da CLAE e CG.
- Caracterizar as estruturas moleculares a partir dos dados de RMN e EM.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Materiais

3.1.1. Instrumentação

- Banho de ultrassom FISATOM modelo 550.
- Balança analítica SHIMADZU modelo AX 200.
- Câmara escura para luz ultravioleta (UV 254 e 365 nm) SOLAB modelo SL-204.
- Linha de secagem de amostra a pressão reduzida (bomba) EDWARDS modelo RV5.
- Rotaevaporador BUCHI modelo R-100 (componentes: banho de aquecimento Buchi B-465 e bomba de vácuo Buchi V-100).

3.1.2. Solventes

- Metanol (MeOH): J. T. Baker grau CLAE
- Diclorometano (DCM): Êxodo científica
- Hidróxido de amônio (NH_4OH): Synth P.A. ACS
- Solventes de grau analítico (P.A.), purificados por destilação fracionada: hexano, acetato de etila (EtOAc) e etanol (EtOH);
- Clorofórmio deuterado (CDCl_3) Cambridge Isotope Laboratories, Inc.

3.1.3. Reagentes

- Ácido hexacloroplatínico IV: Vetec P.A.
- Iodeto de potássio: Vetec P.A.

3.1.4. Revelador iodo-cloroplatinato (IClPt)

Solução A: Solução aquosa de 5% (m/m), de ácido hexacloroplatínico (IV) ($\text{H}_2(\text{PtCl}_6) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).

Solução B: Solução aquosa a 10% (m/m), de iodeto de potássio (KI)

Solução spray: Mistura da solução A, solução B e H_2O (1:9:10).
(Touchstone; Dobbins, 1978)

3.2. Técnicas cromatográficas

3.2.1. Cromatografia em camada delgada (CCD)

Para as análises de cromatografia em camada delgada foram utilizadas placas comerciais de sílica gel 60 (Macherey-Nagel) com 0,20 mm de espessura e indicador de fluorescência (UV254/366), suportadas em folhas de alumínio. O sistema de solventes utilizado para a eluição das cromatoplasmas era composto por uma mistura de DCM/MeOH/ NH_4OH (9:1:0,25). Após o desenvolvimento, as cromatoplasmas foram inspecionadas em câmara de UV à 254 e 366 nm e em seguida nebulizadas com o revelador IClPt.

3.2.2. Cromatografia em coluna (CC)

Para as separações envolvendo a cromatografia em coluna aberta, as seguintes fases estacionárias foram utilizadas:

- Sílica gel (SiO_2) para cromatografia (63–200 μm , diâmetro de poro 60 Å)
Sigma Aldrich;

- Sílica gel (SiO₂) para cromatografia *flash* (40–63 µm, diâmetro de poro 60 Å) Sigma Aldrich.

3.2.3. Cromatografia a gás (CG)

As análises de cromatografia a gás com detector de ionização em chama foram realizadas utilizando um cromatógrafo disponível na Rede de Laboratórios Multiusuários (RELAM), localizado no IQ-IFU, campus Santa Mônica:

Cromatógrafo a gás Shimadzu, modelo GC-2014/C114847-09428 equipado com auto injetor Shimadzu, modelo AOC-20i Plus, utilizando as seguintes condições cromatográficas: gás transportador nitrogênio a fluxo constante de 2,32 mL min⁻¹; coluna cromatográfica capilar phenomenex[®] ZB-5ms (30 × 250 µm × 0.25 µm); temperatura do injetor ajustada a 250 °C; foi utilizado o modo split (1:30); condições de análise: temperatura inicial do forno 100 °C, com aumento gradual de 13 °C min⁻¹ até 280 °C, onde foi mantida por 8 min; tempo total de análise 21,8 min.

3.2.4. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

As análises de cromatografia a líquido de alta eficiência foram realizadas na Rede de Laboratório Multiusuário (RELAM) do Instituto de Química da Universidade Federal de Uberlândia, localizado no campus Santa Mônica:

Cromatógrafo a líquido de alta eficiência Shimadzu Corporation, modelo LC_6AD, composto pelos seguintes módulos: controlador do sistema modelo CBM-20A; detector evaporativo por espalhamento de luz (ELSD, do inglês *evaporative light scattering detector*) modelo ELSD LT II; detector de arranjo de diodo (DAD) modelo SPD-M40A; forno de coluna modelo CTO 20A; auto amostrador modelo SIL-10AF; coletor de frações FRC-10A; degaseificador modelo DGU-20A5R. O equipamento é vinculado a uma estação de dados com software LCSolutions.

As amostras foram solubilizadas em Metanol (MeOH) grau CLAE, sendo filtradas em membrana de politetrafluoretileno 0,45 µm. Para as análises foram utilizadas as colunas:

- Coluna semipreparativa Phenomenex[®] Luna C₁₈ (250,0 × 10,0 mm, 10 µm).

As análises de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (CLAE-EM) foram realizadas no Laboratório de Nanobiotecnologia Prof. Dr. Luiz Ricardo Goulart Filho do Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia (IBTEC-UFU), utilizando o equipamento:

CLAE (Agilent modelo Infinity 1260), hifenado a espectrômetro de massas de alta resolução do tipo Q-TOF (Agilent® modelo 6520 B) com fonte de ionização por *electrospray* (IES).

As massas acuradas obtidas dos espectros de massas em alta resolução foram comparadas com as massas exatas obtidas no software ChemDraw Ultra 12.0, cujos erros, em ppm, foram calculados utilizando a equação abaixo:

$$Erro_{(ppm)} = \left[\frac{massa\ acurada - massa\ exata}{massa\ exata} \right] \times 10^6$$

3.3. Técnicas espectroscópicas

3.3.1. Ressonância magnética nuclear (RMN)

As análises de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , foram realizadas em um equipamento da marca Bruker modelo Ascend™ 400 Avance III HD (9,2 Tesla) da RELAM localizado no IQ-UFU, operando em frequências de 400 e 100 MHz para os núcleos de hidrogênio e carbono, respectivamente. Como padrão interno foi utilizado TMS (δ 0,00) ou residual do solvente, a uma temperatura de 25 °C.

3.4. Metodologia experimental

3.4.1. Coleta do material vegetal e preparo do extrato etanólico das flores de *Senna spectabilis*.

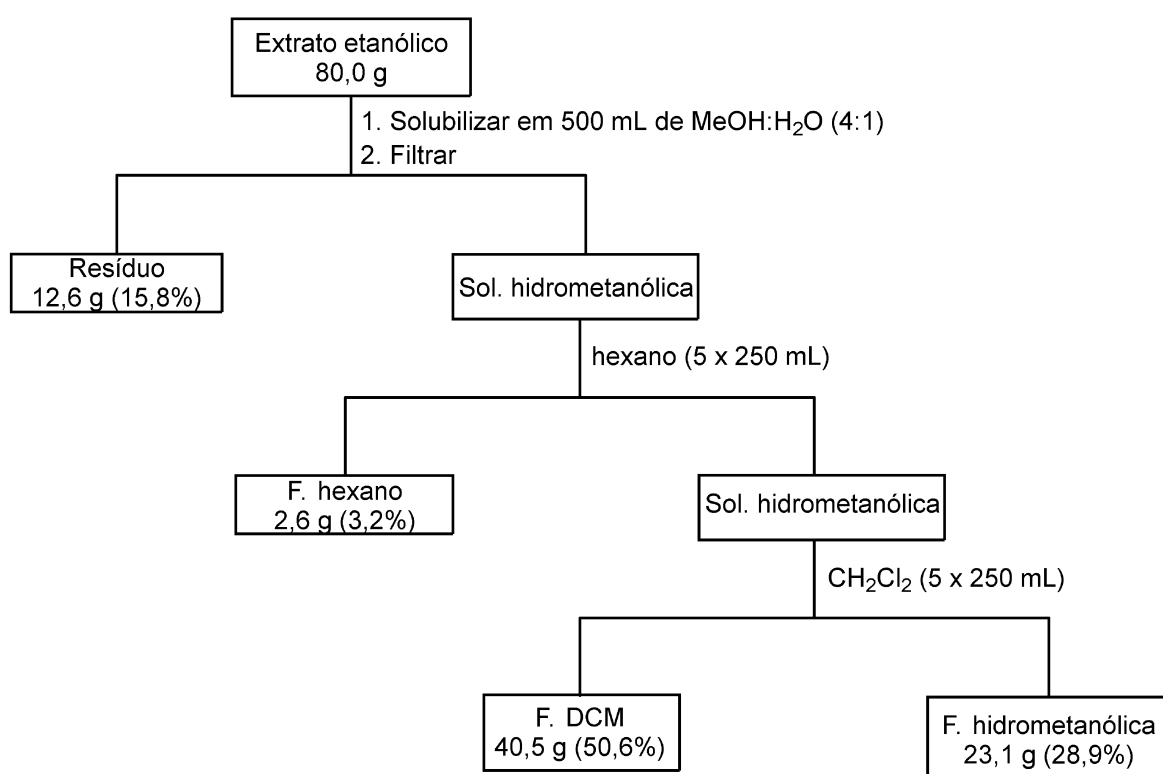
O extrato etanólico (1,9 kg) das flores de *Senna spectabilis* (EEF1-Ss) foi preparado previamente pelo Professor Dr. Marcos Pivatto a partir do material vegetal (35,8 kg), que após seco e triturado (7,9 kg) foi submetido à extração por maceração com etanol PA (5 × 35 L). O

solvente foi removido por destilação em evaporador rotativo a pressão reduzida, utilizando banho de aquecimento a 40 °C. As flores foram coletadas (fevereiro de 2009) no terminal rodoviário de Araraquara, sendo a exsicata (SP 384109) depositada no Instituto de Botânica de São Paulo (Pivatto, 2010).

3.4.2. Extração líquido-líquido do extrato etanólico.

Uma parte do EEFl-Ss (80,0 g) foi solubilizado em 500 mL de uma mistura MeOH/H₂O (4:1, v/v), filtrada e submetida à extração líquido-líquido com hexano (5 × 250 mL) e DCM (5 × 250 mL) (Figura 11). Os solventes foram removidos por destilação em evaporador rotativo a pressão reduzida, utilizando banho de aquecimento a 40 °C (Freitas, 2022). Parte da fração DCM (12,25 g) foi submetida à CC, denominada PIC1.

Figura 11 - Esquema da extração líquido-líquido do extrato etanólico das flores de *S. spectabilis*.



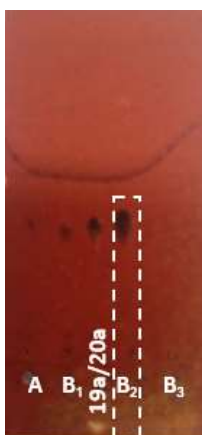
Fonte: Freitas (2022).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Avaliação qualitativa dos alcaloides presentes nas frações de *S. spectabilis* do extrato (EEFI-Ss).

Com o objetivo de selecionar a fração rica em alcaloides piperidínicos, para posterior isolamento dos metabólitos, as frações obtidas da extração líquido-líquido do extrato etanólico (item 3.4.2) foram submetidas à análise por CCD utilizando como fase estacionária (FE) sílica gel e como fase móvel (FM) uma mistura de CH_2Cl_2 :MeOH:NH₄OH (9:1:0,5). As cromatoplacas foram reveladas pela nebulização com solução de ICIPt, um revelador específico para alcaloides, que ao entrar em contato com o nitrogênio da estrutura dos alcaloides exibe uma macha marrom característica (Figura 12). Após avaliação das CCDs, foi possível compreender que os alcaloides estavam em maior concentração na fração de CH_2Cl_2 (12,25 g) devido a formação de manchas mais intensas na cromatoplaca.

Figura 12 - CCD das frações obtidas da extração líquido-líquido



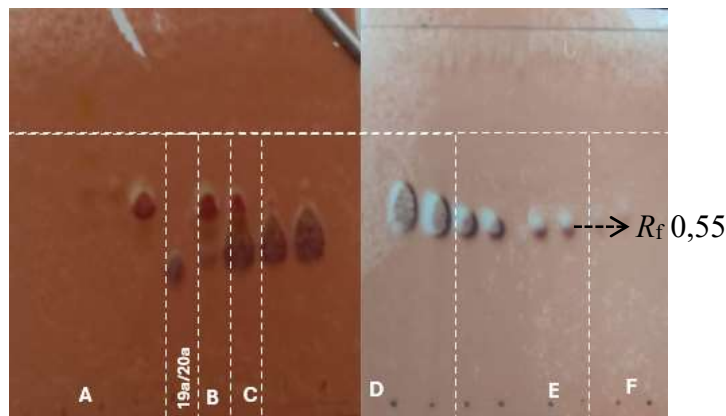
Nota: A: hexano; B₁: CH_2Cl_2 ; B₂: CH_2Cl_2 ; B₃: CH_2Cl_2 ; 19a/20a: Padrão cassina/espectralina.

Fonte: o autor.

A fração de CH_2Cl_2 (12,25 g) foi submetida à coluna cromatográfica (CC), nomeada PIC01, utilizando como FE sílica gel (63–200 μm) e como FM um gradiente de solventes que iniciou com hexano: CH_2Cl_2 :NH₄OH (10:0:0,25), passando por CH_2Cl_2 :EtOAc:NH₄OH (10:0:0,25) até EtOAc:MeOH:NH₄OH (0:10:0,25). As frações resultantes (83) foram analisadas por CCD, inspecionadas em câmara de UV (254 e 365 nm), reveladas com ICIPt e reagrupadas de acordo com a similaridade dos valores de R_f (Figura 13), de onde foram obtidas

as frações: PIC01-F₁₋₃₅ (486,5 mg), PIC01-F₃₆₋₃₇ (71,1 mg), PIC01-F₃₈₋₃₉ (83,7 mg), PIC01-F₄₀₋₅₇ (604,9 mg), PIC1-F₅₈₋₇₇ (7,2 g) e PIC1-F₇₈₋₈₃ (360,6 mg).

Figura 13 - CCD das frações obtidas da CC PIC01.



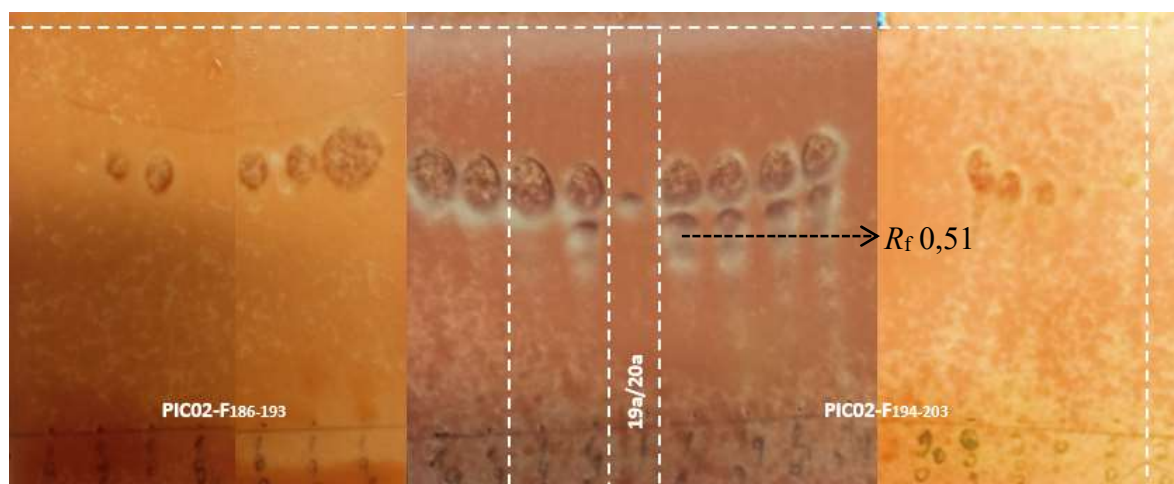
Nota: A: PIC01-F₁₋₃₅; B: PIC01-F₃₆₋₃₇; C: PIC01-F₃₈₋₃₉; D: PIC01-F₄₀₋₅₇; E: PIC01-F₅₈₋₇₇; F: PIC01-F₇₈₋₈₃; **19a/20a:** Padrão cassina/espectralina. **Condições:** FE: sílica, FM: CH₂Cl₂:MeOH:NH₄OH (9:1:0,25) e revelador ICIpt.

Fonte: o autor.

A fração reagrupada PIC01-F₅₈₋₇₇ foi analisada por CCD e apresentou uma mancha na cromatoplaça de R_f 0,55, mesmo valor observado para o padrão **19a/20a** (Figura 13), enquanto a fração PIC01-F₄₀₋₅₇ apresentou uma mancha com valor de R_f ligeiramente maior que o do padrão. Entretanto, não é possível afirmar que a fração está pura apenas pela análise da CCD. De acordo com Pivatto *et al.* (2005), **19a** e **20a** são pares homólogos e apresentam o mesmo valor de R_f nas análises por CCD, devido a diferença de apenas duas unidades de CH₂. Para confirmar a pureza são necessárias análises complementares por CLAE ou CG.

Desse modo, parte da fração PIC1-F₅₈₋₇₇ (1,57 g) foi submetida novamente a CC (104,0 g, 35,0 × 3,5 cm d.i.) utilizando sílica gel (63–200 µm) como FE e um gradiente de solventes de hexano:CH₂Cl₂→CH₂Cl₂:MeOH→MeOH, mantendo a proporção de 2,5% de NH₄OH, porém, agora com variações menores entre os volumes de FM, principalmente no intervalo entre 10:0:0,25 e 9:1:0,25 de CH₂Cl₂:MeOH:NH₄OH, visando a separação dos compostos mais polares que também são pares homólogos. Assim, as frações coletadas (250) foram analisadas por CCD, inspecionadas em câmara de UV (254 e 365 nm), reveladas com ICIpt e reagrupadas de acordo com a semelhança nos valores de R_f , de onde foram obtidas as frações alcaloídicas: PIC02-F₁₈₆₋₁₉₃ (218,5 mg) e PIC02-F₁₉₄₋₂₀₃ (949,5 mg) (Figura 14).

Figura 14 - CCD das frações alcaloídicas obtidas da CC PIC02.



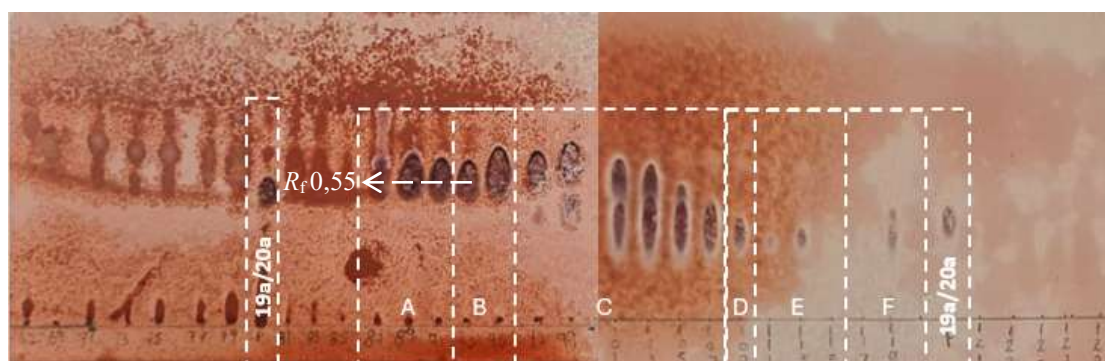
Nota: 19a/20a: Padrão cassina/espectralina. **Condições:** FE: sílica, FM: CH₂Cl₂:MeOH:NH₄OH (9:1:0,25) e revelador ICIPt.

Fonte: o autor.

Na análise da CCD, na fração PIC2-F₁₉₄₋₂₀₃ (949,5 mg), foi possível visualizar manchas na cromatoplaça com R_f semelhantes às dos alcaloides 19a/20a, assim como manchas de outro alcaloide com R_f 0,51, indicando a presença de compostos mais polares.

Para obter uma quantidade maior de massa dos alcaloides mais polares (R_f 0,51), foram repetidos os procedimentos cromatográficos a partir da fração PIC01-F₅₈₋₇₇ (5,63 g), de onde foram obtidos 2,33 g que nomeamos de PIC-F₁₉₄₋₂₀₃. Parte dessa massa (2,00 g) foi submetida à CC (150,30 g, 38 × 2,8 cm d.i.) utilizando como FE sílica *flash* (40–63 μm) e como FM um gradiente de solventes que iniciou em CH₂Cl₂:MeOH:NH₄OH (10:0:0,25), passando por CH₂Cl₂:MeOH:NH₄OH (0:10:0,25) e finalizando com 100% de MeOH. As frações coletadas (225) foram analisadas por CCD, inspecionadas em câmara de UV (254 e 365 nm), reveladas com ICIPt e reagrupadas de acordo com a semelhança nos valores de R_f , de onde foram obtidas as frações alcaloídicas: PIC03-F₈₇₋₉₂ (232,8 mg), PIC03-F₉₃₋₉₆ (460,0 mg), PIC03-F₉₇₋₁₀₇ (472,6 mg), PIC03-F₁₀₈₋₁₀₉ (55,1 mg), PIC03-F₁₁₀₋₁₁₆ (47,9 mg) e PIC03-F₁₁₇₋₁₂₀ (14,7 mg) (Figura 15).

Figura 15 - CCD das frações alcalóidicas obtidas da CC PIC03.



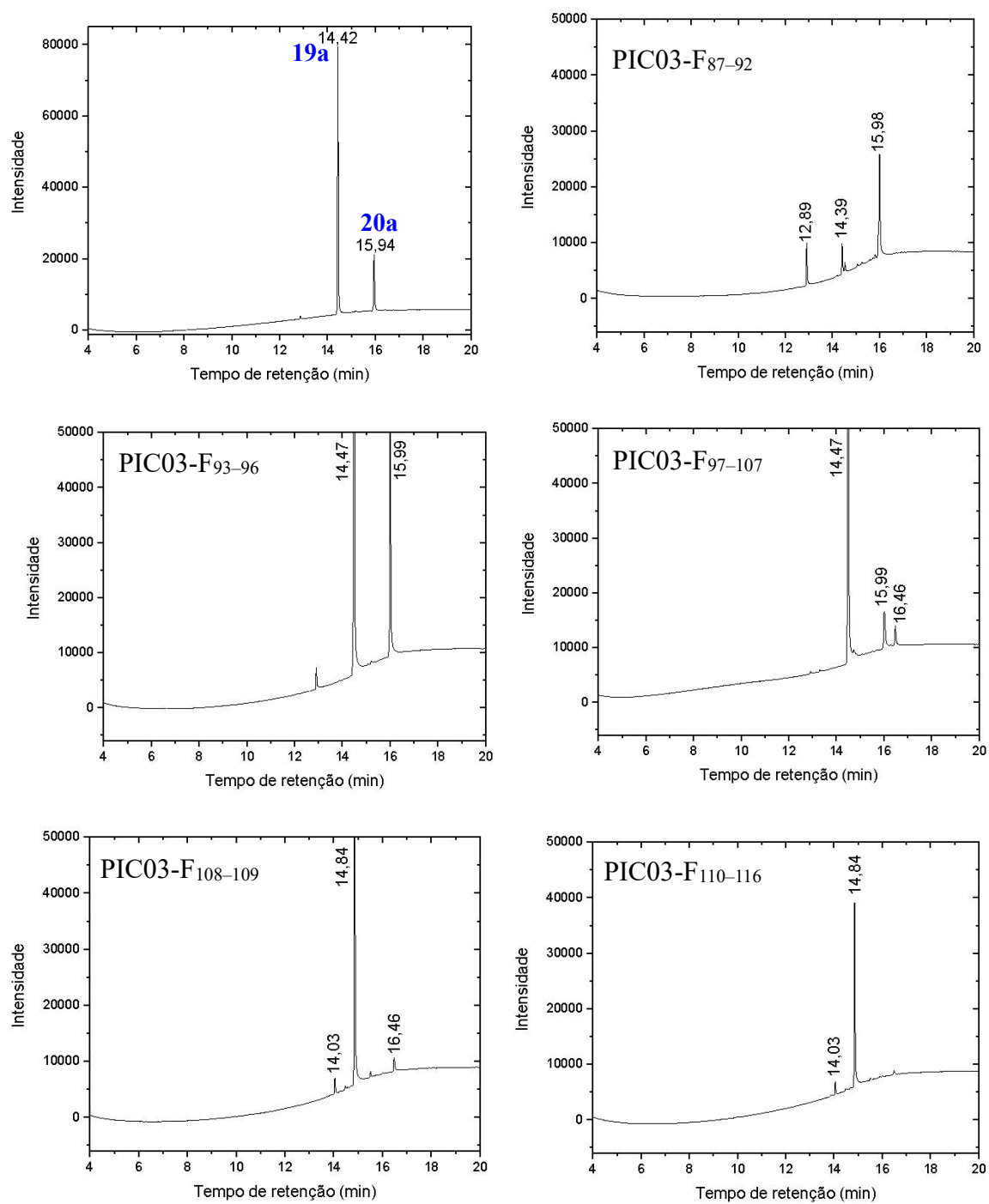
Nota: A: PIC03-F₈₇₋₉₂; B: PIC03-F₉₃₋₉₆; C: PIC03-F₉₇₋₁₀₇; D: PIC03-F₁₀₈₋₁₀₉; E: PIC03-F₁₁₀₋₁₁₆; F: PIC03-F₁₁₇₋₁₂₀, **19a/20a:** Padrão cassina/espectralina. **Condições:** FE: sílica, FM: CH₂Cl₂:MeOH:NH₄OH (9:1:0,25) e revelador IClPt.

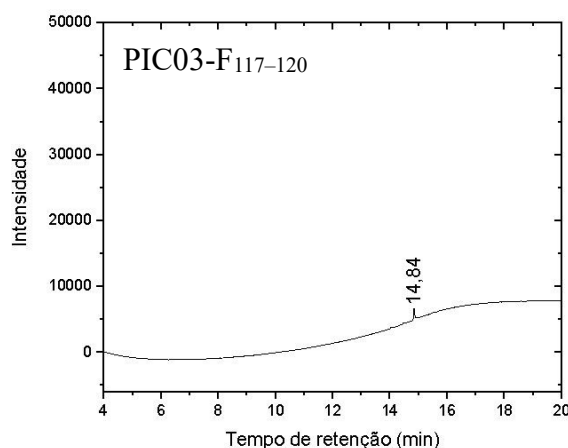
Fonte: o autor.

4.2. Avaliação cromatográfica por CG-DIC das frações alcalóidicas.

As frações alcalóidicas obtidas da CC PIC03 foram avaliadas por CG-DIC (Figura 16).

Figura 16 - CG-DIC das frações alcaloídicas obtidas da CC PIC03.





Nota: 19a/20a: Padrão cassina/espectralina. **Condições:** Gradiente de 100–280 °C (21,8 min), depois mantido a 280 °C (8 min); $C_{amostra} = 1,0$ mg/mL, Fluxo do gás (N_2) = 1,0 mL/min.

Fonte: o autor.

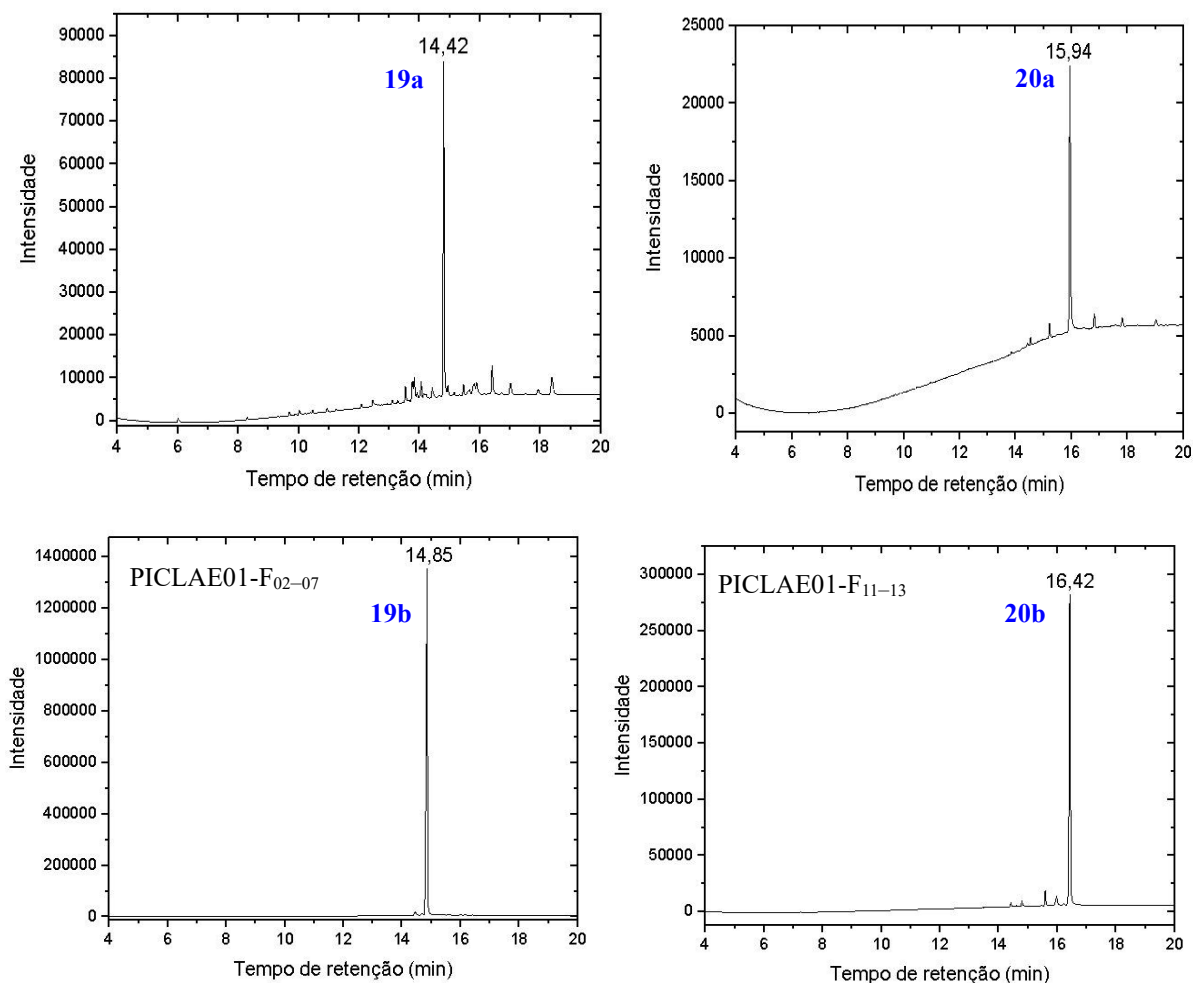
A fração PIC03-F_{93–96} apresenta uma única mancha na cromatoplaça, com R_f 0,55 (Figura 15), valor semelhante ao descrito por Pivatto *et al.* (2014), para os alcaloides (–)-cassina (**19a**) e (–)-espectralina (**20a**). A análise do padrão **19a/20a** e das frações PIC03-F_{87–92} e PIC03-F_{93–96} por CG-DIC, permitiu observar sinais com tempos de retenção de 14,5 e 16,0 min, indicando a presença dos compostos **19a** e **20a**, respectivamente (Figura 16). A análise da fração PIC03-F_{97–107} permitiu observar três sinais com t_R 14,5 (**19a**), 16,0 (**20a**) e 16,5 min, sendo o último referente a um alcaloide mais polar (R_f 0,51). Já a análise das frações PIC03-F_{108–109}, PIC03-F_{110–116} e PIC03-F_{117–120} permitiu observar um sinal intenso, que também foi atribuído a um alcaloide mais polar (R_f 0,51), sugerindo que é um par homólogo do composto com t_R 16,5 min (Figura 16). Vale destacar que esses alcaloides mais polares estão de acordo com o relatado por Freitas e colaboradores (2018).

4.3. Isolamento por CLAE dos alcaloides mais polares (R_f 0,51).

As frações PIC03-F_{108–109} (55,1 mg), PIC04-F_{110–116} (47,9 mg) e PIC03-F_{117–120} (14,7 mg) foram agrupadas e submetidas à análise por CLAE no modo semipreparativo, utilizando uma coluna Phenomenex® Luna C₁₈ (250,0 mm × 10,0 mm, 10 μm), e como sistema de solventes um gradiente de 5→100% (35 min) de MeOH–HOAc 0,1%. Em seguida foi mantido 100% de MeOH por 10 min, para limpeza da coluna, e na sequência para finalizar a análise foi feito um gradiente de 100→5% (5 min) de MeOH–HOAc 0,1%, para retornar à fase móvel inicial; $C = 100,0$ mg/mL, $V_{inj.} = 50,0$ μL, fluxo: 2,0 mL/min. Foram coletadas 30

frações, cujo solvente foi removido por destilação em rotaevaporador (temperatura do banho 40 °C), analisadas por CG-DIC e reagrupadas de acordo com a similaridade nos tempos de retenção. A análise dos padrões (**19a** e **20a**) permitiu observar que as frações PICLAE01-F₀₂₋₀₇ (12,2 mg, *t_R* 14,9 min) e PICLAE01-F₁₁₋₁₃ (17,8 mg, *t_R* 16,4 min) eram referentes aos alcaloides **19b** e **20b**, respectivamente, e estavam puras (Figura 17).

Figura 17 - CG-DIC das frações PICLAE01-F₀₂₋₀₇ (**19b**) e PICLAE01-F₁₁₋₁₃ (**20b**).



Nota: **19a:** Padrão cassina; **20a:** Padrão espectralina. **Condições:** Gradiente de 100–280 °C (21,8 min), depois mantido a 280 °C (8 min); $C_{amostra} = 1,0 \text{ mg.mL}^{-1}$, Fluxo do gás (N_2) = $1,0 \text{ mL.min}^{-1}$.

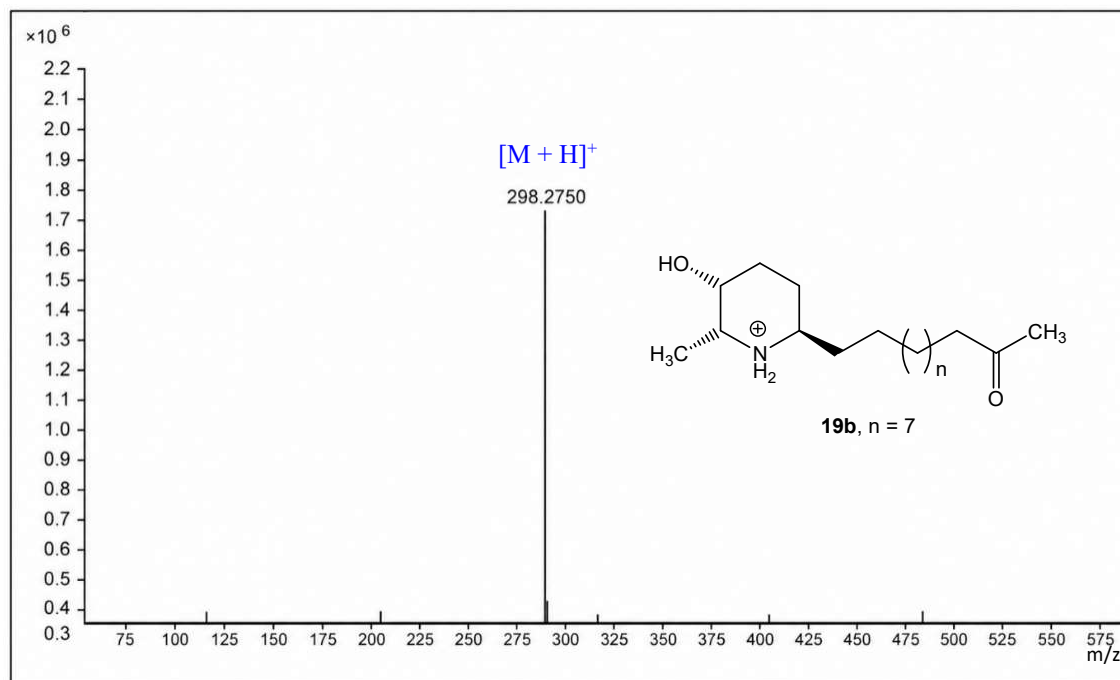
Fonte: o autor.

4.4. Caracterização do alcaloide 6-*iso*-cassina (**19b**).

A fração PICLAE01-F₀₂₋₀₇ foi analisada por CLAE-EM-IES no modo positivo. A análise do espectro de massas em alta resolução (Figura 18) permitiu estabelecer a fórmula molecular $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{NO}_2$, com índice de deficiência de hidrogênio igual a dois. O sinal referente

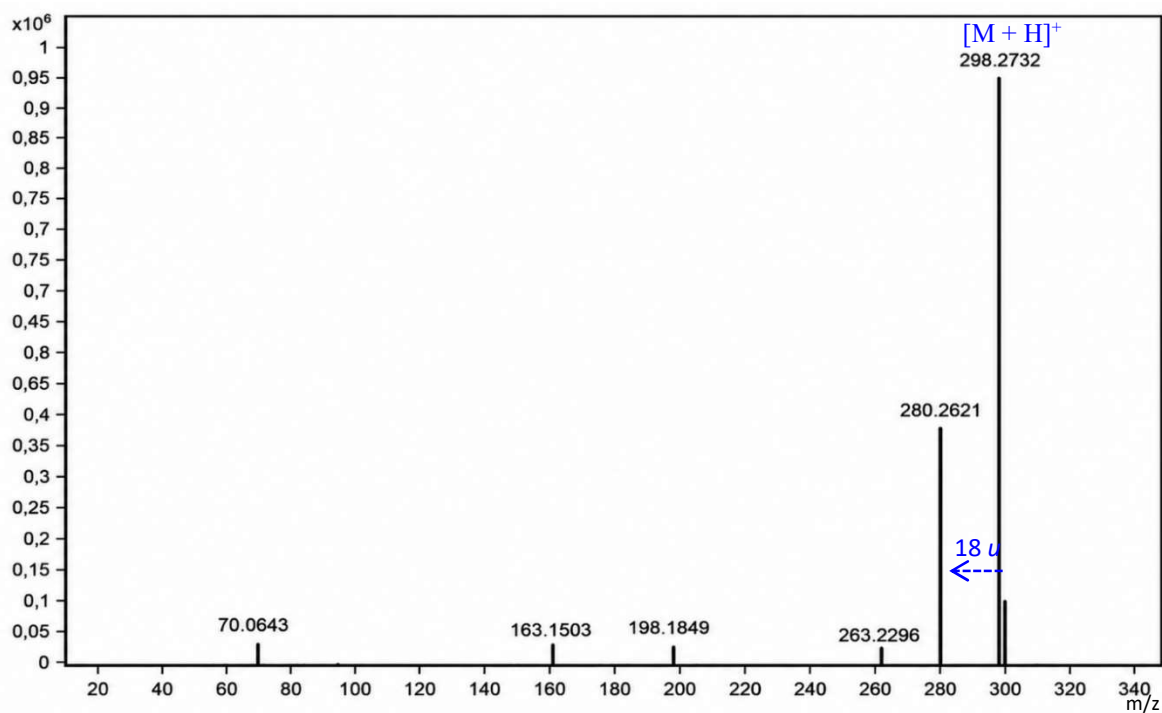
a molécula protonada foi observado em m/z 298,2750 $[M + H]^+$, calculado para $C_{18}H_{36}NO_2^+$, 298,2741 (Δ 3,0 ppm), que é condizente com a fórmula molecular do alcaloide **19b**.

Figura 18 - EM-IES-(+) em alta resolução do alcaloide **19b**.



Fonte: o autor.

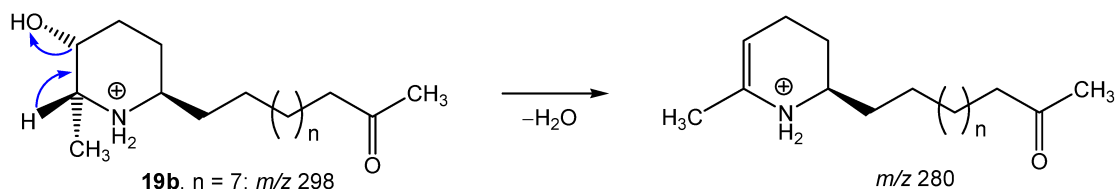
Figura 19 - EM/EM-IES-(+) do alcaloide **19b**.



Fonte: o autor.

A análise do espectro de EM/EM, obtido a partir da molécula protonada (m/z 298), permitiu observar o íon fragmento de m/z 280, cuja diferença foi atribuída à eliminação de água (18 u) e corrobora a proposta da estrutura **19b** (Figura 20).

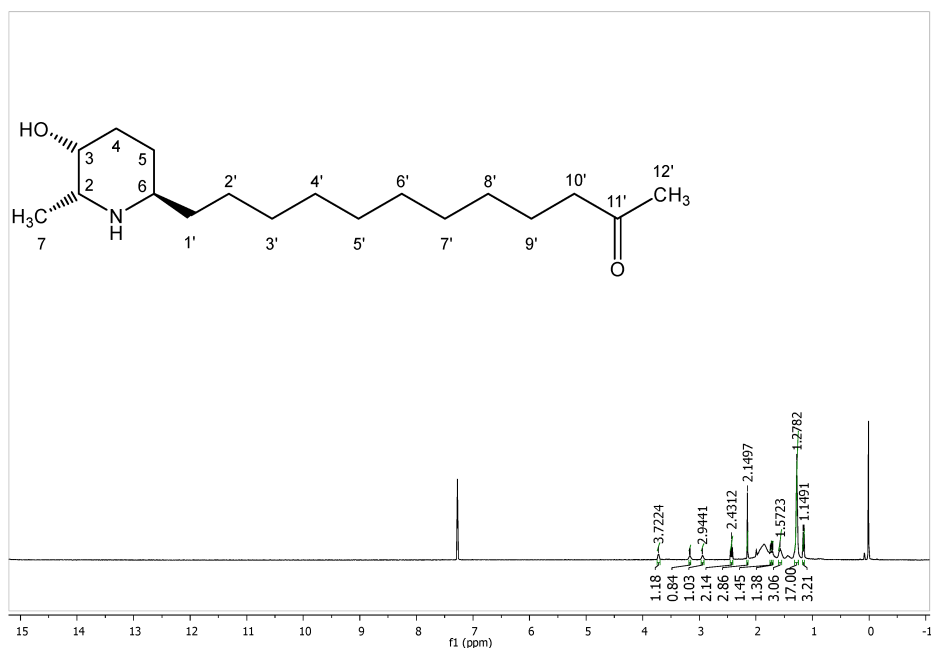
Figura 20 - Proposta de mecanismo para a eliminação de água de **19b**.



Fonte: o autor.

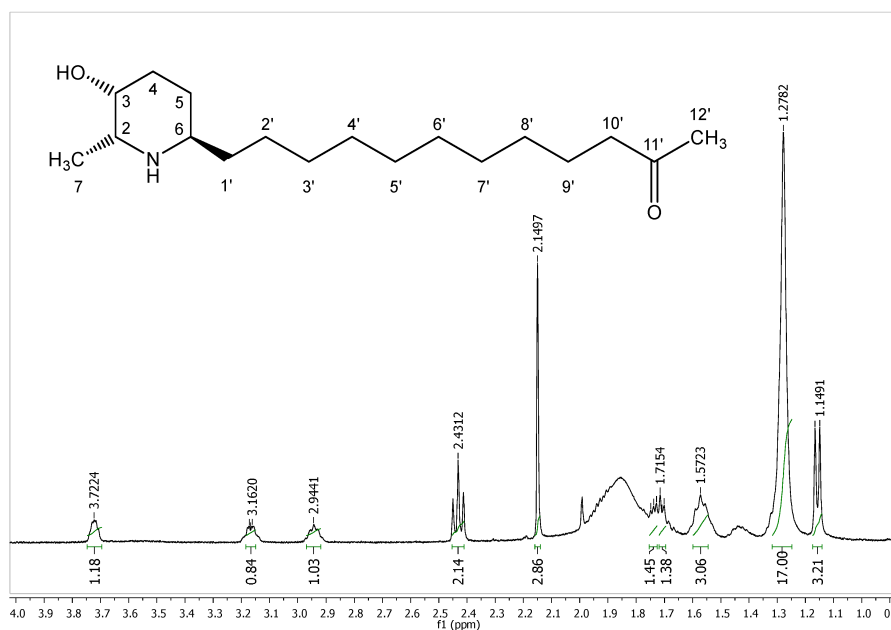
A análise do espectro de RMN ^1H (Figura 21) permitiu observar um singlete em δ 2,15 (3H) e um triplete em δ 2,43 (2H, $J=7,5$ Hz), que foram atribuídos aos H-12' e H-10', respectivamente. Além disso, também foi possível observar um duplete em δ 1,1 (3H, $J=6,6$ Hz, H-7), referente ao grupo metila ligado ao núcleo piperidínico, assim como os sinais em δ 3,17 (1H, m), 3,72 (1H, m), 1,71 (1H, m), 1,57 (1H, m), 1,57 (2H, m) e 2,94 (1H, m), que correspondem aos hidrogênios H-2, H-3, H-4a, H-4b, H-5a/H-5b e H-6, respectivamente. Estes dados corroboram a estrutura do alcaloide 6-*iso*-cassina (**19b**).

Figura 21 - Espectro de RMN de ^1H do alcaloide **19b** (400 MHz, CDCl_3).



Fonte: o autor.

Figura 22 - Ampliação do espectro 20 (δ 1,10–3,80) de **19b**.



Fonte: o autor.

Tabela 1 - Dados de RMN do alcaloide **19b**.

Posição	^1H $\delta_{\text{H}}^{\text{a}}$ mult. ^b (<i>J</i> em Hz)
2	3,16 m
3	3,72 m
4a	1,71 m
4b	1,57 m
5	1,27 m
6	2,94 m
7	1,1 d (6,6)
1'a	1,74 m
1'b	1,27 m
2'-8'	1,27 m
9'	1,57 m
10'	2,43 t (7,5)
11'	-
12'	2,15 s

Nota: ^aDeslocamentos químicos (δ) estabelecidos em relação ao padrão interno TMS (δ_{TMS} 0,00).

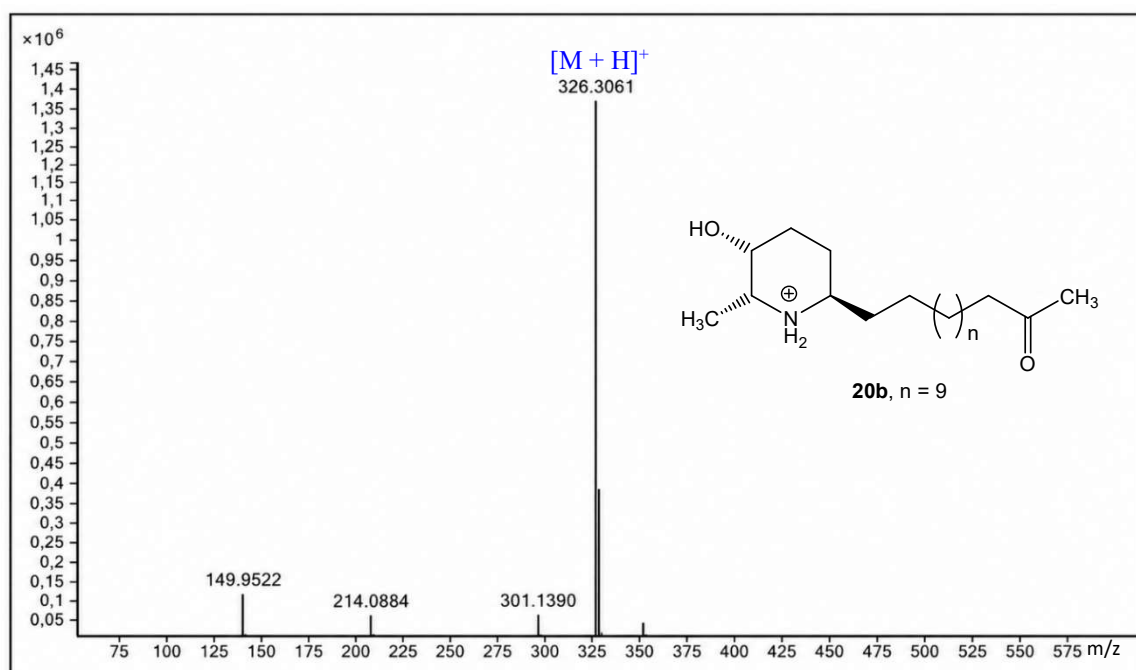
^bMultiplicidade: s (simpleto); d (duplete); t (triplete); m (multiplete).

Fonte: o autor.

4.5. Caracterização do alcaloide 6-*iso*-espectralina (**20b**).

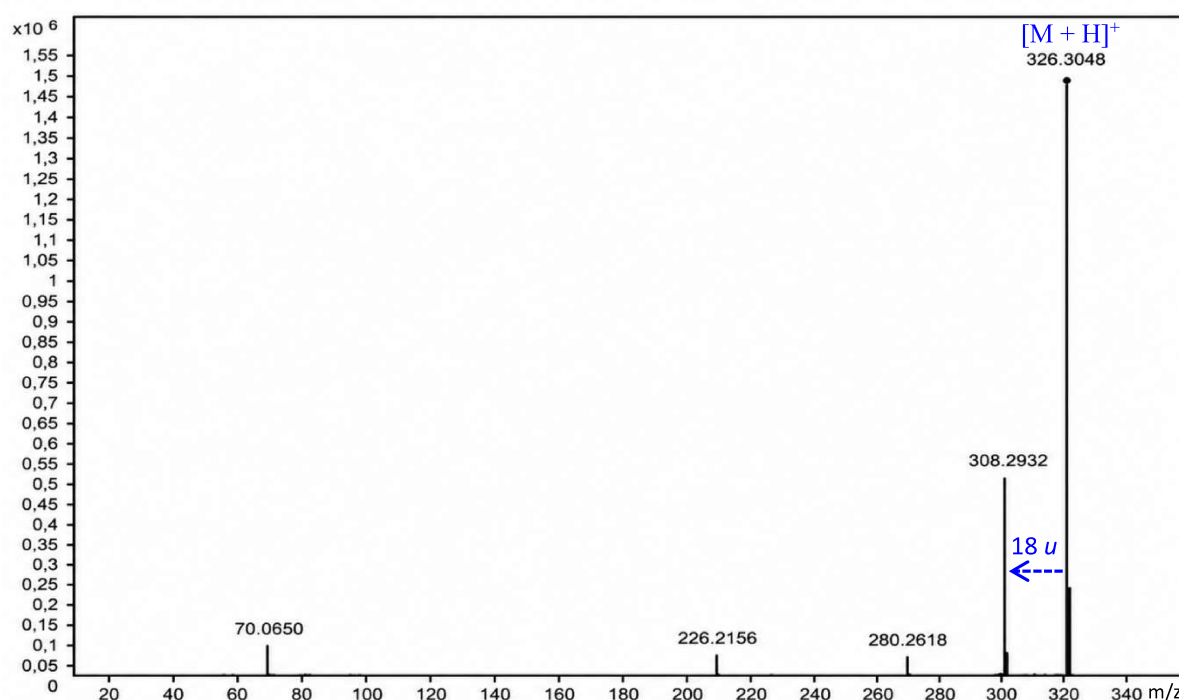
A PICLAE01-F₁₁₋₁₃ foi analisada por CLAE-EM-IES no modo positivo. A análise do espectro de massas em alta resolução (Figura 23) permitiu estabelecer a fórmula molecular C₂₀H₃₉NO₂, com índice de deficiência de hidrogênio igual a dois. O sinal referente a molécula protonada foi observado em m/z 326,3061 [M + H]⁺, calculado para C₂₀H₄₀NO₂⁺, 326,3054 (Δ 2,2 ppm), que é condizente com a fórmula molecular do alcaloide **20b**.

Figura 23 - EM-IES-(+) em alta resolução do alcaloide **20b**.



Fonte: o autor.

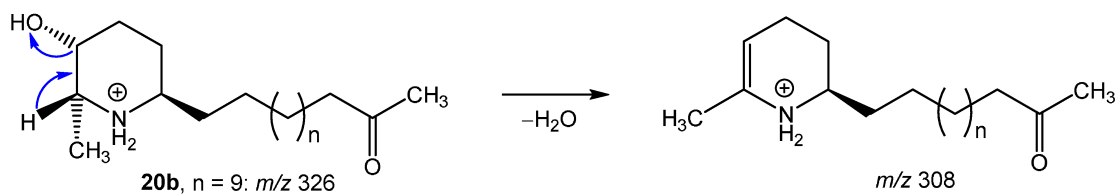
Figura 24 - EM/EM-IES-(+) do alcaloide **20b**.



Fonte: o autor.

A análise do espectro de EM/EM, obtido a partir da molécula protonada (m/z 298), permitiu observar o íon fragmento de m/z 308, cuja diferença (18 u) foi atribuído à eliminação de água (18 u) e corrobora a proposta da estrutura 6-*iso*-espectralina (**20b**), como sendo um homólogo de **19b**, uma vez que apresenta mesmo padrão de fragmentação (Figura 25).

Figura 25 - Proposta de mecanismo para a eliminação de água de **20b**.



Fonte: o autor.

5. CONCLUSÃO

Senna spectabilis provou ser uma importante fonte de alcaloides piperidínicos, de onde foram isolados a 6-*iso*-cassina (**19b**) e 6-*iso*-espectralina (**20b**). O isolamento desses metabólitos foi viabilizado pelo emprego de diferentes técnicas cromatográficas, incluindo a CC, a CCD, a CLAE e a CG, que foram fundamentais para obtenção dos compostos em quantidade e grau de pureza suficientes para a caracterização estrutural.

O processo de separação e purificação desses compostos foi uma tarefa desafiadora em razão da pequena diferença estrutural entre eles, duas unidades de CH₂, além da baixa concentração na matriz vegetal, que influenciou nas quantidades reduzidas de massas dos compostos **19b** e **20b**.

Em relação a identificação dos compostos, a EM-(+) em alta resolução, permitiu determinar a fórmula molecular e os espectros de massas sequências (EM/EM), onde foram observados os íons fragmentos, permitiram observar padrões de fragmentação que auxiliaram na identificação estrutural dos compostos **19b** e **20b**. Adicionalmente, a análise do espectro de RMN ¹H de **19b** permitiu observar sinais característicos desse alcaloide, corroborando com os dados encontrados na literatura.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, U. P.; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 678–689, 2006.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-695x2006000500015>.

ALVES, A. B.; BRAGAGNOLO, N. Determinação simultânea de teobromina, teofilina e cafeína em chás por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 2, p. 237–243, 2002.

DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-93322002000200013>.

ÁLVAREZ, J. L.; VASSORT, G. Cardiac cellular actions of quebrachidine, an indole alkaloid isolated from *Rauwolfia viridis* Roem et Schult. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 15, n. 3, 2010.

BARBOSA, J. C.; BARBIERI, H. B.; FILL, T. P.; CRNKOVIC, C. M. Avanços em técnicas ômicas na descoberta e no estudo de produtos naturais. **Química Nova**, v. 48, n. 6, 2025.

DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20250190>.

BUENO, M. L.; OLIVEIRA-FILHO, A. T.; PANTARA, V.; POTT, A.; ALVES DAMASCENO-JUNIOR, G. Flora arbórea do Cerrado de Mato Grosso do Sul Iheringia, **Série Botânica**, v. 73, p. 53–64, 2018.

DOI: <https://doi.org/10.21826/2446-8231201873s53>.

CALIXTO, C. M. F.; CAVALHEIRO, É. T. G. Penicilina: efeito do acaso e momento histórico no desenvolvimento científico. **Química Nova na Escola**, v. 34, n. 3, p. 118–123, 2012. DOI: https://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc34_3/03-QS-92-11.pdf.

CAVENEY, S.; CHARLET, D.A.; FREITAG, H.; MAIER-STOLTE, M.; STARRATT, A.N. Novas observações sobre a química secundária da *Ephedra* mundial (Ephedraceae). **American Journal of Botany**, v. 88, p. 1199–1208, 2001.

DOI: <https://doi.org/10.2307/3558330>.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. SNADER, K. M. The influence of natural products upon drug discovery. **Natural Product Reports**, v. 17, p. 215–234, 2000.

DOI: <https://doi.org/10.1039/A902202C>.

ERB, M.; KLIEBENSTEIN D. J. Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy. **Plant physiology**, v. 184, p. 39–52, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.20.00433>

CECHINEL FILHO, V.; ZANCHETT, C. C. C. **Fitoterapia avançada: uma abordagem química, biológica e nutricional**. Porto Alegre: Artmed Editora, 2020. 216 p.

FIAMONCINI, J.; DEMARQUE, D. P.; CRNKOVIC, C. M. **Fitoquímicos em alimentos, fármacos e medicamentos**. Santana de Parnaíba: Manole, 2023. 326 p.

FIRMO, W. C. A.; MENEZES, V. J. M.; PASSOS, C. E. C.; DIAS, C. N.; ALVES, L. P. L.; DIAS, I. C. L.; NETO, M. S.; OLEA, R. S. G. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. **Cadernos de Pesquisa**, São Luís, v. 18, p. 90–95, 2011. Disponível em: <https://periodicoseletronicos.ufma.br/index.php/cadernosdepesquisa/article/view/746>.

FREITAS, T. R.; DANUELLO, A.; VIEGAS JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; PIVATTO, M. Mass spectrometry for characterization of homologous piperidine alkaloids and their activity as acetylcholinesterase inhibitors. **Rapid Communication in Mass Spectrometry**, v. 32, p. 1303–1310, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/rcm.8172>.

HARMAND, S.; LEWIS, J.; FEIBEL, C. 3.3-million-year-old stone tools from Lomekwi 3, West Turkana, Kenya. **Nature**, v. 521, p. 310–315, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature14464>.

HENRIQUE, M. C.; NUNOMURA, S. M.; POHLIT, A. M. Alcaloides indólicos de cascas de *Aspidosperma vargasii* e *A. desmanthum*. **Química Nova**, v. 33, p. 284–287, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000200010>.

KATZ, E.; NISANI, S.; YADAV, B. S.; WOLDEMARIAM, M. G.; SHAI, B.; OBOLSKI, U.; EHRLICH, M.; SHANI, E.; JANDER, G. CHAMOVITZ, D. A. The glucosinolate breakdown product indole-3-carbinol acts as an auxin antagonist in roots of *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Journal**, v. 82, p. 547–555, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.12824>.

KHOKON, M.A.R.; OKUMA, E.; HOSSAIN, M.A.; MUNEMASA, S.; URAJI, M.; NAKAMURA, Y.; MORI, I.C.; MURATA, Y. Involvement of extracellular oxidative burst in salicylic acid-induced stomatal closure in *Arabidopsis*. **Plant, Cell & Environment**, v. 34, p. 434–443, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02253>.

KURSINSZKI L.; LUDÁNYI K.; SZOKE É. LC-DAD and LC-MS-MS analysis of piperidine alkaloids of *Lobelia inflata* L. (in vitro and in vivo). **Chromatographia**, v. 68, p. 27–33, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1365/s10337-008-0628-0>.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2002. v. 1, p. 184.

MALHEIROS, R. A influência da sazonalidade na dinâmica da vida no bioma Cerrado. **Revista Brasileira de Climatologia**, v. 19, p. 113–128, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5380/abclima.v19i0.48876>.

MARQUES, J. P.; LOPES, G. C. Alcaloides como agentes antitumorais: considerações químicas e biológicas. **Uningá Review**, v. 24, n. 1, p. 56–61, 2015.

MONTEIRO, S. C.; BRANDELLI, C. L. C. **Farmacobotânica: Aspectos Teóricos e Aplicação**. Porto Alegre: Artmed, 2017, p. 1–65.

NKANTCHOUA, G. C. N.; NJAPDOUNKE, J. S. K.; FIFEN, J. J.; SOTOINGTAIWE, G.; OJONG, L. J.; KANDEDA, A. K.; BUM, E. N. Anticonvulsant effects of *Senna spectabilis*

on seizures induced by chemicals and maximal electroshock. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 212, p. 18–28, 2018.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2017.09.042>.

NOGUEIRA, L. J.; MONTANARI, C. A.; DONNICCI, C. L. Histórico da evolução da química medicinal e a importância da lipofilia: de Hipócrates e Galeno a Paracelsus e as contribuições de Overton e de Hansch. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, p. 227–240, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/10.5935/1984-6835.20090023>.

PINTO, N. C. C.; SILVA, J. B.; MENEGATI, L. M.; GUEDES, M. C. M. R.; MARQUES, L. B.; SILVA, T. P.; DE MELLO, R. C. N.; SOUZA-FAGUNDES, E. M.; SALVADOR, M. J.; SCIO, E.; FABRI, R. L. Cytotoxicity and bacterial membrane destabilization induced by *Annona squamosa* L. extracts. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 3, p. 2053–2073, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720150702>.

PIVATTO, M.; CROTTI, A. E. M.; LOPES, N. P.; CASTRO-GAMBOA, I.; REZENDE, A.; VIEGAS JUNIOR, C.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M.; BOLZANI, V. S. Electrospray ionization mass spectrometry screening of piperidine alkaloids from *Senna spectabilis* (Fabaceae) extracts: fast identification of new constituents and co-metabolites. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6, p. 1431–1438, 2005.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-50532005000800023>.

PIVATTO, M.; BACCINI, L. R.; SHARMA, A.; NAKABASHI, M.; DANUELLO, A.; VIEGAS JUNIOR, C.; GARCIA, C. R. S.; BOLZANI, V. S. Antimalarial activity of piperidine alkaloids from *Senna spectabilis* and semisynthetic derivatives. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 10, p. 1900–1906, 2014.
DOI: <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20140195>.

POTT D. M.; OSORIO S.; VALLARINO J. G. From central to specialized metabolism: an overview of some secondary compounds derived from the primary metabolism for their role in conferring nutritional and organoleptic characteristics to fruit. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 835, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00835>.

RIBEIRO, P. H. S.; SANTOS, M. L.; CAMARA, C. A. G.; BORN, F. S.; FAGG, C. W. Seasonal chemical compositions of the essential oils of *Twoeugenia* species and their acaricidal properties. **Química Nova**, v. 39, n. 1, p. 38–43, 2016.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20150161>.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. **Cerrado: ecologia e flora**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; Planaltina. v. 1, p. 151–212, 2008.

ROSA, C.; CÂMARA, S. G.; BÉRIA, J. U. Representações e intenção de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 1, p. 311–318, 2011.
DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-81232011000100033>.

SELEGATO, D. M.; MONTEIRO, A. F.; VIEIRA, N. C.; CARDOSO, P.; PAVANI, V. D.; BOLZANI, V. S.; GAMBOA, I. C. Update: biological and chemical aspects of *Senna spectabilis*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 28, n. 3, p. 415–426, 2017.

DOI: <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20160322>.

SHARMA, H.; KUMAR, A. Ethnobotanical studies on medicinal plants of Rajasthan (India): A review. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 57, n. 5, p. 1107–1112, 2011.

SILVA, F. O.; SILVA, M. G.; FENG, D.; FREITAS, R. M. Evaluation of central nervous system effects of *iso*-6-cassine isolated from *Senna spectabilis* var. *excelsa* (Schrad) in mice. **Fitoterapia**, v. 82, n. 2, p. 255–259, 2011.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2010.10.007>.

VALLARINO J. G.; DE ABREU E LIMA F.; SORIA C.; TONG H.; POTT D. M.; WILLMITZER L.; FERNIE A. R.; NIKOLOSKI Z.; OSORIO S. Genetic diversity of strawberry germplasm using metabolomic biomarkers. **Scientific Reports**. v. 8, p. 1–13, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32212-9>.

VIEGAS JUNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; FURLAN, M.; MANSSOUR FRAGA, C. A.; BARREIRO, E. J. Produtos naturais como candidatos a fármacos úteis no tratamento do mal de Alzheimer. **Química Nova**, v. 27, p. 655–660, 2004.

DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000400021>.

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

DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200025>.

ZIEGLER J.; FACCHINI, P. J. Alkaloid biosynthesis: metabolism and trafficking. **Annual Review of Plant Biology**, v. 59, p. 735–769, 2008.

DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092730>.