

Campus Realengo

Curso de Graduação em Farmácia

Diego da Costa Moreira Barbosa

**Isolamento e determinação estrutural
de alcaloides quinolônicos de
Melochia spicata L.:
uma contribuição à
quimiossistemática da tribo
Hermannieae (Malvaceae)**

Rio de Janeiro

2021

DIEGO DA COSTA MOREIRA BARBOSA

ISOLAMENTO E DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE
ALCALOIDES QUINOLÔNICOS DE *Melochia spicata* L.:

UMA CONTRIBUIÇÃO À QUIMIOSSISTEMÁTICA DA TRIBO
HERMANNIEAE (MALVACEAE)

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia do Rio
de Janeiro como requisito parcial para a
obtenção do grau de Bacharel em
Farmácia.

Orientador: Prof. Dr Murilo Marinho de
Castro Lima

Rio de Janeiro

2021

DIEGO DA COSTA MOREIRA BARBOSA

ISOLAMENTO E DETERMINAÇÃO ESTRUTURAL DE
ALCALOIDES QUINOLÔNICOS DE *Melochia spicata* L.:

UMA CONTRIBUIÇÃO À QUIMIOSSISTEMÁTICA DA TRIBO
HERMANNIEAE (MALVACEAE)

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia do Rio
de Janeiro como requisito parcial para a
obtenção do grau de Bacharel em
Farmácia.

Aprovado em 19 de maio de 2021.

Banca Examinadora



Prof. Dsc. Murilo Marinho de Castro Lima – (Orientador)
Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ)



Prof. Dsc. Anne Caroline Cândido Gomes – (Membro Interno)
Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ)



Prof. Dsc. Eduardo Costa Pinto – (Membro Interno)
Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ)

Dedico esse trabalho aos meus pais, Célia e Mauro; à minha família; aos meus amigos; aos colegas de graduação; aos meus professores e demais profissionais que me ajudaram nessa jornada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus! Graças às bênçãos que Ele me proporcionou, pude seguir e concretizar esse sonho e tenho certeza que Ele continuará me abençoando nos próximos desafios que a vida reservou para mim!

Agradeço demais à minha mãe, Célia, e meu pai, Mauro, por tudo que fizeram e fazem por mim. Por todo amor, carinho, apoio, confiança, educação e valores que me passaram! Tenho certeza que foram fundamentais para eu me tornar o homem que sou hoje. Sou eternamente grato a eles! Não poderia ter pais melhores. Amo demais vocês! Compartilho essa e todas as outras conquistas com vocês!

Agradeço também aos meus tios e primos que foram muito importantes nessa jornada, me apoiando e me proporcionando momentos únicos que me ajudaram bastante! Aos meus avós, Cleusa e Manoel, que estiveram comigo no início da graduação, mas que infelizmente não estão mais aqui na Terra para ver o final desse sonho. No entanto, tenho certeza que estão lá no céu comemorando essa conquista! Amo todos vocês!

Agradeço aos meus colegas de graduação, que dividiram apertos e êxitos comigo nesses anos de graduação. Agradeço especialmente aos grandes amigos que fiz na graduação: Hoffgan Félix, Juliane Falcão, Dinah Possidonio, Camila Tintel, Bruna Soares, Alice Cabral, Tarcio de Oliveira, Vanessa Santos e Marina Macedo. Todos muito importantes em diversos momentos da minha vida, acadêmicos ou não, nesses anos. Vocês têm um lugar especial guardado no meu coração!

Agradeço ao meu orientador, Murilo, pelos aprendizados dentro de sala de aula e com isso ter me influenciado positivamente a amar Química Orgânica; e pela ajuda para escrever esse trabalho. Como o senhor diz: “A Química é linda! ”. E graças ao senhor tive certeza disso. Agradeço também a todos os professores que auxiliaram na minha formação acadêmica. Sem dúvidas o IFRJ tem um corpo docente maravilhoso e muito competente!

Dentre esses professores incríveis que tive no IFRJ, tenho que agradecer especialmente a professora Roberta Niquini, que foi a primeira a abrir as portas para mim dentro da área de pesquisa. Com ela, pude apresentar meu primeiro congresso, fazer parte da Fiocruz e conseguir diversas experiências acadêmicas que levarei para o resto de minha vida. Uma excelente profissional. Verdadeiro exemplo para mim. E acima de tudo uma pessoa com um coração enorme e bondoso!

Agradeço também a todos os profissionais que pude ter contato nos locais de estágio por onde passei. Tive o privilégio de poder encontrar não só ótimos profissionais, que passaram seus conhecimentos sobre as áreas de atuação, mas também ótimas pessoas que pude fazer amizades que levarei no coração!

Enfim, só tenho gratidão! A todos citados nesse texto, meu muito obrigado! E que venham mais desafios e sonhos a serem realizados!

“Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação, conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre

humildes, recatados e despidos de
orgulho. ”

Dalai Lama

RESUMO

As plantas medicinais são aquelas que sintetizam substâncias que possam ser usadas como medicamento de forma direta ou indireta. Esses compostos são os chamados metabólitos secundários e entre eles estão os alcaloides. Uma classe deles, os alcaloides 4-quinolônicos, chama atenção por possuírem atividades biológicas interessantes. Entre algumas plantas que sintetizam esses alcaloides, destaca-se as do gênero *Melochia*, típicas de regiões de clima tropical, podendo ocorrer também em clima temperado. No Brasil, são naturais da Caatinga. Plantas desse gênero têm sido usadas na medicina tradicional para tratamento de doenças do trato respiratório e até para tratamento de tumores. Uma planta desse gênero, a *Melochia spicata*, foi a escolhida para estudo do trabalho. Folhas dessa planta passaram pelo processo de moagem, maceração, filtração e concentração em rotaevaporador, formando o extrato etanólico bruto da planta (MFE). Esse passou por partição líquido-líquido e a fase diclorometano (MFD) foi usada para estudo. Essa foi purificada em cromatografia em coluna de sílica-gel e as frações analisadas por meio da cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando como revelador a luz UV. Os compostos isolados foram identificados com análise de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , espectrometria de massas e comparação com dados da literatura. Como resultado da análise das quatro subfrações estudadas, foram identificados os alcaloides quinolônicos: waltheriona C, 10-hidróxi-waltheriona C, 2-metil-hidróxi-waltheriona C e poliasanina B.

Palavras-chave: *Melochia spicata*. Alcalóides quinolônicos. Ressonância Magnética Nuclear (RMN). Farmacognosia.

ABSTRACT

Medicinal plants are those that synthesize substances that can be used as medicine directly or indirectly. These compounds are called secondary metabolites and among them are alkaloids. A class of them, quinoline alkaloids, draws attention because they have interesting biological activities. Among some plants that synthesize these alkaloids, it stands out as of the *Melochia* genus, typical of tropical regions, which can also occur in temperate climate. In Brazil, they are native to the Caatinga. Plants of this genus have been used in traditional medicine to treat diseases of the respiratory tract and even to treat tumors. A plant of this genus, *Melochia spicata*, was chosen to study the work. Leaves of this plant went through the process of grinding, maceration, filtration and concentration in a rotary evaporator, forming the crude ethanoic extract of the plant (MFE). This passed through a liquid-liquid partition and a dichloromethane (MFD) phase was used for the study. This was purified by silica gel column chromatography and as fractions analyzed using thin-layer chromatography (TLC), using UV light as a developer. The compounds were identified with analysis of the ¹H and ¹³C Nuclear Magnetic Resonance (NMR), mass spectrometry and comparison with literature data. As a result of the analysis of the four subfractions studied, quinoline alkaloids were identified: waltherione C, 10-hydroxywaltherione C, 2-hydroxymethylwaltherione C and paliasanine B.

Keywords: *Melochia spicata*. Quinolonic alkaloids. Nuclear Magnetic Resonance (NMR). Pharmacognosy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - <i>Melochia spicata</i>	17
FIGURA 2 - NÚCLEO ESTRUTURAL DE UM ALCALOIDE QUINOLÔNICO...19	
FIGURA 3 - FORMAÇÃO DO NÚCLEO 4-QUINOLONA VIA ANTRANIL-COA E MALONIL-COA.....20	
FIGURA 4 - BIODIVERSIDADE DA ANTIDESMONA.....21	
FIGURA 5 - ESTRUTURAS DOS ALCALOIDES 4-QUINOLÔNICOS 1 A 7.....22	
FIGURA 6 - ESTRUTURAS DOS COMPOSTOS IDENTIFICADOS POR CRETTON E COLABORADORES (CRETTON <i>et al.</i> , 2014; CRETTON <i>et al.</i> , 2016).).....25	
FIGURA 7 - ORGANOGRAMA DAS FRAÇÕES EXTRAÍDAS DAS FOLHAS DE <i>Melochia spicata</i>29	
FIGURA 8 - ESTRUTURA DA WALTHERIONA C.....31	
FIGURA 9 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DA SUBFRAÇÃO MFD-8A (CDCl ₃ ; 400MHz).....32	
FIGURA 10 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DA SUBFRAÇÃO MFD-8A AMPLIADO (δ 6,4-8,3 ppm).....32	
FIGURA 11 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DA SUBFRAÇÃO MFD-8A AMPLIADO (δ 6,95-7,65 ppm).....33	
FIGURA 12 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DA SUBFRAÇÃO MFD-8A AMPLIADO (δ 1,0-4,0 ppm).....33	
FIGURA 13 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H DA SUBFRAÇÃO MFD-8A AMPLIADO (δ 0,9-2,2 ppm).....34	
FIGURA 14 - ESPECTRO DE RMN DE ¹³ C DA SUBFRAÇÃO MFD-8A (CDCl ₃ ; 400MHz)34	
FIGURA 15 - ESTRUTURA DA 10-HIDRÓXI-WALTHERIONA C.....38	

FIGURA 16 - COMPARAÇÃO ENTRE AS ESTRUTURAS DA 10-HIDRÓXI-WALTHERIONA C E WALTHERIONA C, COM OS RESPECTIVOS DADOS DE RMN DE ^1H E ^{13}C	38
FIGURA 17 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA SUBFRAÇÃO MFD-8B (DMSO- d_6 ; 400MHz).....	40
FIGURA 18 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA SUBFRAÇÃO MFD-8B AMPLIADO (δ 7,25-7,80 ppm).....	40
FIGURA 19 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA SUBFRAÇÃO MFD-8B AMPLIADO (δ 4,0-6,1 ppm).....	41
FIGURA 20 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA SUBFRAÇÃO MFD-8B AMPLIADO (δ 0,0-4,0 ppm).....	41
FIGURA 21 - ESPECTRO DE HSQC DA SUBFRAÇÃO MFD-8B (DMSO- d_6 ; 400/100 MHz, $^1\text{H}/^{13}\text{C}$).....	42
FIGURA 22 - ESPECTRO DE HMBC DA SUBFRAÇÃO MFD-8B (DMSO- d_6 ; 400/100 MHz, $^1\text{H}/^{13}\text{C}$).....	42
FIGURA 23 - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C (BB) DA SUBFRAÇÃO MFD-8B (MeOD; 100 MHz).....	43
FIGURA 24 - ESPECTRO DE MASSA DA SUBFRAÇÃO MFD-8B (ESI, MODO POSITIVO).....	43
FIGURA 25 - ESTRUTURA DA 2-HIDRÓXI-METIL-WALTHERIONA C.....	45
FIGURA 26 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA SUBFRAÇÃO MFD-8C (400 MHz; MeOD).....	47
FIGURA 27 - ESPECTRO DE HSQC DA SUBFRAÇÃO MFD-8C (MeOD; 400/100 MHz, $^1\text{H}/^{13}\text{C}$).....	47
FIGURA 28 - ESPECTRO DE COSY [^1H x ^1H] DA SUBFRAÇÃO MFD-8C (400 MHz; MeOD).....	48
FIGURA 29 - ESPECTRO DE MASSAS DE ALTA RESOLUÇÃO DA SUBFRAÇÃO MFD-8C (TOF, MODO POSITIVO).....	48
FIGURA 30 - ESTRUTURA DA POLIASANINA B.....	50
FIGURA 31 - ESPECTRO DE RMN ^1H DA SUBFRAÇÃO MFD-8D (CDCl_3 ; 400 MHz).....	51
FIGURA 32 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA SUBFRAÇÃO MFD-8D AMPLIADO (δ 6,2-7,5 ppm).....	51

FIGURA 33 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA SUBFRAÇÃO MFD-8D AMPLIADO (δ 4,3-5,6 ppm).....	52
FIGURA 34 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H DA SUBFRAÇÃO MFD-8D AMPLIADO (δ 1,7-2,8 ppm).....	52
FIGURA 35 - ESPECTRO DE RMN DE ^{13}C DA SUBFRAÇÃO MFD-8D (CDCl_3 ; 100 MHz).....	53

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - COMPARAÇÃO DO RMN DE ^1H E ^{13}C DA SUBFRAÇÃO MFD-8A COM A LITERATURA.....	35
TABELA 2 - COMPARAÇÃO DO RMN DE ^1H E ^{13}C DA 10-HDRÓXI- WALTHERIONA C E WALTHERIONA C.....	39
TABELA 3 - COMPARAÇÃO DO RMN DE ^1H DA SUBFRAÇÃO MFD-8C COM A LITERATURA.....	46
TABELA 4 - COMPARAÇÃO DO RMN DE ^1H E ^{13}C DA SUBFRAÇÃO MFD-8D COM A LITERATURA.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APG IV	Quarta Versão do Grupo de Filogenia de Angiospermas
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CDCl_3	Clorofórmio Delterado
CIM	Concentração Inibitória Mínima
COSY	Espectroscopia de Correlação $^1\text{H} \times ^1\text{H}$
<i>d</i>	Dupleto
<i>dd</i>	Duplo Dupleto
<i>ddd</i>	Duplo Duplo Dupleto
DMSO-d_6	Dimetilsulfóxido Delterado
ESI	Eletrospray
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Espectroscopia de Correlação $^1\text{H} \times ^{13}\text{C}$
IC_{50}	Metade da Concentração Inibitória Máxima
IFRJ	Instituto Federal do Rio de Janeiro
<i>J</i>	Constante de Acoplamento
<i>m</i>	Multiplete
MeOD	Metanol Delterado
MFD	Fase Diclorometano da <i>Melochia spicata</i>
MFE	Extrato Etanólico Bruto da <i>Melochia spicata</i>
MFH	Fase Hexânica da <i>Melochia spicata</i>

<i>m/Z</i>	Relação Massa Carga
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
<i>s</i>	Simpleto
<i>t</i>	Tripleto
TOF	Tempo de Voo
UEFS	Universidade Estadual de Feira de Santana
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

<u>1 INTRODUÇÃO</u>	16
<u>1.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS</u>	16
<u>1.2 <i>Melochia spicata</i></u>	17
<u>1.3 ALCALOIDES</u>	18
<u>1.4 ALCALOIDES 4-QUINOLÔNICOS</u>	19
<u>1.5 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS ALCALOIDES QUINOLÔNICOS</u>	23
<u>1.6 RELEVÂNCIA E HIPÓTESES DO TRABALHO</u>	25
<u>1.7 OBJETIVOS</u>	26
<u>2 DESENVOLVIMENTO</u>	27
<u>2.1 METODOLOGIA</u>	27
<u>2.1.1 Coleta e identificação do material vegetal</u>	27
<u>2.1.2 Preparo dos extratos</u>	27
<u>2.1.3 Isolamento e identificação dos alcaloides</u>	27
<u>2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	28
<u>2.2.1 Extração e isolamento das frações</u>	28
<u>2.2.2 Identificação estrutural das waltherionas</u>	29
<u>2.2.2.1 Identificação da waltheriona C</u>	30
<u>2.2.2.2 Identificação da 10-hidróxi-waltheriona C</u>	36
<u>2.2.2.3 Identificação da 2-hidróxi-metil-waltheriona C</u>	45
<u>2.2.2.4 Identificação da poliasanina B</u>	50
<u>3. CONCLUSÃO</u>	56
<u>REFERÊNCIAS</u>	57

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Desde os primórdios da humanidade, as plantas são usadas com finalidade medicinal pelo homem para tratar, curar e prevenir doenças. O conhecimento sobre elas permanece até hoje na sociedade, principalmente em algumas comunidades e grupos étnicos (MACIEL *et al.*, 2002). Pode ser conceituada como uma planta medicinal qualquer vegetal capaz de produzir drogas ou substâncias bioativas, que podem ser utilizadas como medicamento de uma forma direta ou indireta. Constituintes químicos oriundos do metabolismo secundário vegetal, também chamados de metabólitos secundários, representam as respostas químicas aos estímulos provenientes do ambiente em que os vegetais estão (BRAGANÇA, 1996) e, portanto, podem ser fontes importantes de compostos ativos nos sistemas biológicos e de interesse para o tratamento de diversas enfermidades.

O Brasil é o país que apresenta a maior diversidade genética vegetal do planeta, tendo assim, em potencial, uma quantidade considerada de plantas com possível ação medicinal. No entanto, menos de 10% da flora nacional foi estudada para esse fim. Entre as plantas estudadas, foi observado que são predominantes espécies com hábito herbáceo e arbustivo, e os metabólitos secundários mais frequentes descritos nestes estudos são: alcaloides, terpenoides, flavonoides, taninos e cumarinas (ALMEIDA, 2011).

O grupo de pesquisas em Plantas Medicinais do IFRJ Campus Realengo, tem se dedicado ao estudo de plantas da Caatinga, na busca por alcaloides bioativos produzidos por plantas deste bioma. O grupo tem focado especial atenção para o estudo de plantas dos gêneros *Waltheria* e *Melochia*, pertencentes à tribo Hermannieae da família Malvaceae, uma vez que plantas destes gêneros são ricas na biossíntese de uma classe exclusiva de alcaloides 4-quinolônicos, sendo esta classe de alcaloides o alvo do nosso grupo de pesquisa.

Os alcaloides, de uma forma geral, são alvos de pesquisa em vários centros de pesquisa ao redor do mundo devido a diversidade de atividades biológicas que estes compostos têm apresentado. Os alcaloides quinolônicos,

em específico, estão sendo descritos por terem atividades antifúngicas, antimicrobianas e inibidoras da acetilcolinesterase (CRETTON *et al.*, 2014; CRETTON *et al.*, 2015; CRETTON *et al.*, 2016; JADULCO *et al.*, 2014).

1.2 *Melochia spicata*

A *Melochia spicata* (L.) Fryxell (figura 1) pertence à família Malvaceae Juss. Essa família está na ordem Malvales e é uma das famílias presentes na grande família Malvaceae, que é a união dessa com: Bombacaceae, Sterculiaceae e Tiliaceae. Essa família pode ser ainda subdividida em nove subfamílias: Bombacoideae, Brownlowioideae, Byttnerioideae, Dombeyoideae, Grewioideae, Helicteroideae, Malvoideae, Sterculioideae e Tilioideae. As plantas membros dessa família são ervas e árvores de pequeno porte e estão presentes predominantemente em regiões tropicais do planeta, também podendo ocorrer em regiões de clima temperado (CHASE *et al.*, 2016).

Figura 1: *Melochia spicata*



Fonte: ATLAS OF FLORIDA PLANTS (2020)

O gênero *Melochia* L. pertence a subfamília Byttnerioideae, anteriormente na extinta família Sterculiaceae, que de acordo com a quarta versão do Grupo de Filogenia de Angiospermas (APG IV), foi englobada pela família Malvaceae, em sua tribo Hermannieae, juntamente com outros três gêneros: *Hermannia*, *Dicarpidium* e *Waltheria*. Dos gêneros presentes na tribo, somente *Melochia* e *Waltheria* têm sido estudadas, principalmente por conta da principal classe de metabólitos que eles possuem: os alcaloides (CHASE *et al.*, 2016). Algumas das espécies dessa subfamília têm sido utilizadas na

medicina tradicional brasileira para tratamento de doenças do trato respiratório, como bronquite, laringite e inflamação da garganta; e até para tratamento de tumores (LIMA *et al.*, 2009).

Esse gênero possui 239 espécies entre os nomes aceitos e sinônimos (THE PLANT LIST, 2013). De acordo com a Lista de Espécies da Flora do Brasil, 21 espécies foram descritas no Brasil: *Melochia arenosa* Benth., *Melochia betonicifolia* A.St.-Hil., *Melochia caracasana* Jacq., *Melochia chamaedrys* A. St -Hil., *Melochia gardneri* Sprague, *Melochia graminifolia* A. St. -Hil., *Melochia hassleriana* Chodat, *Melochia illicioides* K Schum., *Melochia lanata* A. St. -Hil., *Melochia manducata* C.Wright, *Melochia melissaefolia* Benth., *Melochia morongii* Britton, *Melochia nodiflora* Sw., *Melochia parvifolia* Kunth, *Melochia pilosa* (Mill.) Fawc. & Rendle, *Melochia pyramidata* L., *Melochia sergipana* Mont, *Melochia simplex* A.St.-Hil., *Melochia splendens* A.St.-Hil. & Naudin, *Melochia tomentosa* L., *Melochia ulmifolia* Benth (ESTEVEZ, 2015). A *Melochia spicata* não é nativa do Brasil (GONÇALVES, 2020).

1.3 ALCALOIDES

Alcaloides são compostos que possuem características básicas (embora existam alcaloides neutros e até ácidos), são derivados de aminoácidos e contém um nitrogênio na forma heterocíclica. São provenientes do metabolismo secundário das plantas, principalmente as angiospermas, mas podem ser encontradas em outros organismos, como animais, fungos e organismos marinhos. Nos vegetais, eles estão presentes predominantemente nos tecidos mais externos, como nas epidermes nas primeiras camadas corticais e no tegumento das sementes (HENRIQUES; KLEIN-JÚNIOR, 2017).

São compostos farmacologicamente ativos, podendo exercer diversas funções. Eles possuem características de neurotransmissores e seus metabólitos podem interagir com vários alvos farmacológicos, como nos canais de sódio; receptores opióides, muscarínicos e β -adrenérgicos; e enzimas como a acetilcolinesterase e fosfodiesterase (HENRIQUES; KLEIN-JÚNIOR, 2017).

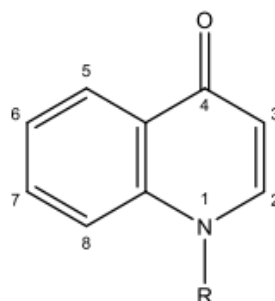
Essa classe pode ser classificada, pela origem biossintética e pelo posicionamento do nitrogênio, como:

- Alcaloides verdadeiros: se originam de aminoácidos e possuem o nitrogênio em heterociclo;
- Protoalcaloides: se originam de aminoácidos e possuem o nitrogênio fora do heterociclo;
- Pseudoalcaloides: não se originam de aminoácidos. Sua origem está em outras vias, como: acetato, chiquimato, mevalonato ou desoxixilulose fosfato. Eles adquirem o nitrogênio por meio de outras reações, como a transaminação (HENRIQUES; KLEIN-JÚNIOR, 2017).

1.4 ALCALOIDES 4-QUINOLÔNICOS

Os alcaloides 4-quinolônicos são uma classe de alcaloides que possuem em sua estrutura um núcleo estrutural característico (figura 2): apresentam dois anéis aromáticos fundidos, com a presença de um átomo de nitrogênio na forma de heteroátomo na posição 1 e um grupo cetona na posição 4, denominado 4-quinolona.

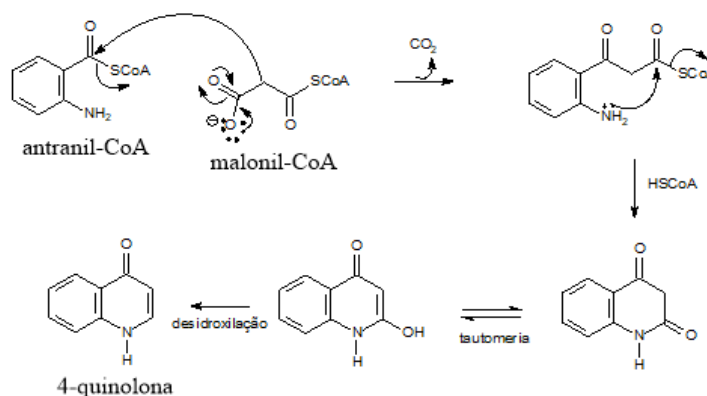
Figura 2: Núcleo estrutural de um alcaloide quinolônico



Fonte: AUTOR (2021)

De acordo com Dewick (2009), a biossíntese dos alcaloides quinolônicos (figura 3) como pseudoalcaloides, se origina a partir do ácido antranílico, onde temos inicialmente uma condensação de Claisen entre antranil-CoA e malonil-CoA. Essa condensação ocorre devido à descarboxilação da unidade malonil que posteriormente condensa via ataque nucleofílico do carbânion CH_2 da unidade de malonil-CoA a carboxila do tioéster do antranil-CoA e ataque do par de elétrons do nitrogênio à carbonila com a liberação de uma unidade de HS-CoA. Posteriormente temos tautomeria e desidroxilação para a formação da 4-quinolona.

Figura 3: Formação do núcleo 4-quinolona via antranil-CoA e malonil-CoA



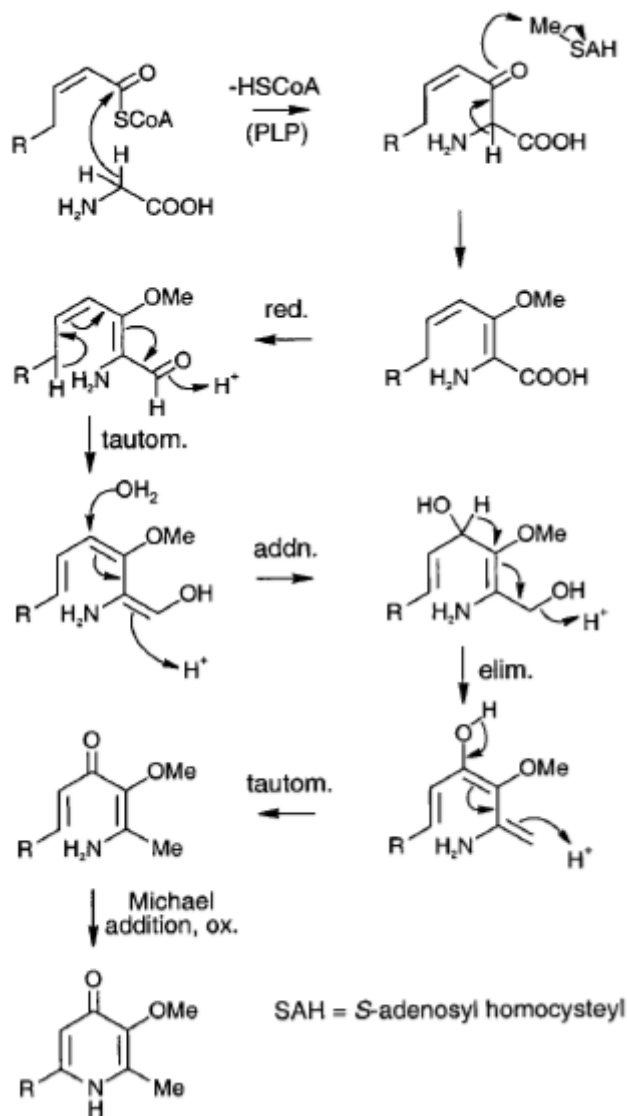
Fonte: Adaptado de DEWICK (2009)

Até o ano 2000, acreditava-se que os alcaloides 4-quinolônicos eram pseudoalcaloides oriundos do metabolismo secundário das plantas a partir da glicose. Entretanto, a partir do estudo da biossíntese do alcaloide antidesmona em cultura de células de *Antidesma membranaceum*, foi possível elucidar um novo caminho biossintético, a partir do aminoácido glicina e de cadeia policetídica (BRINGMANN *et al.*, 2000).

Para provar essa rota, Bringmann e colaboradores (2000) utilizaram precursores marcados com ¹³C (glicose e acetato) e ¹⁵N (glicina e aspartato). Empregando técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), concluíram que o alcaloide antidesmona era biossintetizado a partir de uma cadeia policetídica C-16 e glicina, o que levou a considerar que os alcaloides quinolônicos com estrutura análoga à antidesmona (1) são alcaloides verdadeiros. A biossíntese desse alcaloide está na figura 4.

A metila ligada ao carbono 2 do núcleo 4-quinolônico tem sua origem do aminoácido glicina, enquanto a metoxila ligada ao carbono 3 tem a via do acetato como origem do átomo de oxigênio e a metila provém da S-adenosilmetionina (SAM).

Figura 4: Biossíntese da antidesmona



Fonte: BRINGMANN *et al.*, 2000

O primeiro alcaloide quinolônico descrito em uma espécie gênero *Melochia*, foi a melochinona (2), sendo esta isolada das raízes de *Melochia tomentosa* (KAPADIA *et al.*, 1975). Logo em seguida, foi isolado da mesma planta o alcaloide melovinona (3), um análogo de cadeia aberta da melochinona (KAPADIA *et al.*, 1978).

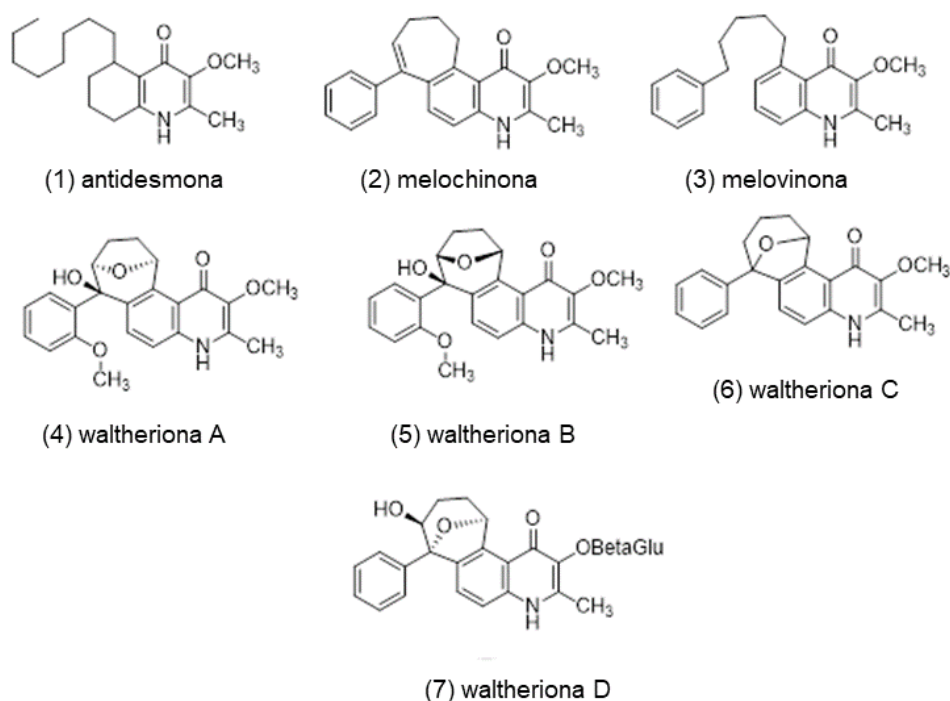
Já em 2005, a espécie *Waltheria douradinha* foi estudada e um alcaloide com estrutura análoga a melochinona foi isolado, recebendo o nome

de waltheriona A (4). Este foi o primeiro relato de ocorrência de um alcaloide com estrutura análoga à melochinona, dado que, tanto a melochinona, quanto a waltheriona A possuem em sua estrutura, um anel de sete membros geminado a um sistema aromático e com idêntico núcleo quinolin-4-ona (HOELZEL *et al.*, 2005). Posteriormente, a waltheriona A foi relatada em *Melochia chamaedrys* (DIAS *et al.*, 2007), *Melochia odorata* (EMILE *et al.*, 2007; JADULCO *et al.*, 2014), *Waltheria brachypetala* (LIMA *et al.*, 2009) e *Waltheria indica* (CRETTON *et al.*, 2015).

Desde 2008, outros alcaloides com estrutura análoga à waltheriona A e à antidesmona têm sido relatados em espécies de *Waltheria* e *Melochia*, corroborando que estes gêneros possuem relevante semelhança em seu metabolismo secundário. Entre estes temos que, a waltheriona B (5), um diastereoisômero da waltheriona A foi relatado em *Waltheria douradinha* (GRESSLER *et al.*, 2008); waltheriona C (6) em *Melochia odorata* (JADULCO *et al.*, 2014), *Melochia umbellata* (ERWIN *et al.*, 2014) e *Waltheria indica* (CRETTON *et al.*, 2015); waltheriona D (7) em *Melochia odorata* (JADULCO *et al.*, 2014) e as Waltherionas E-Q a partir de *Waltheria indica* (CRETTON *et al.*, 2014; CRETTON *et al.*, 2016).

As estruturas 1 a 7 podem ser observadas na figura 5.

Figura 5: Estruturas dos alcaloides 4-quinolônicos 1 a 7



Fonte: BRINGMANN *et al.* (2000); JADULCO *et al.* (2014); KAPADIA *et al.* (1975);
KAPADIA *et al.* (1978)

1.5 ATIVIDADES BIOLÓGICAS DOS ALCALOIDES QUINOLÔNICOS

Jadulco e colaboradores (2014) estudaram os alcaloides 4-quinolônicos presentes em hastes e galhos da *Melochia odorata* L.f. A partir do extrato bruto metanólico, foi possível realizar o isolamento guiado por bioensaio de três alcaloides quinolônicos: as Waltherionas A, C e D. A Waltheriona A já havia sido descrita anteriormente por ter atividade antifúngica contra *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* e *Saccharomyces cerevisiae* (EMILE *et al.*, 2007) e foi capaz também de inibir a acetilcolinesterase (LIMA *et al.*, 2009). Em seus estudos, o grupo de pesquisa identificou que a waltheriona A possuía significativa citoproteção contra HIV-1 em células CEM-TART infectadas *in vitro*. Além deste alcaloide, a waltheriona C também apresentou tal atividade, sendo menos tóxica e mais potente do que a waltheriona A. Em contrapartida, a Waltheriona D não apresentou atividade anti-HIV (JADULCO *et al.*, 2014).

A partir do extrato etanólico do cerne de *Melochia umbellata* também foi isolada a waltheriona C. No teste de atividade biológica, foi observado que este alcaloide apresentou citotoxicidade significativa contra células P-388 provenientes de leucemia murina (ERWIN *et al.*, 2014).

Os alcaloides relatados também foram reportados anteriormente em espécies do gênero *Waltheria*. Deste gênero, uma espécie amplamente estudada é a *Waltheria indica*, ao qual foram reportadas vários alcaloides derivados das waltherionas e cujas atividades biológicas principais até o momento reportadas são as atividades antitripanossomiais e antifúngicas (CRETTON *et al.*, 2014; CRETTON *et al.*, 2015; CRETTON *et al.*, 2016).

Primeiramente, Cretton e colaboradores realizaram os testes antitripanossomiais com o pó das raízes secas da planta, extraída em diclorometano. Foram identificados dez alcaloides quinolônicos: 8-Deoxoantidesmona, Antidesmona e as waltherionas E-L. Esse extrato mostrou uma forte atividade inibitória nos testes *in vitro* para *T. cruzi* (CI₅₀ = 0,74 µg / mL) e *T. b. brucei* (2,3% de sobrevivência a 20 µg / mL) e em menor medida contra *T. b. rhodesiense* (CI₅₀ = 17,4 µg / mL). Além da sua atividade inibitória,

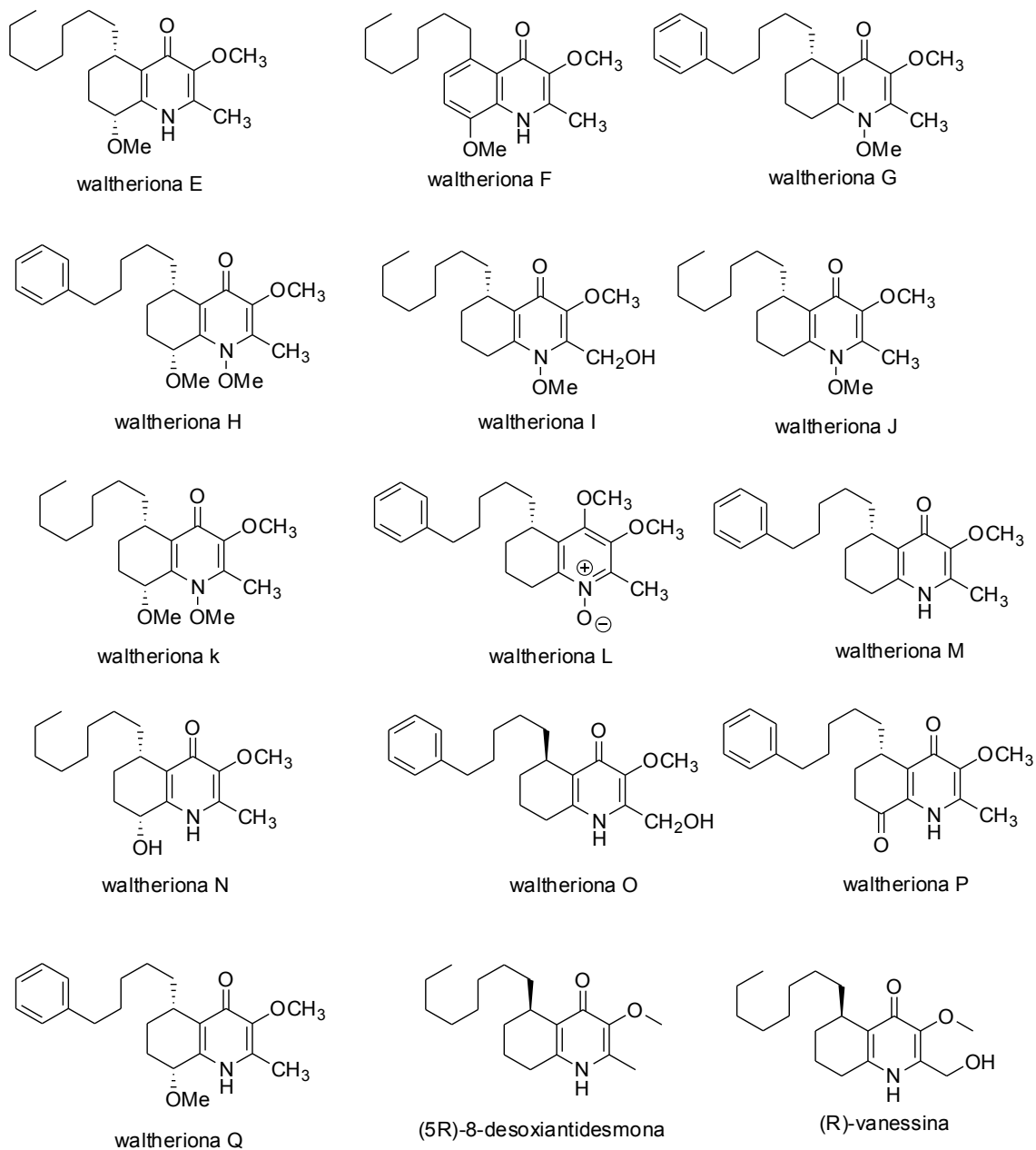
apresentou fraca citotoxicidade para as células L-6 do camundongo ($CI_{50} = 24,0 \mu\text{g} / \text{mL}$), exceto para antidesmona. Os valores de CI_{50} encontrados para os alcaloides do estudo foram menores do que o fármaco de referência benzonidazol, exceto a waltheriona L. As Waltherionas G, H e K mostraram maior potência na atividade antichagástica, mas com citotoxicidade para as células L-6 alta (CRETTON *et al.*, 2014).

Em um outro estudo sobre as atividades antitripanossomiais, Cretton e colaboradores (2015) estudaram as partes aéreas da *W. indica*, sendo reportado o isolamento das waltherionas A e C. Nesse estudo, foi relatado que a waltheriona C possui atividade seletiva e potente contra *T. Cruzi*, acompanhada de uma citotoxicidade baixa para a linha celular L6. Já a waltheriona A não apresentou atividade antichagástica.

O mesmo grupo também estudou a atividade antifúngica dos alcaloides quinolônicos da *Waltheria indica*. Nesse estudo, foram isolados os mesmos alcaloides encontrados no estudo anterior do grupo (2014), com o acréscimo de cinco novas waltherionas: M, N, O, P, e Q e do enantiômero (R) da vanessina. Dos alcaloides isolados neste estudo, dez apresentaram atividade antifúngica ($CIM \leq 32 \mu\text{g}/\text{mL}$): enantiômero (R) da vanessina, 8-Deoxoantidesmona, antidesmona e as waltherionas N, Q, E, G, I, J e F. No entanto, eles tiveram potências antifúngicas heterogêneas: as Waltherionas G e J mostraram o espectro de atividade mais amplo, com um $CIM \leq 32 \mu\text{g} / \text{mL}$ contra todas as cepas de levedura testadas (*C. Albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *Saccharomyces cerevisiae*) enquanto vários outros compostos (Waltherionas Q, E, F e I) eram ativos apenas contra *C. Albicans* (CRETTON *et al.*, 2016).

A estrutura dos compostos identificados nos estudos de Cretton e colaboradores de 2014 e de 2016 estão disponíveis na figura 6.

Figura 6: Estruturas dos compostos identificados por Cretton e colaboradores (CRETTON *et al.*, 2014; CRETTON *et al.*, 2016).



Fonte: AUTOR (2021)

1.6 RELEVÂNCIA E HIPÓTESES DO TRABALHO

Tendo em vista que o gênero *Melochia* da família Malvaceae possui um grande potencial na biossíntese de alcaloides 4-quinolônicos derivados das walthersonas, e considerando a gama de atividades biológicas que tem sido reportada na literatura para estes alcaloides, um estudo para o isolamento e identificação dos alcaloides produzidos pela espécie *Melochia spicata* é relevante. Além disso, no que tange as espécies de *Melochia* no Brasil, apenas uma espécie foi estudada até o momento, a *Melochia chamaedrys*, coletada no Rio Grande do Sul (DIAS *et al.*, 2007), o que confere um ineditismo para este estudo.

Baseado nos dados da literatura sobre a identificação e isolamento de alcaloides quinolônicos presentes nos gêneros *Melochia* e *Waltheria* (CRETTON *et al.*, 2014; CRETTON *et al.*, 2015; CRETTON *et al.*, 2016; DIAS *et al.*, 2007; EMILE *et al.*, 2007; ERWIN *et al.*, 2014; JADULCO *et al.*, 2014; LIMA *et al.*, 2009), nosso grupo de estudo acredita que a espécie *Melochia spicata* apresentará também essa classe de metabólitos secundários. Além disso, é possível que a planta alvo deste estudo apresente alcaloides quinolônicos inéditos para o gênero.

1.7 OBJETIVOS

O objetivo geral desse trabalho é isolar e identificar alcaloides 4-quinolônicos da fase diclorometano das folhas da espécie *Melochia spicata* (Malvaceae), coletada no município de Piripá, Bahia. Como objetivos específicos do trabalho, destacam-se:

- ✓ Isolar alcaloides 4-quinolônicos da fase diclorometano das folhas de *Melochia spicata*, em especial, as walthersonas ciclizadas, utilizando técnicas cromatográficas usuais de purificação;
- ✓ Identificar e/ou elucidar as estruturas dos alcaloides com auxílio de técnicas espectrométricas e espectroscópicas de elucidação estrutural, como: Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H (1D e 2D), Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C , UV e espectrometria de massas;
- ✓ Contribuir para o conhecimento químico e quimiosistemático do gênero *Melochia*;
- ✓ Contribuir para a bioprospecção de compostos naturais bioativos.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 METODOLOGIA

2.1.1 Coleta e identificação do material vegetal

O exemplar da *Melochia spicata* (caule e folhas) foi coletada no município de Piripá, na Bahia, pelo professor Murilo Marinho de Castro Lima (IFRJ). A identificação botânica do espécime foi realizada pelo botânico Cosme Correia dos Santos da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS).

2.1.2 Preparo dos extratos

A partir do material coletado, foram separadas as folhas do caule, com posterior lavagem do material com água corrente para retirada de materiais residuais do solo. Por fim, as folhas foram secas em estufa de ar circulante a 40°C por sete dias.

Em seguida, uma parte das folhas (100g) foram moídas em moinho da marca Willey TECNAL modelo TE-650 e submetidas separadamente à maceração com etanol P.A. da marca Vetec por quatro vezes com intervalo de 72 horas. Após esse processo, o líquido extraído foi filtrado e concentrado com auxílio de rotaevaporador, sob pressão reduzida e temperatura em torno de 40°C, para obter o extrato etanólico da planta (MFE).

O extrato bruto (MFE) foi então submetido ao processo de partição líquido-líquido após serem solubilizados em água:metanol (3:1), com posterior partição em funil com os solventes: hexano e diclorometano e acetato de etila, para a obtenção das respectivas fases hexânica (MFH) e diclorometano (MFD). A fase diclorometano foi a escolhida para realizar as análises.

2.1.3 Isolamento e identificação dos alcaloides

A partir do extrato diclorometano da *Melochia spicata* foram realizadas diversas etapas de purificação com a técnica de cromatografia em coluna de sílica-gel, usando os solventes hexano (Hex), acetato de etila (AcOEt), diclorometano (DCM) e metanol (MeOH) como fase eluente, em ordem crescente de polaridade, aumentando gradualmente a polaridade da fase móvel e, assim, isolando os alcaloides com polaridades distintas.

As frações MDF-1, MFD-2 e MFD-3, assim como a fração MFD-5 foram obtidas em Hex:AcOET (7:3), 100 mL para cada uma das frações. Já as frações MFD-4, MFD-6 e MFD-7 foram obtidas com a mesma fase eluente, mas utilizando 200 mL; e a fração MFD-8 foi obtida em 400 mL da mesma fase Hex:AcOET (7:3). E a fração MFD-9 foi obtida em Hex:AcOET (6:4), obtendo 400 mL. A fração MFD-8 gerou 4 subfrações: MFD-8A, em Hex:AcOET (9:1); MFD-8B, em Hex:AcOET (8:2); MFD-8C, em Hex:AcOET (7:3); e MFD-8D, em Hex:AcOET (6:4). Todas as quatro subfrações foram obtidas usando 20 mL da sua respectiva fase eluente.

As frações obtidas foram analisadas por meio da cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando como revelador a luz UV nos comprimentos de onda de 245 nm e 365 nm, além de reagente de Dragendorff. Esse procedimento foi realizado para verificar as frações puras. Foi classificado como uma fração pura aquelas em que fosse revelado somente uma única mancha homogênea em CCD.

Por fim, as frações puras foram separadas e levadas para o processo de identificação, com suas análises em RMN de ^1H e ^{13}C , utilizando os solventes CDCl_3 , DMSO-d_6 , MeOD; espectrometria de massas, utilizando Eletrospray (ESI) como fonte de ionização; e comparação com os dados da literatura.

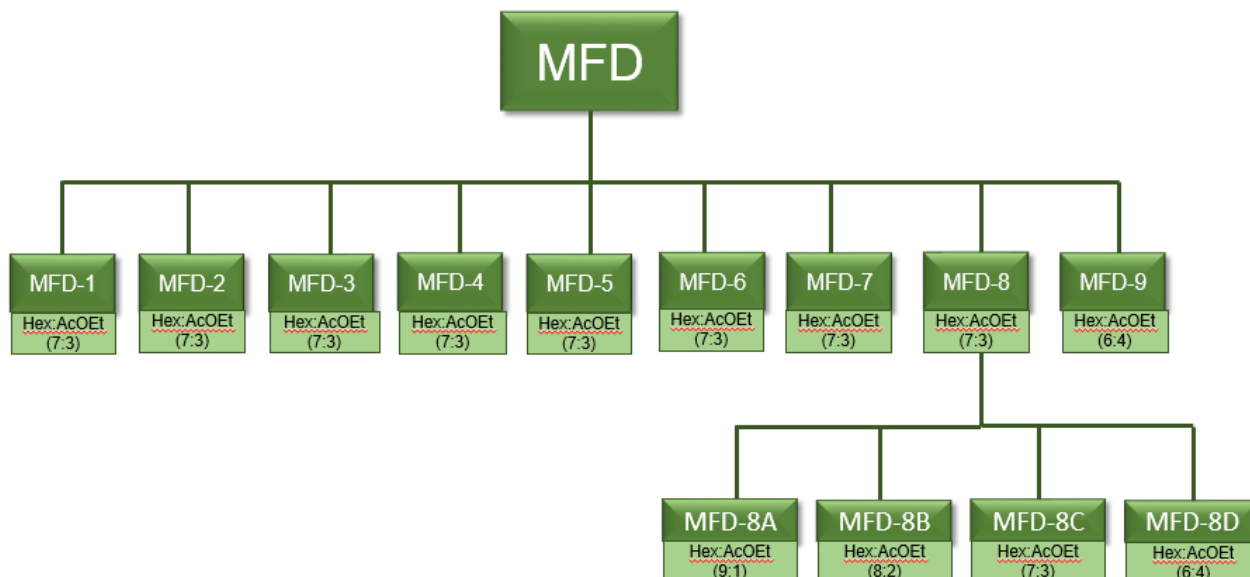
2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.2.1 Extração e isolamento das frações

Ao todo, foram obtidas 9 frações da fase diclorometano das folhas de *Melochia spicata*. A que recebeu maior atenção pelo estudo foi a fração MFD-8, pois possuiu resultados mais satisfatórios em CCD. Esta foi purificada e as

subfrações MFD-8A, MFD-8B, MFD-8C e MFD-8D foram destinadas para a análise em RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos presentes nelas. O organograma das frações obtidas está na figura 7.

Figura 7: Organograma das frações obtidas das folhas de *Melochia spicata*.



Fonte: AUTOR (2021)

2.2.2 Identificação estrutural das waltherionas

As waltherionas ciclizadas possuem estruturas muito parecidas, se diferenciando apenas por alguns grupamentos. Suas estruturas possuem um núcleo 4-quinolônico característico e um anel de sete membros geminado ao sistema quinolônico, a este anel de sete membros, na maioria das waltherionas ciclizadas temos a presença de uma ponte éter entre os carbonos 10 e 13 ou 9 e 13 formando um oxabicyclo [3.2.1].

O núcleo 4-quinolônico, comum a todas waltherionas, pode ser identificado com o auxílio de RMN de ^1H , por meio dos sinais dos hidrogênios da metila ligada ao carbono 2 como um simpleto na faixa de δ 2,3 - 2,5 no espectro, bem como através do sinal da metoxila ligada ao carbono 3, que aparece no espectro como um simpleto localizado na faixa de δ 3,7 - 4,0. Para finalizar, a presença do hidrogênio ligado ao nitrogênio é evidenciada por aparecer no espectro como um simpleto largo entre δ 8,0 - 12,0 (GRESSLER *et al.*, 2008).

A presença do oxabicyclo [3.2.1] pode ser elucidada por RMN de ^1H pela presença de sinais de multipletos na faixa de δ 1,0 – 2,20, referente aos hidrogênios metilênicos nas posições 11 e 12, além dos sinais de hidrogênios oxi-metílicos em nas posições 10 e 13 ou apenas na posição 13, quando a ponte éter encontra-se entre os carbonos 9 e 13, esses sinais são evidenciados entre δ 4,2 – 4,7 para H-10 e δ 6 – 6,30 para H-13. O espectro de ^{13}C também auxilia na identificação, pois evidencia a ponte éter, com a presença de dois carbonos oxigenados, aparecendo como sinais na faixa de δ 80 – 90. Outro ponto que esse espectro colabora na elucidação é no núcleo 4-quinolônico, evidenciando o carbono da carbonila, que aparece no espectro como um sinal na faixa de δ 170 – 174 (JADULCO *et al.*, 2014).

2.2.2.1 Identificação da waltheriona C

A subfração MFD-8A (70 mg) foi analisada por CCD e revelou uma única banda na presença do reagente Dragendorff, indicando que a mesma se tratava um alcaloide isolado.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C da subfração MFD-8A estão ilustrados nas figuras 9 a 14. Ao realizar análise de RMN de ^1H da amostra, foi confirmada a presença dos sinais característicos do núcleo 4-quinolona, como a presença de dois simpletos integrando para 3 hidrogênios em δ 2,46 e δ 3,92 (figura 12), identificando, respectivamente, a metila ligada ao carbono 2 e a metoxila ligada ao carbono 3 do núcleo quinolin-4-ona. Este anel foi identificado ainda através do sinal do hidrogênio ligado ao nitrogênio também aparece no espectro, como um simpleto largo em δ 8,29 (figura 10). E no espectro de RMN de ^{13}C , é possível observar um sinal em δ 174,30 (figura 14) indicando a presença da carbonila no carbono 4.

No espectro de RMN de ^1H também foram observados três sinais multipletos entre δ 1,0-2,2 (figura 13) que caracterizam a presença de grupos metilênicos presentes em um anel de sete membros característico de alcaloides quinolônicos análogos da waltheriona A (GRESSLER *et al.*, 2008). Além disso, o espectro apresentou ainda dois dupletos em δ 7,04 e δ 7,13 (figura 11), indicando hidrogênios de anel aromático, ambos com constante de

acoplamento igual a 8 Hz, indicando que estão na relação orto, sendo estes identificados como os hidrogênios das posições 7 e 8 respectivamente.

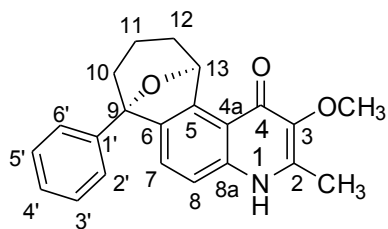
Nesse mesmo espectro também é possível visualizar três multipletos entre δ 7,30-7,55 (figura 11), sendo dois desses sinais integrando para 2H, indicando a presença de uma fenila na estrutura. Essa informação é confirmada pelo espectro de RMN de ^{13}C (figura 14), no qual aparecem 12 sinais (6 da fenila da ramificação mais 6 da fenila presente no núcleo 4-quinolônico) entre δ 115-145, característicos de carbonos de anel aromático. Outra informação que o espectro de RMN de ^1H oferece é um duplete em δ 6,4, referente ao hidrogênio oxi-metínico na posição 13 da ponte éter do biciclo [3.2.1], a ausência do segundo sinal de hidrogênio oximetínico na posição 10, indica que a ponte éter está entre os carbonos 9 e 13.

O espectro de RMN de ^{13}C também fornece uma informação importante: dois sinais de δ 80,24 e δ 85,04, característicos de carbonos oxigenados. Esse fato, também evidencia que a ponte éter está entre o carbono 9 e carbono 13, provando assim a existência do oxabicyclo.

Esses dados de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos da subfração MFD-8A foram comparados (tabela 1) com os dados reportados por Jadulco e colaboradores (2014), sendo esses semelhantes, o que confirma que a estrutura isolada na subfração em questão é a waltheriona C (figura 8). Este alcaloide foi isolado pela primeira vez de *Melochia odorata* (JADULCO *et al.*, 2014), tendo sido encontrada também em *Waltheria indica* (CRETTON *et al.*, 2016).

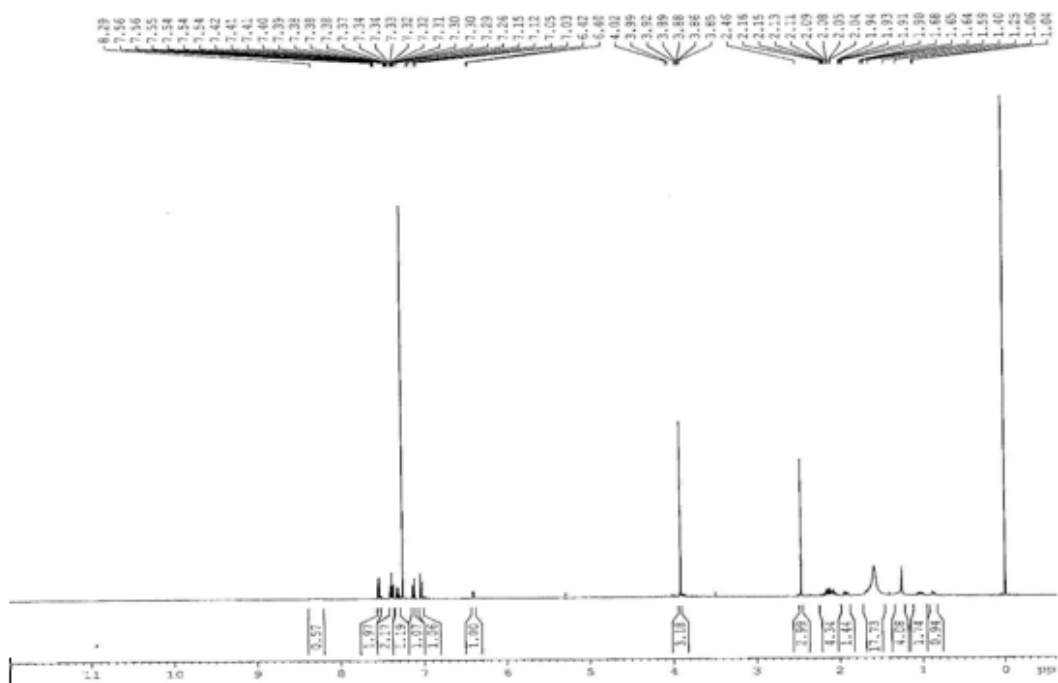
A waltheriona C é um alcaloide quinolônico com relevância, já que estudos mostraram que possui atividades biológicas interessantes, como atividade citoprotetora contra HIV-1 potente e com baixa toxicidade (JADULCO *et al.*, 2014), atividade citotóxica contra células P-388 provenientes de leucemia murina (ERWIN *et al.*, 2014) e atividade antitripanossomial seletiva e potente para *T. Cruzi* (CRETTON *et al.*, 2015).

Figura 8: Estrutura da waltheriona C.



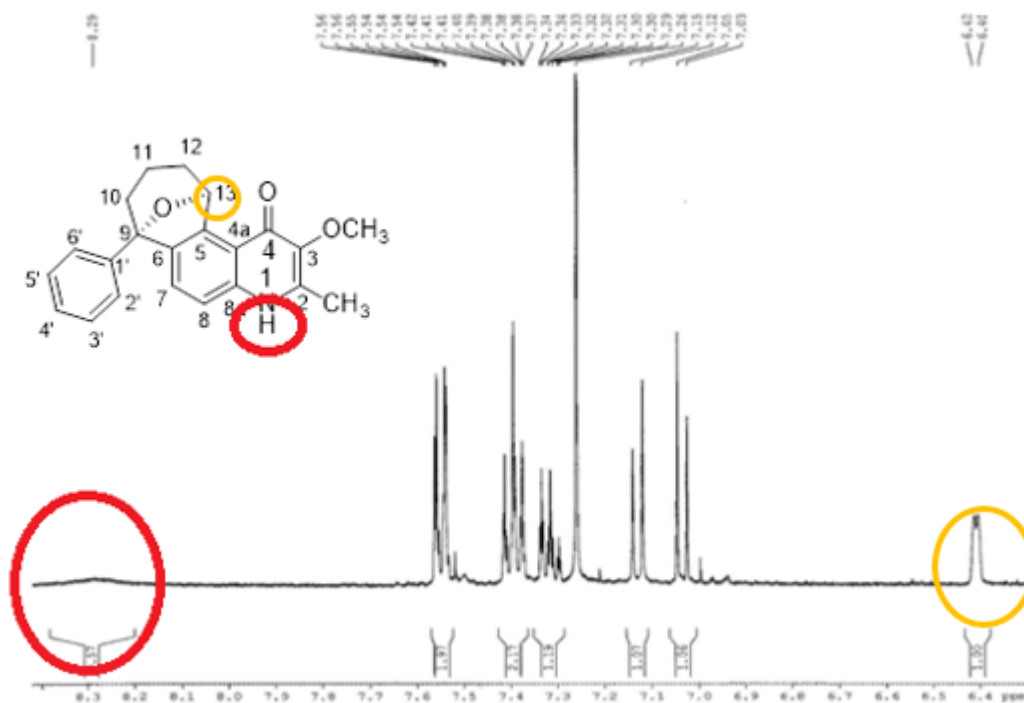
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 9: Espectro de RMN de ^1H da subfração MFD-8A (CDCl_3 ; 400MHz)



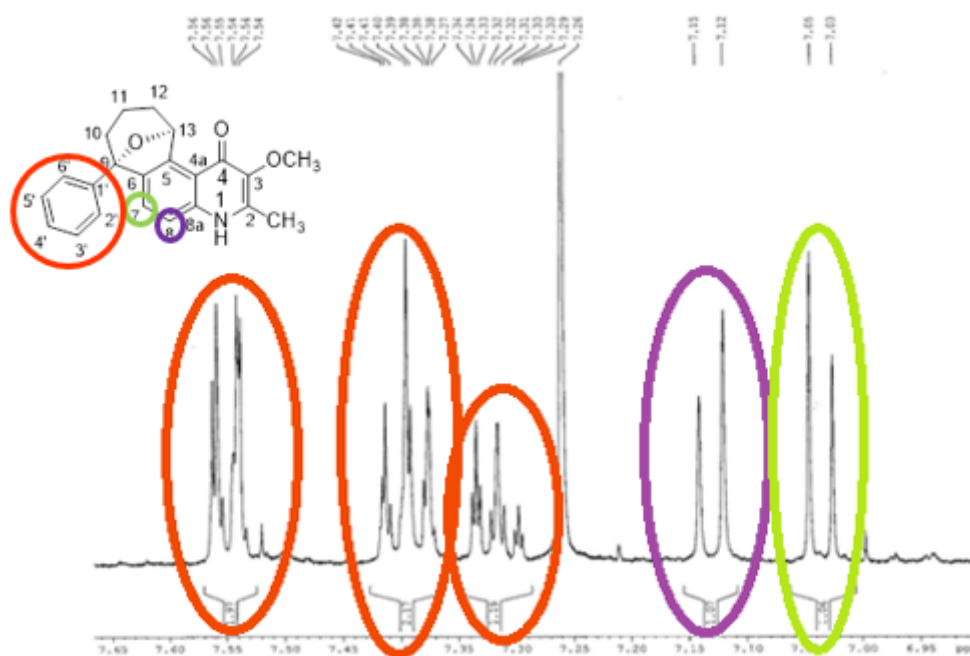
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 10: Espectro de RMN de ^1H da subfração MFD-8A ampliado (δ 6,4-8,3 ppm)



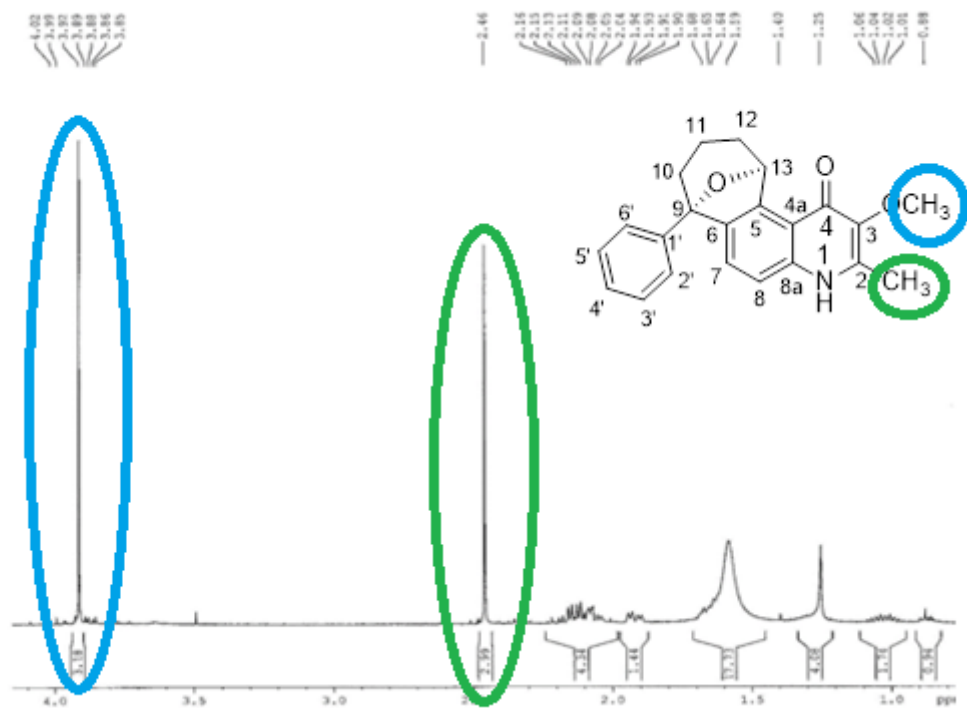
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 11: Espectro de RMN de ¹H da subfração MFD-8A ampliado (δ 6,95-7,65 ppm)



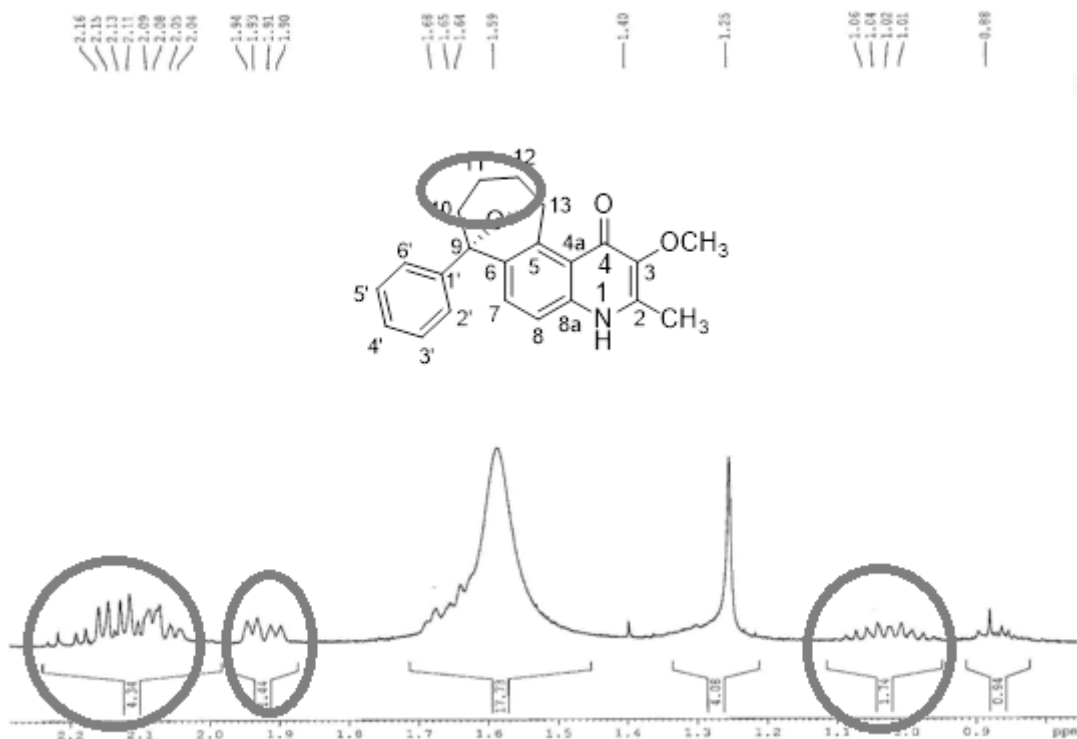
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 12: Espectro de RMN de ¹H da subfração MFD-8A ampliado (δ 1,0-4,0 ppm)



Fonte: AUTOR (2021)

Figura 13: Espectro de RMN de ^1H da subfração MFD-8A ampliado (δ 0,9-2,2 ppm)



Fonte: AUTOR (2021)

Figura 14: Espectro de RMN de ^{13}C da subfração MFD-8A (CDCl_3 ; 400MHz)

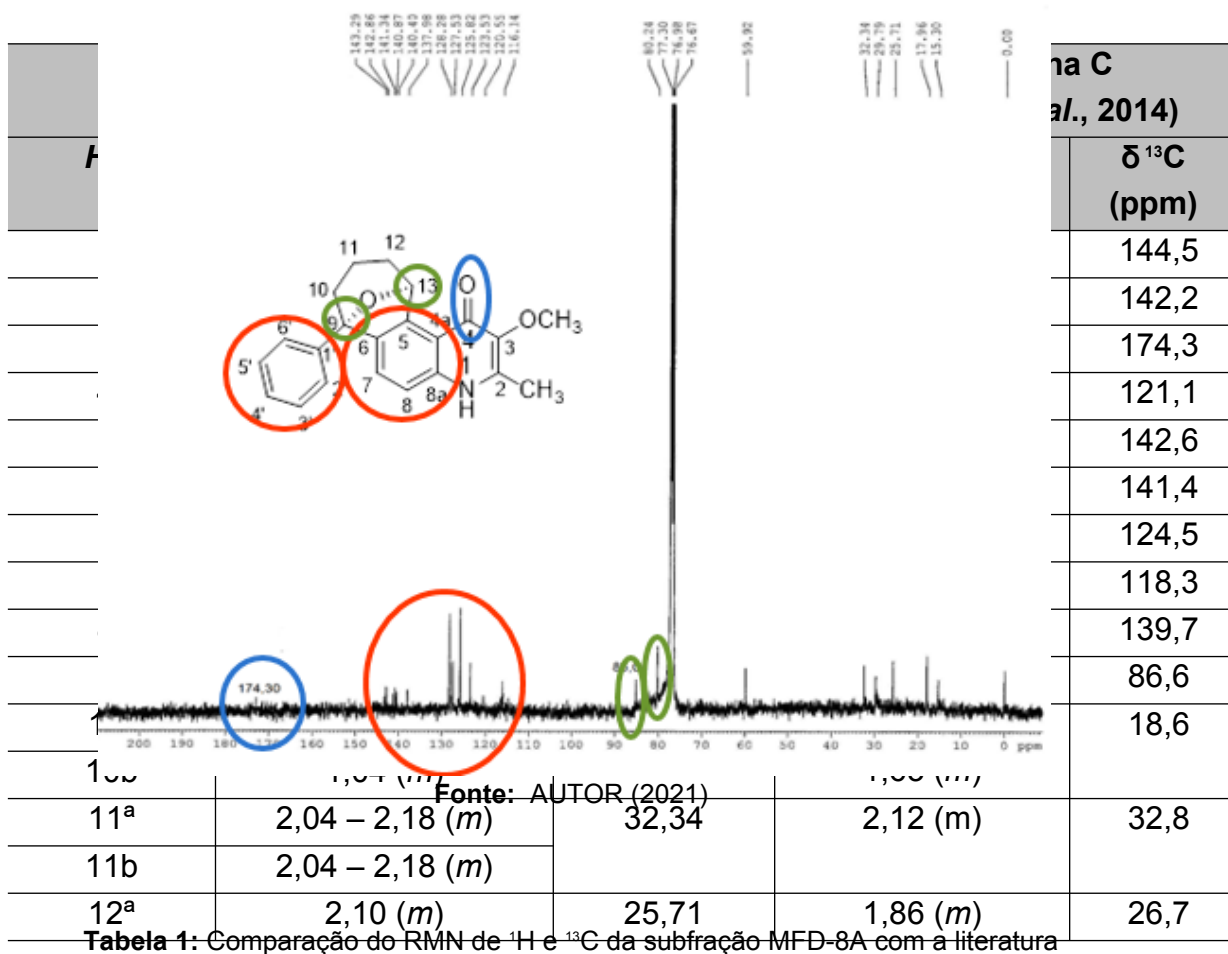


Tabela 1: Comparação do RMN de ^1H e ^{13}C da subfração MFD-8A com a literatura

Fonte: JADULCO et al. (2014)

12b	1,92 (m)		2,02 (m)	
13	6,41 (d; 3,0)	80,24	6,30 (d; 2,5)	81,3
1'	-	143,29		143,4
2'	7,55 (m)	125,82	7,51 (d; 8,0)	126,9
3'	7,40 (m)	128,28	7,37 (d; 8,0)	129,1
4'	7,32 (m)	127,53	7,30 (d; 8,0)	128,6
5'	7,40 (m)	128,28	7,37 (d; 8,0)	129,1
6'	7,55 (m)	125,82	7,51 (d; 8,0)	126,9
2-C-CH ₃	2,46 (s)	15,30	2,46 (s)	14,6
3-O-CH ₃	3,92 (s)	59,92	3,82 (s)	60,4
2'-OCH ₃	-	-	-	-
N-H	8,29 (s)	-		-
9-OH	-	-	-	-

2.2.2.2 Identificação da 10-hidróxi-waltheriona C

A subfração MFD-8B (10 mg) foi analisada por CCD e revelou uma única banda na presença do reagente Dragendorff, indicando que a mesma se tratava um alcaloide isolado.

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C da subfração MFD-8B estão ilustrados nas figuras 17 a 23. O espectro de RMN de ¹H de MFD-8B apresentou sinais característicos do núcleo quinolônico característicos das waltherionas, sendo estes, os sinais integrando para três hidrogênios em δ 3,74 e δ 2,37 (figura 20) referentes à metoxila na posição 3 e a metila ligada ao carbono C-2 sp² respectivamente, e um sinal de simpleto largo em δ 11,62 (figura 17) referente ao N-H. Observou-se ainda sinais entre δ 0,60 – 2,00 (figura 20) característicos dos hidrogênios metilênicos diasterotópicos do anel de sete membros do esqueleto estrutural das waltherionas.

Na região dos hidrogênios aromáticos verificou-se três sinais de multipletos entre δ 7,29 – 7,72 (figura 18) característicos de anel aromático monossustituído e dois sinais dupletos acoplado em orto ($J = 8,8$ Hz) em δ 7,34 e δ 7,42 (figura 18) sobrepostos com sinais do anel aromático monossustituído, sendo possível identificar os hidrogênios H-7 e H-8 das waltherionas, respectivamente. Observou-se ainda na região de hidrogênios aromáticos um sinal de dupletos em δ 6,07 ($J = 3$ Hz). Por fim, verifica-se ainda

no espectro de RMN de ^1H um sinal de duplo-duplo-duplete em δ 4,00 e um duplete em δ 4,97 (figura 19).

Através da análise do espectro de HSQC (figura 21) observou-se a correlação dos sinais de hidrogênio em δ 6,07 e δ 4,00 com os sinais de carbono em δ 77,90 e δ 68,00; respectivamente, sendo possível concluir que estes hidrogênios são oxi-metínicos. O sinal de duplete referente ao hidrogênio em δ 4,97 não apresentou correlação com qualquer sinal de carbono neste espectro, sugerindo-se que este se trata de uma hidroxila.

Observou-se ainda no espectro de HSQC dois grupos de hidrogênios metilênicos diastereotópicos. Os hidrogênios que ressonam em δ 0,60 e δ 1,72 estão diretamente ligados ao carbono que ressona em δ 27,82, enquanto que os hidrogênios que ressonam em δ 2,00 e δ 1,72 estão diretamente ligados ao carbono que ressona em δ 26,26. O sinal de hidrogênio em δ 1,72 correlaciona-se com os dois sinais de carbono metilênico, de modo que é possível afirmar, juntamente com a integração dos sinais no espectro de RMN de ^1H , que este sinal refere-se a dois hidrogênios.

Os dados observados no espectro de HMBC (figura 22) foram fundamentais para a elucidação completa da estrutura do alcaloide presente na subfração MFD-8B:

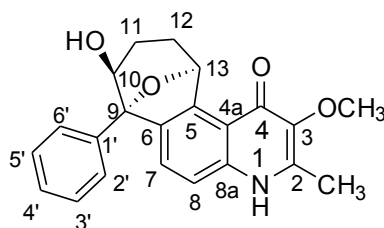
- ✓ O sinal de duplete em δ 7,42 apresentou correlação com os sinais de carbono em δ 142 (C-8a) e δ 120 (C-4a), sendo possível atribuir esse hidrogênio a posição 8;
- ✓ O sinal de duplete em δ 7,34 apresentou correlação com os sinais de carbono em δ 140,15 (C-5) e 86,72 (C-9), sendo possível atribuir esse hidrogênio a posição 7, bem como confirmar que a ponte éter encontra-se entre os carbonos 9 e 13;
- ✓ O multiplete integrando para dois hidrogênios em δ 7,70 apresentou correlação com os sinais de carbono em δ 143, 72 (atribuído a C-1') e δ 86,72 (C-9), sendo este multiplete atribuído aos hidrogênios equivalentes nas posições 2' e 6';
- ✓ O sinal de duplete em δ 6,07 referente ao hidrogênio oxi-metílico apresentou correlação com os sinais de carbono em δ 27,82 (C-11), 86,72 (C-9), δ 68,0 (C-10) e δ 140,15 (C-5), sendo esta última correlação importante para confirmar este hidrogênio na posição 13;

- ✓ O sinal de duplo-duplo-duplete em δ 4,00 apresentou correlação com os sinais de carbono em δ 86,72 (C-9), δ 136,82 (atribuído a C-6) e δ 143,72 (C-1'), confirmando assim que este hidrogênio se encontra na posição 10;
- ✓ O sinal de hidrogênio hidroxílico em δ 4,97 apresentou correlação com os sinais de carbono em δ 86,72 (C-9) e δ 68,0 (C-10) confirmando a hidroxila nesta posição.
- ✓ O sinal de hidrogênio ligado ao nitrogênio em δ 11,60 apresentou correlação com o sinal de com os sinais de carbono em δ 142,0 (C-8a), δ 120,0 (C-4a), 140,15 (C-2) e 138,72 (C-3).

O espectro de RMN de ^{13}C (figura 23) de MFD-8B obtido em MeOD apresentou 20 sinais de carbono, sendo dois destes dobrados, confirmando a presença de 22 carbonos na estrutura de MFD-8B. Observou-se diferenças entre os deslocamentos de ^{13}C obtidos no experimento de RMN de ^{13}C em MeOD com relação aos deslocamentos obtidos através das projeções dos experimentos de HSQC e HMBC em DMSO- d_6 , entretanto, foi possível atribuir os dados obtidos em MeOD para todos os carbonos através de comparações.

O espectro de massas (figura 24) de MFD-8B (ESI, modo positivo) apresentou o pico íon *pseudo*-molecular $[\text{M} + \text{H}^+]$ 364, compatível com a fórmula molecular $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{O}_4\text{N}$, confirmando a estrutura proposta para MFD-8B proposta exclusivamente por dados de RMN de ^1H e ^{13}C (1D e 2D). Assim, com base na análise e interpretação de todos os dados espectrais obtidos, foi possível elucidar inequivocamente a estrutura de MFD-8B como sendo a 10-hidróxi-waltheriona C após a análise dos dados espectrais e comparação com a literatura (CRETTON *et al.*, 2020).

Figura 15: Estrutura da 10-hidróxi-waltheriona C.



Fonte: AUTOR (2021)

Por ter uma estrutura química muito similar à waltheriona C, é possível fazer a comparação entre esses alcaloides (figura 16) a fim de auxiliar na

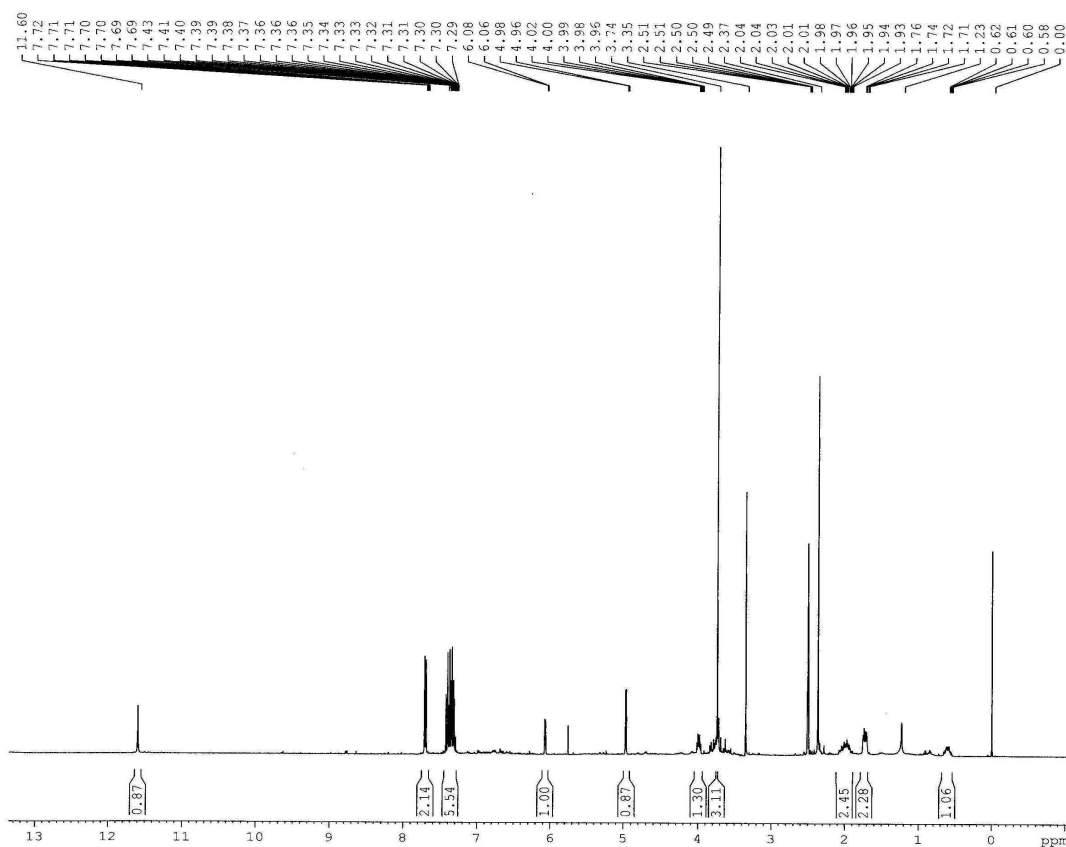
determinação estrutural da 10-hidróxi-waltheriona C. Esses dados de RMN de

Posição	10-hidróxi-waltheriona C (400/100 MHz, DMSO-d ₆)			waltheriona C (400/100 MHz, CDCl ₃)	
	$\delta^1\text{H}$ (ppm)	$\delta^{13}\text{C}^*$	HMBC	$\delta^1\text{H}$	$\delta^{13}\text{C}$
2	0,60	27,82		2,04 - 2,18	32,34
3	1,72	27,82		2,04 - 2,18	32,34
4	2,00	26,26		2,10 (m)	25,71
4 ^a	1,72 (m)	143,72		1,92 (m)	143,29
5	6,07 (d; 3,0)	77,90	C-9, C-5, C-6, C-11	6,41 (d)	80,24
6	7,70 (m)	127,45	C-1', C-4' e C-9	7,55 (m)	125,82
7	7,32	127,83	C-2'; C-5'; C-1'		
8	7,34	125,37			
8 ^a	7,42	118,93			
9	-	86,72		-	85,04
10	4,00 (ddd; 3, 4, 6)	68,00	C-9; C-5', C-1'	1,60 (m)	17,96
Tabela 2: Comparação do RMN de ¹ H e ¹³ C da 10-hidróxi-waltheriona C e waltheriona C					
11a	1,72 (m)	27,82		2,04 - 2,18	32,34
11b	0,60 (m)			2,04 - 2,18	
12a	2,00 (m)			2,10 (m)	25,71
12b	1,72 (m)			1,92 (m)	
13	6,07 (d; 3,0)	77,90	C-9, C-5, C-6, C-11	6,41 (d)	80,24
1'	-	143,72		-	143,29
2'	7,70 (m)	127,45	C-1', C-4' e C-9	7,55 (m)	125,82
			C-2'; C-5'; C-1'		

3'	7,45 (m)	127,45		7,40 (m)	128,28
4'	7,32 (m)	125,37	C-2'; C-3'	7,32 (m)	127,53
5'	7,45 (m)	127,45	C-2'; C-5'; C-1'	7,40 (m)	128,28
6'	7,70 (m)	127,45	C-1', C-4' e C-9	7,50 (m)	125,82
2-C- CH ₃	2,37 (s)	14,26	C-3	2,46 (s)	15,30
3-O- CH ₃	3,74 (s)	58,77	C-2'	3,92 (s)	59,92
N-H	11,61 (s)	-	C-8 ^a , C-4 ^a , C-2, C-3, C-8	NO* ³	-
10-OH	4,97 (d; J = 4)		C-9, C-10	5,10 (s)	-

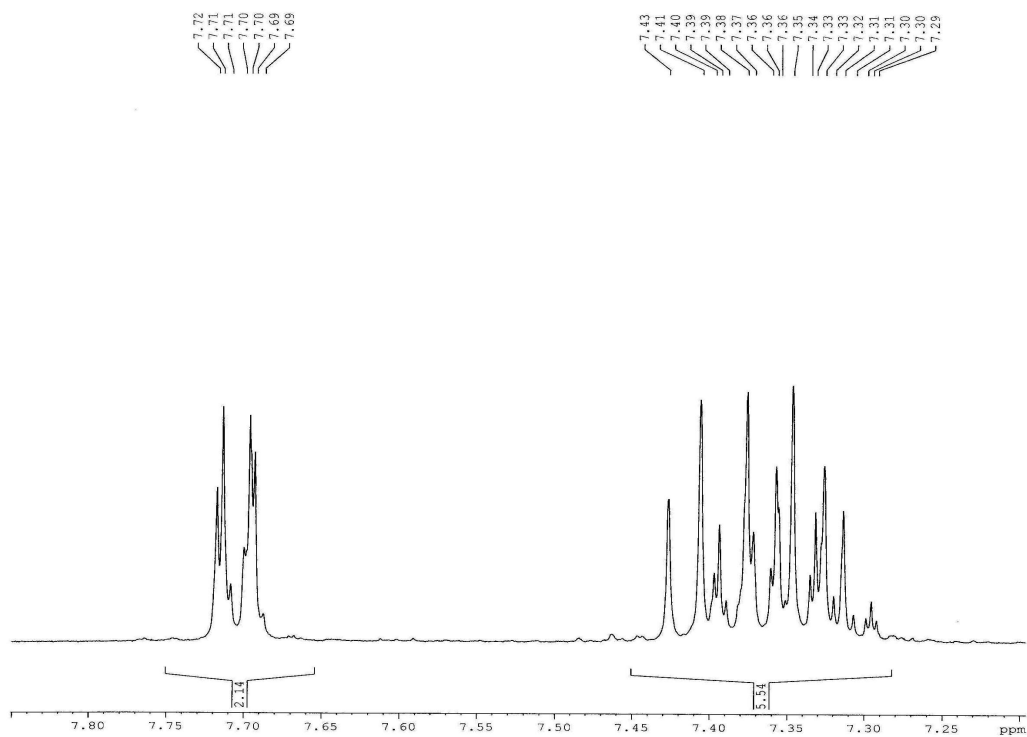
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 17: Espectro de RMN de ¹H da subfração MFD-8B (DMSO-d₆; 400MHz)



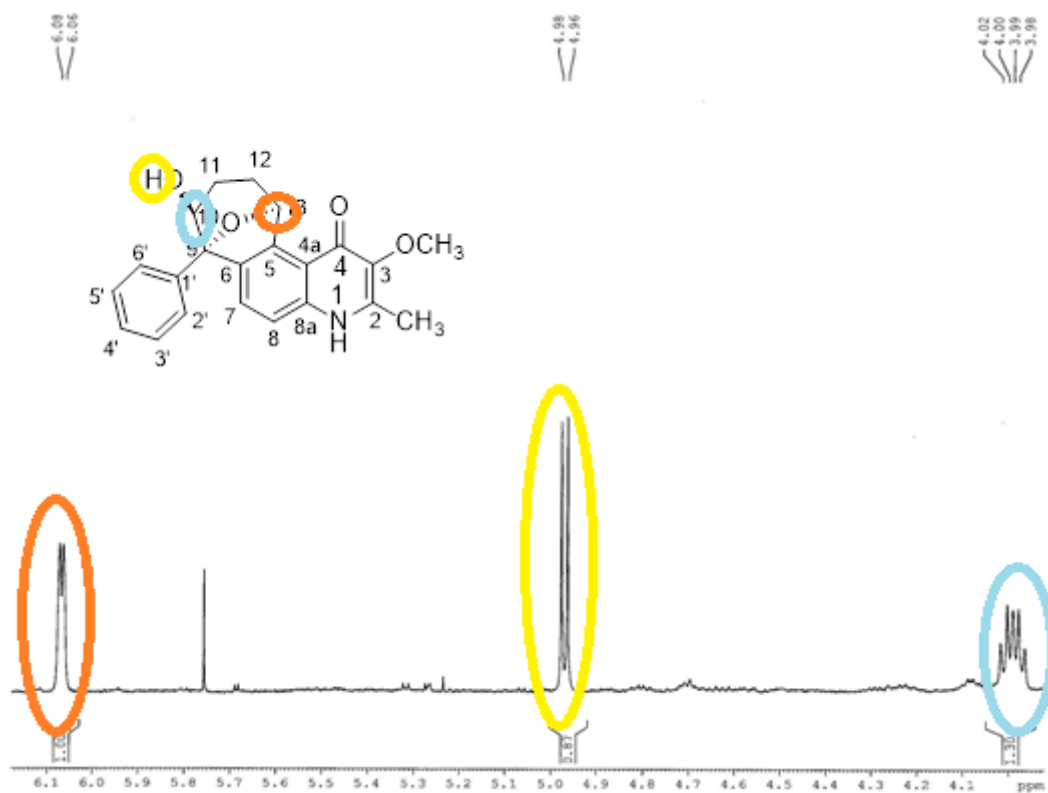
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 18: Espectro de RMN de ¹H da subfração MFD-8B ampliado (δ 7,25-7,80 ppm)



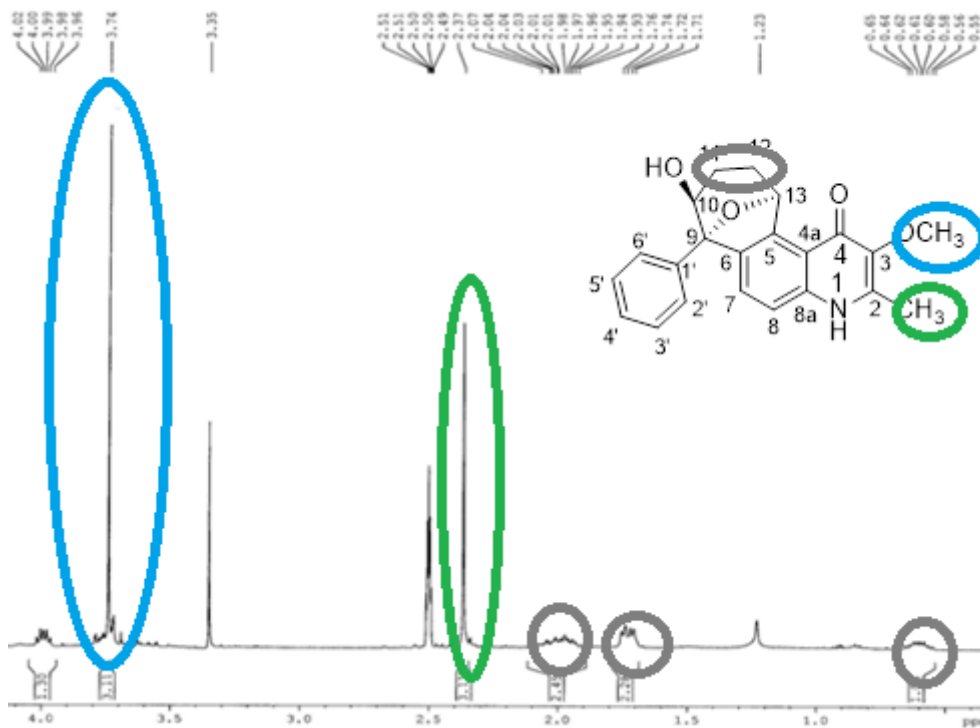
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 19: Espectro de RMN de ^1H da subfração MFD-8B ampliado (δ 4,0-6,1 ppm)



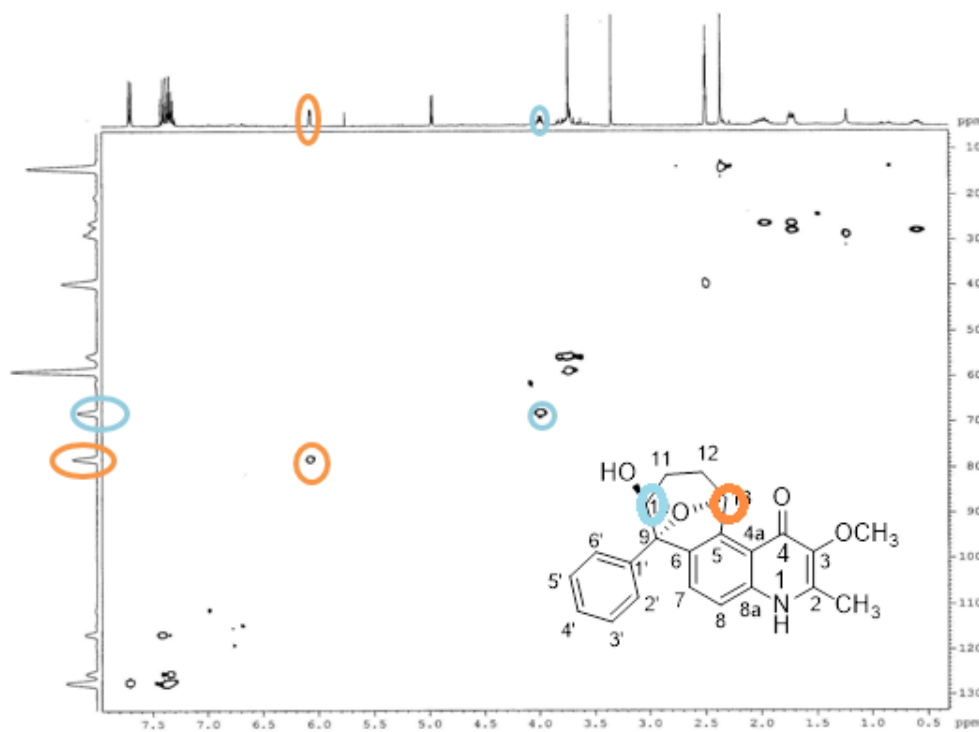
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 20: Espectro de RMN de ^1H da subfração MFD-8B ampliado (δ 0,0-4,0 ppm)



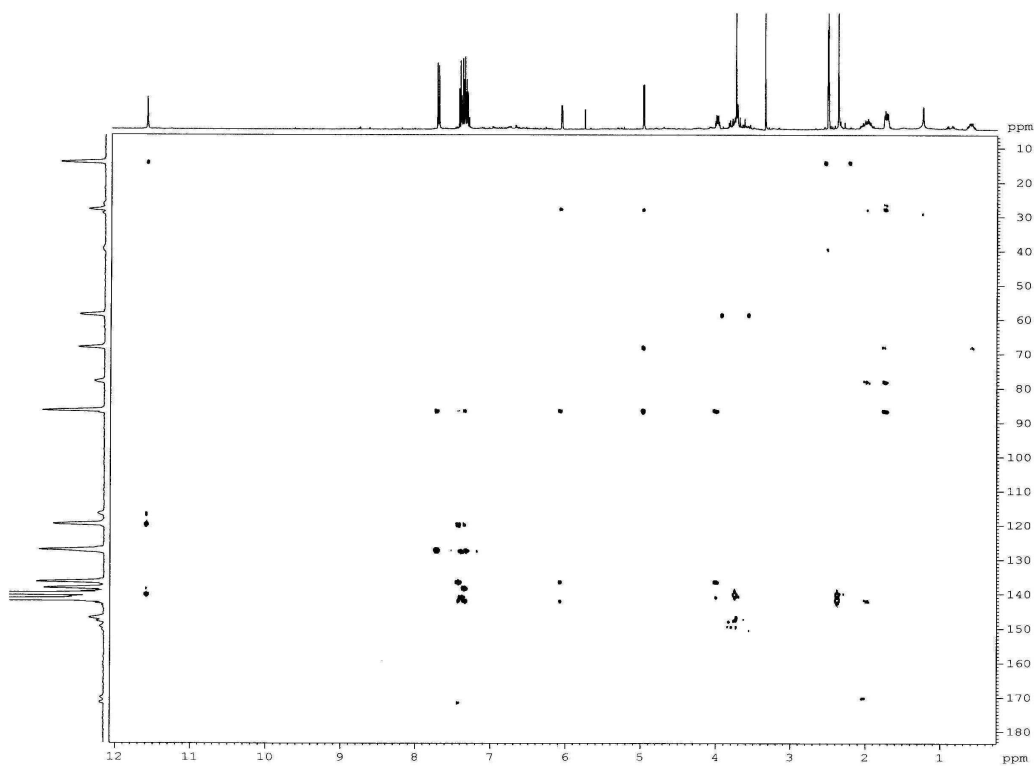
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 21: Espectro de HSQC da subfração MFD-8B (DMSO- d_6 ; 400/100 MHz, $^1H/^{13}C$)



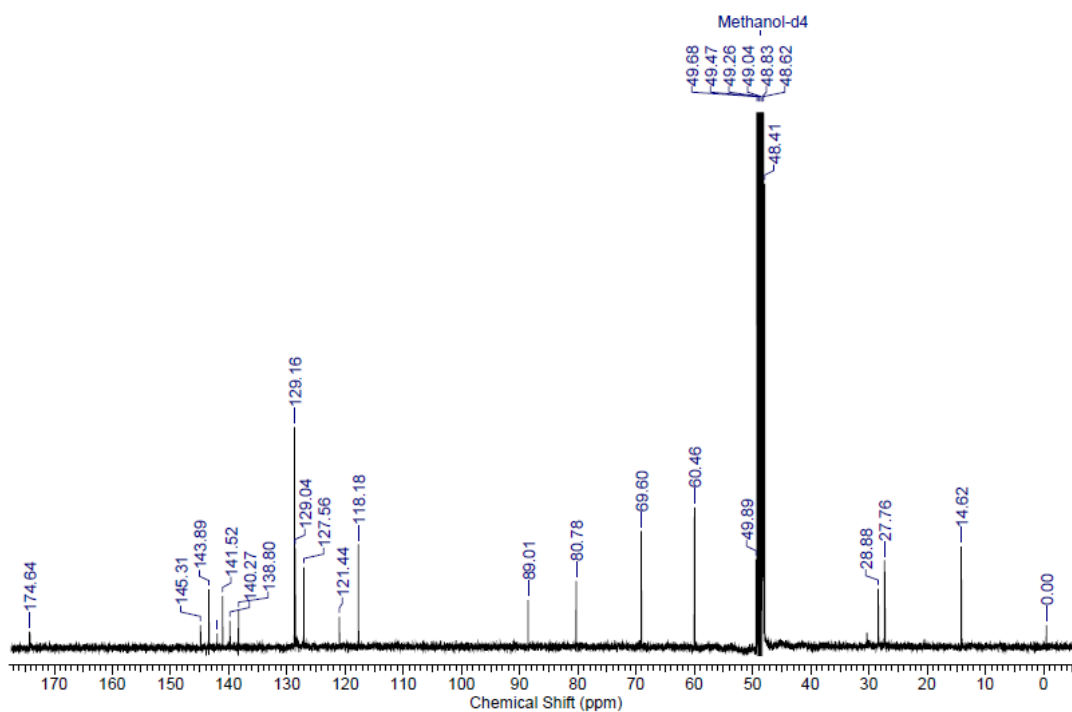
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 22: Espectro de HMBC da subfração MFD-8B (DMSO- d_6 ; 400/100 MHz, $^1H/^{13}C$)



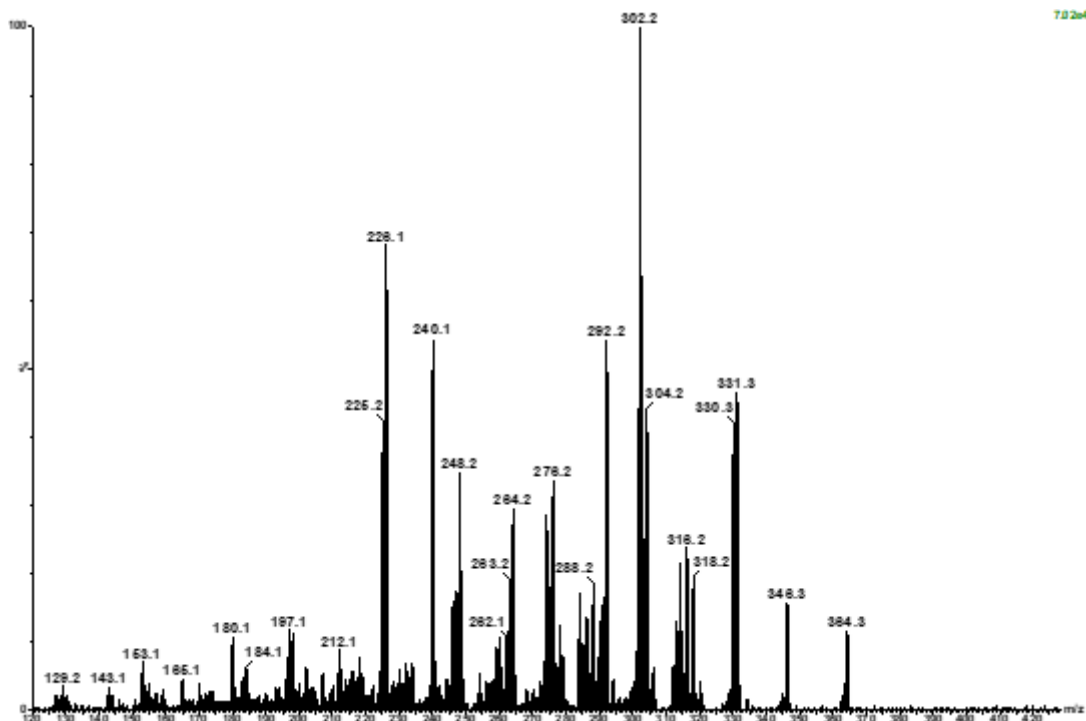
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 23: Espectro de RMN de ¹³C (BB) da subfração MFD-8B (MeOD; 100 MHz)



Fonte: AUTOR (2021)

Figura 24: Espectro de massas da subfração MFD-8B (ESI, modo positivo)



Fonte: AUTOR (2021)

2.2.2.3 Identificação da 2-hidróxi-metil-waltheriona C

A subfração MFD-8C (290 mg) foi analisada por CCD e revelou uma única banda na presença do reagente Dragendorff, indicando que a mesma se tratava um alcaloide isolado.

Os dados de RMN de ^1H foram comparados com a literatura (CRETTON *et al.*, 2020) e estão disponíveis na tabela 3.

O espectro de RMN de ^1H (figura 26) de MFD-8C apresentou sinais característicos das waltherionas ciclizadas, sendo possível observar os sinais dos hidrogênios metilênicos diastereotópicos em δ 1,66 e δ 1,00 (posição 11) e δ 2,05 e δ 1,86 (posição 12), estes pares confirmados através da análise do espectro de HSQC (figura 27), cujos acoplamentos são confirmados pelo espectro de COSY (figura 28). Observou-se o sinal de hidrogênio oxi-metínico em δ 6,31 (H-13), sendo confirmado pela análise do HSQC, através da correlação deste hidrogênio com o sinal de carbono em δ 81,2, sendo assim possível concluir que o biciclo [3.2.1] possui a ponte éter entre os carbonos 9 e 13.

Foram observados ainda neste experimento os dois sinais de duplete em δ 7,11 e δ 7,62, cujo acoplamento em orto é confirmado pela constante de

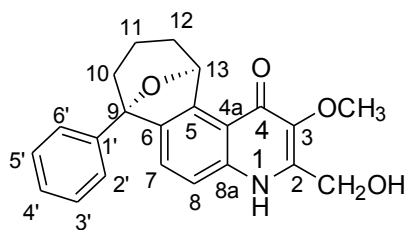
Posição	MFD-8C CDCl ₃ 400 MHz	Literatura* CDCl ₃ 400 MHz (CRETTON <i>et al.</i> , 2020)
C	δ ¹ H (ppm)	δ ¹ H (ppm)

entretanto não foi observado o sinal da metila em C2, comum às demais walterionas; ao passo que um sinal adicional em δ 4,86 integrando para dois hidrogênios foi sugestivo da presença do grupo hidróxi-metilíco em C2.

O espectro de massas de alta resolução (ESI, modo positivo) de MFD-8C apresentou o íon *pseudo*-molecular [M + H]⁺ 364,1554 compatível com a fórmula molecular C₂₂H₂₁O₄N. Esse espectro está na figura 29.

Através da análise e interpretação dos dados de RMN de ¹H (1D e 2D) e EM foi possível identificar, inequivocamente, a estrutura de MFD-8C como sendo o alcaloide 2-hidróxi-metil-walteriona C (figura 25). Este alcaloide foi reportado pela primeira vez em 2020, através do trabalho de Cretton e colaboradores com a espécie *Waltheria indica* (CRETTON *et al.*, 2020). Sendo assim, este alcaloide está sendo reportado pela primeira vez no gênero *Melochia*.

Figura 25: Estrutura da 2-hidróxi-metil-walteriona C.



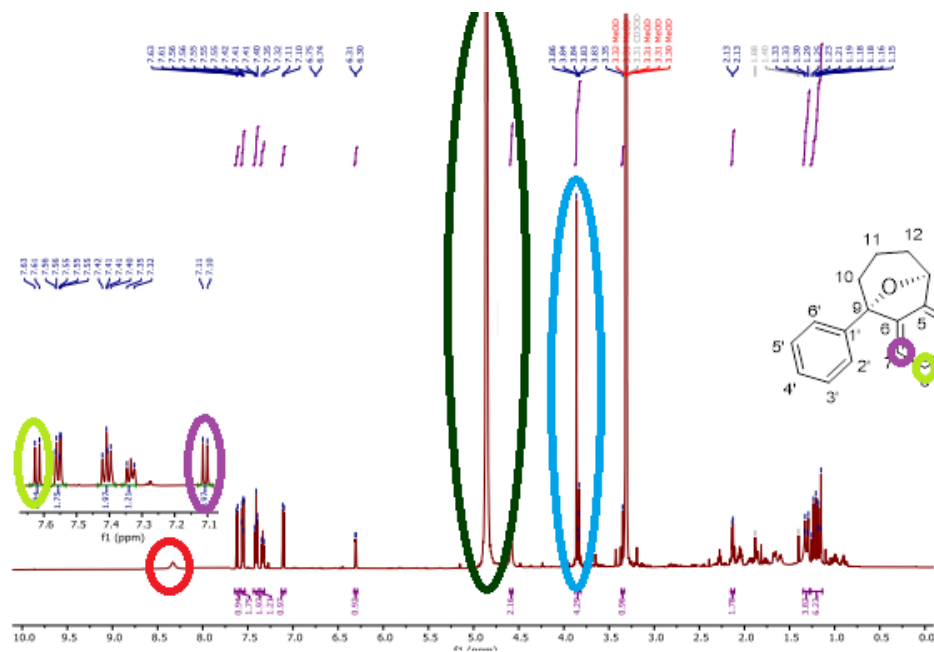
Fonte: AUTOR (2021)

6	-	-
7	7,11 (<i>d</i> , 8,4 Hz)	7,11 (<i>d</i> , 8,4 Hz)
8	7,60 (<i>d</i> , 8,4 Hz)	7,62 (<i>d</i> , 8,4 Hz)
8 ^a		
9		
10	2,10 (<i>m</i>)	2,12(<i>m</i>)
11a	1,65 (<i>m</i>)	1,65 (<i>m</i>)
11b	100 (<i>m</i>)	100 (<i>m</i>)
12a	2,01 (<i>m</i>)	2,03 (<i>m</i>)
12b	1,85 (<i>m</i>)	1,85 (<i>m</i>)
13	6,28 (<i>d</i> ;3, Hz)	6,31 (<i>d</i> ;3, Hz)
1'	-	-
2'	7,55	7,56
3'	7,40	7,41
4'	7,35	7,33
5'	7,39	7,41
6'	7,54	7,56
2C-Me	-	-
2-C_CH2OH	4,86	4,86
C3-OCH ₃	3,86 (<i>s</i>)	3,86 (<i>s</i>)

Tabela 3: Comparação do RMN de ¹H da subfração MFD-8C com a literatura

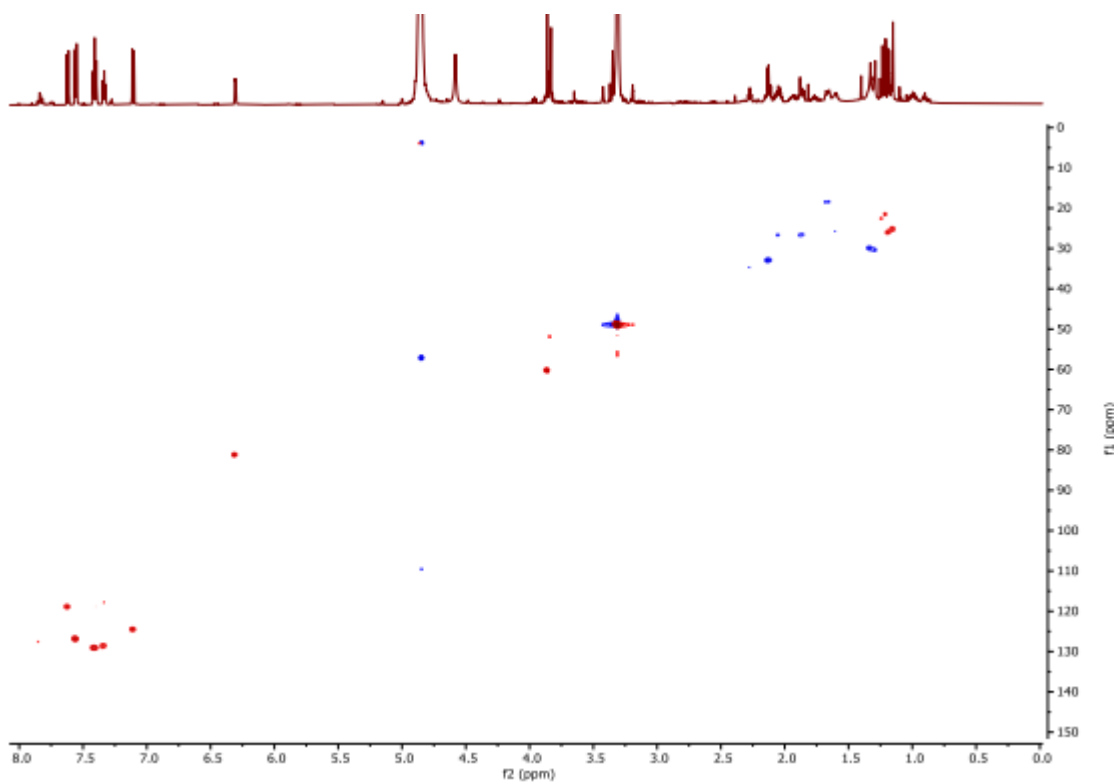
Fonte: CRETTON *et al.*, 2020

Figura 26: Espectro de RMN de ^1H da subfração MFD-8C (400 MHz; MeOD)



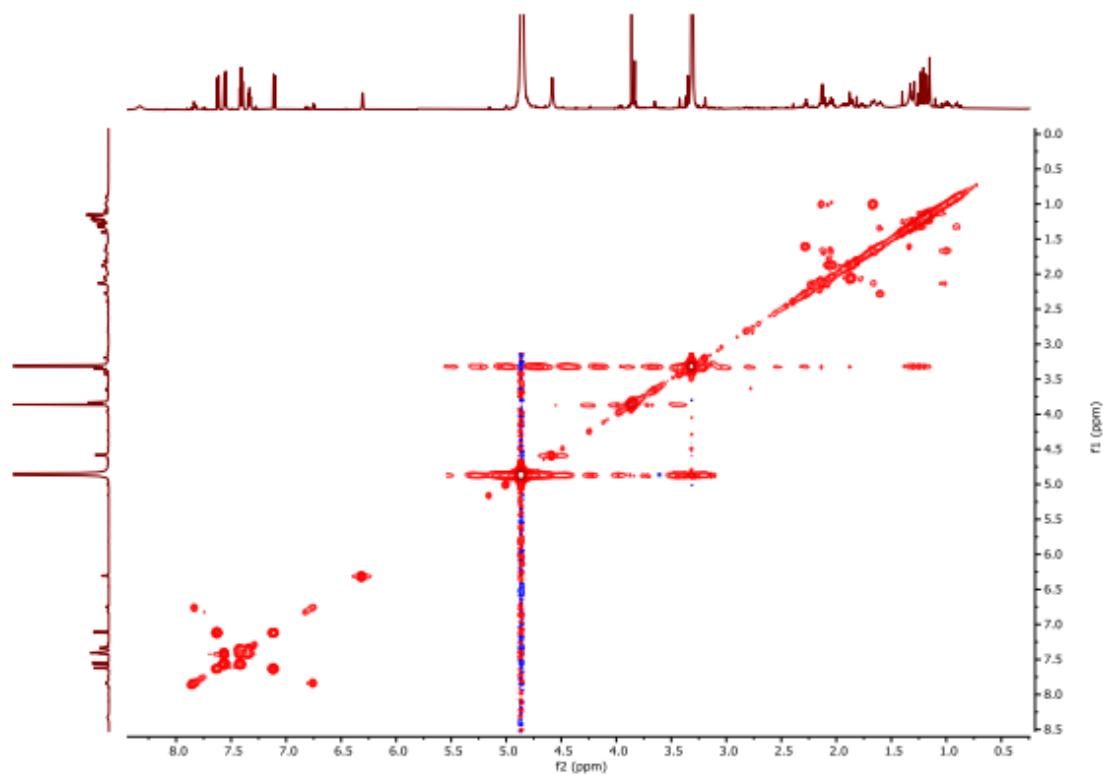
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 27: Espectro de HSQC da subfração MFD-8C (MeOD; 400/100 MHz, $^1\text{H}/^{13}\text{C}$)



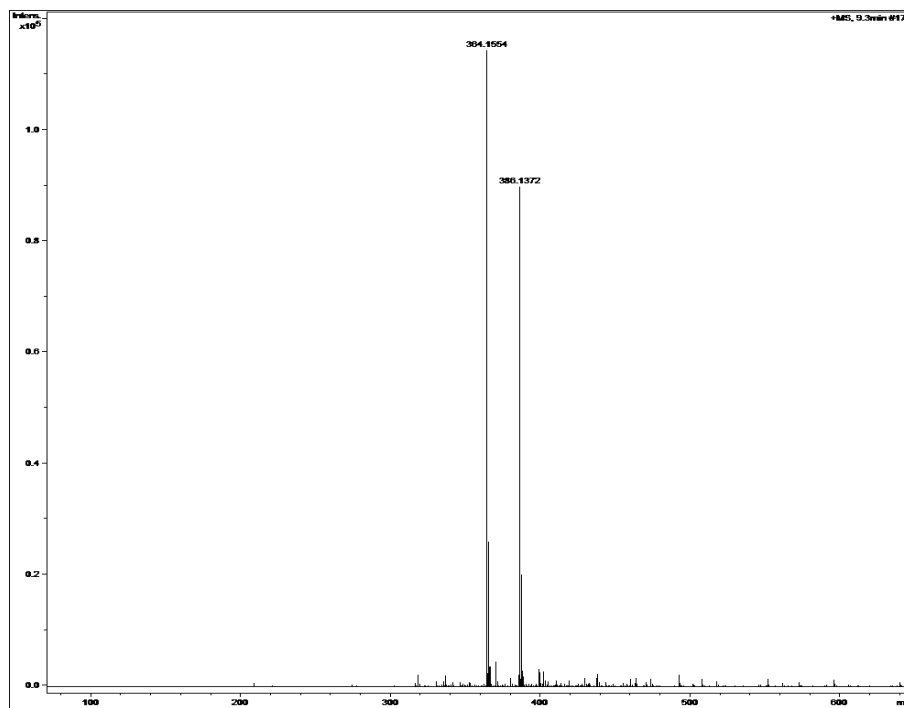
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 28: Espectro de COSY [$^1\text{H} \times ^1\text{H}$] da subfração MFD-8C (400 MHz; MeOD)



Fonte: AUTOR (2021)

Figura 29: Espectro de Massas de alta resolução da subfração MFD-8C (TOF, modo positivo)



Fonte: (AUTOR, 2021)

2.2.2.4 Identificação da poliasanina B

A subfração MFD-8D (200 mg) foi analisada por CCD e revelou uma única banda na presença do reagente Dragendorff, indicando que a mesma se tratava um alcaloide isolado.

O espectro de RMN de ^1H de MFD-8D (figura 31) apresentou sinais característicos das walthersonas ciclizadas, como os sinais dos hidrogênios do biciclo [3.2.1] referentes aos hidrogênios metilênicos diasterotópicos entre δ 1,95 e δ 2,45 (figura 34) e os sinais de dois hidrogênios oxi-metílicos em δ 5,92 (*d*, $J = 6,0$ Hz) (figura 31) e δ 4,69 (*dd*; 7,6; 1,5) (figura 33), que caracterizaram, portanto, que a ponte éter do biciclo [3.2.1] encontra-se entre os carbonos 10 e 13, como ocorre nas walthersonas A e B (GRESSLER *et al.*, 2008).

Na região de hidrogênios aromáticos verificou-se seis sinais de hidrogênios, sendo dois dupletos em δ 7,49 e δ 7,53 acoplando em orto devido a constante J de 8 Hz; e quatro sinais de hidrogênio entre δ 6,40 e δ 7,20 característicos de um anel aromático orto-dissubstituído (figura 32).

No espectro de RMN de ^1H de MFD-8D não se verificou o sinal referente ao N-H, e nem o sinal de simpleto integrando para três hidrogênios referente à metoxila ligada em C-3, apenas o sinal característico de metila ligada ao C-2, observado em δ 2,42 (figura 34), o que sustenta a ideia de uma modificação no núcleo da quinolona.

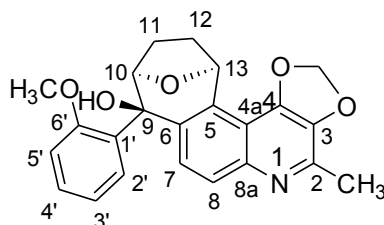
Para corroborar a hipótese de modificação no núcleo quinolônico, o espectro de RMN de ^{13}C (figura 35) foi fundamental, uma vez que neste espectro não foi observado o sinal característico da carbonila conjugada na faixa de δ 174; ao passo que foi observado um sinal adicional no espectro de RMN de ^{13}C em δ 102,4, sendo possível propor a presença de um grupo metileno-dioxi entre as posições 3 e 4 deste composto, tendo em vista também, o sinal característico de simpleto em δ 6,26 (2H) (figura 32), observado no espectro de RMN de ^1H .

O espectro de RMN de ^{13}C de MFD-8D apresentou ainda sinais de carbonos aromáticos, os dois sinais de carbonos metilênicos em δ 34,28 e δ 22,41 referentes às posições 11 e 12 respectivamente; além dos sinais de carbono oxi-metínico em δ 80,27; 78,31 e δ 75,79 referentes aos carbonos oxigenados do anel biciclo [3.2.1], assim como ocorre na estrutura da

waltheriona A, sendo o sinal em δ 78,31 atribuído ao carbono C-9 com a presença de uma hidroxila nesta posição, após comparação cuidadosa dos dados de RMN de ^1H ^{13}C de MFD-8D com os respectivos dados da waltheriona A (HOELZEL *et.al.*, 2005), o que nos possibilitou propor de forma inequívoca a similaridade da estrutura de MFD-8D com a waltheriona A, com exceção ao núcleo quinolônico, uma vez que em MFD-8D não temos a metoxila a posição C-3 e nem a carbonila em C-4, confirmando então a substituição da carbonila e da metoxila pelo grupo metilenodióxido no anel quinolínico.

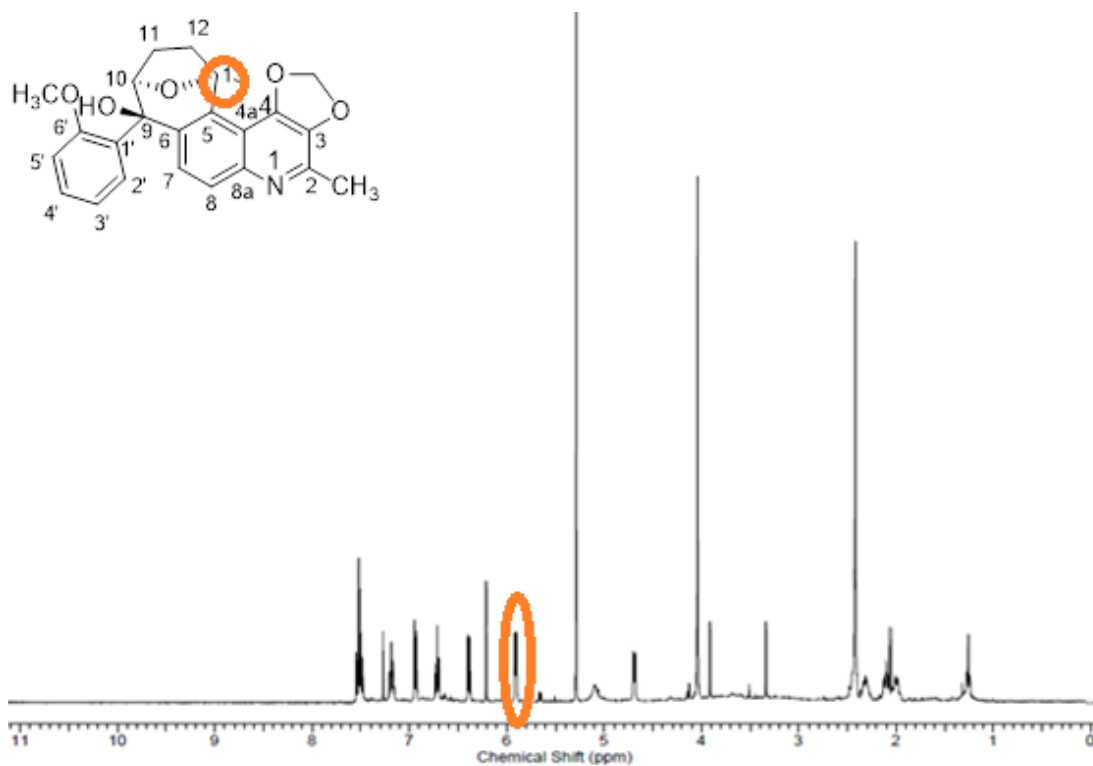
A análise e interpretação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C (1D) e comparação com dados da literatura (HOELZEL *et.al.*, 2005; RAHIM *et al.*, 2020) (tabela 4) permitiram a identificação inequívoca da substância MFD-8D como sendo a paliasanina B (figura 30), sendo este alcaloide relatado em 2020 a partir de *Melochia umbellata*, portanto, esse é o segundo relato de ocorrência deste alcaloide no gênero *Melochia*.

Figura 30: Estrutura da poliasanina B.



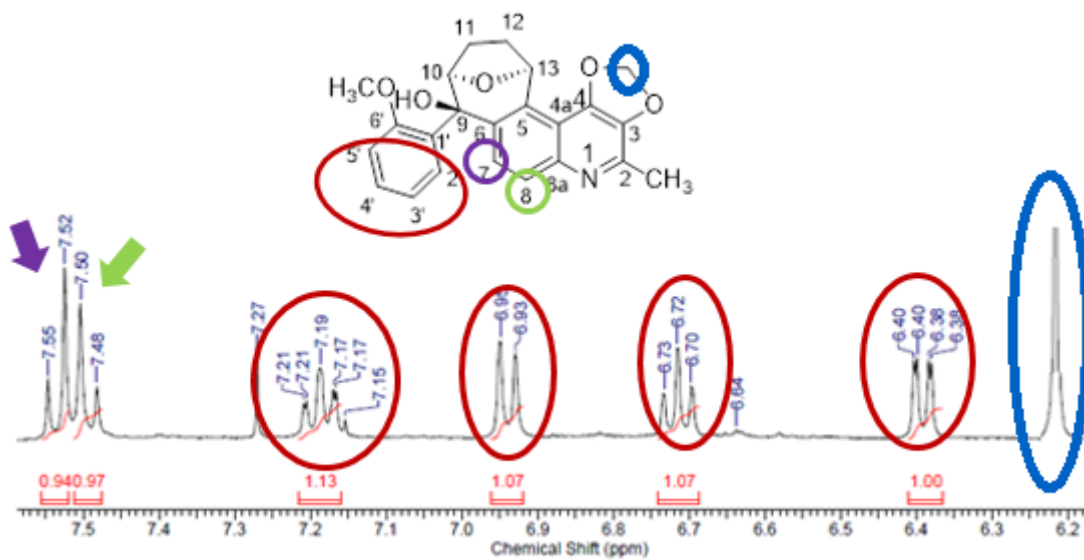
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 31: Espectro de RMN ^1H da subfração MFD-8D (CDCl_3 ; 400MHz)



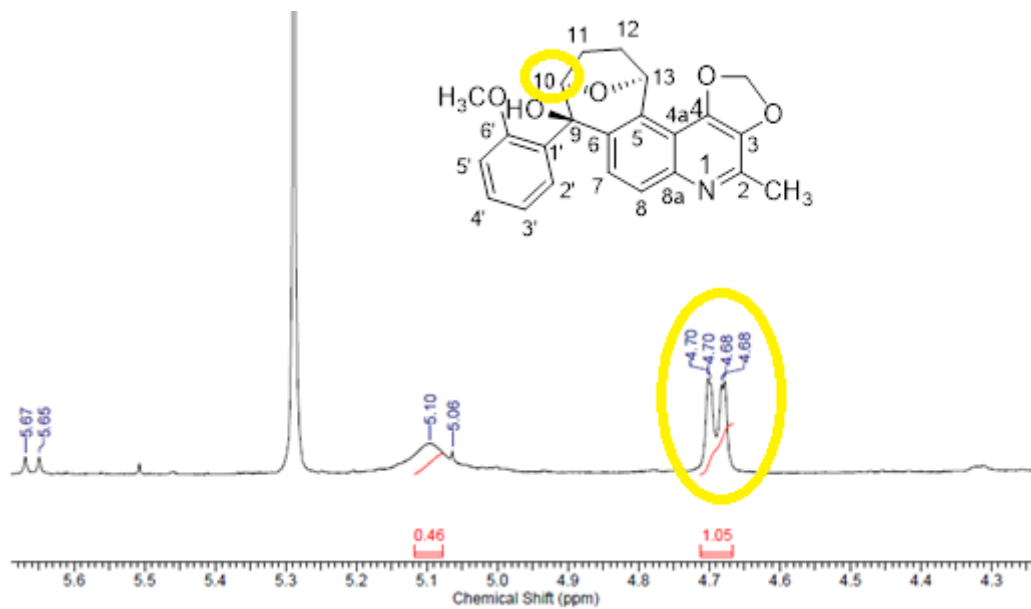
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 32: Espectro de RMN de ^1H da subfração MFD-8D ampliado (δ 6,2-7,5 ppm)



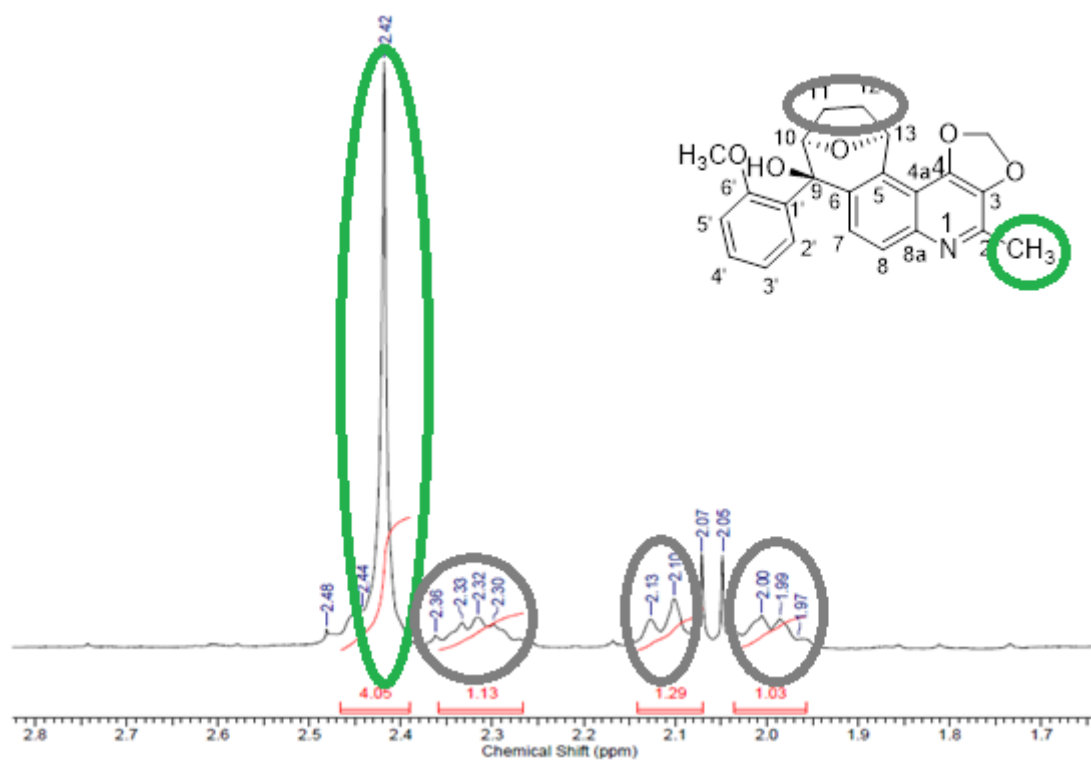
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 33: Espectro de RMN de ^1H da subfração MFD-8D ampliado (δ 4,3-5,6 ppm)



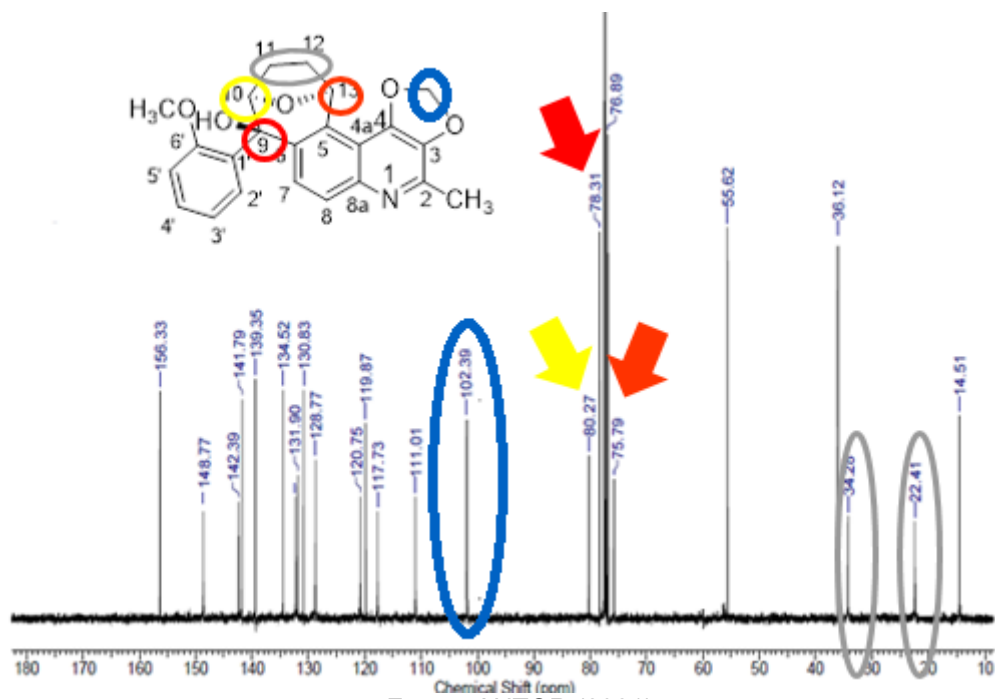
Fonte: AUTOR (2021)

Figura 34: Espectro de RMN de ^1H da subfração MFD-8D ampliado (δ 1,7-2,8 ppm)



Fonte: AUTOR (2021)

Figura 35: Espectro de RMN de ^{13}C da subfração MFD-8D (CDCl_3 ; 100MHz)



Fonte: AUTOR (2021)

Tabela 4: Comparação do RMN de ^1H e ^{13}C da subfração MFD-8D com a literatura

Posição	MFD-8D (400 MHz, CDCl_3)		paliasanina B (RAHIM <i>et al.</i> , 2020) (600 MHz, CDCl_3)	
	δ ^1H (ppm) <i>J</i> (Hz)	δ ^{13}C (ppm)	δ ^1H (ppm) <i>J</i> (Hz)	δ ^{13}C (ppm)
2	-	141,79	-	143,5
3	-	139,35	-	140,3
4	-	148,77	-	148,5
4a	-	119,87	-	110,92
5	-	141,79	-	134,2
6	-	130,83	-	133,0
7	7,53 (<i>d</i> ; 8,0)	131,90	7,59 (<i>d</i> ; 8,6)	128,7
8	7,49 (<i>d</i> ; 8,0)	117,73	7,86 (<i>d</i> ; 8,6)	128,3
8 ^a	-	142,39	-	145,5
9	-	78,31	-	78,0
10	4,69 (<i>dd</i> ; 7,6; 1,5)	80,27	4,77 (<i>dd</i> ; 7,9; 2,1)	80,7
11 ^a	2,33 (<i>m</i>)	22,41	2,07 (<i>m</i>)	22,6
11b	2,09 (<i>m</i>)		2,49 (<i>m</i>)	
12 ^a	2,43 (<i>m</i>)	34,28	1,98 (<i>t</i> ; 10,3)	33,9
12b	2,00 (<i>m</i>)		2,22 (<i>m</i>)	
13	5,92 (<i>d</i> ; 6,0)	75,79	5,92 (<i>d</i> ; 6,2)	75,1
1'	-	134,52	-	133,9
2'	-	156,33	-	156,3
3'	6,94 (<i>dd</i> ; 8,0; 1,2)	111,01	6,99 (<i>d</i> ; 8,3)	110,97
4'	7,20 (<i>t</i>)	128,77	7,24 (<i>ddd</i> ; 8,3; 7,4; 1,4)	128,8
5'	6,73 (<i>t</i>)	120,75	6,76 (<i>ddd</i> ; 7,7; 7,4; 1,4)	120,9
6'	6,41 (<i>dd</i> ; 8,0;2,0)	131,70	6,39 (<i>dd</i> ; 7,7; 1,4)	131,8
2-C- CH_3	2,42 (<i>s</i>)	14,51	2,66 (<i>s</i>)	19,3
2'- OCH_3	4,05 (<i>s</i>)	55,62	4,03 (<i>s</i>)	55,6
N-H	-	-	-	-
O- CH_2 -O	6,26 (<i>s</i> ,2H)	102,39	6,23 (<i>d</i> ; 18,4)	102,2
9-OH	5,10 (<i>s</i>)	-	5,11 (<i>s</i>)	-

Fonte: RAHIM *et al.*, 2020

3. CONCLUSÃO

Tendo como base as hipóteses iniciais do trabalho, é possível dizer que elas foram alcançadas, visto que alcaloides quinolônicos já descritos em outras espécies dos gêneros *Melochia* e *Waltheria* foram isolados também na planta de estudo, além de um alcaloide inédito dentro desse gênero.

Após a pesquisa com as folhas de *Melochia spicata*, foram isolados e identificados quatro alcaloides quinolônicos. Todos eles já foram descritos em outras espécies dos gêneros *Melochia* e *Waltheria*, sendo um alcaloide comumente reportado (waltheriona C), com atividades biológicas importantes já descritas anteriormente na literatura (CRETTON *et al.*, 2015; ERWIN *et al.*, 2014; JADULCO *et al.*, 2014), e os outros três menos comuns na literatura.

Entre esses três, a 2-hidróxi-metil-waltheriona C merece destaque, já que é o primeiro relato desse composto em plantas do gênero *Melochia*. Já a 10-hidróxi-waltheriona C e a poliasanina B foram descritas recentemente (CRETTON *et al.*, 2020; RAHIM *et al.*, 2020) e podem ser alvo de futuras pesquisas para verificar se possuem atividades biológicas.

Com os fatos expostos acima, pode-se dizer que os objetivos desse trabalho foram cumpridos e este auxilia para aumentar o conhecimento químico e quimiossistemático do gênero *Melochia*, além de contribuir para a bioprospecção de compostos naturais bioativos, tão importantes para criação de possíveis novos fármacos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. Z. **Plantas Medicinais**. 3. ed. Salvador-BA: EDUFBA, 2011.
- ATLAS OF FLORIDA PLANTS. *Melochia spicata*, 2020. Disponível em: <https://florida.plantatlas.usf.edu/Plant.aspx?id=2787&display=photos>. Acesso em: 17 nov. 2020.
- BRAGANÇA, L. A. R. **Plantas medicinais antidiabéticas: uma abordagem multidisciplinar**. Niterói: EDUFF, 1996.
- BRINGMANN, G. *et al.* Biosynthesis of antidesmone in cell cultures of *Antidesma Membranaceum* (Euphorbiaceae): An unprecedented class of glycine-derived alkaloids. **Journal of the American Chemical Society**, v. 122, n. 41, p. 9905–9910, 2000.
- CHASE, M. W. *et al.* An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 1, p. 1–20, 2016.
- CRETTON, S. *et al.* Antitrypanosomal quinoline alkaloids from the roots of *Waltheria indica*. **Journal of Natural products**, v. 77, n. 10, p. 2304-2311, 2014.
- CRETTON, S. *et al.* Chemical constituents from *Waltheria indica* exert in vitro activity against *Trypanosoma brucei* and *T. Cruzi*. **Fitoterapia**, v. 105, p. 55-60, 2015.
- CRETTON, S. *et al.* Antifungal Quinoline Alkaloids from *Waltheria indica*. **Journal of Natural Products**, v. 79, n. 2, p. 300-307, 2016.
- CRETTON, S. *et al.* Pyridine-4 (1 H)-one Alkaloids from *Waltheria indica* as Antitrypanosomatid Agents. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 11, p. 3363-3371, 2020.
- DEWICK, M. P. **Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach**. 3. ed. Nova Jersey: Wiley, 2009.
- DIAS, G. C. D. *et al.* Constituents of the roots of *Melochia chamaedrys*. **Phytochemistry**, Santa Maria, n. 68, p. 668-672, 2007.
- EMILE, A. *et al.* Bioassay-guided Isolation of Antifungal Alkaloids from *Melochia odorata*. **Phytotherapy Research**, Clément, n. 21, p. 398-400, 2007.
- ERWIN *et al.* Waltherione C and cleomiscosin from *Melochia umbellata* var. Degrabrata K. (Malvaceae), biosynthetic and chemotaxonomic significance. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 55, p. 358-361, 2014.
- ESTEVEZ, G. *Melochia*. **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em:

<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9103>. Acesso em: 20 ago. 2020.

GONÇALVEZ, V.M. *Melochia in Flora do Brasil 2020*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB594781>>. Acesso em: 20 mai. 2021

GRESSLER, V. *et al.* Quinolone alkaloids from *Waltheria douradinha*. **Phytochemistry**, Santa Maria, n.66, p. 994-998, 2008.

HENRIQUES, A.T.; KLEIN-JÚNIOR, L.C. Alcaloides: generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia do produto natural ao medicamento**, 1. ed. Porto alegre: Artmed, 2017.

HOELZEL, S. C. S. M. *et al.* An unusual quinolinone alkaloid from *Waltheria douradinha*. **Phytochemistry**, v. 66, n. 10, p. 1163–1167, 2005.

JADULCO, R.C. *et al.* 4Quinolone Alkaloids from *Melochia odorata*. **Journal of Natural products**, v. 77, n. 1, p. 183-187, 2014.

KAPADIA, J.G. *et al.* Melochinone, a novel quinolinone from *Melochia tomentosa*. **Journal of the American Chemical Society**, 12, p. 6814– 6819, 1975.

KAPADIA, G. J., SHUKLA, Y. N., BASAK, S. P. Melovinone, an open chain analogue of melochinona from *Melochia tomentosa*. **Phytochemistry**, Washington, v. 17, p. 1444-1445, 1978.

LIMA, M.M. *et al.* Acetylcholinesterase activity of alkaloids from the leaves of *Waltheria brachypetala*. **Planta Medica**. v. 75, p. 335 - 337, 2009.

MACIEL, M.A.M. *et al.* Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

RAHIM, A. *et al.* Paliasanines A–E, 3,4-Methylenedioxyquinoline Alkaloids Fused with a Phenyl-14-oxabicyclo[3.2.1]octane Unit from *Melochia umbellata* var. *deglabrata*. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 10, p. 2931-2939, 2020.

THE PLANT LIST. A working list of all plant species. Versão 1.1. 2013. Disponível em: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=melochia>. Acesso em: 20 ago. 2020.