

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS – UFAM

INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS – ICE

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA -DQ

JOSÉ GUILHERME CAVALCANTE FREITAS

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE ALCALOIDES
APORFINOIDES DE FRAÇÕES ALCALOÍDICAS DAS CASCAS DE *Guatteria*
olivacea (ANNONACEAE)

MANAUS – AM

2023

JOSÉ GUILHERME CAVALCANTE FREITAS

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE ALCALOIDES
APORFINOIDES DE FRAÇÕES ALCALOÍDICAS DAS CASCAS DE *Guatteria*
olivacea (ANNONACEAE)

Trabalho de conclusão de curso apresentado com
o objetivo de aprovação no curso de Bacharelado
em Química, no Instituto de Ciências Exatas.

ORIENTADOR: Prof^o. Dr^o. Emmanoel Vilaça Costa

MANAUS – AM

2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

F866i Freitas, José Guilherme Cavalcante
Isolamento e identificação estrutural de alcaloides aporfínicos de frações alcalólicas das cascas de *Guatteria olivacea* (Annonaceae) / José Guilherme Cavalcante Freitas . 2023
72 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Emmanoel Vilaça Costa
TCC de Graduação (Química - Bacharelado) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Fitoquímica. 2. Alcaloides. 3. *Guatteria olivacea*. 4. Annonaceae. I. Costa, Emmanoel Vilaça. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

JOSÉ GUILHERME CAVALCANTE FREITAS

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO ESTRUTURAL DE ALCALOIDES
APORFINOIDES DE FRAÇÕES ALCALOÍDICAS DAS CASCAS DE *Guatteria
olivacea* (ANNONACEAE)

Trabalho de conclusão de curso apresentado com
o objetivo de aprovação no curso de Bacharelado
em Química, no Instituto de Ciências Exatas.

Aprovado em 03 de março de 2023.

BANCA EXAMINADORA



Profº. Drº. Emmanoel Vilaça Costa, Presidente
Orientador
Universidade Federal do Amazonas

Profº. Drº. Marcos Batista Machado, Membro
Coordenador do Curso Bacharelado em Química
Universidade Federal do Amazonas

Profº. Drº. Renyer Alves Costa, Membro
Membro da Comissão de Monografia, Estágio e Atividades Complementares
Universidade Federal do Amazonas

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pois sem ele nada do que está se realizando seria possível;

Agradeço à Universidade Federal do Amazonas, juntamente ao Departamento de Química por todo o apoio e suporte durante essa caminhada da graduação;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico pelo financiamento de projetos de pesquisa, que auxiliam na manutenção do Laboratório de Química de Produtos Naturais na UFAM;

Agradeço imensamente ao Prof. Dr. Emmanoel Vilaça Costa, meu orientador na monografia, e ainda pelo constante esforço, paciência e parceria nos três anos de projeto de iniciação científica, pelos conselhos e direcionamentos;

Aos profissionais que compõem a Central Analítica Multidisciplinar da UFAM, pelos diversos auxílios prestados nos momentos de dúvida, principalmente os Laboratórios de Espectrometria de Massas e do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear, parceiros cruciais para o desenvolvimento deste trabalho;

A todos os professores que compõem o corpo docente do Departamento de Química, pelos profundos ensinamentos ao longo desses 9 períodos;

Aos colegas de turma, colegas que integram ou que já passaram pelo grupo de pesquisa GEQBiom que influenciaram de forma direta na minha caminhada, pela troca de experiências e ajuda nos momentos difíceis ao longo desses anos;

À minha família, principalmente minha mãe Simone Cavalcante e minha avó Alda Cavalcante, que em nenhum momento deixaram de me apoiar na escolha da minha carreira, apesar das dificuldades enfrentadas no ramo científico;

À minha namorada Victória Nardelli, pela parceria e paciência ao longo de uma graduação juntos, deixando os dias mais leves, sempre me apoiando, mesmos nos momentos difíceis;

Sem mais delongas, a todos aqueles que passaram pela minha vida no decorrer desses anos e que de alguma forma contribuiu para minha atual formação.

*Nunca se compare com ninguém neste mundo.
Caso o faça, entenda que você estará insultando a
si mesmo.*

Bill Gates

RESUMO

A família Annonaceae é uma família de larga escala, sendo distribuída entre os trópicos, com dominância no continente americano e abrangendo mais de 2400 espécies dentro de mais de 110 gêneros. *Guatteria olivacea* R. E. Fries é uma espécie de predominância no bioma amazônico, popularmente conhecida como “envireira”, “envira-preta”, “envira-bobó”, entre outros. Costuma ter árvores longas e folhas escuras, e seu fruto é chamado de “ata” ou “araticum”, típico de sua família. Este trabalho monográfico realizou o estudo fitoquímico da fração alcaloídica das cascas de *G.olivacea* (FACGO), fazendo uso de técnicas cromatográficas convencionais (cromatografia em coluna, CC, cromatografia em camada delgada analítica e preparativa, CCDA e CCDP, além de técnicas espectroscópicas, como RMN de ^1H e ^{13}C , e espectrométrica (EM), para auxiliar na elucidação estrutural dos compostos. Visto que trata-se de uma continuação do trabalho outrora interrompido por Manickchand, o estudo buscou ampliar de forma extensa e completa o estudo da espécie, na qual possibilitou o isolamento de sete substâncias, todas inéditas na espécie, dentre elas uma inédita na literatura: **(S1)** melosmina, **(S2)** 9-Hidroxiuattescina, **(S5)** alcaloide inédito, **(S6)** lysicamina, **(S7)** dihidromelosmina, **(S8)** guattouregidina e **(S9)** ácido acantóico. O estudo prévio realizado por Manickchand (2021) havia possibilitado o isolamento de outras duas substâncias: **(S3)** isopilina e **(S4)** O-metilisopilina, totalizando 9 substâncias inéditas na espécie ao final do estudo completo, o que traduz ótimos resultados visando futuros estudos com a espécie, vide sua importância quimiofenética frente a demais espécies do seu gênero.

Palavras-chave: Fitoquímica; Alcaloides; *Guatteria olivacea*; Annonaceae.

ABSTRACT

The Annonaceae family is a large-scale family, being distributed among the tropics, with dominance in the American continent and encompassing more than 2400 species within more than 110 genera. *Guatteria olivacea* R. E. Fries is a species of predominance in the Amazon biome, popularly known as "envireira", "envira-preta", "envira-bobó", among others. It usually has long trees and dark leaves, and its fruit is called "ata" or "araticum", typical of its family. This monographic work carried out the phytochemical study of the alkaloid fraction of the *G. olivacea* bark (FACGO), using conventional chromatographic techniques (column chromatography, CC, analytical and preparative thin layer chromatography, CCDA and CCDP, as well as spectroscopic techniques, such as NMR of ^1H and ^{13}C , and spectrometric (MS), to help in the structural elucidation of the compounds. Since this is a continuation of the work once interrupted by Manickchand, the study sought to extensively and completely extend the study of the species, in which it made possible the isolation of seven substances, all novel in the species, among them one novel in the literature: **(S1)** melosmine, **(S2)** 9-Hydroxyiguattescine, **(S5)** unpublished alkaloid, **(S6)** lysicamine, **(S7)** dihydromelosmine, **(S8)** guattouregidine, and **(S9)** acanthoic acid. The previous study by Manickchand (2021) had allowed the isolation of two other substances: **(S3)** isopiline and **(S4)** O-methylisopiline, totaling 9 substances unpublished in the species at the end of the complete study, which translates great results aiming at future studies with the species, seeing its chemophenetic importance compared to other species of its genus.

Key-words: Phytochemistry; Alkaloids; *Guatteria olivacea*; Annonaceae.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

δ	Deslocamento químico
μg	Micrograma
1D	Uma dimensão
2D	Duas dimensões
AcOEt	Acetato de etila
CC	Cromatografia em coluna
CCDA	Cromatografia em camada delgada analítica
CCDP	Cromatografia em camada delgada preparativa
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
CH_2Cl_2	Diclorometano
CH_3OH	Metanol
cm	Centímetros
<i>d</i>	Dupleto
Da	Dalton
<i>dd</i>	Duplo dupleto
EM	Espectrometria de massas
g	Grama
EHCGO	Extrato Hexânico das cascas de <i>G. olivacea</i>
EMCGO	Extrato Metanólico das cascas de <i>G. olivacea</i>
FACGO	Fração alcaloídica das cascas de <i>G. olivacea</i>
FNCGO	Fração neutra das cascas de <i>G. olivacea</i>
HCl	Ácido clorídrico

HepG2	Carcinoma Hepatocelular Humano
Hz	Hertz
<i>J</i>	Constante de acoplamento
L	Litro
m	Metro
<i>m</i>	Multiplete
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
MCF-7	Carcinoma de mama humano
MeOH	Metanol
MHz	Megahertz
mL	Mililitro
mm	Milímetro
NH₄OH	Hidróxido de amônio
nm	Nanômetro
°C	Graus Celsius
pH	Potencial de Hidrogênio
RMN ¹H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
RMN ¹³C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono
<i>s</i>	Simpleto
<i>t</i>	Triplete
TMS	Tetrametilsilano
v/v	Volume/volume

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Algumas espécies da família Annonaceae <i>Juss.</i>	18
FIGURA 2. Imagens da espécie <i>G.olivacea</i> R. E. Fries.....	20
FIGURA 3. Alcaloides isoquinolínicos isolados das cascas de <i>G.olivacea</i> por Araújo (2020).	21
FIGURA 4. Espectro de massas da fração alcaloídica das cascas de <i>G.olivacea</i> (FACGO).....	32
FIGURA 5. Substâncias isoladas de FACGO neste trabalho.....	34
FIGURA 6. Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de S1	35
FIGURA 7. Ampliação δ 9,00 - 6,80 do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de S1	36
FIGURA 8. Ampliação δ 4,80 - 0,00 do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de S1	36
FIGURA 9. Espectro de RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de S1	36
FIGURA 10. Ampliação δ 166 - 110 do espectro de RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de S1	37
FIGURA 11. Espectro de massas de S1	38
FIGURA 12. Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de S2	39
FIGURA 13. Ampliação δ4,00-2,60 do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de ¹ H de S2	40
FIGURA 14. Ampliação δ 8,40-6,70 do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de ¹ H de S2	40
FIGURA 15. Ampliação δ 4,10-2,00 do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de ¹ H de S2	40
FIGURA 16. Espectro de RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de S2	41
FIGURA 17. Ampliação δ158-110 do espectro de RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de S2	41
FIGURA 18. Espectro de massas de S2	43
FIGURA 19. Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de S5	44
FIGURA 20. Ampliação δ8,50-6,50 do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de S5	44
FIGURA 21. Ampliação δ4,40-0,00 do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de S5	44
FIGURA 22. Espectro de RMN de ¹³ C (125 MHz, CDCl ₃) de S5	45
FIGURA 23. Ampliação δ4,20-1,90 do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de S7	46
FIGURA 24. Ampliação δ1,90-1,38 do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de S7	47
FIGURA 25. Ampliação δ 8,80-6,40 do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de S7	47
FIGURA 26. Espectro de massas de S7	48
FIGURA 27. Ampliação δ4,20-3,40 do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de S3	49
FIGURA 28. Ampliação δ4,00-3,70 do espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, CDCl ₃) de S4	50

FIGURA 29. Ampliação δ 150-110 do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de S3	50
FIGURA 30. Ampliação δ 160-110 do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de S4	50
FIGURA 31. Espectro de massas de S3	53
FIGURA 32. Espectro de massas de S4	53
FIGURA 33. Ampliação δ 9,30-7,00 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S6	54
FIGURA 34. Ampliação δ 4,35-4,00 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S6	54
FIGURA 35. Ampliação δ 182-105 do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de S6	55
FIGURA 36. Espectro de massas de S6	56
FIGURA 37. Ampliação δ 8,70-6,50 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S8	57
FIGURA 38. Ampliação δ 4,20-0,00 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S8	57
FIGURA 39. Espectro de massas de S8	59
FIGURA 40. Ampliação δ 185-70,0 do espectro de RMN de ^{13}C (500 MHz, CDCl_3) de S9	60
FIGURA 41. Ampliação δ 68,0-13,0 do espectro de RMN de ^{13}C (500 MHz, CDCl_3) de S9	60
FIGURA 42. Espectro de massas de S9	62

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Reunião das frações resultantes do fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica (FACGO).	27
TABELA 2. Substâncias isoladas das cascas de <i>G.olivacea</i> (FACGO).	33
TABELA 3. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de S1	37
TABELA 4. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de S2	41
TABELA 5. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de S5	45
TABELA 6. Dados de RMN de ^1H de S7	47
TABELA 7. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de S3	51
TABELA 8. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de S4	52
TABELA 9. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de S6	55
TABELA 10. Dados de RMN de ^1H de S8	58
TABELA 11. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de S9	60
TABELA 12. Alguns dos principais alcaloides relatados em espécies de <i>Guatteria</i>	63

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1. Fluxograma da obtenção dos extratos	25
ESQUEMA 2. Fluxograma do tratamento ácido-base realizado.	26
ESQUEMA 3. Fracionamento da fração alcaloídica (FACGO) por CC.	27

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	Família Annonaceae	17
2.2	Gênero <i>Guatteria</i>	18
2.3	Espécie <i>Guatteria olivacea</i>	19
3	OBJETIVOS	22
3.1	Objetivo geral	22
3.2	Objetivos Específicos	22
4	METODOLOGIA	23
4.1	Materiais utilizados	23
4.1.1	Cromatografia em coluna aberta	23
4.1.2	Cromatografia em camada delgada analítica e preparativa (CCDA e CCDP)	23
4.1.3	Solventes e reveladores	24
4.2	Coleta do material botânico	24
4.3	Obtenção dos extratos	24
4.4	Tratamento ácido-base do extrato metanólico	25
4.5	Fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica (FACGO)	26
4.6	Isolamento e purificação	28
4.6.1	Estudo cromatográfico da fração GOC4	28
4.6.2	Estudo cromatográfico da fração GOC5	29
4.6.3	Estudo cromatográfico da fração GOC6	29
4.6.4	Estudo cromatográfico da fração GOC7/8	29
4.6.5	Estudo cromatográfico da fração GOC9	29
4.6.6	Estudo cromatográfico da fração GOC10	29
4.6.7	Estudo cromatográfico da fração GOC11	30
4.6.8	Estudo cromatográfico da fração GOC12	30
4.6.9	Estudo cromatográfico da fração GOC13	30
4.6.10	Estudo cromatográfico da fração GOC14	30
4.7	Análises espectroscópicas e espectrométricas	31
4.7.1	Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	31
4.7.2	Espectrometria de massas (EM)	31
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	32

5.1	Análise do perfil cromatográfico da fração alcaloídica das cascas de <i>Guatteria olivacea</i> por espectrometria de massas (APCI-MS)	32
5.2	Identificação estrutural das substâncias isoladas das cascas de <i>G. olivacea</i>.	33
5.2.1	Identificação estrutural dos alcaloides do tipo 7,7-dimetilaporfino	35
5.2.1.1	Identificação estrutural de S1	35
5.2.1.2	Identificação estrutural de S2	38
5.2.1.3	Identificação estrutural de S5	43
5.2.1.4	Identificação estrutural de S7	46
5.2.2	Identificação estrutural dos alcaloides do tipo <i>stricto sensu</i>	49
5.2.2.1	Identificação estrutural de S3 e S4	49
5.2.3	Identificação estrutural do alcaloide do tipo oxoaporfínico	53
5.2.3.1	Identificação estrutural de S6	53
5.2.4	Identificação estrutural do alcaloide do tipo 7-Hidroxi-7-metilaporfino	57
5.2.4.1	Identificação estrutural de S8	57
5.2.5	Identificação estrutural do diterpeno	59
5.2.5.1	Identificação estrutural de S9	59
5.3	Relação quimiofenética	62
6	CONCLUSÃO	65
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

1 INTRODUÇÃO

Diversas pesquisas científicas ao redor do mundo são realizadas com o intuito de buscar soluções clínicas e terapêuticas para doenças das mais abrangentes origens. No Brasil, isso não é diferente, e um caminho bastante promissor a continuar se traçando é o estudo de produtos naturais oriundos da grande diversidade de espécies de plantas amazônicas, as quais suas estruturas desempenham um papel de suma importância no desenvolvimento de novos medicamentos. (PAVIA et al., 2009)

Essa incessante busca já demonstrou historicamente a eficácia de diversos produtos naturais do ponto de vista farmacológico indo ao encontro de desenvolvimentos de novos fármacos. A utilização destes como recursos clínicos é evidenciada mundialmente, representando uma grande parte do mercado comercial em vendas de fitoterápicos. (QUEIROZ, 2021)

Citando uma das mais agravantes doenças existentes na humanidade, o câncer, Newman (2012) descreve que apenas 20,2% de drogas anticâncer de pequenas moléculas são de origem sintética, número este que corrobora com a importância nessa busca. (ARAÚJO, 2019; NEWMAN, et al., 2012)

Nesse contexto, o bioma amazônico, dotado de uma vasta e rica pluralidade de espécies vegetais, acaba se tornando uma ótima fonte produtora de metabólitos secundários em suas plantas, dos quais destes são produzidas substâncias capazes de oferecer e evidenciar inúmeras atividades biológicas, tais como anti-inflamatória, larvívica, antioxidante, dentre outras. (LIMA, 2022; QUEIROZ, 2021)

A família Annonaceae é uma família de larga escala com distribuição pantropical, sendo dominante no continente americano, abrangendo desde o sudoeste do México até o sul do Brasil, e ainda apresentando relatos na África e na Ásia. Esta é uma das principais representantes da ordem basal angiospérmicas, plantas com flor, das Magnoliales, sendo constituída de cerca de 2440 espécies distribuídas entre aproximadamente 110 gêneros. No Brasil sua ocorrência predomina na região amazônica, tendo o maior número de espécies catalogadas. Nesta região são identificadas cerca de 280 das 385 espécies já relatadas no país, estas distribuídas em cerca de 32 gêneros. (ARAÚJO, 2019; LOBÃO, 2020; LOPES et al., 2018)

Suas espécies costumam apresentar características botânicas bastante específicas, sendo chamadas de plantas lenhosas com caráter arbustivo ou arbóreo, as quais adquirem a capacidade de possuir elevadas estaturas devido ao crescimento de seus caules e raízes em espessura. (KRINSKI et al., 2014)

Do ponto de vista econômico a família Annonaceae compreende um importante valor devido à produção de seus frutos, que de forma geral são comestíveis, como a graviola (*Annona muricata*), a fruta do conde (*Annona squamosa*), o biribá (*Annona mucosa*), bem como a pindaíba (*Duguetia lanceolata*). Estes frutos possuem um importante valor comercial na forma de produtos como sucos, sorvetes, além de serem fontes de matéria-prima para indústrias de cosméticos, na fabricação de óleos essenciais e sabonetes. (BITENCOURT et al., 2020; PATEL, 2016; SHEHATA et al., 2021; SOUSA et al., 2016)

Guatteria Ruiz et Pav. é o maior gênero da família Annonaceae, compreendendo cerca de 310 espécies, distribuídas em regiões neotropicais, com ênfase na ocorrência de 88 destas no Brasil, predominantemente na Amazônia. *Guatteria olivacea* R. E. Fries, de forma semelhante às demais espécies de seu gênero, apresenta características botânicas tais como seus frutos “ata”, que apresentam inúmeros gomos chamados de carpídios, com flores eretas e árvores longilíneas. (ARAÚJO, 2019; COSTA et al., 2010; LOPES; MELLO-SILVA, 2014; MAAS et al., 2015)

Dentre os diversos metabólitos extraídos desta família e gênero, respectivamente, se destaca uma classe de substâncias bastante promissora no âmbito fitoterápico, os alcaloides. Estes, constituídos de mais de 3 mil substâncias são compostos orgânicos que, do ponto de vista químico, possuem nitrogênio heterocíclicos e podem ainda ser subdivididos em outros grupos, como indólicos, aporfínicos e quinolínicos. (DA SILVA, 2007; SOUZA, 2020)

Destacando o grupo de alcaloides aporfinoídeos, ou aporfínicos, são conhecidos por apresentar estruturas que derivam de uma base de esqueleto molecular dos isoquinolínicos, no qual são bastante relatados em diversas famílias, sobretudo em Annonaceae, com registros ainda em Hernandiaceae, Lauriaceae e demais famílias.

Os alcaloides aporfinoídeos costumam apresentar bases tetracíclicas formadas pelo acoplamento oxidativo direto dos anéis aromáticos A e C de um típico núcleo

benziltetraisoquinolínico. Sendo compostos nitrogenados, este átomo de nitrogênio frequentemente se apresenta como terciário em sua formação, podendo ainda ser quaternário, acetilado ou formilado, além do caso específico em que ele se comporta como nitrogênio secundário, sendo assim chamado de noroaporfínico. (STÉVIGNY et al, 2005)

Nesse sentido, a família Annonaceae é uma das principais fontes de interesse fitoquímico e farmacológico, vide seu grande potencial citotóxico frente a doenças através de seus diversos gêneros como *Annona*, *Guatteria*, *Unonopsis* e *Xylopi*a, como já descritos por suas propriedades, como atividades antimicrobiana (COSTA et al., 2018), antiparasitária (MAHIOU et al., 2000; MONTENEGRO et al., 2003), antioxidante (MAHIOU et al., 2000) e citotóxicas (BRITO et al., 2012).

Com relação à *Guatteria olivacea*, ainda que seu gênero apresente estudos relevantes com extratos e óleos essenciais em ademais espécies devido ao isolamento de metabólitos secundários, poucos relatos de estudos da mesma, do ponto de vista fitoquímico, são encontrados na literatura, com destaque para os relatos de Araújo (2020) e Galvão (2022). Diante de tais contextos, a espécie em questão se torna relevante para o estudo e desenvolvimento deste trabalho monográfico.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Família Annonaceae

A família Annonaceae compreende cerca de 2440 espécies distribuídas em cerca de 130 gêneros ao redor do mundo, possuindo uma distribuição pantropical. Além disso, segundo Tamokou et al. (2017), cerca de 900 espécies são de distribuição neotropical, 450 de distribuição afrotropical e as demais da região indo-malaia. No Brasil há relatos de cerca de 400 espécies, sendo mais de 150 classificadas como endêmicas. A região amazônica têm o destaque pela riqueza de sua fauna e flora, e abrange aproximadamente 300 de todas as espécies de Annonaceae datadas nacionalmente. (CASCAES et al., 2022; DOS SANTOS et al., 2022)

O principal valor comercial registrado desta família é a capacidade de suas árvores gerarem frutos, que na sua grande maioria são comestíveis. Frutos como pindaíba, fruta do conde, ata ou pinha, são os mais populares e comercialmente associados. (DOS SANTOS et al., 2022)

As substâncias extraídas de espécies de Annonaceae também agregam bastante valor à indústria de cosméticos, através da extração de óleos essenciais, os quais garantem o bem-estar popular através de seus agradáveis aromas e essências. (CASCAES et al., 2022; DOS SANTOS et al., 2022)

Do ponto de vista botânico, os indivíduos desta família apresentam combinações florais que sofrem influência da intensa diversidade de espécies animais hospedeiras, apontando em evidência a polinização sofrida por besouros. (SAVARY et al., 2021)

Estudos prévios culminaram no isolamento e identificação de diversos metabólitos secundários de espécies de Annonaceae, com destaque para classes de substâncias, como mono e diterpenos, além de acetogeninas e os principais alcaloides que as constituem, seja de caráter isoquinolínicos ou derivados como aporfinoídes. (COSTA et al., 2021; SOUZA, 2020)

Do ponto de vista farmacológico, espécies de diversos gêneros, como *Duguetia*, *Xylopi*a, *Annona*, *Rollia* e *Guatteria* são relatadas na literatura com boa ou moderada atividade biológica inibitória frente a determinadas avarias, como atividade antimicrobiana (COSTA et al., 2008; COSTA et al., 2013; RUPPRECHT et al., 1990),

leishmanicida (COSTA et al., 2006; SILVA et al., 2009), tripanocida (COSTA et al., 2011; SILVA et al., 2009) e atividade citotóxica frente a células tumorais (COSTA et al., 2020; SILVA et al., 2009; SOUZA et al., 2020) (FIGURA 1).

FIGURA 1. Algumas espécies da família Annonaceae Juss.



Annona crassiflora
Mart.



Annona tomentosa R. E.
Fr.



Annona amazônica R. E.
Fr.



Duguetia marcgraviana
Mart.



Duguetia spixiana Mart.



Guatteria australis A.St.-
Hil.

Fonte: <https://www.tradewindsfruit.com/duguetia-spixiana-duguetia-seeds>. Acesso em: 13 de janeiro de 2023.

2.2 Gênero *Guatteria*

Guatteria Ruiz et Pav. é considerado um dos gêneros mais antigos de Annonaceae, o qual compreende toda a região desde o sudeste do México até a Bolívia e Brasil na América do Sul, abrangendo mais de 300 espécies, sendo destas mais de 80 relatadas no Brasil e aproximadamente 50 endêmicas. (SANTOS et al., 2015)

Quanto ao caráter botânico, as espécies do gênero *Guatteria* geralmente são indivíduos de porte médio, tendo caráter arbustivo em algumas localidades, aos quais

costumam variar entre 1 e 40 metros de altura, não excedendo os 60 metros, como é a exceção *G. grandiflora* e não atingindo um mínimo de 4 metros como a exceção *G. delicatula*, porém costumeiramente as suas espécies apresentam caules com menos de 25 cm de diâmetro. Apresentam folhas simples e inteiras, tais quais as características de Annonaceae, e com pecíolos curtos, nascendo entre 1 e 10 mm de comprimento. Quanto às flores, são geralmente apresentadas como botões florais no formato de ovoides, sem formato cônico. (MAAS et al., 2015)

No aspecto químico, as espécies de *Guatteria* seguem as tendências características da família Annonaceae, tendo as presenças marcantes de diversas classes de metabólitos secundários, como terpenoides e alcaloides, com destaque para aqueles de estrutura isoquinolínica. (LÚCIO et al, 2015; SANTOS et al., 2018)

Algumas investigações fitoquímicas em diversas de suas espécies já relataram notáveis ações farmacológicas, tais como antiparasitária (MAHIOU et al, 2000), antimicrobiana (COSTA et al, 2010), antifúngica (COSTA et al. 2011) e citotóxica (COSTA et al, 2013).

2.3 Espécie *Guatteria olivacea*

A espécie *Guatteria olivacea* R. E. Fries (FIGURA 2) é uma espécie pertencente a um dos principais gêneros de Annonaceae, encontrada majoritariamente no bioma amazônico, onde é popularmente conhecida como “envireira”, “embira”, “envira-preta”, “envira-branca”, “embira-preta”, “embira-branca”, “envira-bobó”, dentre outros. (ARAÚJO, 2020; GALVÃO et al., 2022)

A sua árvore costuma variar em altura e diâmetro, podendo chegar a 27 m e 32 cm, respectivamente. Do ponto de vista botânico, apresenta seus componentes bem definidos, sendo constituída de folhas escuras, na coloração castanha, com base de longa duração, além de cascas espessas na tonalidade verde. Seu fruto costuma ser chamado de “ata” ou “araticum”, vide a semelhança com outra espécies características da mesma família, e suas flores apresentam pigmentação ferruginosa. (ARAÚJO, 2020; GALVÃO et al., 2022)

Quanto aos aspectos químicos e farmacológicos, os óleos essenciais de suas folhas apresentam abundância em sesquiterpenos, com destaque para altos teores de óxido de cariofileno (31,2%), β -elemeno (16,5%) e espatulenol (13,8%)

(ALCÂNTARA, 2015), constituintes estes já descritos na literatura com atividade antitumoral *in vitro* (BONFIM, 2016), antioxidante (KARAKAYA, 2019) e anticancerígena (PAN; 2016). Sua fração alcaloídica é descrita na literatura com caráter inibitório bastante satisfatórios frente às linhagens de células tumorais, MCF7 (carcinoma de mama humano) (20,16 $\mu\text{g.mL}^{-1}$) e HepG2 (carcinoma hepatocelular humano) (18,25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). (ARAÚJO, 2019)

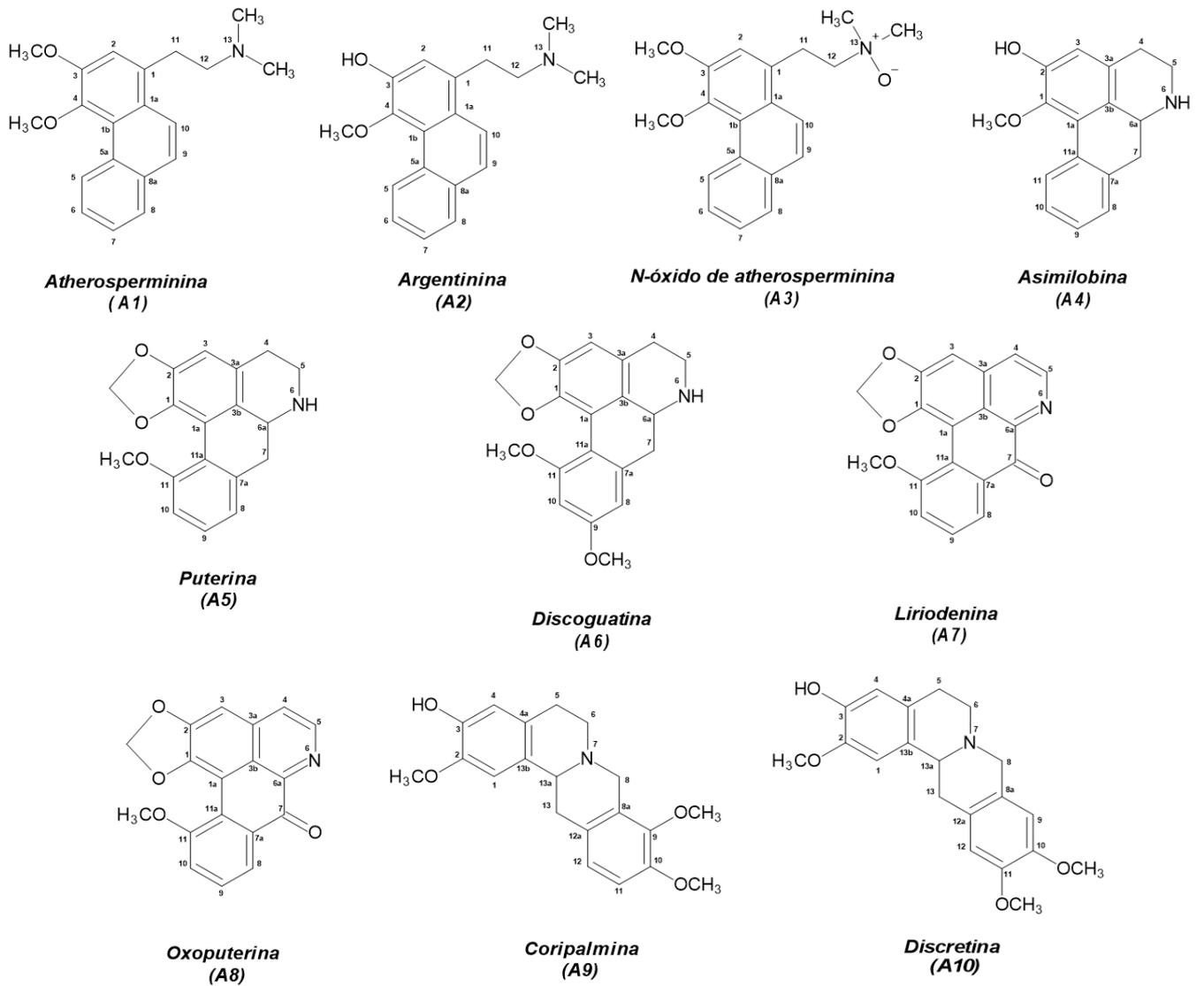
Além disso, Araújo et al. (2020) descreve o isolamento de dez alcaloides isoquinolínicos das cascas, constituídos por: três fenantrenos, atherosperminina (**A1**), argentinina (**A2**) e atherosperminina *N*-óxido (**A3**); três aporfinos *sensu stricto*, assimlobina (**A4**), puterina (**A5**) e discoguattina (**A6**); dois oxoaporfinos, liriodenina (**A7**) e oxoputerina (**A8**); e dois tetraidroprotoberberinos, corypalmina (**A9**) e discretina (**A10**) (FIGURA 3).

FIGURA 2. Imagens da espécie *G.olivacea* R. E. Fries



Fonte: ARAÚJO, 2019

FIGURA 3. Alcaloides isoquinolínicos isolados das cascas de *G. olivacea* por Araújo (2020).



Fonte: O autor.

3 OBJETIVOS

Os objetivos estão organizados em geral e específicos como seguem.

3.1 Objetivo geral

- Realizar o estudo fitoquímico de frações alcalóidicas das cascas da espécie *Guatteria olivacea*, contribuindo para o conhecimento químico das espécies de Annonaceae.

3.2 Objetivos Específicos

- Realizar o isolamento e purificação dos alcaloides presentes nas frações alcalóidicas das cascas de *G. olivacea* através de métodos cromatográficos clássicos;
- Realizar a identificação estrutural dos constituintes químicos isolados através de métodos espectroscópicos e espectrométrico (RMN 1D/2D e EM);
- Traçar uma relação quimiofenética das substâncias isoladas entre as espécies de *Guatteria*.

4 METODOLOGIA

Vale ressaltar que o presente trabalho monográfico foi realizado a partir de uma continuação do projeto de pesquisa PIBIC/PAIC PIB-MULT/0003/2020 desenvolvido de forma parcial pelo discente de Licenciatura em Química Steve Pereira Manickchand, o qual por motivos particulares não pôde dar prosseguimento ao estudo. Partindo do material coletado e tratado pelo mesmo, esta monografia foi, portanto, desenvolvida a partir do fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica das cascas de *Guatteria olivacea* (FACGO) a fim de ampliar os conhecimentos no estudo fitoquímico da espécie de forma mais abrangente e completa.

4.1 Materiais utilizados

4.1.1 Cromatografia em coluna aberta

Para o fracionamento cromatográfico realizado em coluna aberta (CC), foi utilizada uma coluna de vidro com diâmetro e comprimento de Φ x h: 2,5 cm x 60 cm, com a fase estacionária sendo sílica gel 60 com partículas entre 0,063-0,200 mm da marca Sigma-Aldrich. Esta sílica foi tratada previamente adicionando 1 L de solução de bicarbonato de sódio 10% por 300 g de sílica, sendo agitada para eliminar bolhas na solução e posteriormente mantida em repouso por cerca de 24 horas. Passado esse período, a mesma foi filtrada em funil de Büchner com o intuito de remover o excedente de solução e levada à estufa à 180°C em uma cápsula grande de porcelana para que fosse totalmente seca.

Para utilizá-la no empacotamento da CC, foi utilizada uma proporção de 30 vezes a massa do amostra (FACGO) e para o preparo da pastilha contendo a amostra utilizou-se a proporção de 2 vezes a massa da amostra.

4.1.2 Cromatografia em camada delgada analítica e preparativa (CCDA e CCDP)

Para as análises por CCDA e CCDP foram utilizadas cromatofolhas de sílica gel 60 da marca Fluka, com indicador de fluorescência 254, suporte em alumínio e espessura de 0,2 mm, e cromatoplaças de vidro 20 x 20 cm com espessura de 1,0 mm, respectivamente.

4.1.3 Solventes e reveladores

Os principais solventes utilizados durante o estudo fitoquímico foram diclorometano (CH_2Cl_2), metanol (CH_3OH), hexano (C_6H_{14}) e acetato de etila (AcOEt), todos das marcas Synth e Merck. Para o preparo das amostras destinadas às análises por RMN foi utilizado clorofórmio deuterado (CDCl_3) da marca Sigma-Aldrich.

A solução de Dragendorff utilizada como revelador em CCDA foi preparada pela mistura em proporção 1:1 de uma solução 1 composta por 1,7 g de nitrato de bismuto III e 20 g de ácido tartárico dissolvidos em 80 mL de água destilada; e uma solução 2 composta por 16 g de iodeto de potássio dissolvidos em 40 mL de água destilada. Para aplicação nas placas retirou-se uma alíquota de 5 mL da solução preparada, adicionou-se 10 g de ácido tartárico e a dissolveu em 50 mL de água destilada. (MUNIER, 1953 *apud* MERCK, 1971)

A solução de anisaldeído utilizada como revelador foi preparada pela adição de 5 mL de anisaldeído em 90 mL de álcool etílico, 5 mL de ácido sulfúrico concentrado e 1 mL de ácido acético glacial. (MUNIER, 1953 *apud* MERCK, 1971)

4.2 Coleta do material botânico

As cascas de *G. olivacea* foram coletadas no dia 27 de maio de 2017 na Reserva Florestal Adolpho Ducke, próximo à cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. A identificação da espécie foi realizada pelos botânicos do Departamento de Biologia da UFAM, Manaus, Amazonas, Brasil. Uma exsicata (11423) da espécie foi depositada no Herbário do Departamento de Biologia da própria UFAM. A espécie foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), sob número de registro A70EDCD. (MANICKCHAND, 2021)

4.3 Obtenção dos extratos

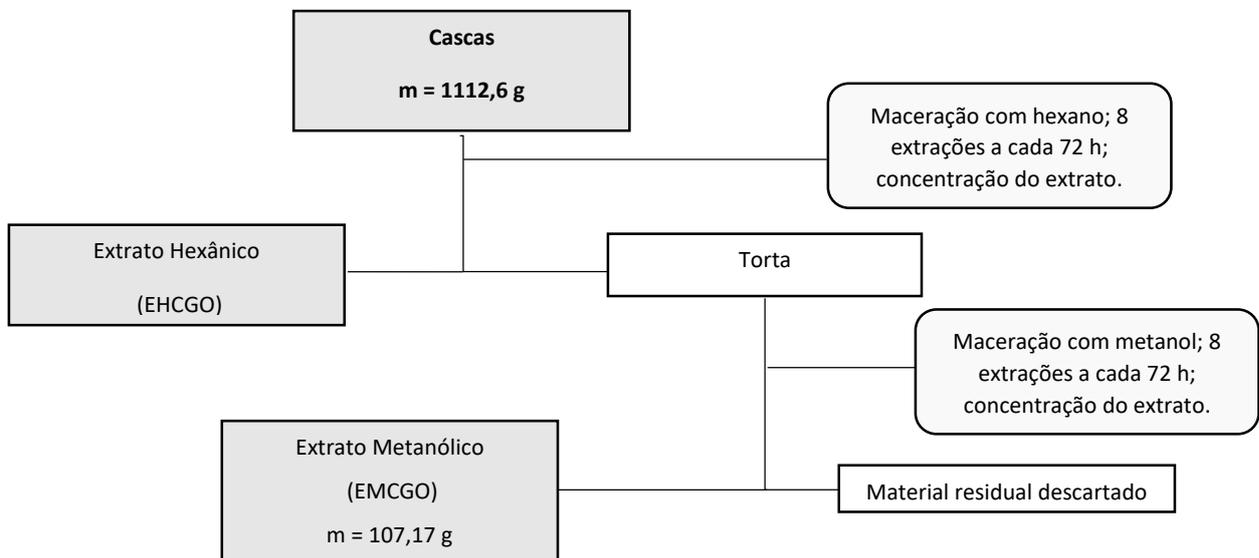
O material botânico da espécie em estudo foi seco, em um primeiro momento, em local aberto, à temperatura ambiente, e de forma posterior houve a transferência para uma estufa de ar circulante a 40°C , sendo em seguida triturado em um moinho de quatro facas, obtendo assim uma massa de 1112,6 g do material de partida moído.

O material então foi levado ao processo de extração pelo método de maceração exaustiva (ESQUEMA 1), com adição de solventes em ordem crescente de

polaridade, sendo estes renovados a cada 72 horas em um frasco Mariotte. A extração se iniciou com adição de hexano (mais apolar) e na sequência foi adicionado metanol (mais polar), sendo realizadas oito extrações com cada solvente.

A cada etapa de maceração, os extratos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo à pressão reduzida e temperatura controlada entre 40-50°C, sendo posteriormente secos em dessecador. O solvente evaporado foi reutilizado em cada etapa da maceração. O material residual foi descartado ao fim do processo de extração, e após os materiais serem secos em dessecador, foram obtidos os extratos hexânico e metanólico. (ARAÚJO, 2019; MANICKCHAND, 2021)

ESQUEMA 1. Fluxograma da obtenção dos extratos



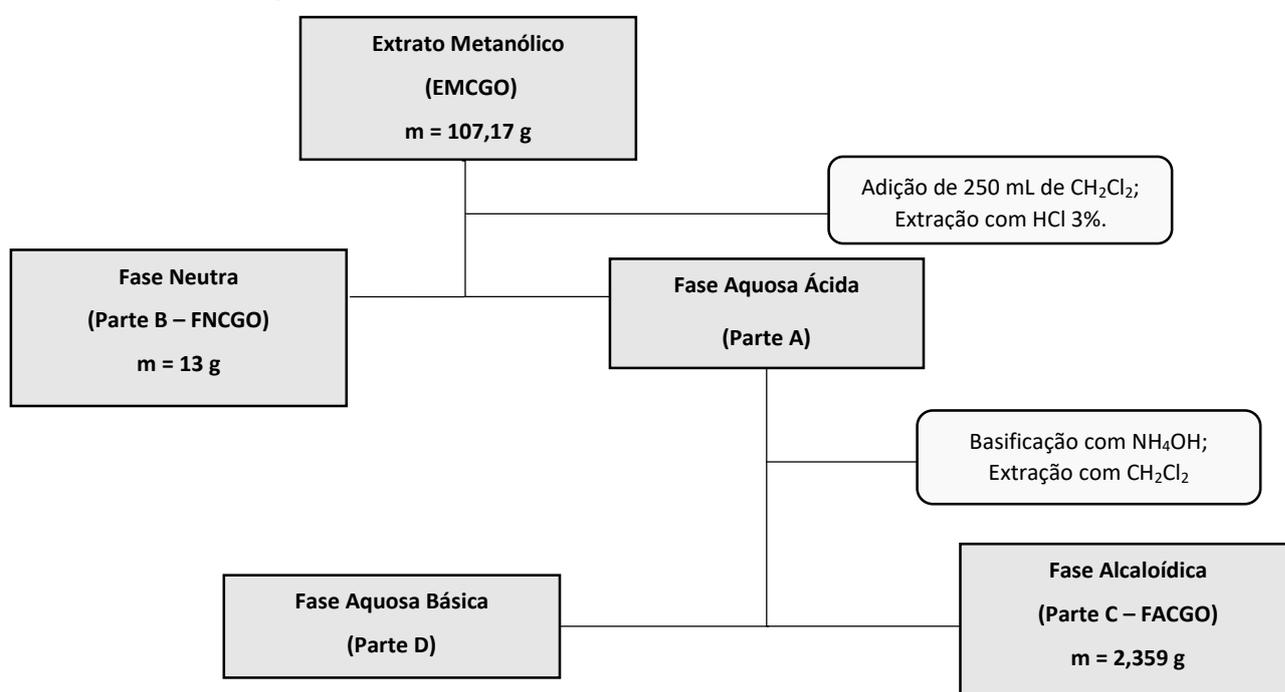
4.4 Tratamento ácido-base do extrato metanólico

Tendo posse dos extratos preparados, submeteu-se o extrato metanólico (EMCGO) à análise por Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA), fazendo uso de sistemas de gradientes de solventes distintos, além do emprego do reagente de Dragendorff, revelador indicativo de compostos alcalóidicos, na presença da coloração alaranjada, para assim ser realizado um monitoramento das substâncias presentes neste extrato. Confirmando a pré-análise realizada por CCDA, o extrato metanólico (107,17 g) foi, portanto, submetido ao processo de extração ácido-base convencional, seguindo a metodologia de Costa et al. (2006). (ESQUEMA 2)

Inicialmente o extrato foi solubilizado em 250 mL de diclorometano (CH_2Cl_2), seguido da extração com 2 L de uma solução de ácido clorídrico 3% v/v (HCl), obtendo

assim duas fases: a fração aquosa ácida (Parte A) e a fração neutra (13 g; FNCGO; Parte B). Posteriormente, a fração aquosa ácida (Parte A) foi cuidadosamente basificada a partir da adição de 100 mL de hidróxido de amônio (NH_4OH) até atingir pH 12, e enfim extraída com diclorometano, resultando em mais duas fases: a fração alcaloídica (2,359 g; FACGO; Parte C), e a fração aquosa básica (Parte D), esta última descartada. A fim de traçar um perfil químico da espécie, a fração alcaloídica (FACGO) foi submetida à análise por Espectroscopia de Massas (EM). (ARAÚJO, 2019; MANICKCHAND, 2021)

ESQUEMA 2. Fluxograma do tratamento ácido-base realizado.



4.5 Fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica (FACGO)

Após o tratamento ácido-base, a fase alcaloídica (FACGO) (2,359 g) foi submetida a um fracionamento por cromatografia em coluna aberta (CC; $\Phi \times h$: 2,5 cm x 60 cm) de sílica gel previamente tratada com solução de NaHCO_3 a 10%, e então eluída com hexano, diclorometano (CH_2Cl_2), acetato de etila (AcOEt) e metanol (CH_3OH) em misturas de polaridades crescentes, resultando em 213 frações (ESQUEMA 3). As frações obtidas foram analisadas por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), utilizando o reagente de Dragendorff para a detecção de substâncias nitrogenadas (alcaloides) e solução de anisaldeído para outras classes de substâncias. As substâncias que apresentaram o mesmo perfil químico e fatores

de retenção (R_f) foram agrupadas resultando em 17 novos grupos de frações, conforme a TABELA 1.

ESQUEMA 3. Fracionamento da fração alcaloídica (FACGO) por CC.

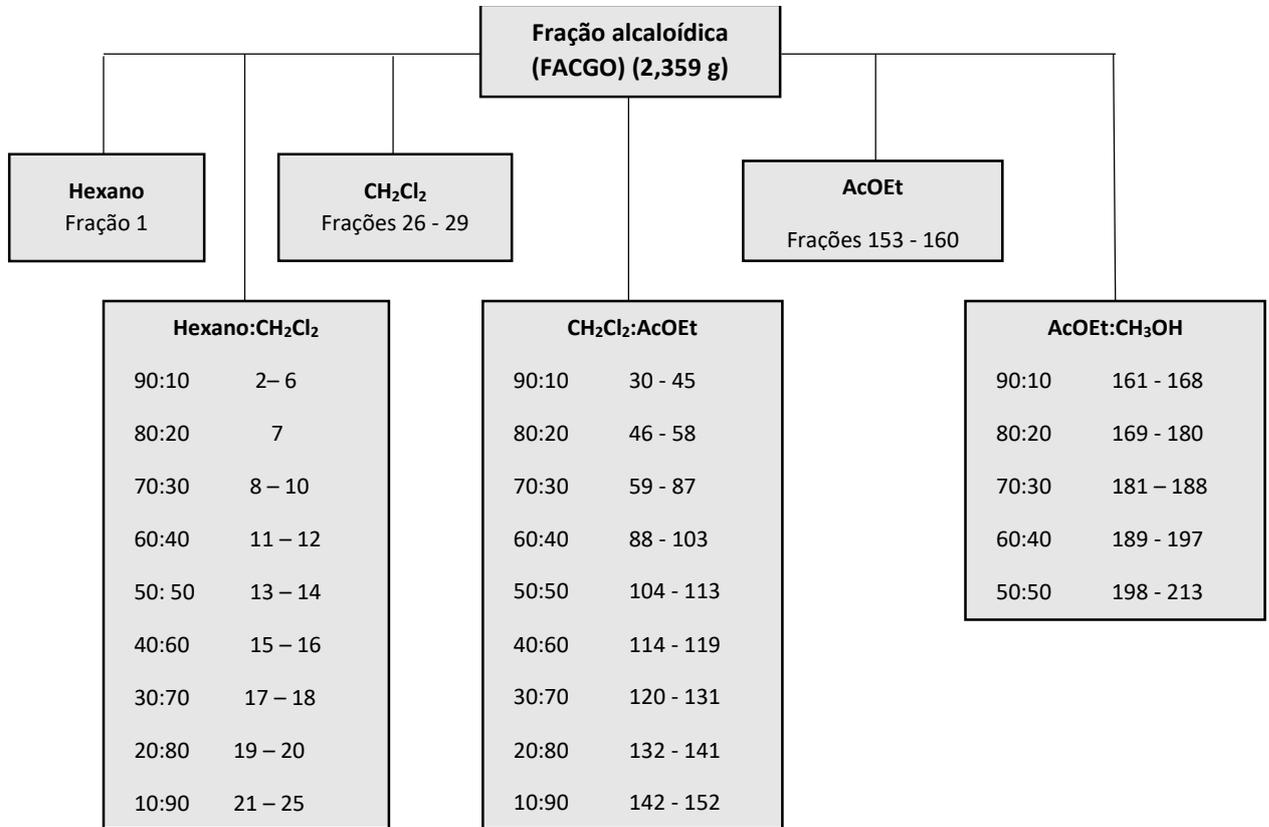


TABELA 1. Reunião das frações resultantes do fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica (FACGO).

REUNIÃO	FRAÇÕES	SIGLA	MASSA (mg)
1	1 - 9	GOC1	23,0
2	10 - 13	GOC2	9,8
3	14 - 17	GOC3	8,6
4	18 - 20	GOC4	23,2
5	21 - 42	GOC5	301,6
6	43 - 65	GOC6	84,3
7	66 - 83	GOC7	26,3
8	84 - 95	GOC8	14,0
9	96 - 162	GOC9	94,7
10	163 - 167	GOC10	64,0
11	168 - 179	GOC11	206,1
12	180 - 185	GOC12	71,6
13	186 - 189	GOC13	86,0
14	190 - 191	GOC14	74,1
15	192 - 193	GOC15	84,0
16	194 - 197	GOC16	67,0
17	198 - 213	GOC17	110,4

4.6 Isolamento e purificação

Foram, portanto, realizadas as análises por CCDA de todos os grupos de frações referentes ao fracionamento cromatográfico da fração alcaloídica (FACGO), observando-as de modo a estudar aquelas que apresentaram boa separação e fatores de retenção (R_f) distintos. As análises foram realizadas usando padrões autênticos do grupo de pesquisa GEQBiom (*Grupo de Estudos Químicos de Biomoléculas*), possibilitando, deste modo, a seleção das frações a serem submetidas ao processo de purificação por cromatografia em camada delgada preparativa (CCDP).

As purificações das frações por CCDP foram realizadas com sistema de gradiente com mistura de solventes conforme as pré-análises por CCDA, sendo eles: CH_2Cl_2 :MeOH (9,5:0,5 v/v), sendo estas eluídas de 2 a 3 vezes. Após a separação cromatográfica, as substâncias foram extraídas e recuperadas da sílica com a mistura de solvente apropriado: CH_2Cl_2 :MeOH (9,5:0,5 v/v), sendo na sequência filtradas em funil de placa porosa, extraídas e concentradas em um rotaevaporador. Posteriormente às extrações, as mesmas foram secas e pesadas para uma nova avaliação por CCDA, onde novamente utilizou-se reagentes reveladores de Dragendorff e anisaldeído para identificar substâncias de interesse, na qual aquelas que apresentaram grau de pureza satisfatório, foram então enviadas às análises por Ressonância Magnética Nuclear (RMN).

Como mencionado, inicialmente Manickchand (2021) havia começado o trabalho com a espécie fazendo o estudo de 5 frações referentes à FACGO, descritas a seguir: GOC5, GOC6, GOC12, GOC13 e GOC14. Para o presente trabalho monográfico foram ainda estudados outros 6 grupos de frações oriundos da fração alcaloídica (FACGO): GOC4, GOC7/8, GOC9, GOC10 e GOC11, visando o isolamento de outras substâncias.

4.6.1 Estudo cromatográfico da fração GOC4

A fração GOC4, com massa de 23,2 mg, de origem do fracionamento cromatográfico da FACGO foi submetida à purificação por CCDP, com uma mistura de CH_2Cl_2 : MeOH (9,5:0,5) em três eluições, resultando em oito subfrações (GOC4-1 a GOC4-8). Destas, houve a separação mais visível das subfrações eluídas na parte central da placa, no entanto não foi possível obter substâncias isoladas desta fração.

4.6.2 Estudo cromatográfico da fração GOC5

A fração GOC5, com massa de 301,6 mg, de origem do fracionamento cromatográfico da FACGO foi dividida e uma parte (90 mg) foi submetida à purificação por CCDP, com uma mistura de CH₂Cl₂: MeOH (9,5:0,5) em três eluições, resultando em cinco subfrações (GOC5-1 a GOC5-5). Destas, as subfrações GOC5-2, GOC5-3 e GOC5-5 foram submetidas às análises por RMN.

4.6.3 Estudo cromatográfico da fração GOC6

A fração GOC6, com massa de 84,3 mg, de origem do fracionamento cromatográfico da FACGO foi submetida à purificação por CCDP, com uma mistura de CH₂Cl₂: MeOH (9,5:0,5) em duas eluições, resultando em sete subfrações (GOC6-1 a GOC6-7). Destas, as subfrações GOC6-4 e GOC6-6 foram submetidas às análises por RMN.

4.6.4 Estudo cromatográfico da fração GOC7/8

As frações GOC7 (26,3 mg) e GOC8 (14,0 mg), de origem do fracionamento cromatográfico da FACGO, foram reunidas obtendo uma única fração GOC7/8, com massa de 40,3 mg. Esta foi submetida à purificação por CCDP, com uma mistura de CH₂Cl₂: MeOH (9,5:0,5) em três eluições, resultando em dez subfrações (GOC7/8-1 a GOC7/8-10). Destas, as subfrações GOC7/8-3, GOC7/8-4, GOC7/8-5 e GOC7/8-6 foram submetidas às análises por RMN.

4.6.5 Estudo cromatográfico da fração GOC9

A fração GOC9, com massa de 94,7 mg, de origem do fracionamento cromatográfico da FACGO foi submetida à purificação por CCDP, com uma mistura de CH₂Cl₂: MeOH (9,5:0,5) em três eluições, resultando em sete subfrações (GOC9-1 a GOC9-7). Destas, as subfrações GOC9-2 e GOC9-3 foram submetidas às análises por RMN.

4.6.6 Estudo cromatográfico da fração GOC10

A fração GOC10, com massa de 64,0 mg, de origem do fracionamento cromatográfico da FACGO foi submetida à purificação por CCDP, com uma mistura de CH₂Cl₂: MeOH (9,5:0,5) em três eluições, resultando em seis subfrações (GOC10-

1 a GOC10-6). Destas, as subfrações GOC10-3 e GOC10-4 foram submetidas às análises por RMN.

4.6.7 Estudo cromatográfico da fração GOC11

A fração GOC11, com massa de 206,1 mg, de origem do fracionamento cromatográfico da FACGO foi dividida e uma parte (90 mg) foi submetida à purificação por CCDP, com uma mistura de CH₂Cl₂: MeOH (9,5:0,5) em três eluições, resultando em nove subfrações (GOC11-1 a GOC11-9). Destas, as subfrações GOC11-4, GOC11-6 e GOC11-7 foram submetidas às análises por RMN.

4.6.8 Estudo cromatográfico da fração GOC12

A fração GOC12, com massa de 71,6 mg, de origem do fracionamento cromatográfico da FACGO foi submetida à purificação por CCDP, com uma mistura de CH₂Cl₂: MeOH (9,5:0,5) em duas eluições, resultando em sete subfrações (GOC12-1 a GOC12-7). Destas, a subfração GOC12-3 foi submetida à análise por RMN.

4.6.9 Estudo cromatográfico da fração GOC13

A fração GOC13, com massa de 86,0 mg, de origem do fracionamento cromatográfico da FACGO foi submetida à purificação por CCDP, com uma mistura de CH₂Cl₂: MeOH (9,5:0,5) em três eluições, resultando em quatro subfrações (GOC13-1 a GOC13-4). Destas, a subfração GOC13-2 foi submetida à análise por RMN.

4.6.10 Estudo cromatográfico da fração GOC14

A fração GOC14, com massa de 74,1 mg, de origem do fracionamento cromatográfico da FACGO foi submetida à purificação por CCDP, com uma mistura de CH₂Cl₂: MeOH (9,5:0,5) em três eluições, resultando em cinco subfrações (GOC14-1 a GOC14-5). Nesta fração a separação não foi realizada de forma eficiente, permanecendo compostos majoritários presentes em mistura, portanto não foi possível obter substâncias isoladas desta fração.

4.7 Análises espectroscópicas e espectrométricas

4.7.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) das substâncias isoladas foram obtidos na Central Analítica do Centro de Apoio Multidisciplinar da Universidade Federal do Amazonas (CA/CAM/UFAM) utilizando um aparelho espectrômetro de RMN BRUKER AVANCE III HD operando a 11,75 Teslas (500,13 MHz para RMN de ^1H e 125,76 MHz para RMN de ^{13}C). As amostras foram solubilizadas em clorofórmio deuterado (CDCl_3), utilizando o tetrametilsilano (TMS) como padrão de referência interno. Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm (δ) e as multiplicidades dos sinais indicadas segundo a convenção: s (simpleto), sl (simpleto largo), d (duplete), dd (duplo duplete), ddd (duplo duplo duplete), t (triplete), dt (duplo triplete), dtd (duplo triplo duplete) e td (triplo duplete ou triplete de duplete). As constantes de acoplamento (J) foram registradas em Hertz (Hz).

4.7.2 Espectrometria de massas (EM)

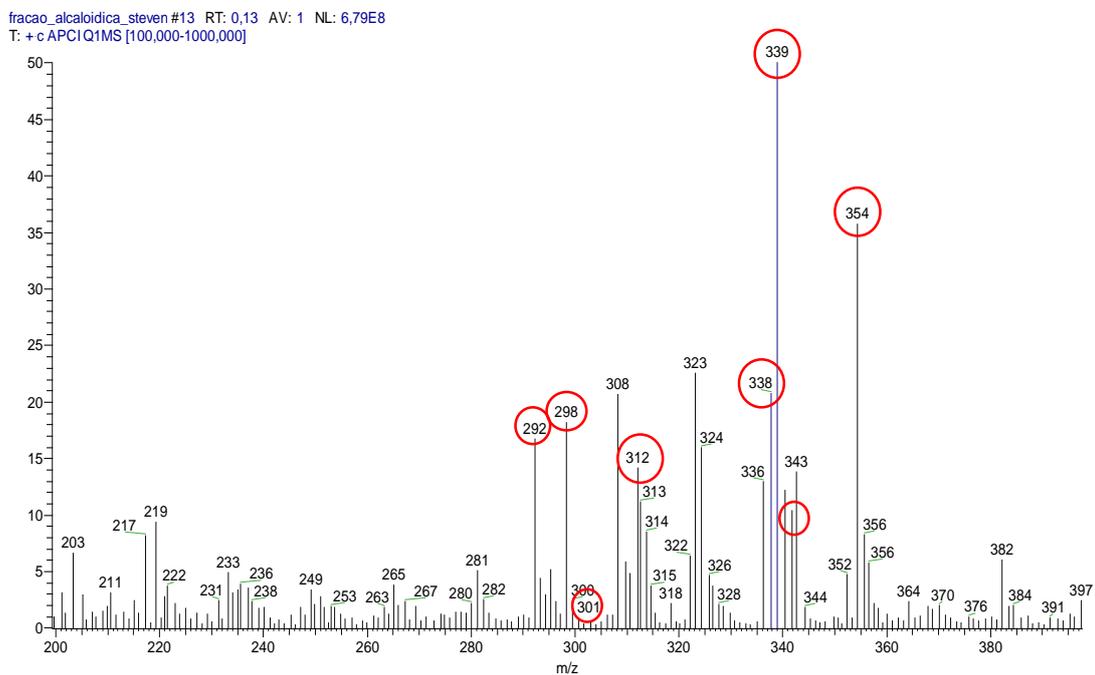
A fração alcaloídica das cascas de *G. olivacea* (FACGO), bem como as substâncias isoladas foram submetidas às análises por espectrometria de massas (EM). As amostras foram solubilizadas em metanol grau HPLC, gerando soluções estoque de 1000 ppm. Alíquotas de 10 μL dessas soluções foram transferidas para vials contendo 1 mL de MeOH. Em seguida, 5 μL das soluções diluídas foram analisadas por inserção direta no espectrômetro de massas do tipo ion trap, modelo LCQ Fleet, equipado com fonte APCI operando nos modos positivo e negativo. Os parâmetros analíticos utilizados foram os seguintes: discharge current: 5 μA ; vaporizer temperature: 320 $^\circ\text{C}$; capillary temperature: 220 $^\circ\text{C}$; sheath gas: 30 psi; aux gas: 10 arb, mass range, m/z 100-1000. Os espectros de MS/MS foram adquiridos utilizando hélio como gás de colisão e energia variando entre 20-30%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análise do perfil cromatográfico da fração alcaloídica das cascas de *Guatteria olivacea* por espectrometria de massas (APCI-MS)

O resultado do tratamento ácido-base realizado com o extrato metanólico das cascas de *G. olivacea* forneceu duas frações, sendo elas a fração neutra (FNCGO) e a fração alcaloídica (FACGO). A fração alcaloídica foi submetida à análise espectrométrica com o intuito de obter um estudo preliminar do perfil químico dos seus componentes. A análise, portanto, foi realizada em *full scan electrospray*, no modo positivo (APCI+) de aquisição, afim de obter uma caracterização de íons presentes na fração. O espectro de massas (FIGURA 4) apresentou diversos íons de m/z par $[M+H]^+$, o que indica possíveis presenças de alcaloides (da SILVA, 2012), destacando-se os de m/z 354, 342, 339, 338, 312, 301, 298 e 292.

FIGURA 4. Espectro de massas da fração alcaloídica das cascas de *G. olivacea* (FACGO)



5.2 Identificação estrutural das substâncias isoladas das cascas de *G.olivacea*

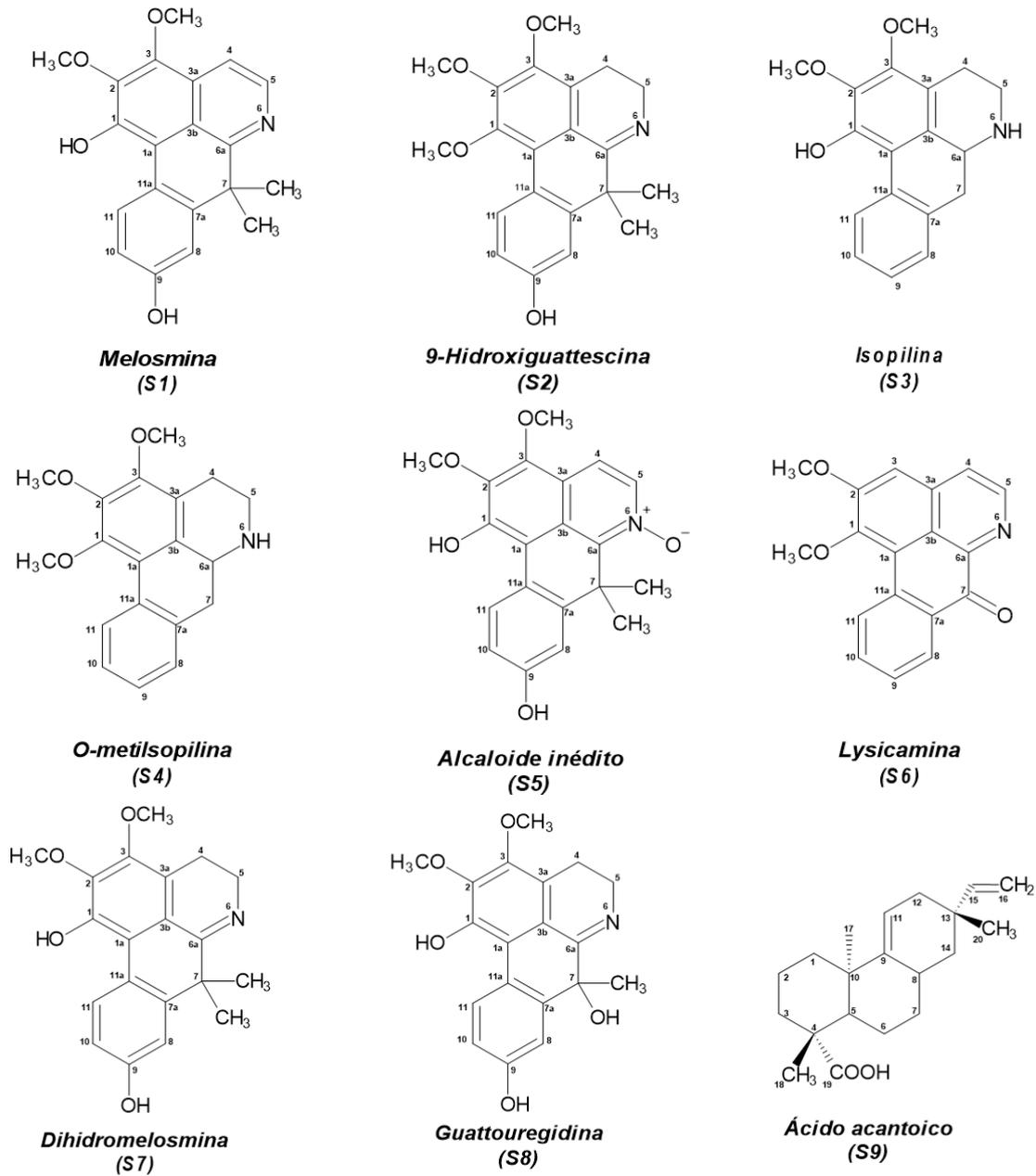
O estudo prévio e parcial realizado por Manickchand (2021), ainda que incompleto, possibilitou o isolamento de cinco alcaloides, sendo dois deles do tipo 7,7-dimetilaporfino (melosmina e 9-Hidroxiaguattescina) (**S1** e **S2**), sendo ambos com o primeiro relato na espécie; dois do tipo *stricto sensu* (isopilina e O-metilisopilina) (**S3** e **S4**), sendo de mesma forma relatados pela primeira vez na espécie, além de um outro alcaloide também do tipo 7,7-dimetilaporfino, o qual não há relatos do mesmo na literatura, sendo considerado portanto um alcaloide inédito (**S5**).

O presente trabalho monográfico, o qual buscou complementar de forma ampla o trabalho outrora interrompido, realizou o estudo fitoquímico da fração alcaloídica das cascas de *G.olivacea* (FACGO), resultando no isolamento de sete substâncias, quatro destas sendo apresentadas como primeiro relato na espécie, tratando-se de um alcaloide oxoaporfínico (lysicamina) (**S6**), de um alcaloide do tipo 7,7-dimetilaporfino (dihidromelosmina) (**S7**), de um alcaloide do tipo 7-Hidroxi-7-metilaporfino (guattouregidina) (**S8**) e de um diterpeno (ácido acantóico) (**S9**); além de três substâncias reisoladas, se tratando dos três alcaloides do tipo 7,7-dimetilaporfino (melosmina, 9-Hidroxiaguattescina e um alcaloide inédito) (**S1,S2,S3**) (TABELA 2 e FIGURA 5).

TABELA 2. Substâncias isoladas das cascas de *G.olivacea* (FACGO).

Alcaloides aporfinoídes				Diterpeno
7,7-dimetilaporfinos	<i>Stricto sensu</i>	Oxoaporfínico	7-Hidroxi-7-metilaporfino	
S1	S3	S6	S8	S9
S2	S4			
S5				
S7				

FIGURA 5. Substâncias isoladas de FACGO neste trabalho.



Fonte: O autor.

5.2.1 Identificação estrutural dos alcaloides do tipo 7,7-dimetilaporfino

5.2.1.1 Identificação estrutural de S1

As frações GOC5-2 (5,3 mg), GOC7/8-5 (11,8 mg), GOC9-3 (16,6 mg), GOC10-3 (18,8 mg) e GOC11-7 (5,3 mg) apresentaram-se como cristais na coloração amarela, e após as purificações realizadas por CCDP e posteriores análises por RMN foi possível observar que tratavam-se da mesma substância, o alcaloide do tipo 7,7-dimetilaporfino melosmina (**S1**) (FIGURA 5). Estas frações testaram positivo frente ao reagente de Dragendorff para compostos alcaloídicos, o que foi confirmado através dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (FIGURAS 6, 7, 8, 9 e 10), observando a presença de cinco sinais de hidrogênios aromáticos atribuídos nas faixas de deslocamento de δ 7,69 (1H, d, $J= 5,7\text{Hz}$), δ 8,46 (1H, d, $J= 5,7\text{Hz}$), δ 7,17 (1H, d, $J= 2,8\text{Hz}$), δ 6,86 (1H, dd, $J= 8,9\text{Hz}$) e δ 8,87 (1H, d, $J= 8,9\text{ Hz}$), atribuídos desta forma aos H-4, H-5, H-8, H-10 e H-11. Além disso, um simpleto com deslocamento em δ 1,74 (6H, s) pode ser atribuído aos hidrogênios do grupo dimetílico no C-7, e dois outros simpletos são atribuídos aos hidrogênios remanescentes dos dois grupos metoxílicos ($-\text{OCH}_3$) nos C-2 e C-3 em δ 4,18 (3H, s) e δ 4,00 (3H, s), respectivamente (FIGURAS 6,7 e 8).

FIGURA 6. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S1.

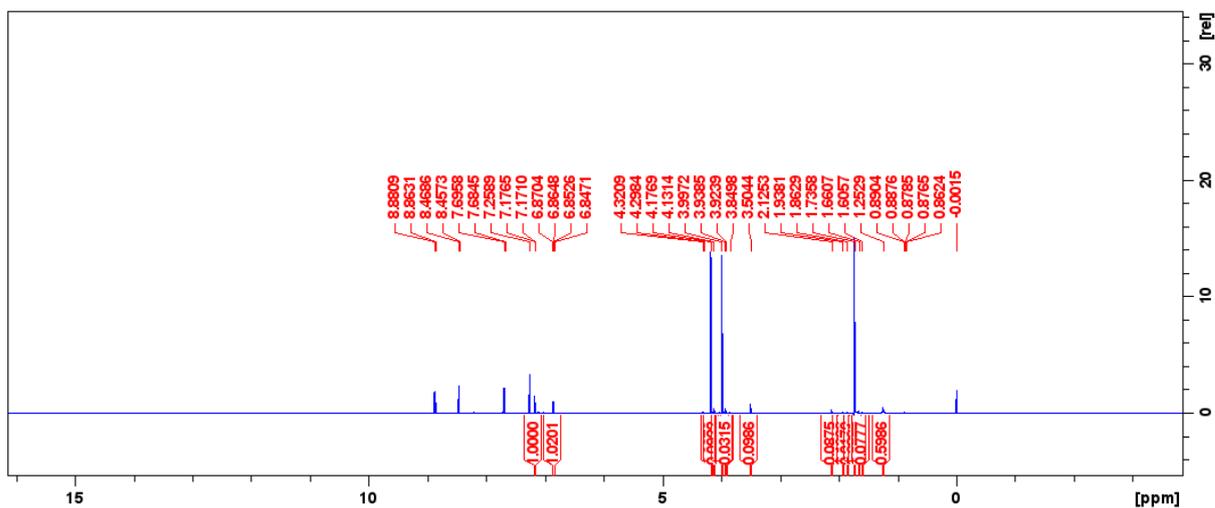


FIGURA 7. Ampliação δ 9,00 - 6,80 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S1.

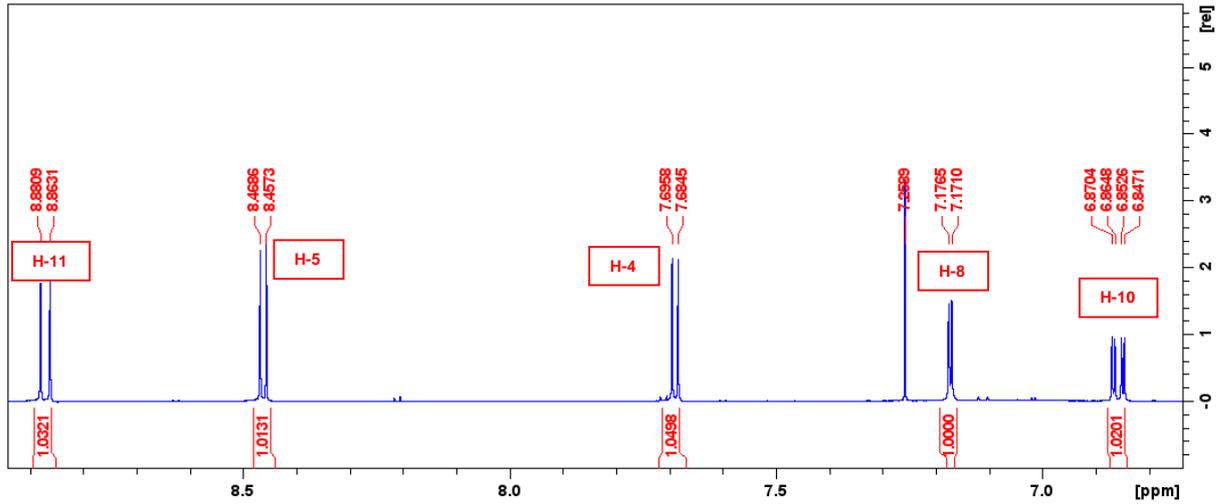
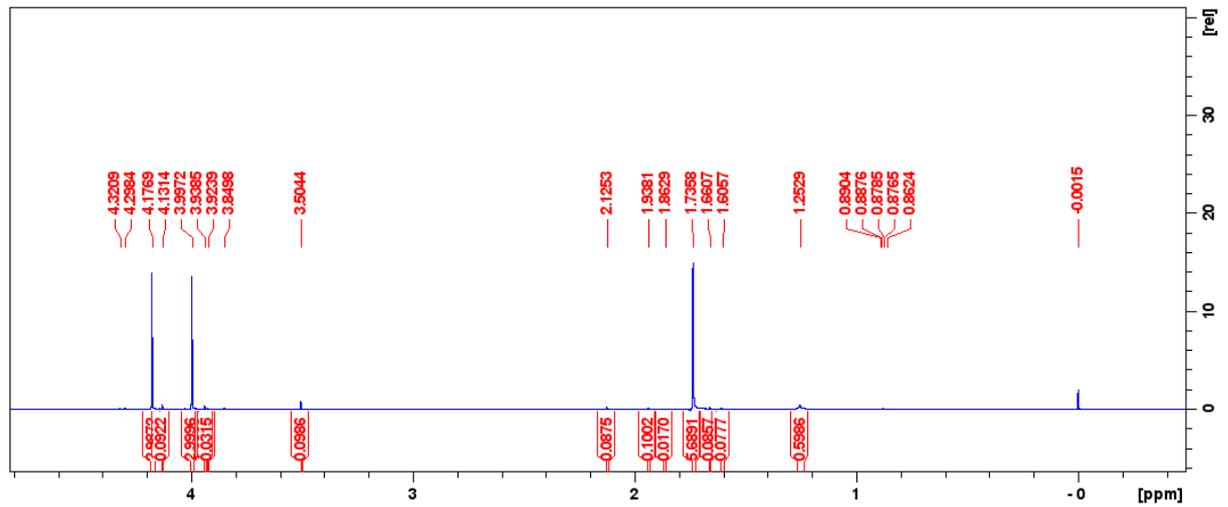
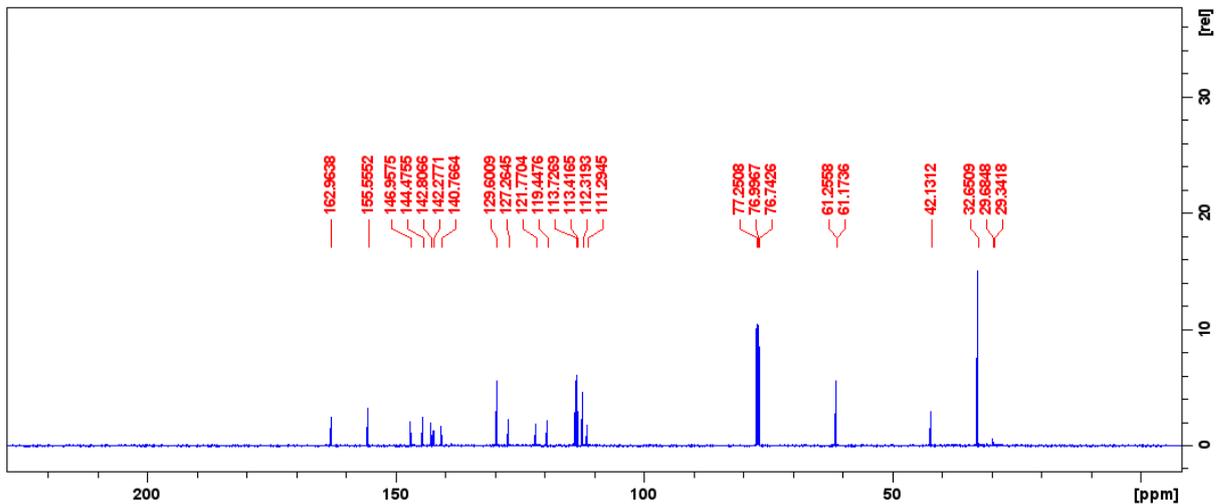


FIGURA 8. Ampliação δ 4,80 - 0,00 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S1.



Observou-se ainda a presença de 20 carbonos, sendo destes 16 aromáticos, 2 metílicos e 2 metoxílicos, com quatro carbonos aromáticos oxigenados em δ 142,8, δ

FIGURA 9. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de S1.



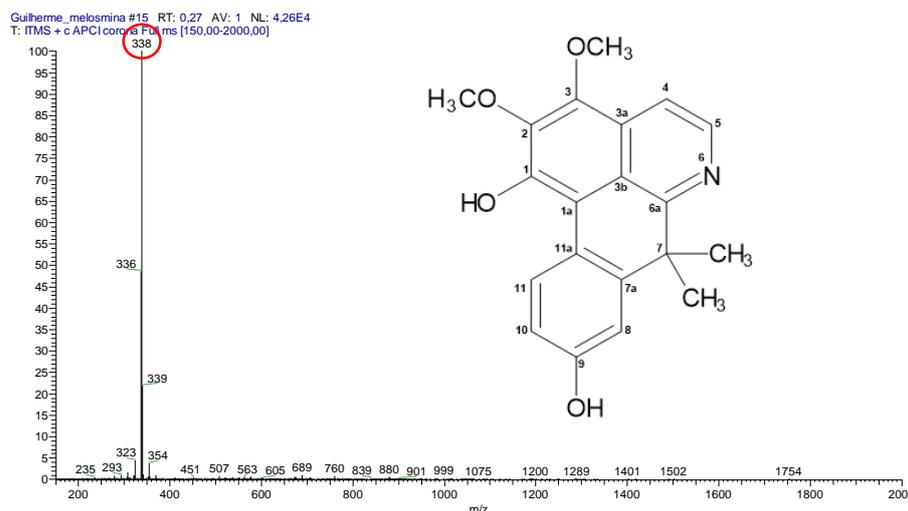
8	7,17 (1H, d, 2,8 Hz)	7,22 (1H, d, 3 Hz)	112,3; C	112,5; C
9			155,6; C	156,0; C
10	6,86 (1H, dd, 8,9Hz)	6,89 (1H, dd, 9,3 Hz)	113,4; C	113,5; C
11	8,87 (1H, d, 8,9 Hz)	8,91 (1H, d, 9Hz)	129,6; C	129,6; C
11a			121,8; C	121,3; C
2-OCH₃	4,18 (3H, s)	4,17 (3H, s)	61,2	61,1
3-OCH₃	4,00 (3H, s)	4,00 (3H, s)	61,3	61,1
7-CH₃ (2x)	1,74 (6H, s)	1,73 (6H, s)	32,7	32,6

^aExperimento realizado a 500 MHz para ¹H e 125 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno;

^bZABEL *et al.*, 1982 (¹H: 400 MHz); ^cLEBOEUF *et al.*, 1982 (¹³C: 100 MHz; CDCl₃); (δ) Deslocamentos em ppm.

A análise por espectrometria de massas (EM) (FIGURA 11) realizada por *full scan electrospray*, no modo positivo (APCI+) de aquisição, permitiu a observação de um íon de maior intensidade, evidenciando a molécula protonada [M+H]⁺ com *m/z* 338 Da, íons este presente na fração alcaloídica, demonstrada no espectro de massas acima (FIGURA 4) o que pode ser correlacionada com a fórmula molecular C₂₀H₁₉NO₄ e sua massa molecular 337,3692 g.mol⁻¹.

FIGURA 11. Espectro de massas de S1.



5.2.1.2 Identificação estrutural de S2

As frações GOC6-6 (5,7 mg) e GOC7/8-4 (9,6 mg) apresentaram-se como um sólido marrom escuro, e após as purificações realizadas por CCDP e posteriores

análises por RMN foi possível observar que tratavam-se da mesma substância, o alcaloide do tipo 7,7-dimetilaporfino 9-Hidroguattescina (**S2**) (FIGURA 5). Estas frações testaram positivo frente ao reagente de Dragendorff para compostos alcaloídicos, o que foi confirmado através dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (FIGURAS 12,13,14,15 e 16). A substância em questão apresentou as mesmas características de estrutura quanto ao esqueleto da substância anterior, **S1**, observando a presença de cinco sinais de hidrogênios aromáticos atribuídos nas faixas de deslocamento de δ 2,65-2,62 (1H, m), δ 3,64-3,61 (1H, m), δ 7,01 (1H, d, $J=2,6\text{Hz}$), δ 6,77 (1H, dd, $J=8,7$ e $2,7\text{Hz}$) e δ 8,38 (1H, d, $J=8,7\text{ Hz}$), atribuídos desta forma aos H-4, H-5, H-8, H-10 e H-11. Da mesma forma, um simpleto com deslocamento em δ 1,48 (6H, s) pode ser atribuído aos hidrogênios do grupo dimetílico no C-7, e desta vez o que o diferencia da outra estrutura são três outros simpletos atribuídos aos hidrogênios remanescentes dos três grupos metoxílicos ($-\text{OCH}_3$) nos C-1, C-2 e C-3 em δ 3,79 (3H, s), δ 4,02 (3H, s) e δ 3,90 (3H, s), respectivamente (FIGURAS 12, 13,14 e 15)

FIGURA 12. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S2.

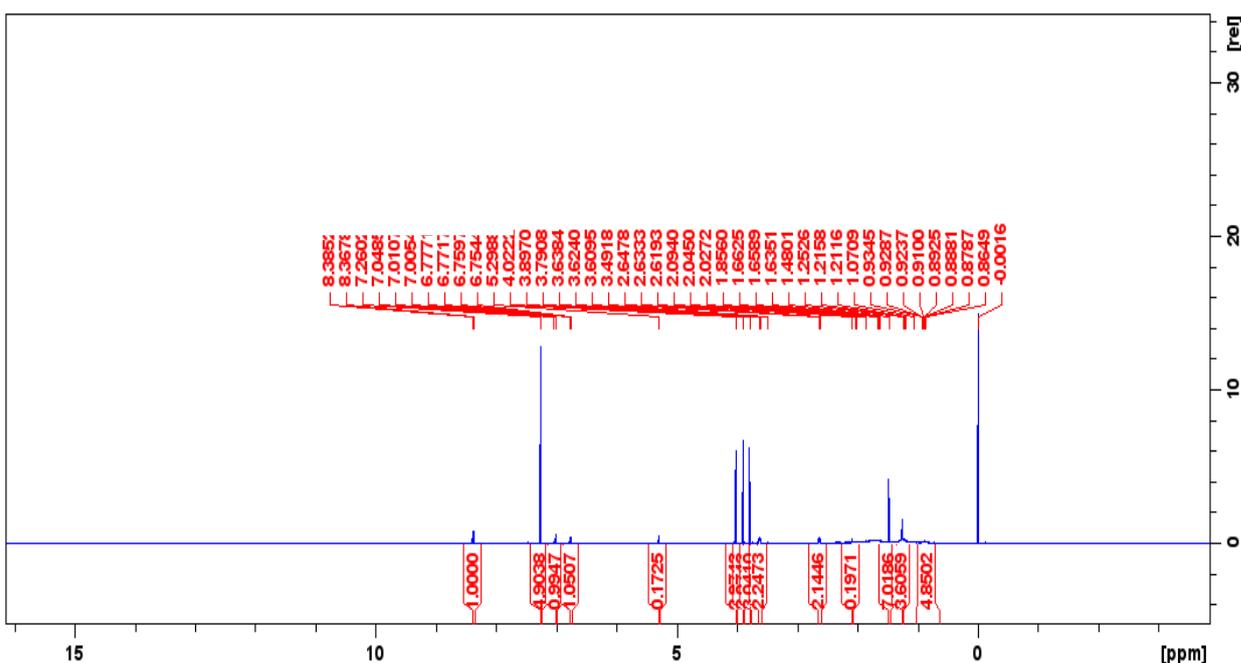


FIGURA 13. Ampliação δ 4,00-2,60 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ^1H de S2.

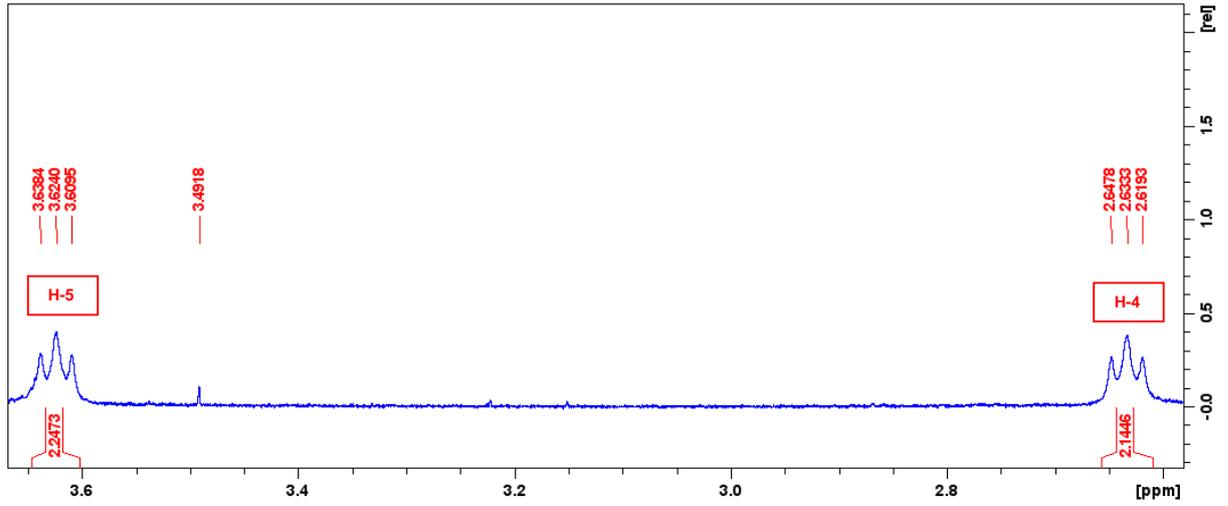


FIGURA 14. Ampliação δ 8,40-6,70 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ^1H de S2.

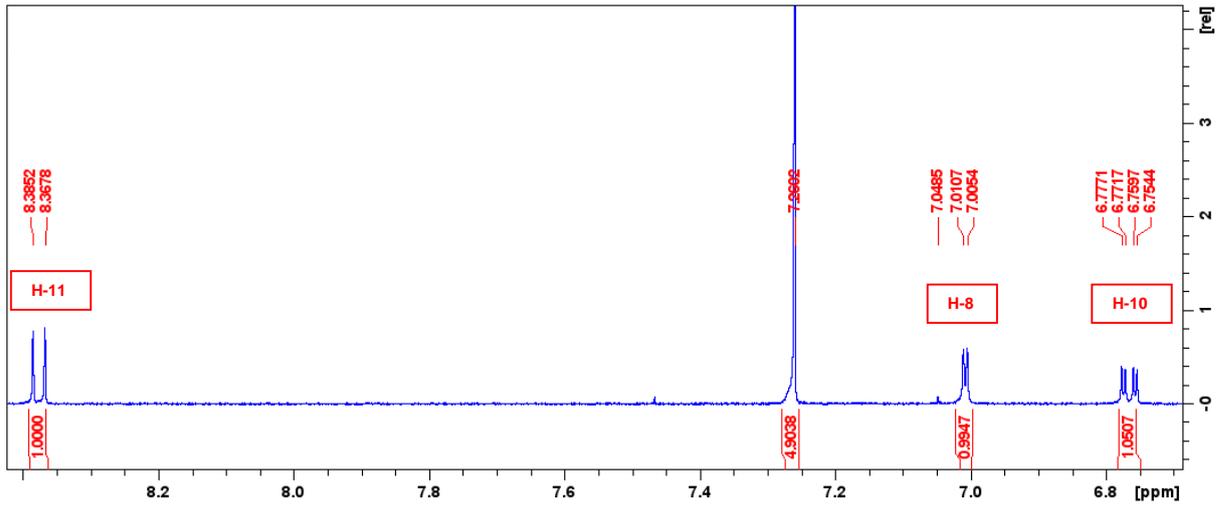
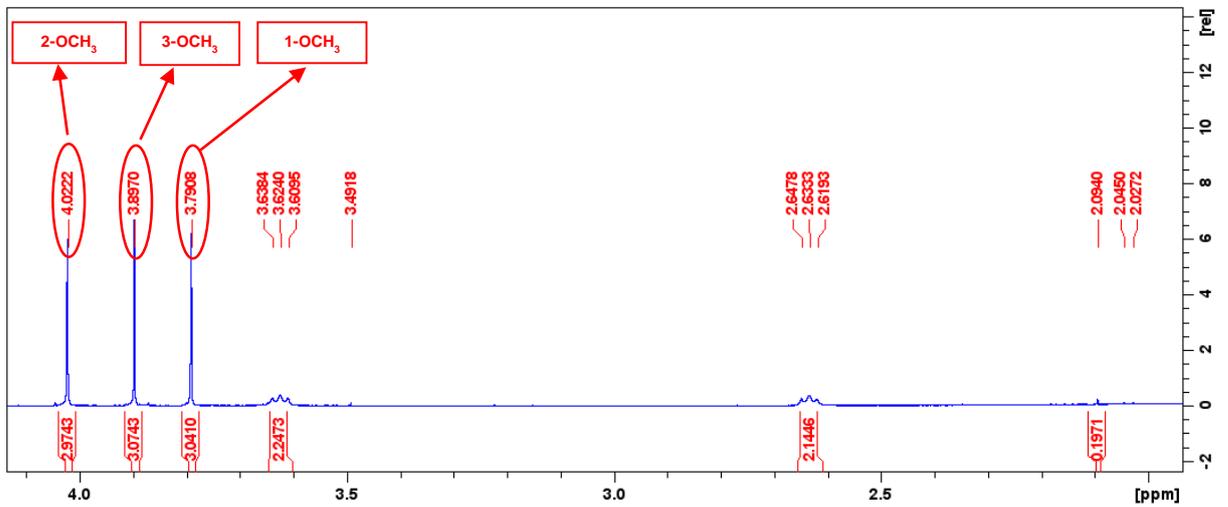


FIGURA 15. Ampliação δ 4,10-2,00 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de ^1H de S2.



Observou-se ainda a presença de 21 carbonos, sendo destes 16 aromáticos, 2 metílicos e 3 metoxílicos, com quatro carbonos aromáticos oxigenados em δ 149,4, δ 149,7, δ 148,6 e δ 155,7, correspondendo aos C-1, C-2, C-3 e C-9, respectivamente (FIGURAS 16 e 17)

FIGURA 16. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de S2.

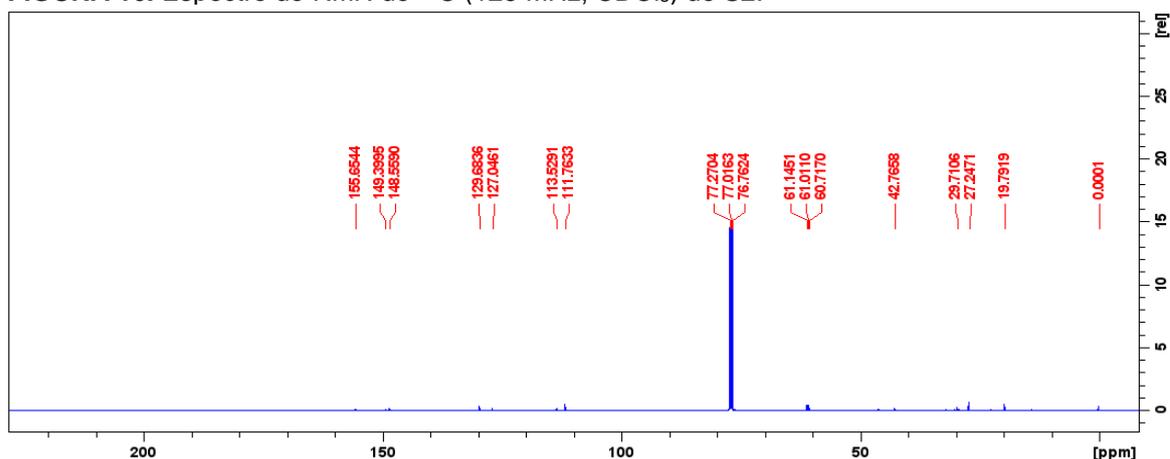
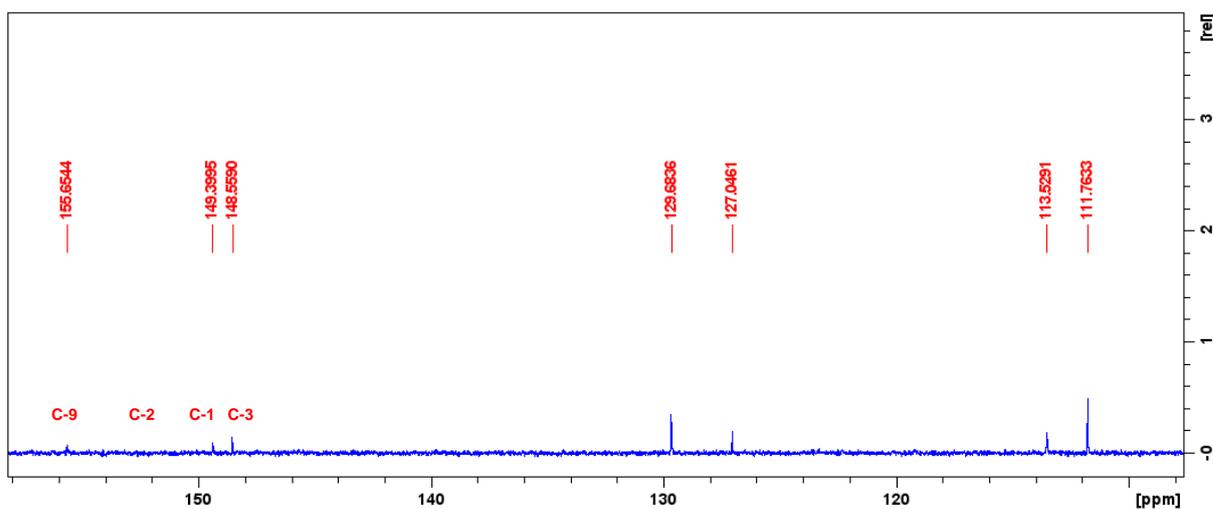


FIGURA 17. Ampliação δ 158-110 do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de S2.



Na TABELA 4 abaixo são apresentados os dados de RMN de ^1H e ^{13}C referentes a **S2**, seguindo comparações realizadas junto à literatura.

TABELA 4. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de S2.

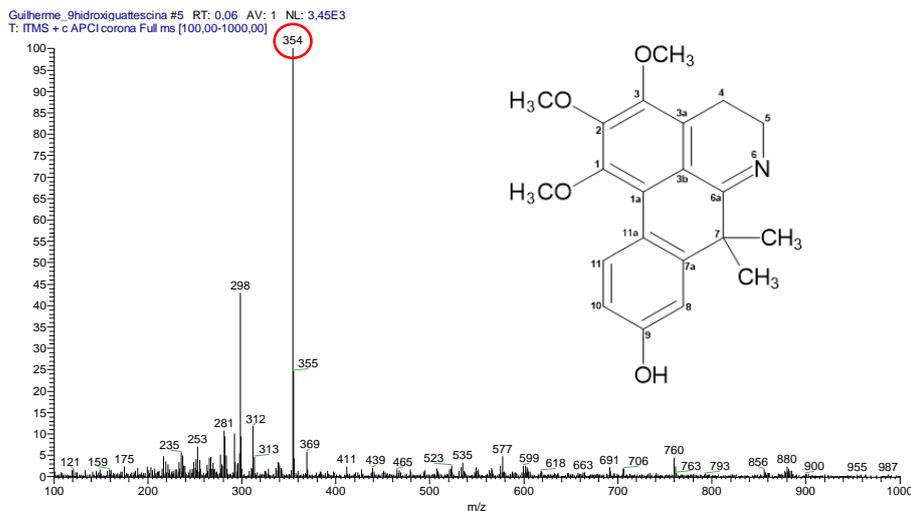
Posição	<i>9-Hidroiquattescina</i>		<i>9-Hidroiquattescina</i>	
	<i>GOC7/8-4</i>	(Literatura)	<i>GOC7/8-4</i>	(Literatura)
	^1H δ (mult., J em Hz)	^1H δ (mult., J em Hz)		

	^1H (δ) ^a	^1H (δ) ^b	^{13}C (δ) ^a	^{13}C (δ) ^b
1			149,4; C	149,2; C
1a				123,7; C
2				149,7; C
3			148,6; C	148,3; C
3a			127,05; C	127,0; C
3b				119,4; C
4	2,65-2,62 (1H ,m)	2,63-2,60 (1H ,m)	19,8; CH ₂	19,8; CH ₂
5	3,64-3,61 (1H, m)	3,57-3,54 (1H ,m)		46,1; CH ₂
6a				172,8; C
7			42,8; C	42,8; C
7a				145,5; C
8	7,01 (1H, d, 2,6)	7,00 (1H, d, 2,6)	111,8; CH	111,6; CH
9			155,7; C	156,8; C
10	6,77(1H, dd, 8,7; 2,7)	6,77 (1H, dd, 8,7; 2,6)	113,5; CH	113,5; CH
11	8,38 (1H, d, 8,7)	8,33 (1H, d, 8,7)	129,7; CH	129,6; CH
11a				121,4; C
1-OCH₃	3,79 (3H, s)	3,78 (3H, s)	60,7	60,7
2-OCH₃	4,02 (3H, s)	4,02 (3H, s)	61,1	61,2
3-OCH₃	3,90 (3H, s)	3,89 (3H, s)	61,0	61,0
7- CH₃ (2x)	1,48 (6H, s)	1,45 (6H, s)	27,2	27,1

^aExperimento realizado a 500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno;

^bCOSTA *et al.*, 2016 (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3); (δ) Deslocamentos em ppm.

A análise por espectrometria de massas (EM) (FIGURA 18) em (APCI+), permitiu a observação de um íon de maior intensidade, evidenciando a molécula protonada $[\text{M}+\text{H}]^+$ com m/z 354 Da, íons este presente na fração alcaloídica, demonstrada no espectro de massas acima (FIGURA 4) o que pode ser correlacionada com a fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{NO}_4$ e sua massa molecular $352,4116 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

FIGURA 18. Espectro de massas de S2.

5.2.1.3 Identificação estrutural de S5

As frações GOC11-6 (3,4 mg), GOC12-3 (22,7 mg) e GOC13-2 (15,3 mg) foram submetidas às purificações por CCDP e posteriores análises por RMN, onde foi possível observar que tratavam-se da mesma substância, um alcaloide do tipo 7,7-dimetilporfino (**S5**) (FIGURA 5).

Através das análises do espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃; FIGURAS 19,20 e 21) e ¹³C (125 MHz, CDCl₃; FIGURA 22) comprovou-se estas características de um alcaloide do tipo 7,7-dimetilporfínico devido ao sinal de um simpleto em δ 1,88 com integração para seis hidrogênios no espectro de RMN de ¹H correlacionado ao sinal do carbono em δ 27,5, típicos dos grupos metílicos substituídos em C-7. Ainda foi possível observar a ausência dos sinais dos hidrogênios diastereotópicos H-4 e H-5, típico do sistema alifático do anel B que foram substituídos por dois sinais de hidrogênios aromáticos em δ 7,75 (1H, d, $J= 5,9$ Hz) e δ 8,19 (1H, d, $J= 5,9$ Hz), indicando a presença de um anel piridínico na molécula, ou seja, que o anel B agora é aromático, ao contrário da substância descrita anteriormente. Esta substância **S5** se difere da **S2** somente na aromaticidade do anel B que foi descrita no parágrafo acima, na presença de uma hidroxila no carbono C-1 δ 149,9 e o principal destaque é a presença de um átomo de oxigênio ligado ao átomo de nitrogênio da molécula, formando assim o grupo nitroso (NO). No entanto, devido a valência do nitrogênio o mesmo se encontra carregado positivamente e o átomo de oxigênio carregado negativamente. Como a ligação entre N e O é do tipo covalente e neste caso há uma

presença de ligação do tipo pi (π) entre ambos, a mesma entra em ressonância com o anel B.

FIGURA 19. Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S5.

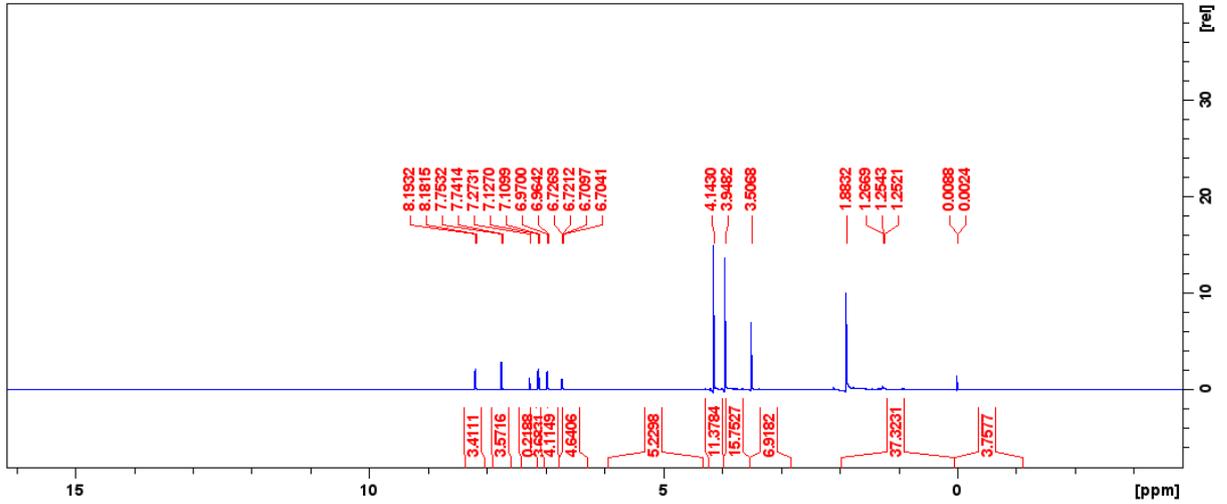


FIGURA 20. Ampliação δ 8,50-6,50 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S5.

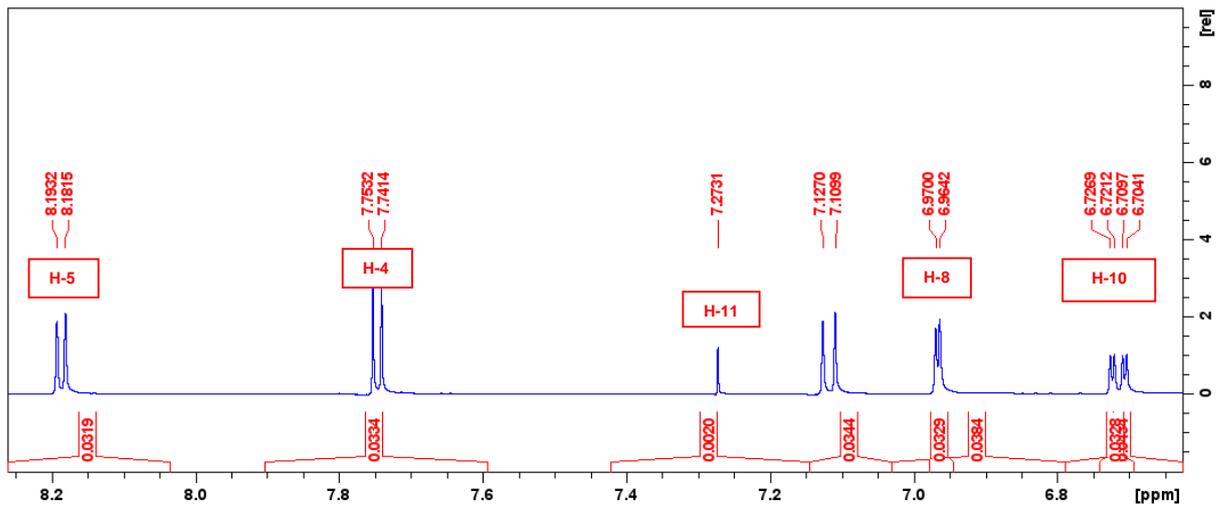


FIGURA 21. Ampliação δ 4,40-0,00 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S5

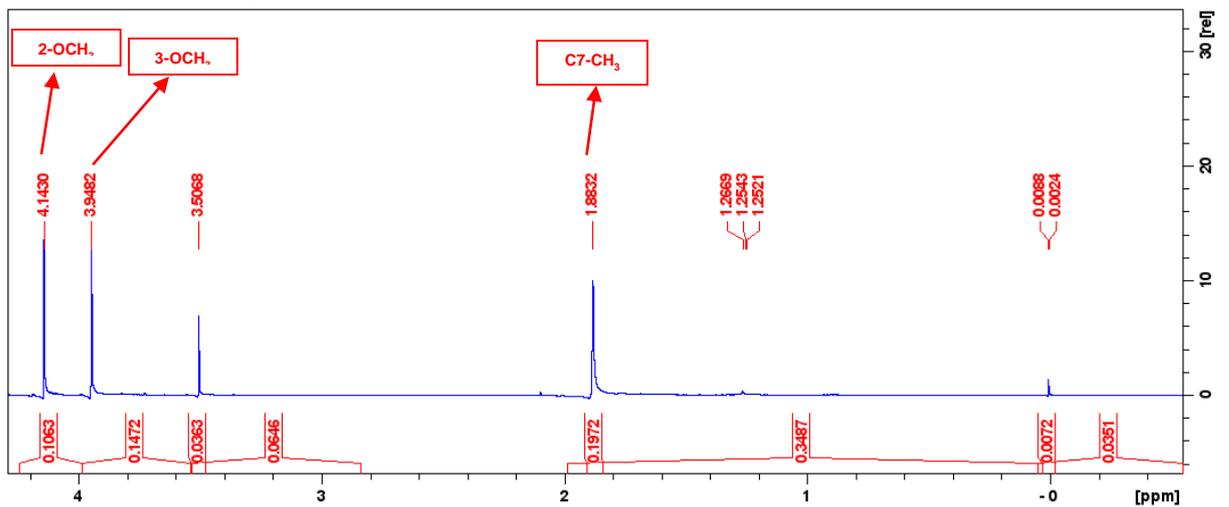
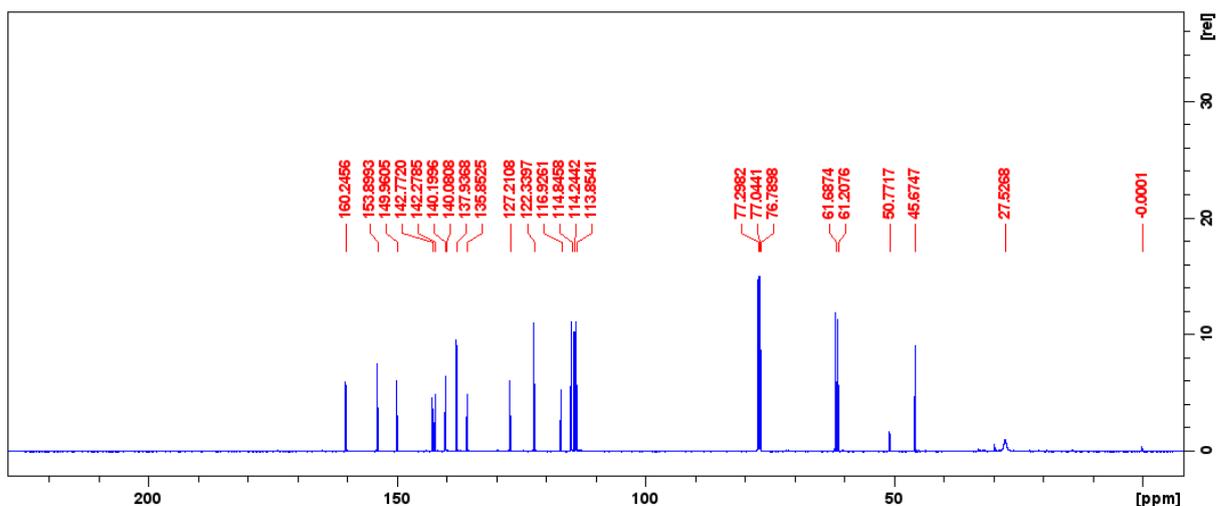


FIGURA 22. Espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de S5.

Na TABELA 5 abaixo são apresentados os dados de RMN de ^1H e ^{13}C referentes a **S5**, visto que não há relatos na literatura, entende-se que a mesma se trata de uma substância inédita.

TABELA 5. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de S5.

Posição	GOC11-6 (Substância Inédita)	
	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^{13}C (δ) ^a
1		150,0; C
1a		135,9; C
2		142,8; C
3		142,3; C
3a		127,2; C
3b		116,9; C
4	7,75 (1H, d, 5,9)	114,2; CH
5	8,19 (1H, d, 5,9)	137,9; CH
6a		160,2; C
7		45,7; C
7a		140,2; C
8	6,97 (1H, d, 2,9)	113,9; CH
9		153,9; C
10	6,72 (1H, dd, 8,6)	114,8; CH
11	7,12 (1H, d, 8,6)	122,3; CH
11a		140,1; C

2-OCH ₃	4,14 (3H, s)	61,2; CH ₃
3-OCH ₃	3,95 (3H, s)	61,7; CH ₃
7-CH ₃ (2x)	1,88 (6H, s)	27,5; CH ₃

^aExperimento realizado a 500 MHz para ¹H e 125 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno; (δ) Deslocamentos em ppm.

5.2.1.4 Identificação estrutural de S7

As frações GOC9-2 (11,4 mg) e GOC7/8-3 (5,1 mg) foram submetidas às purificações por CCDP e posteriores análises por RMN, onde foi possível observar que tratavam-se da mesma substância, o alcaloide do tipo 7,7-dimetilaporfino dihidromelosmina (**S7**) (FIGURA 5). Esta substância também apresentou-se com características de estrutura quanto ao esqueleto semelhantes à da substância, **S1**, melosmina, observando a presença de sete sinais de hidrogênios aromáticos atribuídos nas faixas de deslocamento de δ 2,61 (2H, t), δ 3,62 (2H, t), δ 7,01 (1H, d, $J= 2,7\text{Hz}$), δ 6,78 (1H, dd, $J= 2,7$ e $8,7$ Hz) e δ 8,44 (1H, d, $J= 0,8$ Hz), atribuídos desta forma aos H-4, H-5, H-8, H-10 e H-11. Da mesma forma, um simpleto com deslocamento em δ 1,41 (6H, s) pode ser atribuído aos hidrogênios do grupo dimetílico no C-7, e ainda outros dois simpletos atribuídos aos hidrogênios remanescentes dos dois grupos metoxílicos (-OCH₃) nos C-2 e C-3 em δ 4,02 (3H, s) e δ 3,86 (3H, s), respectivamente (FIGURAS 23, 24 e 25). A diferença entre a dihidromelosmina (**S7**) e a melosmina (**S1**) é a quebra da aromaticidade do anel B evidenciada justamente pela presença de dois sinais de hidrogênios aromáticos a mais, atribuídos um para cada carbono, C-4 e C-5, respectivamente.

FIGURA 23. Ampliação δ4,20-1,90 do espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) de S7.

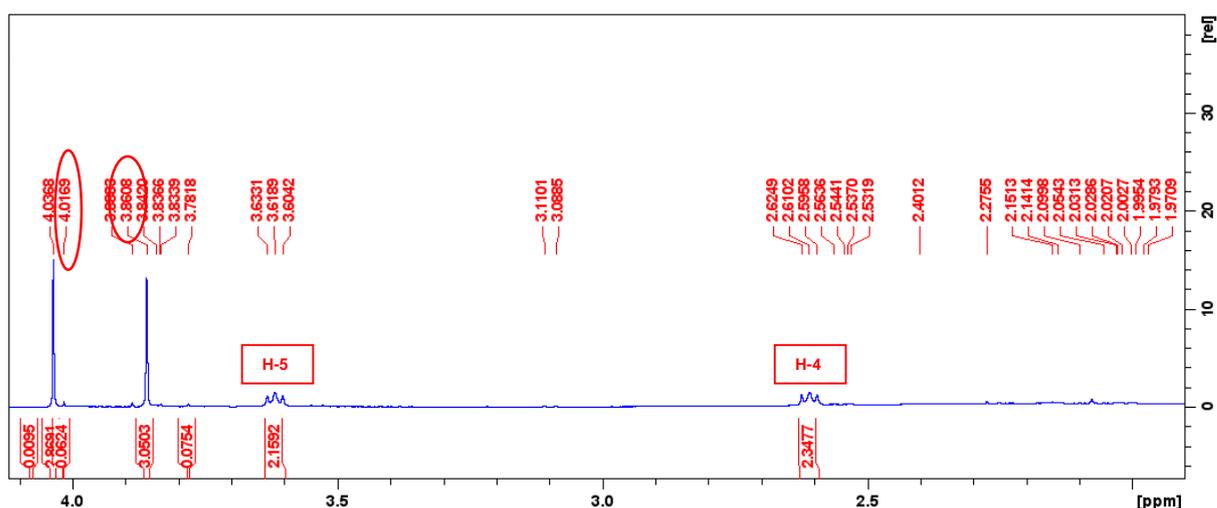


FIGURA 24. Ampliação δ 1,90-1,38 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S7.

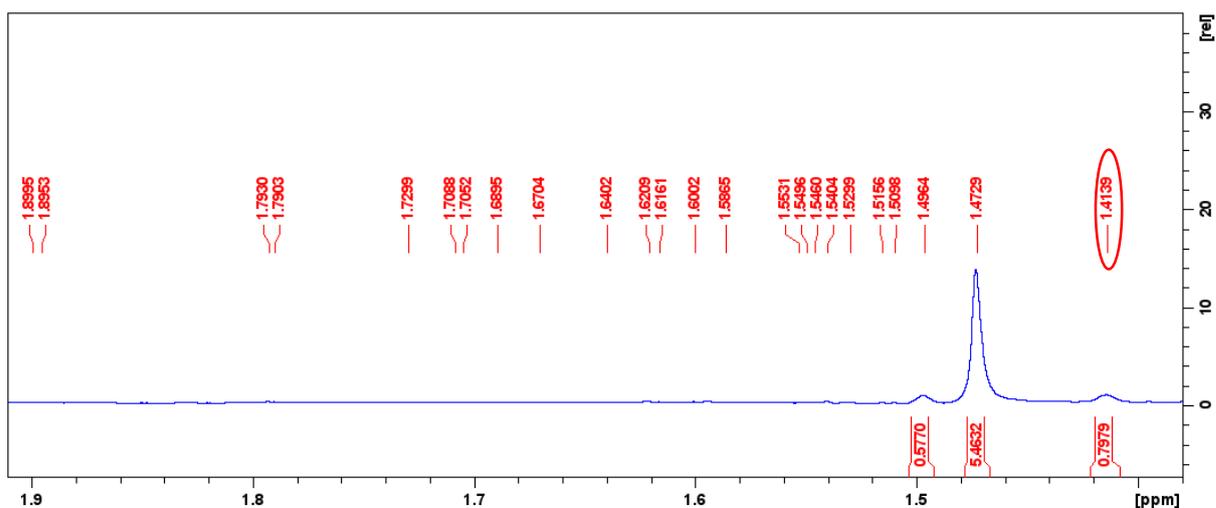
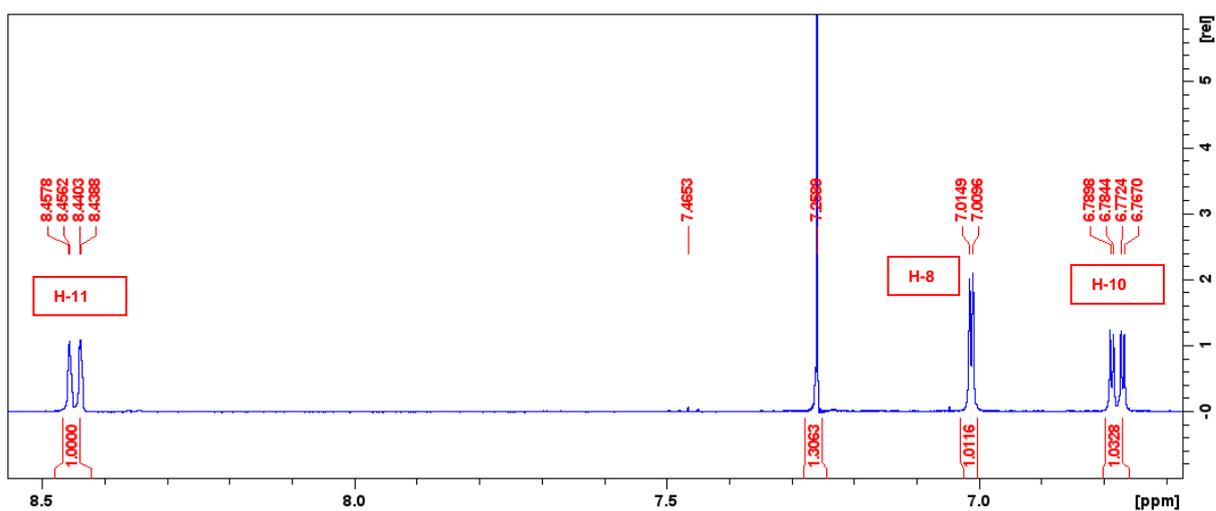


FIGURA 25. Ampliação δ 8,80-6,40 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S7.



Na TABELA 6 abaixo são apresentados os dados de RMN de ^1H referentes a S7, seguindo comparações realizadas junto à literatura.

TABELA 6. Dados de RMN de ^1H de S7.

Posição	GOC9-2	Dihidromelosmina (Literatura)
	^1H δ (mult., J em Hz) ^a	^1H δ (mult., J em Hz) ^b
1		
1a		
2		
3		
3a		
3b		

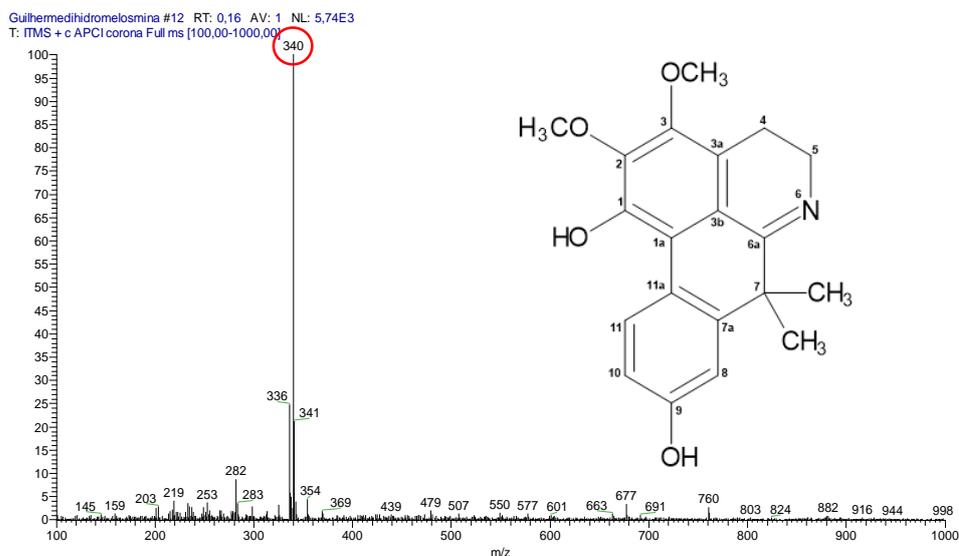
4	2,61 (2H, t)	2,55 (2H, t)
5	3,62 (2H, t)	3,56 (2H, t)
6a		
7		
7a		
8	7,01 (1H, d, 2,7 Hz)	6,96 (1H, d)
9		
10	6,78 (1H, dd, 2,7; 8,7 Hz)	6,74 (1H, dd, 2,8; 9 Hz)
11	8,44 (1H, d)	8,40 (1H, d)
11a		
2-OCH ₃	4,02 (3H, s)	3,99 (3H, s)
3-OCH ₃	3,86 (3H, s)	3,82 (3H, s)
7-CH ₃ (2x)	1,41 (6H, s)	1,41 (6H, s)

^aExperimento realizado a 500 MHz para ¹H em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno;

^bLEBOUEF *et al.*, 1983 (¹H: 400 MHz; CDCl₃); (δ) Deslocamentos em ppm.

A análise por espectrometria de massas (EM) (FIGURA 26) em (APCI+), permitiu a observação de um íon de maior intensidade, evidenciando a molécula protonada [M+H]⁺ com *m/z* 340 Da, íons este presente na fração alcaloídica, demonstrada no espectro de massas acima (FIGURA 4) o que pode ser correlacionada com a fórmula molécula C₂₀H₂₁NO₄ e sua massa molecular 339,3850 g.mol⁻¹.

FIGURA 26. Espectro de massas de S7.



5.2.2 Identificação estrutural dos alcaloides do tipo *stricto sensu*

5.2.2.1 Identificação estrutural de **S3** e **S4**

As frações GOC5-5 (5,7 mg) e GOC5-3 (8,6 mg) foram submetidas às purificações por CCDP e posteriores análises por RMN, onde foi possível observar que tratavam-se de dois alcaloides do tipo *stricto sensu* isopilina (**S3**) e O-metilisopilina (**S4**) (FIGURA 5).

Os dois alcaloides foram evidenciados pelos simpleto nas regiões de deslocamento entre δ 3,95-3,74 (3H, s), típicos sinais de grupos metoxílicos. Além disso, observou-se a presença de carbonos aromáticos oxigenados em δ 138,8 e δ 149,1, para **S3** e em δ 150,7, δ 145,6 e δ 150,3 para **S4**, respectivamente, sinais estes que são atribuídos aos C-1, C-2 e C-3 das estruturas, correspondendo aos grupos metoxílicos de mesmo modo. A diferença observada entre as duas estruturas está justamente no ligante do carbono oxigenado da posição no anel A do esqueleto, onde é possível notar a provável ausência de um grupo metoxílico em **S3** e portanto uma hidroxila presente nesta região (FIGURAS 27, 28, 29 e 30).

FIGURA 27. Ampliação δ 4,20-3,40 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de **S3**.

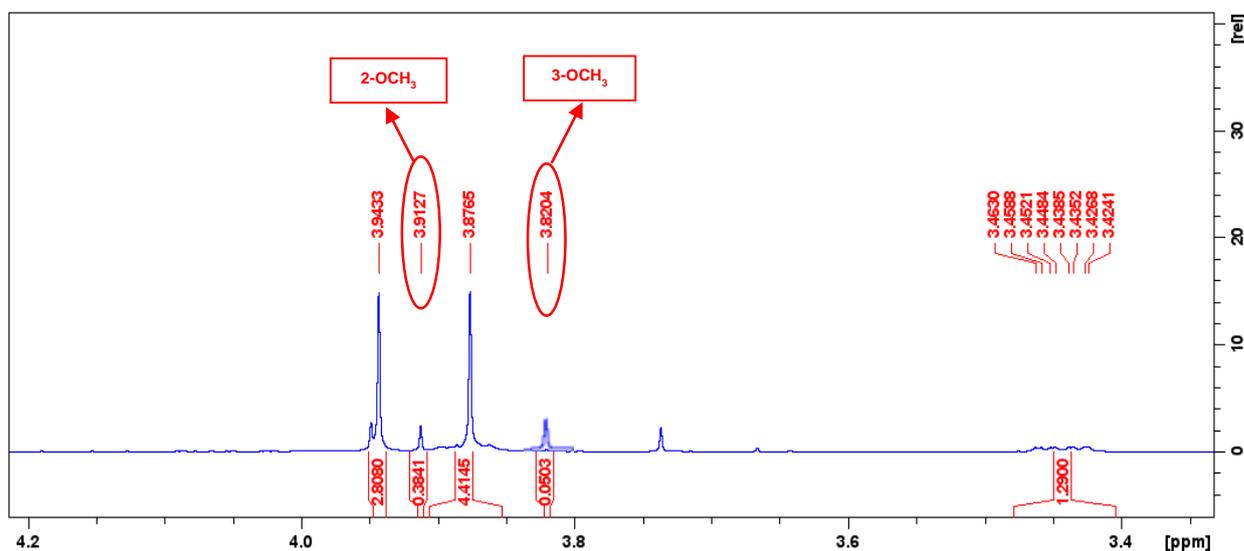


FIGURA 28. Ampliação δ 4,00-3,70 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S4.

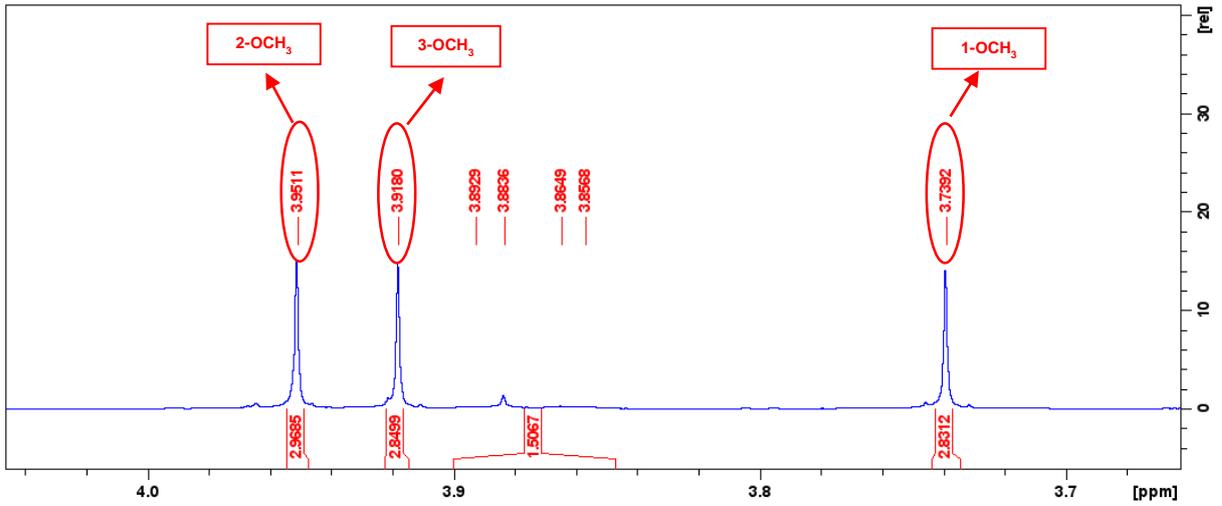


FIGURA 29. Ampliação δ 150-110 do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de S3.

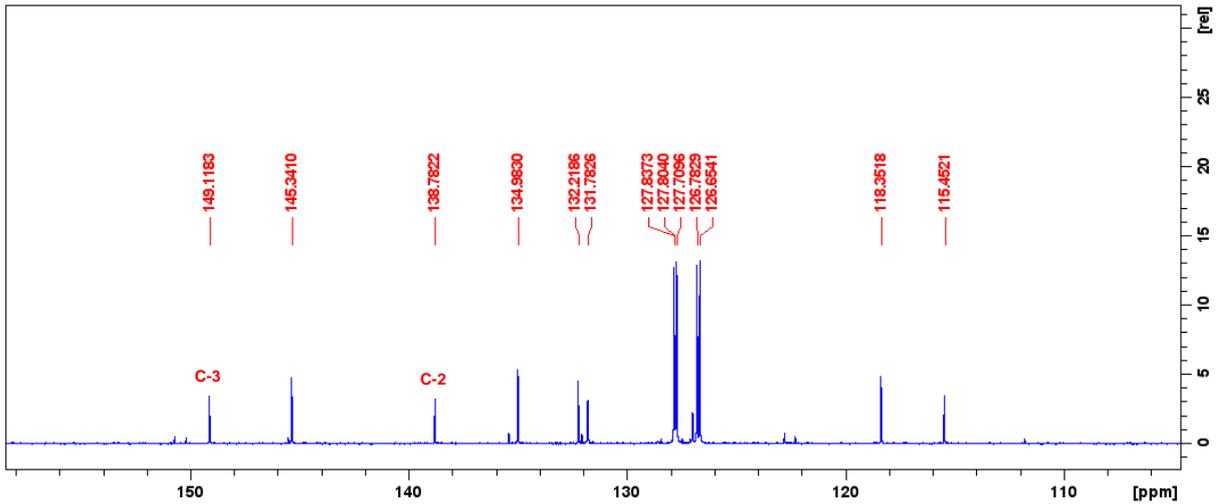
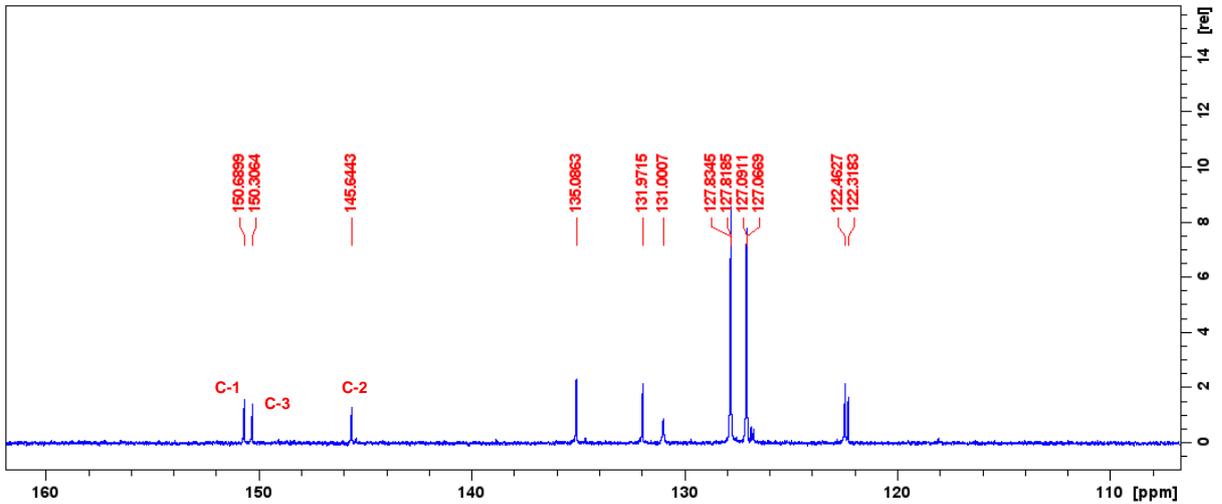


FIGURA 30. Ampliação δ 160-110 do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de S4.



Nas TABELA 7 e 8 abaixo são apresentados os dados de RMN de ^1H e ^{13}C referentes a **S3** e **S4**, devidamente referenciados junto a dados da literatura.

TABELA 7. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de S3.

Posição	<i>GOC5-5</i>	<i>Isopilina (Literatura)</i>	<i>Isopilina (Literatura)</i>	
	^1H δ (mult., J em Hz)	^1H δ (mult., J em Hz)	<i>GOC5-5</i>	^{13}C (δ) ^b
	^1H (δ) ^a	^1H (δ) ^b	^{13}C (δ) ^a	^{13}C (δ) ^b
1			145,3	145,3
1a			115,5	115,5
2			138,8	138,9
3			149,1	149,5
3a			118,4	117,9
3b			131,8	131,2
4			23,2	22,9
5			42,8	42,6
6a			53,7	53,4
7			36,9	36,8
7a	7,22 (1H, m)	7,22 (1H, m)	134,9	134,3
8	7,17 (1H, m)	7,17 (1H, m)	127,8	127,7
9	7,30 (1H, m)	7,30 (1H, m)	127,7	127,7
10	8,33 (1H, m)	8,32 (1H, m)	126,8	126,5
11			126,7	126,5
11a			132,2	132,7
2-OCH₃	3,91 (3H, s)	3,90 (3H, s)	59,9	59,7
3-OCH₃	3,82 (3H, s)	3,82 (3H, s)	60,8	60,6

^aExperimento realizado a 500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C em CDCl_3 , utilizando o TMS como padrão interno;

^bNAVARRO *et al.*, 2001 (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl_3); (δ) Deslocamentos em ppm.

TABELA 8. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de S4.

Posição	<i>GOC5-3</i>		<i>O-metilisopilina (Literatura)</i>	
	^1H δ (mult., J em Hz)		^1H δ (mult., J em Hz)	
	^{13}C (δ) ^a	^{13}C (δ) ^b	^{13}C (δ) ^a	^{13}C (δ) ^b
1			150,7	150,8
1a			122,3	122,2
2			145,6	144,5
3			150,3	150,8
3a			122,5	124,4
3b			131,0	131,2
4			23,2	23,7
5			42,5	42,8
6a			53,7	53,4
7			36,6	36,8
7a			135,1	135,6
8	7,18 (1H, m)	7,18 (1H, m)	127,8	127,8
9	7,20 (1H, m)	7,20 (1H, m)	127,8	127,8
10	7,18 (1H, m)	7,18 (1H, m)	127,1	126,7
11	8,26 (1H, m)	8,22 (1H, m)	127,1	126,7
11a			132,0	132,0
1-OCH ₃	3,74 (3H, s)	3,73 (3H, s)	60,4	60,2
2-OCH ₃	3,95 (3H, s)	3,94 (3H, s)	60,7	60,6
3-OCH ₃	3,92 (3H, s)	3,90 (3H, s)	61,0	61,2

^aExperimento realizado a 500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno;

^bNAVARRO *et al.*, 2001 (^1H : 400 MHz; ^{13}C : 100 MHz; CDCl₃); (δ) Deslocamentos em ppm.

As análises por espectrometria de massas (EM) (FIGURAS 31 e 32) em (APCI+), permitiu a observação de um íon de maior intensidade em cada um dos espectros, evidenciando as moléculas protonadas [M+H]⁺ com m/z 298 e 312 Da, íons este presentes na fração alcaloídica, demonstrada no espectro de massas acima (FIGURA 4) o que podem ser correlacionadas com as respectivas fórmulas

moleculares $C_{18}H_{19}NO_3$ e $C_{19}H_{21}NO_3$, além de suas massas moleculares 297,3484 e 311,3749 g.mol⁻¹.

FIGURA 31. Espectro de massas de S3.

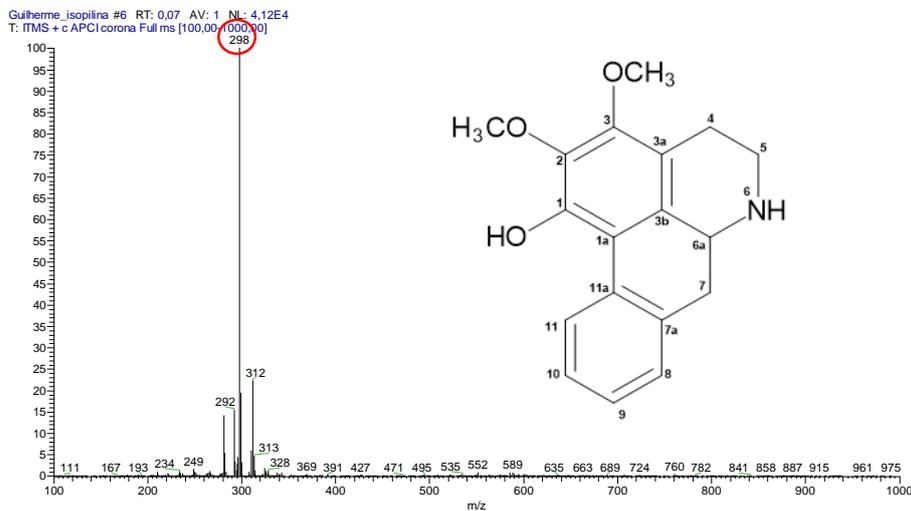
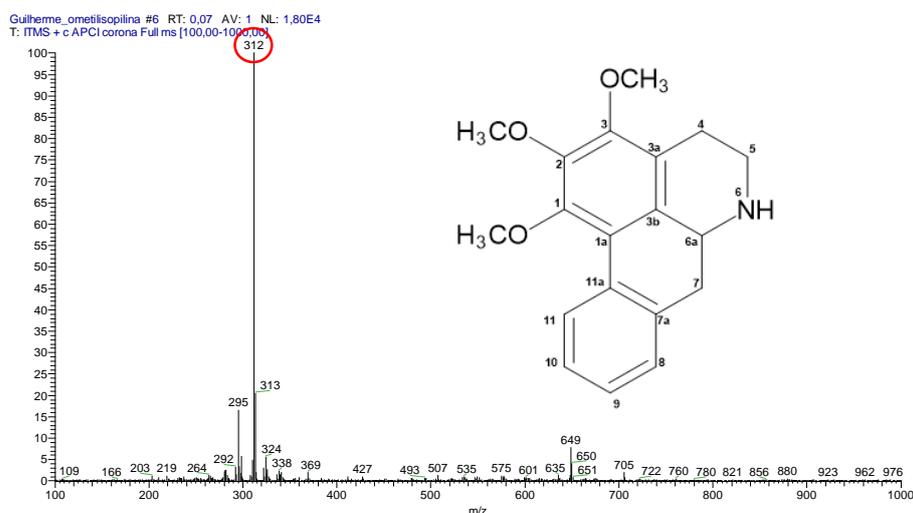


FIGURA 32. Espectro de massas de S4.



5.2.3 Identificação estrutural do alcaloide do tipo oxoaporfínico

5.2.3.1 Identificação estrutural de S6

A fração GOC7/8-6 (2,8 mg) apresentou-se como um sólido em formato de agulhas, na coloração amarela, e após as purificações realizadas por CCDP e posteriores análises por RMN foi possível observar que tratava-se do alcaloide do tipo oxoaporfínico lysicamina (**S6**) (FIGURA 5).

Nesta substância observou-se a presença de sete sinais de hidrogênios aromáticos atribuídos nas faixas de deslocamento de δ 7,24 (1H, s), δ 7,82 (1H, d, $J=$

5,2Hz), δ 8,92 (1H, d, $J= 5,2$ Hz), δ 8,60 (1H, dd, $J= 7,8$ e 1,5 Hz), δ 7,59 (1H, td, $J= 8,1$ e 1,1 Hz), δ 7,79 (1H, dt) e δ 9,19 (1H, dd), atribuídos desta forma aos H-3, H-4, H-5, H-8, H-9, H-10 e H-11. Ainda observou-se a presença de dois simples em δ 4,03 (3H, s) e δ 4,11 (3H, s), atribuídos aos dois grupos metoxílicos presentes na molécula, correspondendo aos C-1 e C-2, respectivamente (FIGURAS 33 e 34).

Com as análises dos espectros de ^{13}C foi possível identificar a presença de 18 carbonos, dos quais 15 são aromáticos, 2 metoxílicos, presentes nos deslocamentos δ 60,7 e δ 56,2 e um é carbonílico, presente em δ 182,7, na posição do C-7, evidenciando assim o esqueleto da molécula, comprovando que a mesma é um alcaloide do tipo oxoaporfínico (FIGURA 35). (COSTA, 2009)

FIGURA 33. Ampliação δ 9,30-7,00 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S6.

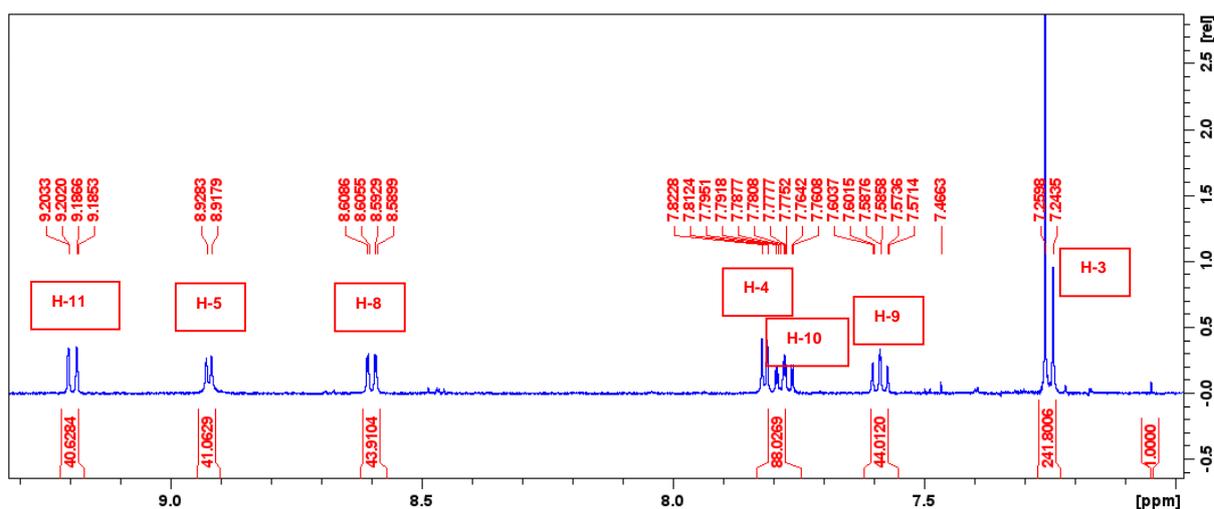


FIGURA 34. Ampliação δ 4,35-4,00 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S6.

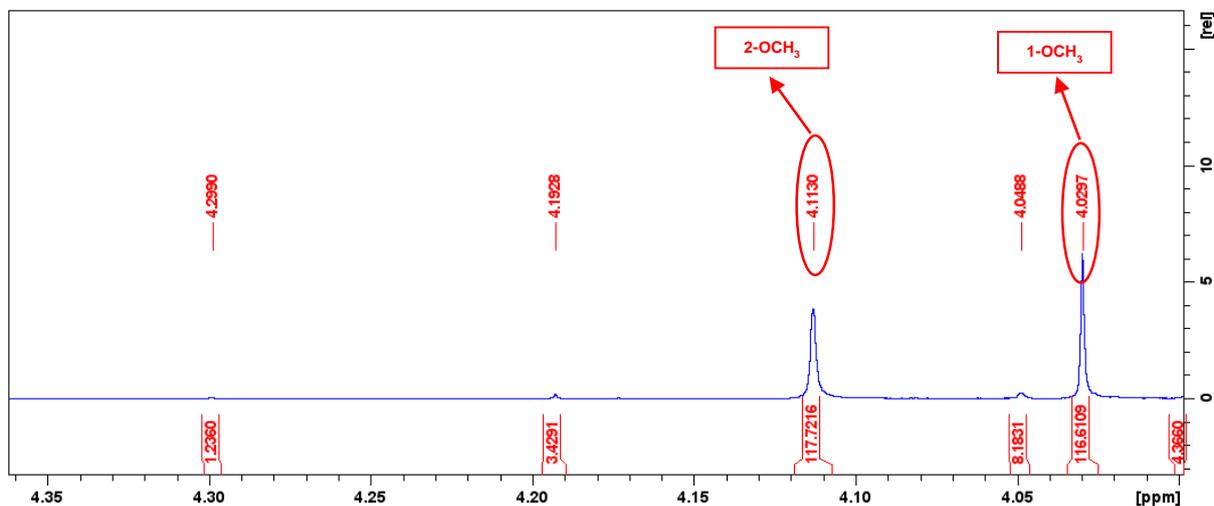
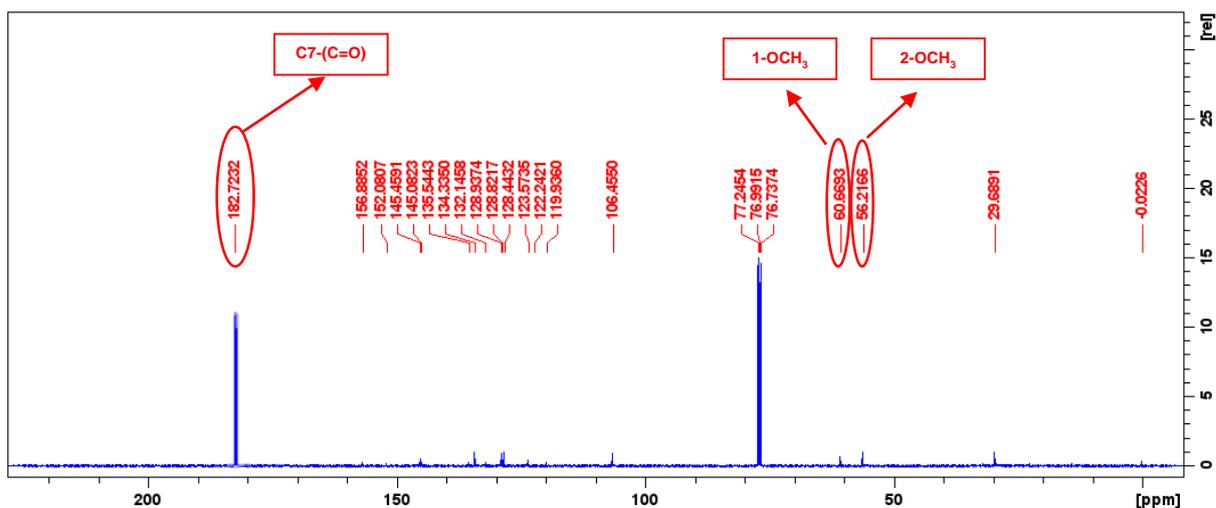


FIGURA 35. Ampliação δ 182-105 do espectro de RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3) de S6.



Na TABELA 9 abaixo são apresentados os dados de RMN de ^1H e ^{13}C referentes a **S7**, devidamente referenciados junto a dados da literatura.

TABELA 9. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de S6.

Posição	<i>GOC7/8-6</i>	<i>Lysicamina (Literatura)</i>	<i>Lysicamina</i>	
	^1H δ (mult., J em Hz)	^1H δ (mult., J em Hz)	<i>GOC7/8-6</i>	(<i>Literatura</i>)
	^1H (δ) ^a	^1H (δ) ^b	^{13}C (δ) ^a	^{13}C (δ) ^c
1			152,1	152,2
1 a			119,9	120,0
2			156,9	157,0
3	7,24 (1H, s)	7,24 (1H, s)	106,5	106,6
3 a			145,5	145,4
3 b			122,2	122,3
4	7,82 (1H, d, 5,2)	7,82 (1H, d, 5,2)	123,6	123,8
5	8,92 (1H, d, 5,2)	8,93 (1H, d, 5,2)	145,1	145,2
6 a			135,5	135,7
7			182,7	182,9
7 a			132,1	132,2
8	8,60 (1H, dd, 7,8 e 1,5)	8,59 (1H, dd, 8,0 e 1,4)	128,8	129,0

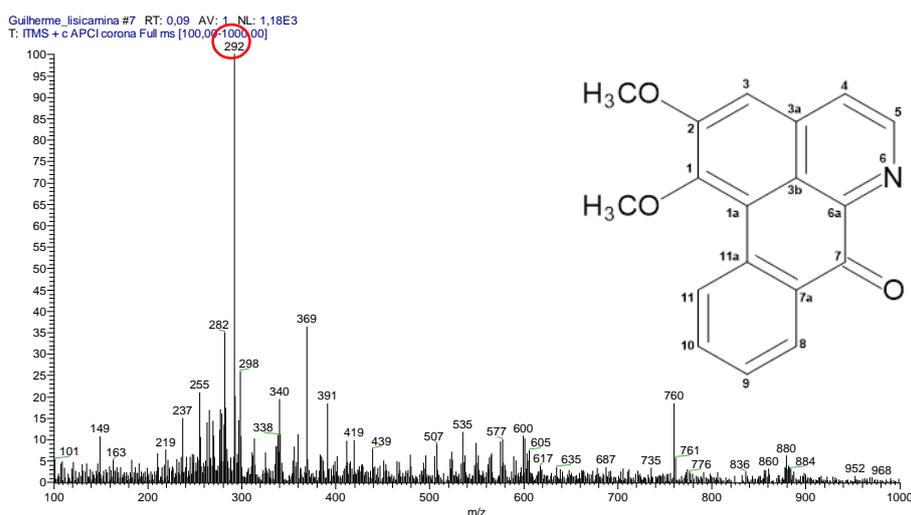
9	7,59 (1H, td, 8,1 e 1,1)	7,58 (1H, td, 8,0 e 1,1)	128,9	129,1
10	7,79 (1H, dt)	7,78 (1H, dt, 8,0 e 1,4)		134,6
11	9,19 (1H, dd)	9,19 (1H, dd, 8,0 e 1,1)	128,4	128,6
11 a			134,3	134,5
1-OCH₃	4,03 (3H, s)	4,03 (3H, s)	60,7	60,8
2-OCH₃	4,11 (3H, s)	4,11 (3H, s)	56,2	56,4

^aExperimento realizado a 500 MHz para ¹H e 125 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno;

^bCHANG *et al.*, 2000 (¹H: 400 MHz; CDCl₃); ^cZHANG *et al.*, 2002 (¹³C: 100 MHz; CDCl₃); (δ) Deslocamentos em ppm.

As análises por espectrometria de massas (EM) (FIGURA 36) em (APCI+), permitiu a observação de um íon de maior intensidade, evidenciando a molécula protonada [M+H]⁺ com *m/z* 292 Da, íons este presentes na fração alcaloídica, demonstrada no espectro de massas acima (FIGURA 4), na qual pode ser correlacionada com a respectiva fórmula molecular C₁₈H₁₃NO₃, além de sua massa molecular 291,3007 g.mol⁻¹.

FIGURA 36. Espectro de massas de S6.



5.2.4 Identificação estrutural do alcaloide do tipo 7-Hidroxi-7-metilaporfino

5.2.4.1 Identificação estrutural de S8

A fração GOC11-4 (2,4 mg) foi submetida às purificações por CCDP e posteriores análises por RMN, onde foi possível observar que tratava-se do alcaloide do tipo 7-Hidroxi-7-metilaporfino guattouregidina (**S8**) (FIGURA 5).

Esta substância apresentou três sinais de hidrogênios aromáticos atribuídos nas faixas de deslocamento de δ 7,30 (1H, d), δ 6,80 (1H, dd, $J= 2,8$ e $8,8$ Hz) e δ 8,44 (1H, d), atribuídos desta forma aos H-8, H-10 e H-11. Ainda observou-se a presença de dois simpletos em δ 4,04 (3H, s) e δ 3,87 (3H, s), atribuídos aos dois grupos metoxílicos presentes na molécula, correspondendo aos C-2 e C-3, respectivamente. Além disso, o grupo metoxílico é evidenciado em δ 1,48 (3H, s), presente na posição do C-7 (FIGURAS 37 e 38).

FIGURA 37. Ampliação δ 8,70-6,50 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S8.

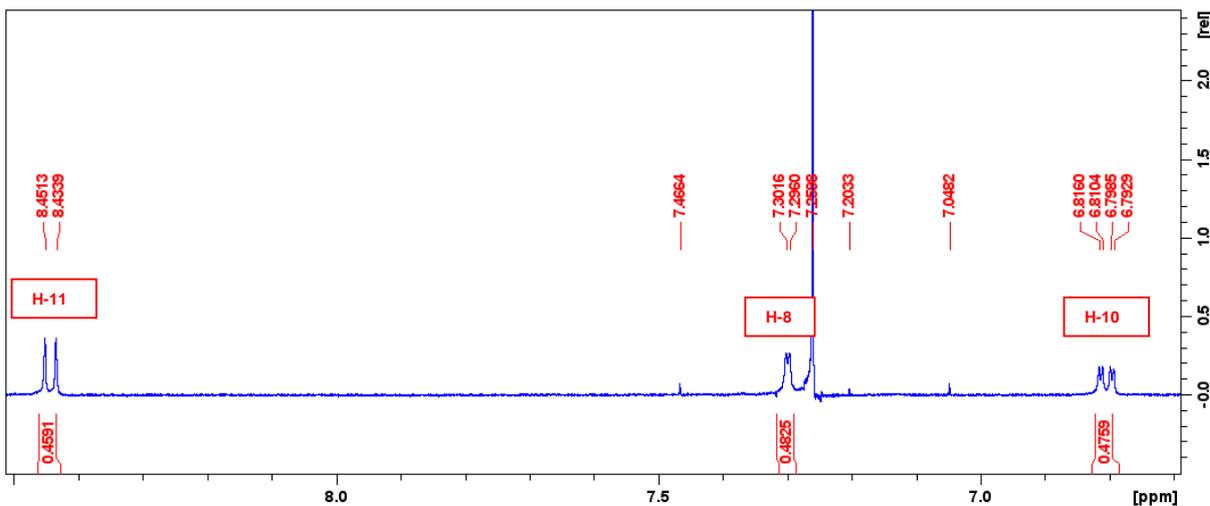
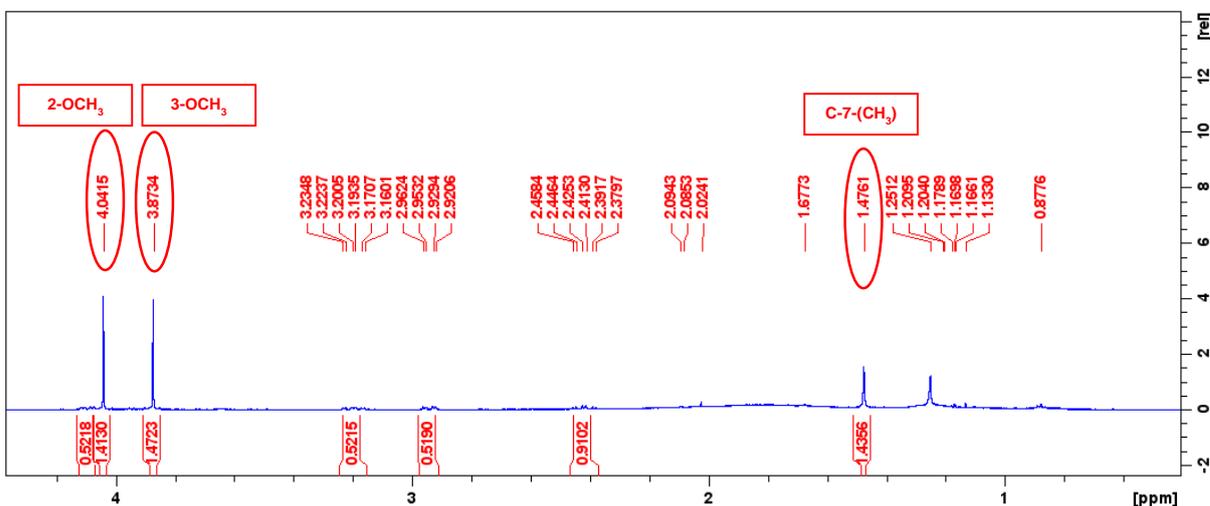


FIGURA 38. Ampliação δ 4,20-0,00 do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) de S8.



Na TABELA 10 abaixo são apresentados os dados de RMN de ^1H referentes a **S8**, devidamente referenciados junto a dados da literatura.

TABELA 10. Dados de RMN de ^1H de S8.

Posição	<i>GOC11-4</i>	<i>Guattouregidina (Literatura)</i>
	^1H δ (mult., J em Hz)	^1H δ (mult., J em Hz)
	^1H (δ) ^a	^1H (δ) ^b
1		
1a		
2		
3		
3a		
3b		
4		
5		
6a		
7		
7a		
8	7,30 (1H, d)	7,38 (1H, d)
9		
10	6,80 (1H, dd, 2,8; 8,8 Hz)	6,81 (1H, dd, 3; 9 Hz)
11	8,44 (1H, d)	8,42 (1H, d)
11a		
2-OCH ₃	4,04 (3H, s)	4,05 (3H, s)
3-OCH ₃	3,87 (3H, s)	3,89 (3H, s)
7-CH ₃	1,48 (3H, s)	1,49 (3H, s)

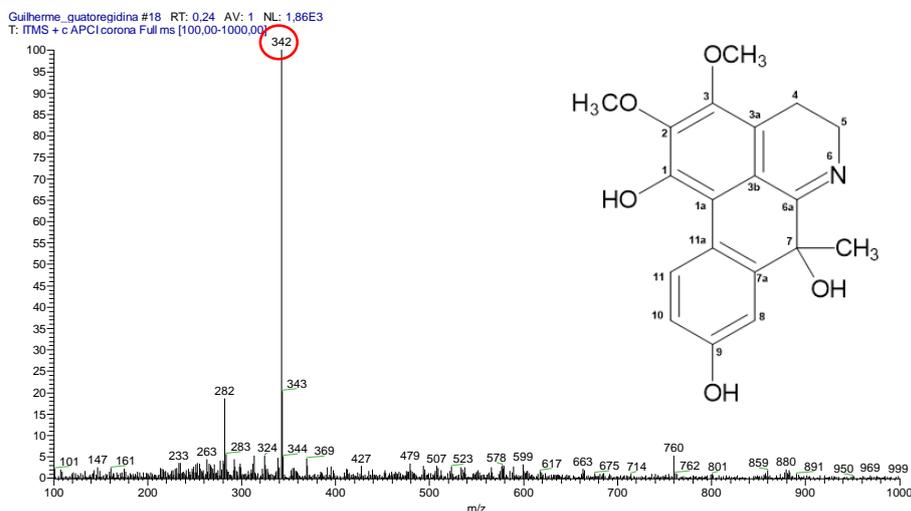
^aExperimento realizado a 500 MHz para ^1H e 125 MHz para ^{13}C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno;

^bLEBOUEF *et al.*, 1983 (^1H : 400 MHz; CDCl₃); (δ) Deslocamentos em ppm.

As análises por espectrometria de massas (EM) (FIGURA 39) em (APCI+), permitiu a observação de um íon de maior intensidade, evidenciando a molécula protonada $[\text{M}+\text{H}]^+$ com m/z 342 Da, íons este presentes na fração alcaloídica, demonstrada no espectro de massas acima (FIGURA 4), na qual pode ser

correlacionada com a respectiva fórmula molecular $C_{19}H_{19}NO_5$, além de sua massa molecular $341,3579 \text{ g.mol}^{-1}$.

FIGURA 39. Espectro de massas de S8.



5.2.5 Identificação estrutural do diterpeno

5.2.5.1 Identificação estrutural de S9

A fração GOC10-4 (2,3 mg) apresentou-se como um sólido branco e foi submetida às purificações por CCDP e posteriores análises por RMN, onde foi possível observar que tratava-se de um terpenoide, mais precisamente o diterpeno, ácido acantóico (**S9**) (FIGURA 5).

Observou-se a presença de 20 carbonos presentes nesta molécula, sendo 3 deles quaternários, com deslocamentos em δ 44,2, δ 38,5 e δ 34,9, atribuídos aos C-4, C-10 e C-13, respectivamente. Além disso, a presença de δ 182,3 evidencia um sinal típico de grupo carboxílico, correspondendo ao C-19 da molécula, este ligado ao C-4, configurando um carbono carboxílico. Ainda foi possível observar a presença de 4 carbonos do tipo sp^2 , em δ 149,9, δ 116,6, δ 150,3 e δ 109,2, correspondendo aos carbonos C-9, C-11, C-15 e C-16, respectivamente, e dois sinais indicando grupos metílicos em δ 28,6 e δ 22,5, atribuídos aos C-18 e C-20 (FIGURAS 40 e 41).

FIGURA 40. Ampliação δ 185-70,0 do espectro de RMN de ^{13}C (500 MHz, CDCl_3) de S9.

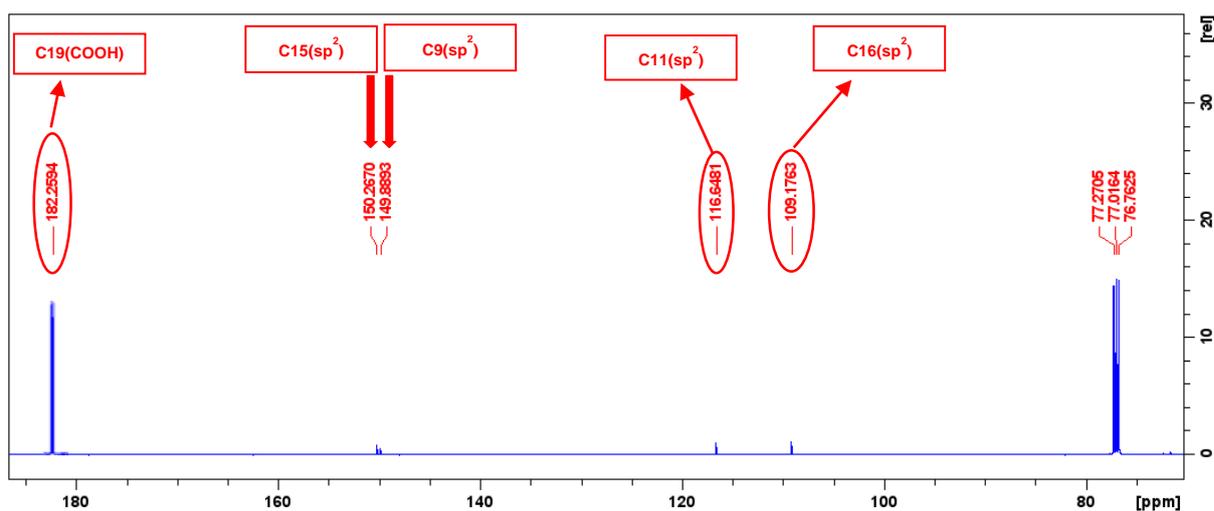
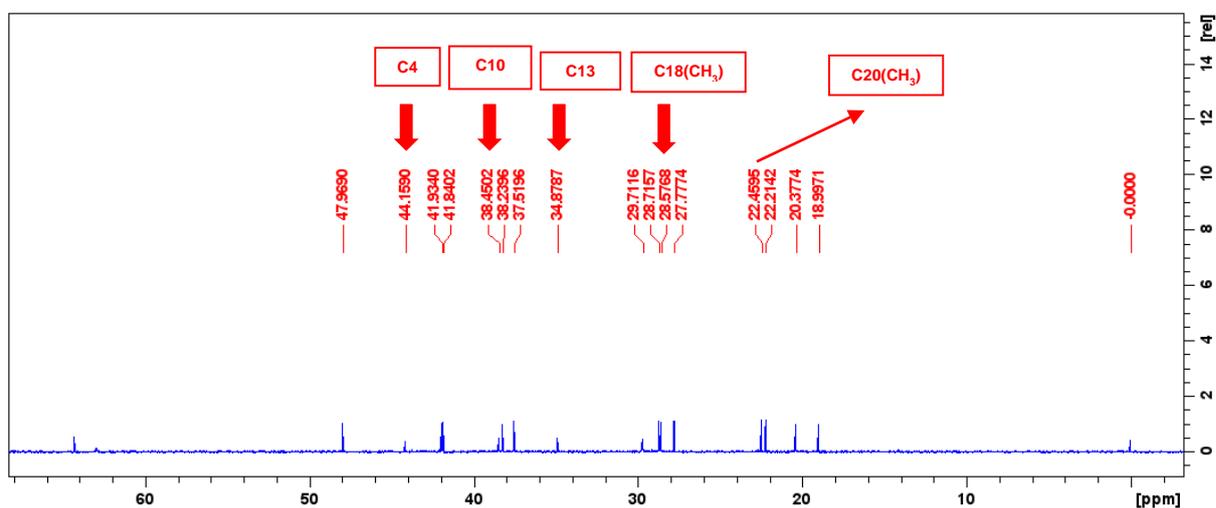


FIGURA 41. Ampliação δ 68,0-13,0 do espectro de RMN de ^{13}C (500 MHz, CDCl_3) de S9.



Na TABELA 11 abaixo são apresentados os dados de RMN de ^1H e ^{13}C referentes a **S9**, devidamente referenciados junto a dados da literatura.

TABELA 11. Dados de RMN de ^1H e ^{13}C de S9.

Posição	GOC10-4		Ácido acantóico (Literatura)	
	^1H δ (mult., J em Hz)	^1H δ (mult., J em Hz)	GOC10-4	Ácido acantóico (Literatura)
	^1H (δ) ^a	^1H (δ) ^b	^{13}C (δ) ^a	^{13}C (δ) ^b
1	1,81 (1H, m, H-1a)	1,81 (1H, m, H-1a)	41,9	41,9
	1,29 (1H, m, H-1b)	1,28 (1H, m, H-1b)		
2	1,93 (1H, m, H-2a)	1,93 (1H, m, H-2a)	19,0	18,9
	2,22 (1H, m, H-2b)	2,21 (1H, m, H-2b)		

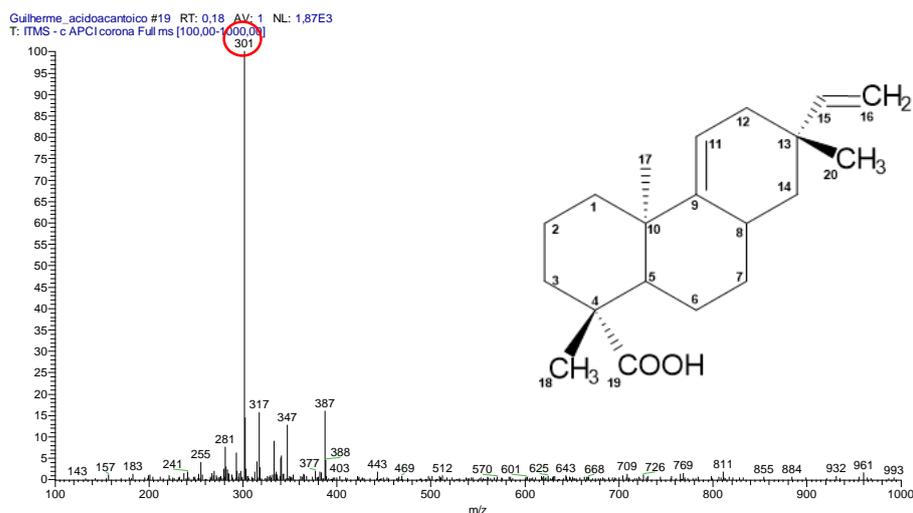
3	2,15 (1H, m, H-3a)	2,15 (1H, m, H-3a)	38,2	38,1
	1,05 (1H, m, H-3b)	1,05 (1H, m, H-3b)		
4			44,2	44,2
5	1,66 (1H, dd, 6,0; 12,9 Hz)	1,66 (1H, dd, 6,2; 13,0 Hz)	48,0	48,0
	1,49 (1H, m, H-6a)	1,48 (1H, m, H-6a)		
6	1,89 (1H, m, H-6b)	1,89 (1H, m, H-6b)	20,4	20,3
	1,73 (1H, m, H-7a)	1,73 (1H, m, H-7a)		
7	1,21 (1H, m, H-7b)	1,21 (1H, m, H-7b)	27,8	27,8
8	2,32 (1H, m)	2,31 (1H, m)	28,7	28,7
9			149,9	149,8
10			38,5	38,4
11	5,40 (1H, m)	5,39 (1H, m)	116,6	116,6
12	2,02 (1H, m, H-12a)	2,01 (1H, m, H-12a)	37,5	37,5
	1,77 (1H, m, H-12b)	1,77 (1H, m, H-12b)		
13			34,9	34,9
14	1,46 (1H, m, H-14a)	1,45 (1H, m, H-14a)	41,8	41,8
	1,03 (1H, m, H-14b)	1,03 (1H, m, H-14b)		
15	5,82 (1H, dd, 10,8; 17,5 Hz)	5,81 (1H, dd, 10,6; 17,4 Hz)	150,3	150,2
16	4,93 (1H trans, dd, 1,4; 17,5 Hz)	4,93 (1H trans, dd, 1,2; 17,4 Hz)	109,2	109,2
	4,87 (1H cis, dd, 1,4; 10,7 Hz)	4,86 (1H cis, dd, 1,2; 10,6 Hz)		
17	0,96 (3H, s)	0,96 (3H, s)	22,2	22,2
18	1,25 (3H, s)	1,25 (3H, s)	28,6	28,6
19			182,3	184,6
20	1,00 (3H, s)	0,99 (3H, s)	22,5	22,4

^aExperimento realizado a 500 MHz para ¹H e 125 MHz para ¹³C em CDCl₃, utilizando o TMS como padrão interno;

^bSUWANCHAROEN *et al.*, 2010 (¹H: 400 MHz; ¹³C: 100 MHz; CDCl₃); (δ) Deslocamentos em ppm.

As análises por espectrometria de massas (EM) (FIGURA 42) em (APCI+), permitiu a observação de um íon de maior intensidade, evidenciando a molécula protonada [M+H]⁺ com *m/z* 301 Da, íons este presentes na fração alcaloídica, demonstrada no espectro de massas acima (FIGURA 4), na qual pode ser correlacionada com a respectiva fórmula molecular C₂₀H₃₀O₂, além de sua massa molecular 302,451 g.mol⁻¹.

FIGURA 42. Espectro de massas de S9.



5.3 Relação quimiofenética

O estudo fitoquímico realizado, que contou com a prática de técnicas cromatográficas clássicas, além de técnicas espectroscópicas e espectrométricas a fim de elucidação estrutural permitiu o bom desenvolvimento do conhecimento da espécie, o que rendeu o isolamento de 9 substâncias, destas 8 sendo primeiro relato na espécie e 1 substância inédita na literatura. Esse amplo estudo contribui de forma direta com a relação quimiofenética entre as espécies vizinhas, ou seja, espécies pertencentes ao gênero *Gutteria* (Annonaceae). Diversos compostos, sobretudo alcaloides são considerados marcadores quimiofenéticos, não só deste gênero, como também da família, sendo relatados em diversas outras espécies, contudo, pouco explorados a nível profundo, tendo poucos registros se considerarmos ademais gêneros ainda mais estudados, como *Annona* e *Duguetia*.

Do ponto de vista quimiofenético, o intercâmbio de estudos entres essas diversas espécies nos permite ampliar os conhecimentos a respeito desta rica família, com isso, colaborando para os registros de cada vez mais novos metabólitos secundários constituintes das mesmas. A TABELA 12 abaixo descreve uma série de alcaloides já relatados em espécies de *Gutteria* com o intuito de ratificar a importância quimiofenética do estudo fitoquímico dos mesmos.

TABELA 12. Alguns dos principais alcaloides relatados em espécies de *Guatteria*.

Espécies de <i>Guatteria</i>	Substâncias	Referências	
<i>Guatteria friesiana</i>	Liriodenina	COSTA et al., 2009;2013;2016	
	Coripalmina	COSTA et al., 2009	
	(R-Dihidroguatteriscina)		
	Guatterfriesidina	COSTA et al., 2018	
	Iso-9-metoxiguatterfriesina		
	7-Hidroxi-guatterriopsiscina		
	13-Hidroxi-discretina		
		13-Hidroxi-2,3,9,10- tetrametoxiprotuberberina	COSTA et al., 2013
		6,6 a-dehidroguatterriopsiscina	
	9-dehidroxi-1-metoxi- dihidroguattouregidina		
<i>Guatteria discolor</i>	Discretina	HOCQUEMILLER; DEBITUS; ROBLLOT, 1984	
	Coripalmina	HOCQUEMILLER; DEBITUS; ROBLLOT, 1984	
	Discoguatina	HOCQUEMILLER; DEBITUS; ROBLLOT, 1984	
	Puterina	HOCQUEMILLER; DEBITUS; ROBLLOT, 1984	
	Liriodenina	GOULART et al., 1987	
	N-óxido de atherosperminina	HOCQUEMILLER; DEBITUS; ROBLLOT, 1984	
	Argentinina	HOCQUEMILLER; DEBITUS; ROBLLOT, 1984	
	Atherosperminina	HOCQUEMILLER; DEBITUS; ROBLLOT, 1984	
<i>Guatteria scandens</i>	Discretina	HOCQUEMILLER; RASAMIZAFY; CAVÉ, 1982 a,b	
	Asimilobina	HOCQUEMILLER et al., 1982 a,b	
	Liriodenina	HOCQUEMILLER; RASAMIZAFY; CAVÉ, 1982 a,b	

<i>Guatteria elliptica</i>	Asimilobina	RAJCA-FERREIRA et al., 2017
	Liriodenina	RAJCA-FERREIRA et al., 2017
<i>Guatteria sagoriana</i>	Puterina	RASAMIZAFY et al., 1986
<i>Guatteria schomburgkiana</i>	Puterina	CARVALHO-BAYMA et al., 1987
	Oxoputerina	CARVALHO-BAYMA et al., 1987; CORTES; RAMAHATRA; CAVÉ, 1985
<i>Guatteria popognopus</i>	Puterina	SANTOS et al., 2015
	Liriodenina	SANTOS et al., 2015
	Oxoputerina	SANTOS et al., 2018
<i>Guatteria goudotiana</i>	Argentinina	CASTEDO et al., 1991
	Liriodenina	CASTEDO et al., 1991
<i>Guatteria citriodora</i>	Oxoputerina	RABELO et al., 2014
	Liriodenina	RABELO et al., 2014
<i>Guatteria elata</i>	Puterina	HSU et al., 1977 b
	Oxoputerina	HSU et al. 1977 a

6 CONCLUSÃO

Neste trabalho monográfico foi realizado o estudo fitoquímico da fração alcaloídica das cascas de *G.olivacea* (FACGO), oriunda do tratamento ácido-base do extrato metanólico, utilizando técnicas cromatográficas convencionais, como cromatografia em coluna (CC), cromatografia em camada delgada analítica e preparativa (CCDA e CCDP), além de técnicas espectroscópicas, como RMN de ^1H e ^{13}C , e espectrométricas (EM), para auxiliar na elucidação estrutural das amostras.

Vale ressaltar novamente que o estudo foi realizado a partir de uma continuação do projeto de pesquisa PIBIC/PAIC PIB-MULT/0003/2020 desenvolvido de forma parcial pelo discente de Licenciatura em Química Steve Pereira Manickchand, o qual por motivos particulares não pôde dar prosseguimento ao estudo. No atual trabalho ampliou-se consideravelmente os conhecimentos acerca da espécie de forma mais abrangente e completa.

O estudo possibilitou o isolamento de sete substâncias, todas inéditas na espécie, e uma inédita na literatura, são elas: os alcaloides 7,7-dimetilaporfinos melosmina (**S1**), 9-Hidroxiaguattescina (**S2**), um alcaloide inédito na literatura (**S5**) e dihidromelosmina (**S7**); o alcaloide oxoaporfínico lysicamina (**S6**); o alcaloide 7-Hidroxi-7-metilaporfino guattouregidina (**S8**); e o diterpeno ácido acantóico (**S9**). Além destas 7 substâncias, outras 2 haviam sido isoladas por Manickchand (2021), e são dois alcaloides *stricto sensu* isopilina (**S3**) e O-metilisopilina (**S4**), também descritos neste trabalho, totalizando então 9 substâncias isoladas no estudo.

Diante dos resultados obtidos neste trabalho monográfico, pode-se afirmar a importância quimiofenética desta espécie (*G.olivacea*) dentro da família Annonaceae, registrando o grande potencial de seus metabólitos secundários, ainda pouco explorados, no entanto, certamente servirão como fonte de futuros estudos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA, Joelma Moreira. **Composição química e potencial biológico dos óleos essenciais de Annonaceae dos Campi INPA e UFAM**. 2015. 152 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, 2015.
- ARAÚJO, Morgana de Souza. **Constituintes químicos e investigação do potencial citotóxico das cascas e folhas de *Guatteria olivacea* (Annonaceae)**. 2019. 172 f. Dissertação (Mestrado em Química de Produtos Naturais) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, 2019.
- ARAÚJO, M. S.; DA SILVA, F. M. A.; KOOLEN, H. H. F.; COSTA, E. V. Isoquinoline-derived alkaloids from the bark of *Guatteria olivacea* (Annonaceae). **BIOCHEMICAL SYSTEMATICS AND ECOLOGY**, v. 92, n. 104105, p. 1-4, 2020.
- BITTENCOURT, H. R.; BITENCOURT, H. C.; MARINHO, A. M. R.; FILHO, A. P. S. S.; PINHEIRO, J. C.; TAVARES M. G. C.; de ALMEIDA, O.; FARIAS, R. A. F. Aproveitamento das folhas de *Annona mucosa*. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n.12, p.102924-102933, 2020.
- BOMFIM, L. M.; MENEZES, L. R. A.; RODRIGUES, A. C. B. C.; DIAS, R. B.; ROCHA, C. A. G.; SOARES, M. B. P.; NETO, A. F. S.; NASCIMENTO, M. P.; CAMPOS, A. F.; SILVA, L. C. R. C. E.; COSTA, E. V.; BEZERRA, D. P. Antitumour Activity of the Microencapsulation of *Annona vepretorum* Essential Oil. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 118, p. 208–213, 2016.
- BRITTO, A. C. S.; OLIVEIRA, A. C. A.; HENRIQUES, R. M.; CARDOSO, G. M. B.; BOMNFIM, D. S.; CARVALHO, A. A.; MORAES, M. O.; PESSOA, C.; PINHEIRO, M. L. B.; COSTA, E. V.; BEZERRA, D. P. *In vitro* and *in vivo* antitumor effects of the essential oil from the leaves of *Guatteria friesiana*. **Planta Medica**, v. 78, p. 409-414, 2012.
- CARVALHO-BAYMA, J.; OLIVEIRA, A.B.; CAVÉ, A.; DADOUN, H. Aporphinoid alkaloids from *Guatteria schomburgkiana* leaves (1). **Planta Medica - Letters**, v. 54, n. 1, p.84, 1987.
- CASCAES, M.M.; DE MORAES, Â.A.B.; CRUZ, J.N.; FRANCO, C.D.J.P.; SILVA, R.C.; NASCIMENTO, L.D.D.; FERREIRA, O.O.; ANJOS, T.O.D.; DE OLIVEIRA, M.S.; GUILHON, G.M.S.P.; ANDRADE, E.H.D.A. Phytochemical Profile, Antioxidant Potential and Toxicity Evaluation of the Essential Oils from *Duguetia* and *Xylopia* Species (Annonaceae) from the Brazilian Amazon. **Antioxidants**, v.11, n.1709, p. 1-15, 2022.
- CASTEDO, L., GRANJA, J. A., LERA, A. R., VILLAVERDE, M. C. Alkaloids from *Guatteria goudotiana*. **Phytochemistry**. v. 30. n. 8, p. 2781-2783, 1991.
- CHANG, F. R.; CHEN, C.Y.; WU, P.H.; KUO, R.Y.; CHANG, Y.C.; WU, Y.C. New alkaloids from *Annona purpurea*. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 746-748, 2000.

COSTA, E. V.; CRUZ, P. E. O.; PINHEIRO, M. L. B.; MARQUES, F. A.; RUIZ, A. L. T. G.; MARCHETTI, G. M.; CARVALHO, J. E.; BARISON, A.; MAIA, B. H. L. N. S. Aporphine and tetrahydroprotoberberine alkaloids from the leaves of *Guatteria friesiana* (Annonaceae) and their cytotoxic activities, **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 24, n. 5, p.788-796, 2013.

COSTA, E. V.; DUTRA, L. M.; NEPEL, A.; BARISON, A. Isoquinoline alkaloids from the leaves of *Xylopia laevigata* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 51, p. 331–334, 2013.

COSTA, E. V.; PINHEIRO, M. L. B.; BARISON, A.; CAMPOS, F. R.; SALVADOR, M. J.; MAIA, B. H. L. N. S.; CABRAL, E. C.; EBERLIN, M. N. Alkaloids from the bark of *Guatteria hispida* and their evaluation as antioxidant and antimicrobial agents. **Journal of Natural Products**, v. 73, n. 6, p. 1180-1183, 2010.

COSTA, E. V.; PINHEIRO, M. L. B.; MAIA, B. H. L. N. S.; MARQUES, F. A.; RUIZ, A. L. T. G.; MARCHETTI, G. M.; CARVALHO, J. E.; SOARES, M. B.P.; COSTA, C. O. S.; GALVÃO, A. F. C.; LOPES, N. P.; KOOLEN, H. H. F.; BEZERRA, D. P.; BARISON, A. 7,7-Dimethylaporphine and other alkaloids from the bark of *Guatteria friesiana*. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 1524-1531, 2016.

COSTA, E. V.; PINHEIRO, M. L. B.; SILVA, J. R. A.; MAIA, B. H. L. N. S.; DUARTE, M. C. T.; AMARAL, A. C. F.; MACHADO, G. M. C.; LEON, L. L. Antimicrobial and antileishmanial activity of essential oil from the leaves of *Annona foetida* (Annonaceae). **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 78-81, 2009.

COSTA, E. V.; PINHEIRO, M. L. B.; SOUZA, A. D. L.; BARISON, A.; CAMPOS, F. R.; VALDEZ, R. H.; UEDA-NAKAMURA, T.; FILHO, B. P. D.; NAKAMURA, C. V. Trypanocidal Activity of Oxoaporphine and Pyrimidine- β -Carboline Alkaloids from the Branches of *Annona foetida* Mart. (Annonaceae). **Molecules**, v. 16, n. 11, p. 9714-9720, 2011.

COSTA, E. V.; PINHEIRO, M. L. B.; XAVIER, C. M.; SILVA, J. R. A.; AMARAL, A. C. F.; SOUZA, A. D. L.; BARISON, A.; CAMPOS, F. R.; FERREIRA, A. G.; MACHADO, G. M. C.; LEON, L. L. P.A pyrimidine- β -carboline and other alkaloids from *Annona foetida* With antileishmanial activity. **Journal of Natural Products**, v.69, p.292-294, 2006.

COSTA, E. V.; SOARES, L. N.; CHAAR, J. S.; SILVA, V. R.; SANTOS, L. S.; KOOLEN, H. H. F.; SILVA, F. M. A.; TAVARES, J. F.; ZENGIN, G.; SOARES, M. B. P.; BEZERRA, D. P. Benzylated dihydroflavones and isoquinoline-derived alkaloids from the bark of *Diclinanona calcyna* (Annonaceae) and their cytotoxicities. **Molecules**, v. 26, n. 3714, 2021.

COSTA, E. V.; SOARES, L. N.; PINHEIRO, M. L. B.; MAIA, B. H. L. N. S.; MARQUES, F. A.; BARISON, A.; ALMEIRDA, J. R. G. S.; SOUSA, I. L.; GALAVERNA, R. N.; HEERDT, G.; MORGON, N. H.; ACHO, L. D. R.; LIMA, E. S.; SILVA, F. M. A; KOOLEN, H. H. F. Guaianolide sesquiterpene lactones and aporphine alkaloids from the stem bark of *Guatteria friesiana*, **Phytochemistry**, v. 145, p. 18-25, 2018.

COSTA, E. V.; TEIXEIRA, S. D.; MARQUES, F. A.; DUARTE, M. C.T.; DELARMELINA, C.; PINHEIRO, M. L. B.; TRIGO, J. R.; MAIA, B. H. L. N. S.; Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of the Amazon *Guatteria* species. **Phytochemistry**, v. 69, p.1895–1899, 2008.

COSTA, E. V.; SAMPAIO, M. F. C.; MENEZES, L. R. A.; DUTRA, L. M.; COSTA, C. O. S.; PINHEIRO, M. L. B.; SILVA, F. M. A.; SOARES, M. B. P.; BEZERRA, D. P.; BARISON, A.; KOOLEN, H. H. F. Diversity of the diterpenes in the leaves of *Xylopija laevigata* (Annonaceae) and their cytotoxicities. **Química Nova**, v. 43, n. 4, p. 419-425, 2020.

COSTA, E.V.; MARQUES, F.A.; PINHEIRO, M.L.B.; VAZ, N.P.; DUARTE, M.C.T.; DELARMELINA, C.; BRAGA, R.M.; MAIA, B.H.L.N.S. 7,7-dimetilaporphine alkaloids from the stem of *Guatteria friesiana*. **Journal of Natural Products**, v. 72, p. 1516-1519, 2009.

DA SILVA, D. B.; MATOS, M. F. C.; NAKASHITA, S. T.; MISU, C. K.; YOSHIDA, N. C.; CAROLLO, C. A.; FABRI, JR.; MIGLIO, H. S.; SIQUEIRA, J. M. Isolamento e avaliação da atividade citotóxica de alguns alcaloides oxoaporfínicos obtidos de Annonaceae. **Química Nova**, v.30, p.1809-1812, 2007.

DA SILVA, F. M. A.; KOOLEN, H. H. F.; ALMEIDA, R. A.; SOUZA, A. D. L.; PINHEIRO, M. L. B.; COSTA, E.V. Desreplicação de alcaloides aporfínicos e oxoaporfínicos de *Unonopsis guatterioides* por ESI-IT-MS. **Química Nova**, v. 35, p. 944-947, 2012.

DOS SANTOS, A. C.; NOGUEIRA, M. L.; DE OLIVEIRA, F. P.; COSTA, E. V.; BEZERRA, D. P. Essential oils of *Duguetia* Species A.St.Hill (Annonaceae): Chemical Diversity and pharmacological potential. **Biomolecules**, v.12, n.615, p. 1-14, 2022.

GALVÃO A. F. C.; ARAÚJO, M. S.; SILVA, V. R.; SANTOS, L. S.; DIAS, R. B.; ROCHA, C. A. G.; SOARES, M. B. P.; SILVA, F. M. A. D.; KOOLEN, H. H. F.; ZENGIN, G.; COSTA, E. V.; BEZERRA, D. P. Antitumor Effect of *Guatteria olivacea* R. E. Fr. (Annonaceae) Leaf Essential Oil in Liver Cancer. **Molecules**, v. 27, n. 4407, p. 1-15, 2022.

GOULART, M.O.F.; SANT'ANA, A.E.G.; DE OLIVEIRA, A.B.; GEOVANE, G.; MAIA, J.G.S. In: Dep. Quim., Univ. Fed. Alagoas, Maceio-Alagoas. Guatteric acid a new constituent of *Guatteria CF discolor* R. E. Fries (Annonaceae). F.E.C.S.] **Third International Conference on Chemistry and Biotechnology of Biologically Active Natural Products**, [Proc.], v. 4, p 367-71, 1987.

HOCQUEMILLER, R.; DEBITUS, C.; ROBLLOT, F.; CAVÉ, A. Alcaloides des Annonacées XVIII: Alcaloides des Écorces de *Guatteria discolor*. **Journal of Natural Products**, v.47, p.335-341, 1984

HOCQUEMILLER, R.; RASAMIZAFY, S.; CAVÉ, A. Alcaloides des Annonacées XXXVII: alcaloides du *Guatteria scandens*. **Plantes Medicinales et Phytotherapie**, v. 46, n. 3, p. 335-341, 1982a.

HOCQUEMILLER, R.; RASAMIZAFY, S.; CAVÉ, A. Guattescine et guattescidine, nouveaux alcaloides aporphiniques de *Guatteria scandens*, Annonacees (1). **Tetrahedron**, v. 38, n.7, p. 911-915, 1982b.

HSU, C.C.; DOBBERSTEIN, R.H.; CORDELL, G.A.; FARNSWORTH, N.R. Isolation of lauterine and oxoputerine, two new oxoaporphine alkaloids from *Guatteria elata*. **Lloydia**, v. 40, n. 2, p. 152-156, 1977 a.

HSU, C.C.; DOBBERSTEIN, R.H.; CORDELL, G.A.; FARNSWORTH, N.R. Structure elucidation of norlaureline and puterine, new noraporphine alkaloid from *Guatteria elata*. **Lloydia**, v. 40, n. 5, p. 505-507, 1977b.

KARAKAYA, S.; KOCA, M.; SYTAR, O.; DUMAN, H. The natural phenolic compounds and their antioxidant and anticholinesterase potential of herb *Leiotulus dasyanthus* (K. Koch) Pimenov & Ostr. **Natural Product Research**, v. 34, n. 9, p. 1-3, 2019.

KRINSKI, D.; MASSAROLI, A.; MACHADO, M. Potencial inseticida de plantas da família Annonaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, n.(edição especial), p.225-242, 2014.

LEBOUEF, M.; CORTES, D.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A. Alcaloides des Annonacées XLVII: Alcaloides de *Guatteria ouregou*. **Journal of Medicinal Plant Research**, v. 48, p. 234-245, 1983.

LEBOUEF, M.; CORTES, D.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A.; CHIARONI, A.; RICHE, C. Structure de la gouregine, alcaloïde original apparente aux cularines. **Tetrahedron**, v. 39, n. 19, p. 2889-2896, 1982.

LIMA, Fernando Ferreira do Nascimento. **Prospecção fitoquímica e avaliação da atividade antimicrobiana do extrato hexânico e etanólico da folha de coirama *Kalanchoe pinnata* (lam.) pers.** 2022. 22 f. TCC (Trabalho de conclusão de curso em Biotecnologia) – Instituto de Saúde e Biotecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, 2022.

LOBÃO, A. Q.; LOPES, J. C.; ERKENS, R. H. J.; MENDES-SILVA, I.; PONTES PIRES, A. F.; SILVA, L. F.; OLIVEIRA, M. L. B.; JOHNSON, D.; MELLO-SILVA, R. (in memoriam). 2020. Annonaceae in Flora do Brasil, 2020. *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB110219>. Acesso em: 04 nov,2022.

LOPES, J. C.; CHATROU, L. W.; MELLO-SILVA, R.; RUDALL, P. J.; SAJO, M. G. Phylogenomics and evolution of floral traits in the Neotropical tribe Malmeeae (Annonaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.118, p.379-391, 2018.

LOPES, J. C.; MELLO-SILVA, R. Diversidade e caracterização das Annonaceae do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 36, n. (edição especial), p. 125-131, 2014.

LÚCIO, A. S. S. C.; ALMEIDA, J. R. G. S.; CUNHA, E. V. L.; TAVARES, J. F.; BARBOSAFILHO, J. M. Alkaloids of the Annonaceae: Occurrence and a Compilation

of Their Biological Activities. **Alkaloids: Chemistry and Biology**, v. 74, p. 233–409, 2015.

MAAS, P. J. M.; WESTRA, L. Y. T.; GUERRERO, S. A.; LOBÃO, A. Q.; SCHARF, U.; ZAMORA, N. A.; ERKENS, R. H. J. Confronting a morphological nightmare: revision of the Neotropical genus *Guatteria* (Annonaceae). **Blumea**, v. 60, n. 1-3, p. 1–219, 2015

MAHIOU, V.; ROBLLOT, F.; FOURNET, A.; HOCQUEMILLER, R. Isbenzylisoquinoline alkaloids from *Guatteria boliviana* (Annonaceae). **Phytochemistry**, v. 54, p. 709-716, 2000.

MANICKCHAND, Steve Pereira. **Alcaloides isoquinolínicos das cascas de *Guatteria olivacea* (Annonaceae) e seus potenciais citotóxicos**. 2021. 34 f. Relatório final (PIBIC em Química) – Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, 2021.

MONTENEGRO, H.; GUTIERREZ, M.; ROMERO, L.I.; ORTEGA-BARRÍA, E.; CAPSON, T.L.; RIOS, L.C. Aporphine alkaloids from *Guatteria* spp. With leishmanicidal activity. **Planta Med**, v. 69, p. 677-679, 2003.

MUNIER, R., apud MERCK. 1971. **Dyeing Reagents for Thin Layer and Paper Chromatography**. E. Merck, Darmstadt, Germany, 118p, 1953.

NAVARRO, V. R.; SETTE, I. M. F.; DA CUNHA, E. V. L.; BARBOSA-FILHO, J. M.; MAIA, J. G. S. Alkaloids from *Duguetia flagellaris* Huber (Annonaceae), **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.3, n. 2, p. 23-29, 2001.

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

PAN, X.; ZHAO, Y. Q.; HU, F. Y.; CHI, C. F.; WANG, B. Anticancer activity of a hexapeptide from skate (*Raja porosa*) Cartilage protein hydrolysate in HeLa cells. **Marine Drugs**, v. 14, n. 8, 2016.

PATEL, S.; PATEL, J. K. A review on a miracle fruits of *Annona muricata*. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v.5, n.1, p.137-148, 2016.

PAVIA, D.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; ENGEL, R. G. **Química Orgânica Experimental, Técnicas em escala pequena**. Bookman, Segunda Edição, Porto Alegre-RS, 2009.

QUEIROZ, César Castelo Branco de. **Caracterização química e atividade antimicrobiana do óleo essencial, extrato bruto e frações de *Piper calossum* Ruiz & Pav. (*Piperaceae*)**. 2021. 47 f. TCC (Trabalho de conclusão de curso em Farmácia) – Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Itacoatiara, Amazonas, 2021.

RABELO, D. M.; PINHEIRO, M. L. B.; BARISON, A.; SALOMÉ, K. COSTA, E. V.; SILVA, F. M. A.; CHAVES, Y. O.; BASTOS, I. S. Alcaloides Isoquinolínicos e

Investigação das Atividades Antiplasmódica e Antibacteriana de *Guatteria citriodora* (Annonaceae). **Química Nova**, vol. 37, n. 9, p. 1453-1458, 2014.

RAJCA-FERREIRA, A. K.; KANEKO, T. M.; SARTORATTO, A.; MORAIS, D. R.; EBERLIN, M. N. LOPES, P. S.; SUFFREDINI, I. B.; MORENOA., P. R. H. Antimicrobial, antioxidant, antitumor activities of *Guatteria elliptica* R. E. Fries (Annonaceae) alkaloids and their safety. **International Journal of Scientific & Engineering Research**, v. 8, n. 7, p. 1130- 1135, 2017.

RAMAHATRA, A.; CORTES, D.; CAVÉ, A.; CARVALHO-BAYMA, J.; DADOUN, H. Alcaloides des *Annonacées*, LVIII. Alcaloides des Ecorces de *Guatteria schomburgkiana*. **Journal of Natural Products**, v. 48, n. 2, p. 254-259, 1985.

RASAMIZAFY, S.; HOCQUEMILLER, R.; CAVÉ, A. Alcaloides des Annonacees LXXII, alcaloides du *Guatteria sagotiana*. **Journal of Natural Products**, v. 49, n. 6, p. 1078-1085, 1986.

RUPPRECHT J. K.; CHANG J. M.; MCLAUGHLIN J. L. Annonaceous acetogenins: A review. **Journal of Natural Products**, v.53, p. 237-278, 1990.

SANTOS, M. F. C.; DUTRA, L. M.; MORAES, V. R. S.; BARISON, A.; COSTA, E. V. Aporphine alkaloids from the stem bark of *Guatteria pogonopus* (Annonaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 60, p. 106-109, 2015.

SANTOS, M. F. C.; FONTES, J. E. N.; DUTRA, L. M.; BOMFIMC, L. M.; COSTA, C. O. D.; MORAES, V. R. S.; BARISON, A.; SOARES, M. B.; SILVA, F. M. A.; ALMEIDA, J. R. G. S.; KOOLEN, H. H. F.; BEZERRA, D. P.; COSTAE, E.V. Alkaloids from leaves of *Guatteria Pogonopus* (Annonaceae) and their cytotoxicities. **Química Nova**, v. 41, n. 8, p. 884-890, 2018.

SAVARY, R.; BARSHIS, D. J.; VOOLSTRA, C. R.; MEIBOM, A. Fast and pervasive transcriptomic resilience and acclimation of extremely heat-tolerant coral holobionts from the northern Red Sea. **PNAS**, v. 118, n. 19, 2021.

SHEHATA, M. G.; ABU-SERIE, M. M.; EL-AZIZ, N. M. A.; EL-SOHAIMY, S. A. Nutritional, phytochemical, of sugar apple (*Annona squamosa*) fruits. **Scientific reports**, v.11, n.6224, p.1-13, 2021.

SILVA, D. B.; TULLI, E.C.O.; MILITÃO, G. C. G.; COSTA-LOTUFOC, L. V.; PESSOA, C.; DE MORAES, M. O.; ALBUQUERQUE, S.; DE SIQUEIRA, J. M. The antitumoral, trypanocidal and antileishmanial activities of extract and alkaloids isolated from *Duguetia furfuracea*. **Phytomedicine**, v. 16, p. 1059–1063, 2009.

SOUSA, O. V.; DEL-VECHIO-VIEIRA, G.; SANTOS, B. C. S.; YAMAMOTO, C. H.; ARAÚJO, A. L. S. M.; de ARAÚJO, A. L. A.; PINTO, M. A. O.; RODARTE, M. P.; ALVES, M. S. In-vivo and vitro bioactivities of the essential oil of *Duguetia lanceolata* branches. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.10, n.14, p.298-310, 2016.

SOUZA, C. R. M.; BEZERRA, W. P.; SOUTO, J.T. Marine alkaloids With Anti-Inflammatory Activity: current knowledge and future perspectives. **Marine Drugs**, v.18, n. 3, 2020.

STÉVIGNY, C.; BAILLY, C.; QUETIN-LECLERCQ, J. Cytotoxic and antitumor potentialities of aporphinoid alkaloids. **Current Medicinal Chemistry**, v.5, n.2, p. 173-182, 2005.

SUWANCHAROEN, S.; TOMMEURD, W.; PHURAT, C.; MUANGSIN, N.; & PORNPAKAKUL, S. Acanthoic acid. **Acta Crystallographica Section & Structure Reports Online**, v. 66, n. 7, p. 1531, 2010.

TAMOKOU, J. D. D.; MBAVENG, A. T.; KUETE, V. Antimicrobial activities of African medicinal spices and vegetables. **Medicinal spices and vegetables from Africa**, p.207-237, 2017.

ZABEL, V.; WATSON, W. H.; PHOEBE, C. H.; KNAPP, J. E.; SCHIFF, P. L.; & SLATKIN, D. J. Melosmine and Melosmidine 7,7-Dimethyltetrahydroaporphine Alkaloids From *Guatteria melosma*. **Journal of Natural Products**, v. 45, n. 1, p. 94–101, 1892.

ZHANG, Z.; ELSOHLY, H. N.; JACOB, M. R.; PASCO, D. S.; WALKER, L. A.; CLARK, A. M. New sesquiterpenoids from the root of *Guatteria multivenia*, **Journal of Natural Products**, v. 65, p. 856-859, 2002.