

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS – ICE
COORDENAÇÃO DO CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA



VICTÓRIA BRANDÃO NARDELLI

IDENTIFICAÇÃO DE ALCALOIDES APORFÍNICOS, OXOAPORFÍNICOS,
TETRAIDROPROTOBERBERÍNICOS E BENZILTETRAISOQUINOLÍNICOS
POR DESREPLICAÇÃO DAS CASCAS DE *UNONOPSIS DUCKEI*

MANAUS

2023

VICTÓRIA BRANDÃO NARDELLI

IDENTIFICAÇÃO DE ALCALOIDES APORFÍNICOS, OXOAPORFÍNICOS,
TETRAIDROPROTOBERBERÍNICOS E
BENZILTETRAIDROISOQUINOLÍNICOS POR DESREPLICAÇÃO DAS
CASCAS DE *UNONOPSIS DUCKEI*

Trabalho de conclusão de curso apresentado
como requisito final para obtenção do título
de Bacharel em Química pela Universidade
Federal do Amazonas.

ORIENTADOR: PROF. DR. EMMANOEL VILAÇA COSTA

MANAUS

2023

Ficha Catalográfica

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

N223i Nardelli, Victória Brandão
Identificação de alcaloides aporfínicos, oxoaporfínicos, tetraidroprotoberberínicos e benziltetraidroisoquinolínicos por desreplicação das cascas de *Unonopsis duckei* / Victória Brandão Nardelli . 2023
38 f.: il. color; 31 cm.

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

1. *Unonopsis duckei*. 2. Alcaloides. 3. Espectrometria de massas. 4. Desreplicação. I. Costa, Emmanoel Vilaça. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

VICTÓRIA BRANDÃO NARDELLI

Identificação de alcaloides aporfínicos, oxoaporfínicos,
tetraidroprotoberberínicos e benziltetraidroisoquinolínicos por desreplicação
das cascas de *Unonopsis duckei*

Trabalho de conclusão de curso apresentado
como requisito final para obtenção do título
de Bacharel em Química pela Universidade
Federal do Amazonas.

Aprovado em 03 de março de 2023

BANCA EXAMINADORA

Dr. Emmanoel Vilaça Costa

Orientador

Dr. Marcos Batista Machado

Coordenador do Curso Bacharelado em Química

Dr. Renyer Alves Costa

Membro da Comissão de Monografia, Estágio e Atividades Complementares

Ao meu pai e minha mãe, que
sempre foram e sempre serão meu
maior incentivo na vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que me dá forças diariamente para superar os desafios e me guia em busca dos meus objetivos;

Aos meus pais, Oliwer e Fátima, que sempre me incentivaram a buscar conhecimento e plantaram a semente ainda na minha infância para que houvesse o interesse pela ciência;

Aos demais familiares, que no decorrer da minha vida sempre estiverem presentes, apoiando com o que fosse necessário para que eu persistisse em busco dos meus objetivos;

Ao José Guilherme, por tudo que compartilhamos, pelo seu apoio, compreensão e parceria desde o início da graduação;

Aos amigos que conquistei durante esta caminhada, Melissa, Jéssica, Victor e Sarah, por termos dividido diversos momentos e apoiarmos uns aos outros para que seguíssemos juntos;

Aos demais colegas do Laboratório de Produtos Naturais, de maneira mais específica ao grupo de pesquisa GEQBiom pela parceria e todo auxílio mútuo;

Ao meu orientador, Dr. Emmanoel Vilaça Costa, que insistiu e me acompanhou desde o início da graduação até aqui e sempre esteve disposto a compartilhar o máximo de conhecimento possível no decorrer deste tempo. Por ter aberto minha mente para o mundo da pesquisa e incentivado a sempre continuar;

Ao Dr. Felipe Moura Araújo da Silva, coordenador do Laboratório de Espectrometria de Massas (LABCEM) – Central Analítica, por ter cedido a matriz de estudo desta monografia e por abrir as portas para realização da pesquisa, bem como por ter auxiliado no domínio do conteúdo no decorrer do estudo;

À Universidade Federal do Amazonas e ao corpo docente do Curso de Bacharelado em Química, agradeço por todo conhecimento compartilhado e oportunidades de desenvolvimento pessoal, acadêmico e social. De modo especial, ao Prof. Dr. Paulo Couceiro, que ainda no início da graduação se mostrou um divisor de águas para o entendimento do mundo que é a universidade, orientando e estando sempre disponível para nos receber e dialogar sobre qual fosse nossa necessidade e/ou anseio;

Por fim, aos programas de apoio e fomento à pesquisa científica CNPq, CAPES e FAPEAM.

*Cada descoberta nova da ciência é uma
porta nova pela qual encontro mais uma vez
Deus, o autor dela.*

- Albert Einstein

RESUMO

A espécie *Unonopsis duckei* R. E. Fr. pertence à família Annonaceae e é encontrada nos estados do Amazonas, Pará e Rondônia. O gênero a que pertence (*Unonopsis*) é descrito como neotropical constituído por árvores e arbustos, tendo atualmente 47 espécies registradas sendo 25 consideradas relativamente novas. Sua distribuição no território nacional é endêmica da região norte com 15 espécies registradas para essa região. A partir de estudos prévios, os alcaloides isoquinolínicos foram identificados nesta espécie. Devido ao grande potencial farmacológico, o interesse e busca por novos alcaloides têm se tornado maior. Por este motivo, o objetivo deste trabalho foi investigar a presença de alcaloides ainda não reportados nesta espécie, a partir da caracterização da fração alcaloídica de suas cascas utilizando espectrometria de massas. As análises realizadas permitiram a identificação preliminar de 12 alcaloides. Dentre eles, foi possível classificá-los em aporfínicos, oxoaporfínicos, tetraidroprotoberberínicos e benziltetraidroisoquinolínicos, sendo: sete alcaloides aporfínicos, anonaina (1), asimilobina (2), nornuciferina (3), isopilina (4), isocoridina (5), glaucina (6) e boldina (7); três oxoaporfínicos, liriodenina (8), oxoputerina (9) e lisicamina (10); um tetraidroprotoberberínico, tetraidropalmatina (11) e um benziltetraidroisoquinolínico fenol, 2-metoxi-5-[(5,6,7,8-tetrahidro-1,3-dioxolo[4,5-g]isoquinolin-5-il)metil]- (9CI, ACI) (12). Entre estes destacam-se os alcaloides isopilina (4), isocoridina (5), boldina (7), oxoputerina (9) e tetraidropalmatina (11) reportados pela primeira vez na espécie. Maior destaque ainda para o alcaloide benziltetraidroisoquinolínico fenol, 2-metoxi-5-[(5,6,7,8-tetrahidro-1,3-dioxolo[4,5-g]isoquinolina-5-il)metil]- (9IC, ACI) (12) que é reportado pela primeira vez como um produto natural. Tais resultados revelam a importância quimiotaxonômica da espécie e abrem espaços para novas explorações não só da espécie, como também do gênero em questão.

Palavras-chave: *Unonopsis duckei*; alcaloides; espectrometria de massas; desreplicação.

ABSTRACT

The species *Unonopsis duckei* R. E. Fr. belongs to the Annonaceae family and is found in the states of Amazonas, Pará and Rondônia. The genus to which it belongs (*Unonopsis*) is described as neotropical consisting of trees and shrubs, currently having 47 registered species, 25 of which are considered relatively new. Its distribution in the national territory is endemic to the northern region with 15 species recorded for this region. From previous studies, isoquinoline alkaloids were identified in this species. Due to the great pharmacological potential, the interest and search for new alkaloids has become greater. For this reason, the objective of this work was to investigate the presence of alkaloids not yet reported in this species, based on the characterization of the alkaloid fraction of its bark using mass spectrometry. The analyzes carried out allowed the preliminary identification of 12 alkaloids. Among them, it was possible to classify them into aporphine, oxoaporphine, tetrahydroprotoberberine and benzyltetrahydroisoquinoline, namely: seven aporphine alkaloids, anonaine (1), asimilobine (2), nornuciferine (3), isopiline (4), isocoridine (5), glaucine (6) and boldine (7); three oxoaporphines, liriodenine (8), oxoputerine (9) and liscamine (10); a tetrahydroprotoberberine, tetrahydropalmatine (11) and a benzyltetrahydroisoquinolinic phenol, 2-methoxy-5-[(5,6,7,8-tetrahydro-1,3-dioxolo[4,5-g]isoquinolin-5-yl)methyl] - (9Cl, ACI) (12). Among these, the alkaloids isopiline (4), isocoridine (5), boldine (7), oxoputerine (9) and tetrahydropalmatine (11) stand out, reported for the first time in the species. Even more important is the alkaloid benzyltetrahydroisoquinolinic phenol, 2-methoxy-5-[(5,6,7,8-tetrahydro-1,3-dioxolo[4,5-g]isoquinolin-5-yl)methyl] - (9Cl - ACI) (12) which is reported for the first time as a natural product. Such results reveal the chemotaxonomic importance of the species and open spaces for new explorations not only of the species, but also of the genus in question.

Keywords: *Unonopsis duckei*; alkaloids; mass spectrometry; desreplication.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esqueletos derivados de benziltetraidroisoquinolínicos	12
Figura 2. Rota Biosintética dos alcaloides benziltetraidroisoquinolínicos.	12
Figura 3. Mapa de distribuição da espécie <i>Unonopsis duckei</i> no Brasil.	13
Figura 4. a) configuração geral da fonte APCI; b) descarga corona.	15
Figura 5. Esquema geral do espectrômetro de massas Ion-trap LTQ-XL, Thermo Scientific.	16
Figura 6. Mecanismo do processo de dissociação por colisão induzida.	17
Figura 7. Espectro de íons totais das cascas de <i>Unonopsis duckei</i>	18
Figura 8. Alcaloides identificados nas cascas de <i>Unonopsis duckei</i>	19
Figura 9. Esqueleto básico de alcaloides aporfínicos.	20
Figura 10. Espectro de fragmentação do íon m/z 266 $[M+H]^+$	21
Figura 11. Mecanismo de fragmentação do íon m/z 266 $[M+H]^+$	21
Figura 12. Espectro de fragmentação do íon m/z 268 $[M+H]^+$	22
Figura 13. Mecanismo de fragmentação do íon m/z 268 $[M+H]^+$	22
Figura 14. Espectro de fragmentação do íon m/z 282 $[M+H]^+$	23
Figura 15. Mecanismo de fragmentação do íon m/z 282 $[M+H]^+$	23
Figura 16. Espectro de fragmentação do íon m/z 298 $[M+H]^+$	24
Figura 17. Proposta de mecanismo de fragmentação para o íon m/z 298 $[M+H]^+$	24
Figura 18. Espectro de fragmentação do íon m/z 342 $[M+H]^+$	25
Figura 19. Proposta de fragmentação para o íon m/z 342 $[M+H]^+$	26
Figura 20. Espectro de fragmentação do íon m/z 328 $[M+H]^+$	27
Figura 21. Esqueleto básico de alcaloides oxoaporfínicos.	27
Figura 22. Espectro de fragmentação do íon m/z 276 $[M+H]^+$	28
Figura 23. Espectro de fragmentação do íon m/z 292 $[M+H]^+$	29
Figura 24. Espectro de fragmentação do íon m/z 306 $[M+H]^+$	30
Figura 25. Esqueleto básico de alcaloides do tipo tetraidroprotoberberínicos.	30
Figura 26. Proposta de mecanismo para o íon m/z 356 $[M+H]^+$	31
Figura 27. Espectro de fragmentação do íon m/z 356 $[M+H]^+$	32
Figura 28. Espectro de fragmentação do íon m/z 314 $[M+H]^+$	33
Figura 29. Proposta de fragmentação para o íon m/z 314 $[M+H]^+$	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Revisão de substâncias identificadas na espécie <i>Unonopsis duckei</i>	13
Tabela 2. Substâncias com grupo metoxila como substituinte no anel D.	29

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	10
1. OBJETIVOS.....	11
1.1. Objetivo geral.....	11
1.2. Objetivos específicos.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
2.1. Classe de substâncias alcaloides.....	11
2.2. A espécie <i>Unonopsis duckei</i>	13
2.3. Espectrometria de Massas.....	14
3. METODOLOGIA.....	17
3.1. Análise por Espectrometria de Massas.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	18
4.1. Perfil cromatográfico da fração alcaloídica das cascas de <i>U. duckei</i>	18
4.2. Identificação de alcaloides aporfínicos.....	20
4.3. Identificação de alcaloides oxoaporfínicos.....	25
4.4. Identificação de alcaloides tetraidroprotoberberínicos.....	30
5. CONCLUSÃO.....	32
6. REFERÊNCIAS.....	35

INTRODUÇÃO

A família Annonaceae Juss. é uma das maiores representantes da ordem Magnoliales, com cerca de 2400 espécies e 108 gêneros distribuídos na região Pantropical. No Brasil, ocorrem 385 espécies distribuídas em 32 gêneros, sendo que a região amazônica abriga 268 espécies, correspondendo a três quartos da diversidade da família Annonaceae. No Amazonas são registradas 211 espécies. (LOBÃO; LOPES; ERKENS; MENDES-SILVA *et al.*, 2023)

Devido à sua rica composição química, vários gêneros de espécies dessa família, como *Annona*, *Guatteria*, *Unonopsis* e *Xylopia*, são frequentemente utilizados na medicina popular para doenças negligenciadas, tais como a doença de Chagas e a malária (COSTA; DUTRA; NOGUEIRA; MORAES *et al.*, 2012); FRAUSIN; LIMA; HIDALGO; MAAS *et al.*, 2014; (DA SILVA; TULLI; MILITAO; COSTA-LOTUFO *et al.*, 2009; SILVA; SOUZA; KOOLEN; BARISON *et al.*, 2014). Vale ressaltar também os resultados promissores diante de múltiplos bioensaios como: antitumoral (COSTA; DA CRUZ; PINHEIRO; MARQUES *et al.*, 2013; COSTA; PINHEIRO; MAIA; MARQUES *et al.*, 2016); leishmanicida (COSTA; PINHEIRO; SILVA; MAIA *et al.*, 2009; LOPEZ; CUCA; DELGADO, 2009); antiviral (OLIVIER; VAN VUUREN; MOTEETEE, 2015); larvívica (ACIOLE; PICCOLI; DUQUE L; COSTA *et al.*, 2011) e antibacteriano (COSTA; MARQUES; PINHEIRO; VAZ *et al.*, 2009; COSTA; TEIXEIRA; MARQUES; DUARTE *et al.*, 2008). Portanto, as pesquisas com óleos essenciais e extratos brutos de plantas dessa família têm aumentado gradativamente, visando isolar os constituintes químicos presentes em suas folhas, cascas, frutos e/ou raízes.

O gênero *Unonopsis* pertencente a esta família, é de localização neotropical, publicado pela primeira vez na literatura por Robert E. Fries em 1900 (MAAS; WESTRA; VERMEER, 2007). O gênero *Unonopsis* é constituído por árvores e arbustos, com 47 espécies registradas, onde 25 são consideradas relativamente novas (ROCHA; DE FREITAS; ANGOLINI; VASCONCELOS *et al.*, 2018). No Brasil, o gênero é conhecido popularmente como envira e endêmico da região norte com 15 espécies descritas na literatura, onde a espécie *Unonopsis duckei* R. E. Fr. é encontrada nos estados do Amazonas, Rondônia e Pará (LOPES; MELLO-SILVA, 2023.; (ROCHA; DE FREITAS; ANGOLINI; VASCONCELOS *et al.*, 2018)

Estudos anteriores revelaram que a espécie é rica em derivados de alcaloides isoquinolínicos, principalmente aporfínicos, oxoaporfínicos e tetraidroprotoberberínicos, sendo até o momento reportados na espécie sete alcaloides: lisicamina, nornuciferina, liriodenina, anonaina, assimilobina, glaziovina e glaucina (DA SILVA; MENEZES; SAMPAIO; MEIRA *et al.*, 2013; ROCHA; DE FREITAS; ANGOLINI; VASCONCELOS *et al.*, 2018). Essas classes de alcaloides têm sido historicamente importantes na química de produtos naturais (PNs) devido a sua atividade terapêutica, incluindo inibição da enzima da acetilcolinesterase, atividades antibacteriana, antiviral, atividade antitumoral e antiplasmódica (LIMA; LEME; COSTA; CASS, 2021).

Recentes estudos com esta espécie relatam atividade contra a leishmaniose (DA SILVA; KOOLEN; DE LIMA; SANTOS *et al.*, 2012) e propriedades antimicrobianas (DA SILVA; DE LIMA; SOARES; DE ALMEIDA *et al.*, 2015). Atividades estas atribuídas a presença de alcaloides, particularmente os isoquinolínicos, e terpenoides.

1. OBJETIVOS

1.1. Objetivo geral

Realizar o estudo fitoquímico da fração alcaloídica do extrato metanólico das cascas de *Unonopsis duckei*, contribuindo para o conhecimento químico das espécies de Annonaceae da Amazônia.

1.2. Objetivos específicos

- Caracterizar dentro da fração alcaloídica das cascas de *Unonopsis duckei* os principais alcaloides aporfínicos e derivados por meio de espectrometria de massas;
- Investigar a existência de alcaloides aporfínicos e derivados ainda não identificados no gênero *Unonopsis* através da análise de perfil químico de *Unonopsis duckei*;
- Confirmar a classificação quimiofenética através da análise do perfil químico da fração alcaloídica das cascas de *Unonopsis duckei*, em comparação com dados de espécies do gênero *Unonopsis* previamente estudadas;

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Classe de substâncias alcaloides

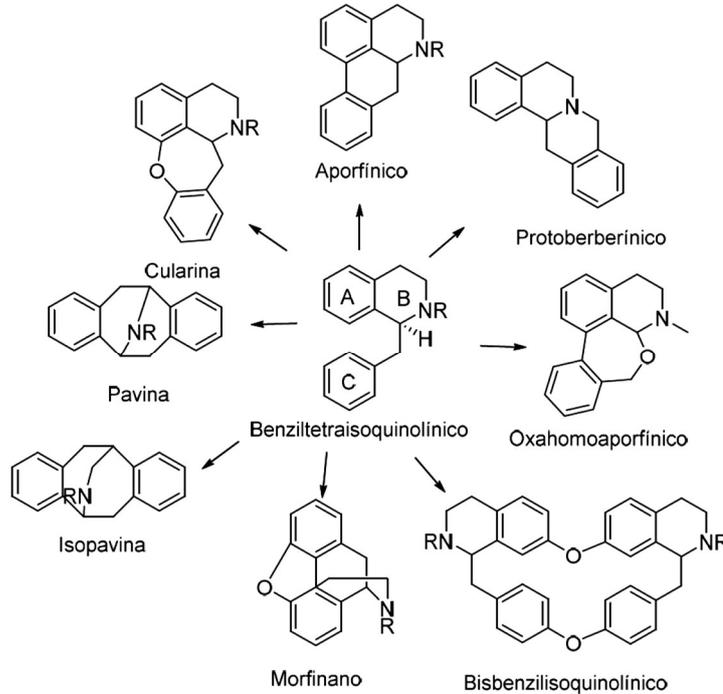
Os alcaloides são um conjunto de compostos químicos que ocorrem de maneira natural, apesar de existirem compostos sintéticos que também são considerados, e que em sua composição possuem átomos básicos de nitrogênio. Além disso, podem conter compostos neutros ou fracamente ácidos. Além dos átomos de carbono, nitrogênio e hidrogênio, estes compostos podem conter enxofre e também fósforo, bromo ou cloro, no entanto, estes últimos com ocorrências raras (DEY; KUNDU; KUMAR; GUPTA *et al.*, 2020).

Por possuírem grande diversidade tanto na origem botânica e bioquímica quanto na estrutura e na ação farmacológica, é possível identificar estes compostos e classifica-los de várias maneiras, entre eles: por precursor molecular, estruturas e origens ou pelas vias biológicas utilizadas para obter a molécula (DEY; KUNDU; KUMAR; GUPTA *et al.*, 2020).

Na família Annonaceae, a presença de alcaloides é uma característica importante, e em sua maioria são derivados da isoquinolina, molécula orgânica heterocíclica aromática que é constituída por um anel benzênico fundido a um anel piridínico (**The Chemistry and Biology of Isoquinoline Alkaloids**, 1985); SAMPAIO, 2014). Os alcaloides isoquinolínicos do tipo benzilisoquinolínicos são frequentemente encontrados na família Annonaceae, onde os principais tipos

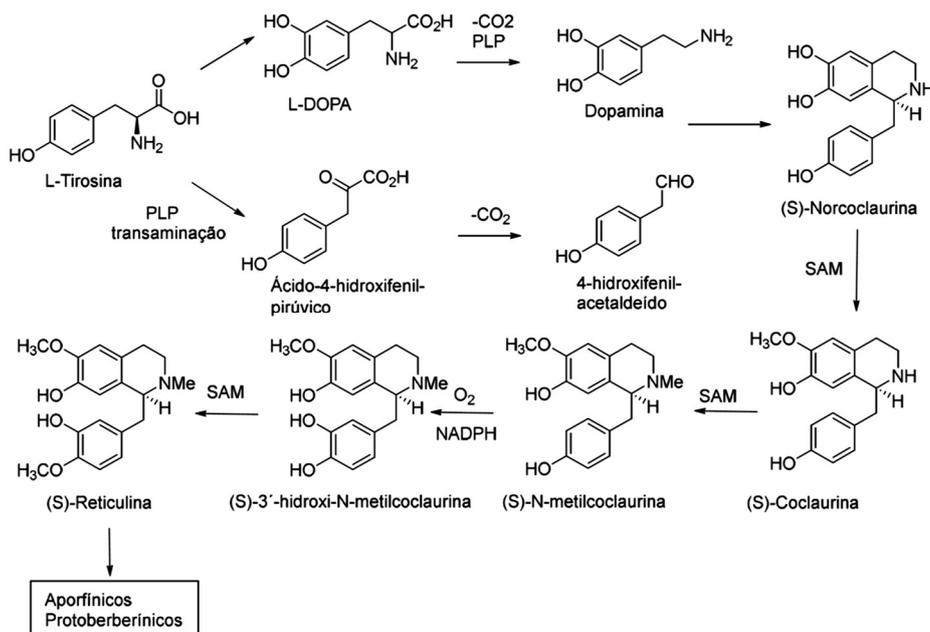
são: isoquinolínicos simples, benziltetraidroisoquinolínicos, bisbenziloisoquinolínicos, protoberberínicos, tetraidroprotoberberínicos, aporfínicos, oxoaporfínicos e fenantrênicos (SILVA, 2011; DE LIMA, 2019).

Figura 1. Esqueletos derivados de benziltetraidroisoquinolínicos



Fonte: DE LIMA, 2019.

Figura 2. Rota Biosintética dos alcaloides benziltetraidroisoquinolínicos.



Fonte: Adaptado de DEWICK, 2009 apud DE LIMA, 2019.

Dando destaque aos alcaloides benziltetraidroisoquinolínicos, precursores de outros esqueletos de alcaloides, sua rota sintética inicia-se a partir do aminoácido *L*-tirosina, onde duas moléculas deste aminoácido sofrem reação paralela, onde uma é descarboxilada para formação da dopamina e a outra dá origem ao ácido 4-hidroxifenilpirúvico por uma reação de transaminação. Ambos os produtos sofrem condensação por reação de Mannich, dando origem ao benziltetraidroisoquinolínico (*S*)-norcoclaurina, que após reações de metilação e oxidação levará a formação de (*S*)-reticulina, precursora dos alcaloides aporfínicos e protoberberínicos (DE LIMA, 2019).

2.2. A espécie *Unonopsis duckei*

A espécie *Unonopsis duckei* é geralmente encontrada em locais de solos mais argilosos e arenosos, em áreas de florestas não inundadas. Sendo exclusivamente composta por árvores de 30 m de altura e 25 cm de diâmetro, possui distribuição nos estados do Amazonas, Pará e Rondônia quando se trata do território brasileiro, sendo conhecida como: envira, envira cascuda, envira preta, envira surucucu e envireira (LOPES, J.; MELLO-SILVA, 2023).

Figura 3. Mapa de distribuição da espécie *Unonopsis duckei* no Brasil.



Fonte: LOPES; MELLO-SILVA, 2023.

Tabela 1. Revisão de substâncias identificadas na espécie *Unonopsis duckei*.

m/z	Substância	Parte da planta		
		Galhos	Cascas	Folhas
266	Anonaina	X	X	
268	Asimilobina	X	X	
276	Liriodenina	X	X	
282	Nornuciferina	X	X	
292	Lisicamina	X	X	
298	Glaziovina			X
342	Norglaucina			X
356	Glaucina			X

Fonte: (SILVA, 2011; (DA SILVA; MENEZES; SAMPAIO; MEIRA *et al.*, 2013).

Estudos anteriores revelaram a presença de alcaloides isoquinolínicos nas várias partes da planta, conforme a TABELA 1. As frações alcaloídicas das folhas e cascas de *U. duckei* possuem registros de atividade contra a leishmaniose (DA SILVA; KOOLEN; DE LIMA; SANTOS *et al.*, 2012). Além disso, os alcaloides reportados também possuem estudos relacionados ao seu potencial no combate contra linhagens de células cancerígenas (COSTA; SOARES; PINHEIRO; MAIA *et al.*, 2018; FERRAZ; BOMFIM; CARVALHO; SOARES *et al.*, 2014; MOGHADAMTOUSI; FADAEINASAB; NIKZAD; MOHAN *et al.*, 2015).

2.3. Espectrometria de Massas

O perfil químico de extratos brutos é uma tarefa difícil de ser estudada devido à complexidade dessas matrizes. Entretanto, avanços tecnológicos de técnicas analíticas tornaram capazes tais estudos que tem altos níveis de sensibilidade e seletividade. Por esse motivo, os métodos cromatográficos compõem a base da caracterização de constituintes presentes nessas matrizes, sendo ferramentas indispensáveis na área de produtos naturais (PNs) (SIMÕES, 2019 apud SILVA, 2022, p. 28; NICULAU; DE FREITAS, DE SÁ, FERNANDES *et al.*, 2016).

A espectrometria de massas é uma técnica que existe há aproximadamente um século e que é muito abrangente dentro da ciência moderna, com a possibilidade de aplicações em diversas áreas da química. Apesar de inicialmente ser restrita a análise de gases, substâncias voláteis e que fossem termicamente estáveis, avanços tecnológicos aos longos dos anos possibilitaram a análise de misturas orgânicas complexas, compostos polares e termicamente lábeis. Além disso, a evolução das técnicas de ionização e dos analisadores de massas possibilitou o acoplamento com a cromatografia líquida, de forma que a fonte de ionização opera em uma região de baixa pressão e o cromatógrafo líquido em pressão atmosférica (CABRAL, 2010).

O pioneiro em trabalhos com uso de *electrospray* como fonte de ionização branda para espectrometria de massas e também ganhador do Prêmio Nobel em Química no ano de 2002, Prof. J. B. Fenn, conceitua a Espectrometria de Massas como uma arte de medir átomos e moléculas a fim de determinar suas massas moleculares, que podem ser suficientes ou auxiliares na identificação e determinação de uma espécie (LANÇAS, 2009).

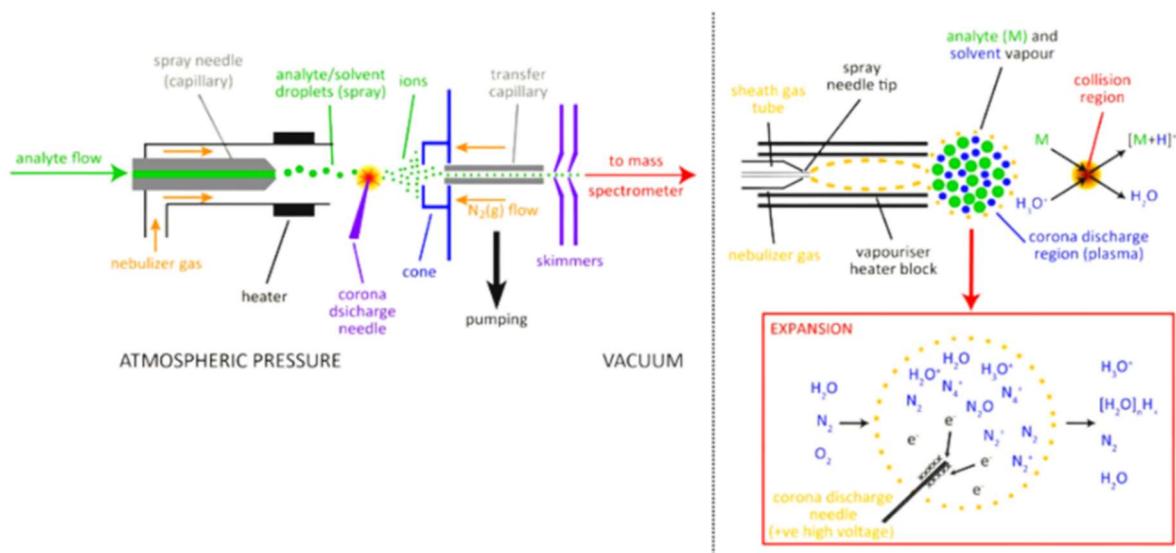
2.3.1. Ionização Química a Pressão Atmosférica (APCI)

A fonte de ionização trata-se de um dispositivo que possibilita a ionização dos analitos de uma determinada amostra antes que está entre no analisador de massas. A escolha da técnica de ionização dentre as mais diversas possibilidades deve levar em consideração tanto as propriedades físico-química do analito quanto a energia que será transferida durante o processo de ionização (DINIZ, 2011).

A técnica APCI é de ionização suave, que ao contrário de ESI, produz na maioria das vezes um grau de fragmentação útil para a realização de caracterizações estruturais. Na figura 4, pode-se observar os componentes de

uma fonte APCI típica, sendo eles: (i) capilar para a realização da pulverização do efluente da LC por meio de um nebulizador concêntrico ao redor do capilar; (ii) tubo vaporizado concêntrico ao redor da saída do capilar que dessolvata as moléculas do analito; (iii) agulha de descarga corona, capaz de produzir íons da névoa molecular que sai do tubo vaporizador, e (iv) entrada pinhole em área de vácuo intermediário ($\sim 10^{-3}$ Torr), com sequência de foco iônico para elementos e *skimmers* que transportam íons para região de alto vácuo no analisador de massa (BYRDWELL, 2001).

Figura 4. a) configuração geral da fonte APCI; b) descarga corona.



Fonte: University of BRISTOL, 2014.

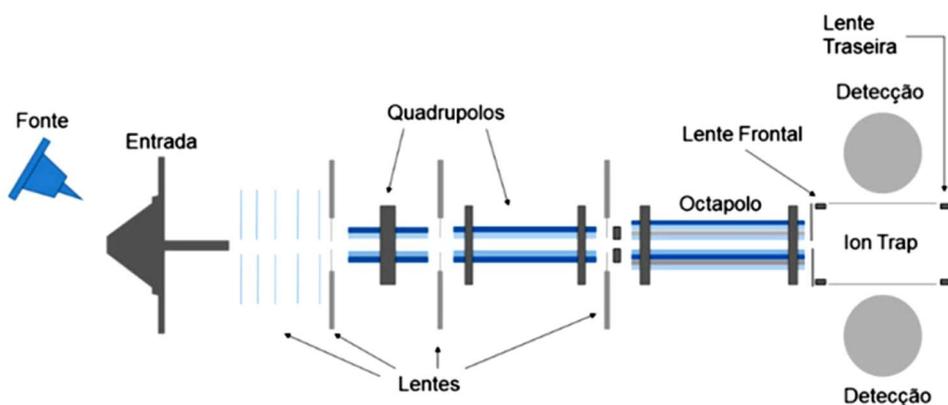
2.3.2. Analisadores de massa

Após os íons serem gerados na fonte de ionização são transferidos para o analisador de massas, nesta região do equipamento a razão m/z é medida. Existem vários tipos de analisadores de massas, como: quadrupolo (Q), aprisionamento de íons (íon trap), tempo de voo (TOF - Time of Flight), setor eletrostático (E), setor magnético (B), configurações híbridas como o setor eletrostático e magnético (BE) e quadrupolo-quadrupolo (Qq), quadrupolo-TOF (QTof) e quadrupolo-íon trap (Qtrap), entre outros (DINIZ, 2011).

Um espectrômetro de massas possui cinco etapas básicas para o funcionamento, sendo elas: (1) introdução da amostra; (2) ionização das moléculas/acúmulo dos íons; (3) passagem do íon pelo analisador para separação de acordo com a m/z ; (4) detector, conta os íons e transforma o sinal em corrente elétrica e (5) processador, que converte o sinal elétrico em m/z . O que determina o valor de um espectrômetro de massas, é o analisador de massas, que funciona de diferentes formas, mas com todos com têm-se resolução e exatidão de massas, normalmente citada em partes por milhão, ppm. Podem variar em resoluções de resolução unitária (1.000) até altíssima resolução (1.000.000) (LYRIO; FEU; MOTTA; FIGUEROA *et al.*, 2022).

O íon trap (IT) é um dispositivo que utiliza de um campo elétrico e radiofrequência oscilante para o armazenamento dos íons. De maneira geral, costumam ser vistos como um duplo quadrupolo onde um eletrodo hiperbólico circular é disposto entre dois eletrodos hiperbólicos. O analito passa pelas lentes *skimmer*, pelos quadrupolos e um octapolo após ser ionizado na fonte, e então chega no analisador, que possui duas lentes, uma frontal e uma traseira, que controlam a quantidade de íons, além de uma câmara de trapeamento linear (LYRIO; FEU; MOTTA; FIGUEROA *et al.*, 2022).

Figura 5. Esquema geral do espectrômetro de massas Ion-trap LTQ-XL, Thermo Scientific.



Fonte: (LYRIO; FEU; MOTTA; FIGUEROA *et al.*, 2022)

Os potenciais elétricos são adaptados no analisador quadrupolar para selecionar os íons de acordo com sua razão m/z , estes íons são esfriados por gás inerte diminuindo sua energia cinética e sendo transportados no eixo axial para dentro do quadrupolo e em seguida para o sistema de detecção (LYRIO; FEU; MOTTA; FIGUEROA *et al.*, 2022).

2.3.3. Dissociação induzida por colisão

O método de dissociação induzida por colisão (CID, do inglês, *Collision Induced dissociation*) é um dos métodos de fragmentação mais comuns, onde os íons selecionados colidem com espécies não reativas, que geralmente são gases He ou Ar, em células de colisão. Em cada colisão é depositada certa quantidade de energia nestes íons que, após inúmeras colisões, podem ter energia suficiente para superar as barreiras de dissociação da coordenada de reação (PENNA; CORRERA, 2020).

Este processo pode ser dividido em duas etapas: a) ativação do íon precursor por meio da colisão com um gás inerte, nesta etapa uma parcela da energia cinética é convertida em energia cinética; b) dissociação unimolecular do íon precursor excitado. Os vários fragmentos gerados nesse processo podem fornecer informações importantes quanto a estrutura do íon, que são utilizadas para identificar e caracterizar este (DINIZ, 2011).

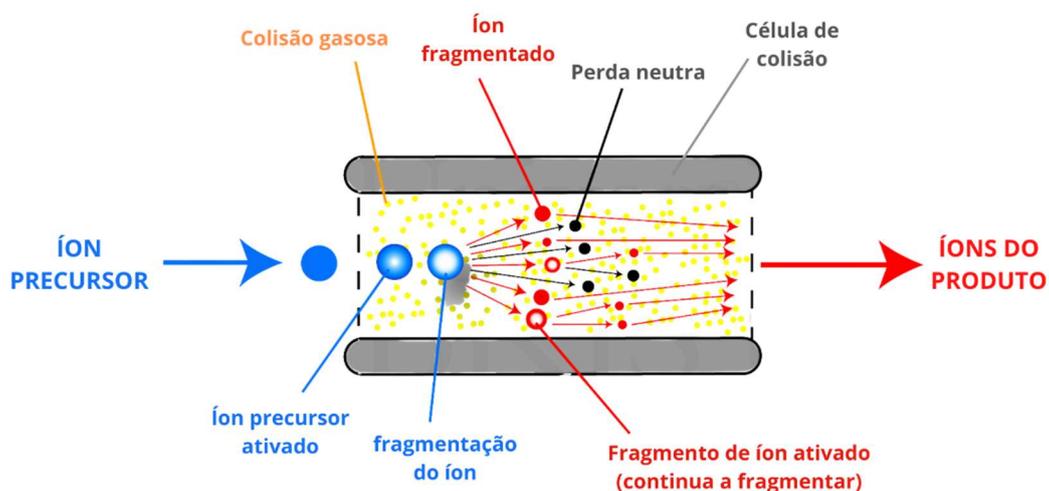
A fragmentação por CID ocorre no ponto da molécula mais favorável energeticamente, principalmente em ligações mais fracas e/ou rotas de

fragmentações que gerem produtos mais estáveis. Neste processo, fragmentações de íons de carga única geram uma molécula carregada e uma neutra, onde só a primeira é detectada e a outra não pode ser observada diretamente. Isto ocorre por eliminações em uma espécie ou insaturações adicionais. Se formada uma ligação em um ponto que aumente a conjugação geral do produto, esta fragmentação será altamente favorecida (tradução nossa, (JOHNSON; CARLSON, 2015).

Este método gera quase que exclusivamente espécies de elétrons pares, o que permite o uso da regra do nitrogênio, em que espécies protonadas com massa nominal ímpar possuirão um número par de átomos de nitrogênio, e sendo o inverso também válido, regra esta é resultado da natureza trivalente do nitrogênio. Além disso, a produção de somente espécies pares garante que os mecanismos de fragmentação por CID não gerem nenhum processo mediado por radicais (tradução nossa, (JOHNSON; CARLSON, 2015).

A produção de produtos e fragmentos iônicos e as ricas informações obtidas em analisadores de massa de estágio único podem ajudar na identificação de componentes, elucidação estrutural e distinção entre isômeros e componentes semelhantes quimicamente em misturas complexas. A fragmentação é muito rápida e viáveis para sistemas simples (PARCHER; WANG; CHITTIBOYINA; KHAN, 2018).

Figura 6. Mecanismo do processo de dissociação por colisão induzida.



Fonte: Adaptado de University of BRISTOL, 2014.

O uso de dissociação induzida por colisão (CID) para o reconhecimento de fragmentações chave tem sido reportado em diversos estudos com alcaloides isoquinolínicos, sendo considerado uma maneira segura e rápida para a identificação de matrizes seguras (SILVA, et al., 2012, SOARES et al., 2015; SILVA et al., 2016 apud DE LIMA, 2019).

3. METODOLOGIA

A fração alcaloídica das cascas de *Unonopsis duckei* foi cedida pelo Dr. Felipe Moura Araujo da Silva, coordenador do Laboratório de Espectrometria de Massas (LABCEM) da Central Analítica Multidisciplinar (CAM-UFAM).

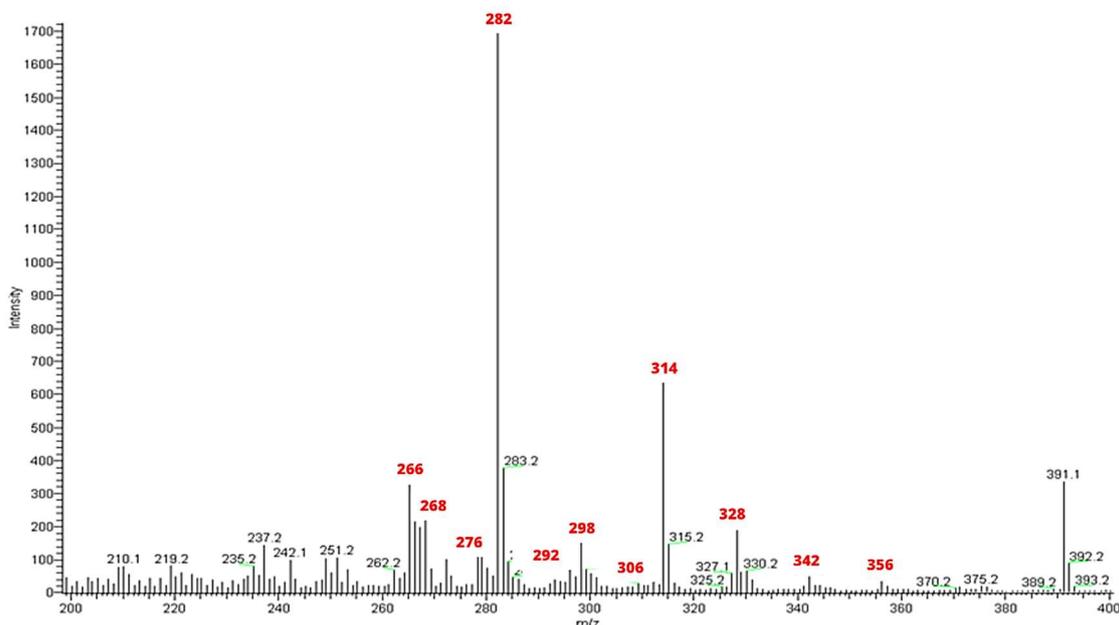
3.1. Análise por Espectrometria de Massas

A fração alcaloídica das cascas de *Unonopsis duckei* foi solubilizada em metanol HPLC, gerando soluções estoque de 1000 ppm. Alíquotas (10 μ L) dessas soluções foram transferidas para vials contendo 1 mL de MeOH. Em seguida, 5 μ L 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 μ A; vaporizer temperature: 320 °C; capillary temperature: 220 °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%.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Perfil cromatográfico da fração alcaloídica das cascas de *U. duckei*

Figura 7. Espectro de íons totais das cascas de *Unonopsis duckei*.



Fonte: O autor.

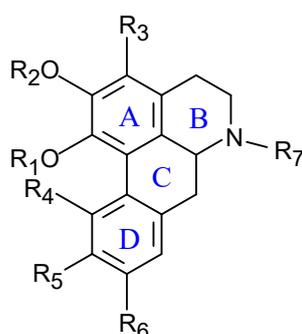
A fração alcaloídica das cascas de *U. duckei* submetida a análises por espectrometria de massas indicou no espectro de íons totais diversos picos de m/z par, sugerindo a presença de substâncias nitrogenadas, contendo pelo menos um átomo de nitrogênio. Dentre estes os mais intensos dentro a região ampliada de m/z 200-400, foram os íons em m/z 282 ($[M+H]^+$), m/z 314 ($[M+H]^+$) e m/z 328 ($[M+H]^+$), e de outros íons com menor intensidade como m/z 266

([M+H]⁺), *m/z* 268 ([M+H]⁺), *m/z* 276 ([M+H]⁺), *m/z* 292 ([M+H]⁺), *m/z* 298 ([M+H]⁺), *m/z* 306 ([M+H]⁺), *m/z* 342 ([M+H]⁺) e *m/z* 356 ([M+H]⁺).

A partir da fragmentação destes íons foi possível a identificação de alcaloides do tipo aporfínicos, oxoaporfínicos, benzilisoquinolínicos e tetraidroprotoberberínicos.

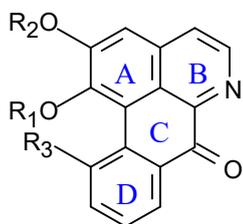
Figura 8. Alcaloides identificados nas cascas de *Unonopsis duckei*.

APORFÍNICOS



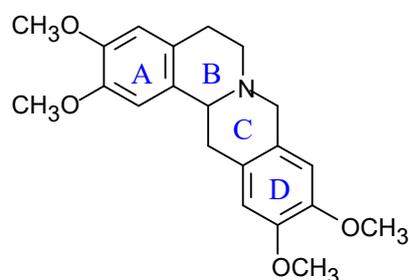
- (1) Anonaina: R₁=R₂=CH₂, R₃=R₄=R₅=R₆=R₇=H
- (2) Assimilobina: R₁=CH₃, R₂=R₃=R₄=R₅=R₆=R₇=H
- (3) Nornuciferina: R₁=R₂=CH₃, R₃=R₄=R₅=R₆=R₇=H
- (4) Isopilina: R₁=R₄=R₅=R₆=R₇=H, R₂=CH₃, R₃=OCH₃
- (5) Isocoridina: R₁=R₂=CH₃, R₃=R₆, H, R₄=OH, R₅=OCH₃, R₇=CH₃
- (6) Glaucina: R₁=R₂=CH₃, R₅=R₆=OCH₃, R₃=R₄=H, R₇=CH₃
- (7) Boldina: R₁=CH₃, R₂=R₃=R₄=H, R₅=OCH₃, R₆=OH, R₇=CH₃

OXOAPORFÍNICOS



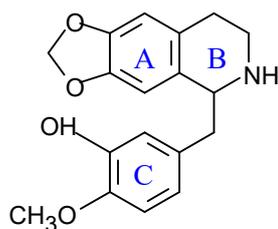
- (8) Liriodenina: R₁=R₂=CH₂, R₃=H
- (9) Oxoputerina: R₁=R₂=CH₂, R₃=OCH₃
- (10) Lisicamina: R₁=R₂=OCH₃, R₃=H

TETRAIDROPROTOBERBERÍNICO



- (11) Tetraidropalmatina

BENZILTETRAIDROISOQUINOLÍNICO



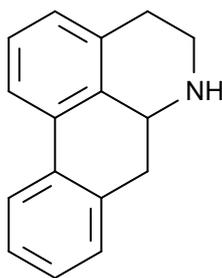
- (12) Phenol, 2-methoxy-5-[(5,6,7,8-tetrahydro-1,3-dioxolo[4,5-g]isoquinolin-5-yl)methyl] - (9CI, ACI)

Fonte: O autor.

4.2. Identificação de alcaloides aporfínicos

As fragmentações chave de alcaloides aporfínicos destacam que há diferentes grupos substituintes em sua estrutura. Sua perda inicial caracteriza a saída de um grupo amino e seu respectivo substituinte que pode ser um -H onde ocorrerá a perda de 17 Da, que corresponde ao grupo -NH₃; ou pode ser um grupo metil -CH₃, que irá resultar em uma perda de 31 Da, que corresponde ao grupo -CH₃NH₂. As perdas seguintes referem-se à saída de grupos periféricos (DE LIMA, 2019).

Figura 9. Esqueleto básico de alcaloides aporfínicos.



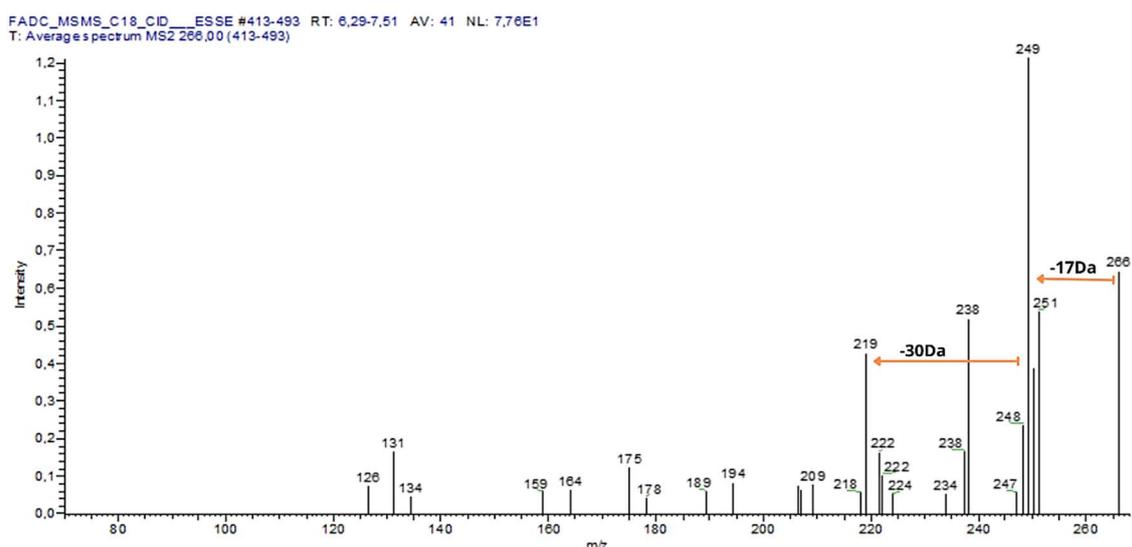
Fonte: O autor.

4.2.1. Fragmentação do íon m/z 266

O íon m/z 266 ($[M+H]^+$) apresentou no espectro de fragmentação MS² uma perda inicial de 17Da, correspondente a perda de -NH₃. Em seguida, uma perda de 30Da que corresponde a perda de -CH₂O. De acordo com a literatura, ao ser utilizado a fonte ESI-MS teria ainda uma perda de 28Da, que corresponde a perda de -CO, na qual não foi observado. O espectro de fragmentação e o mecanismo de fragmentação deste íon são apresentados nas figuras 10 e 11, respectivamente.

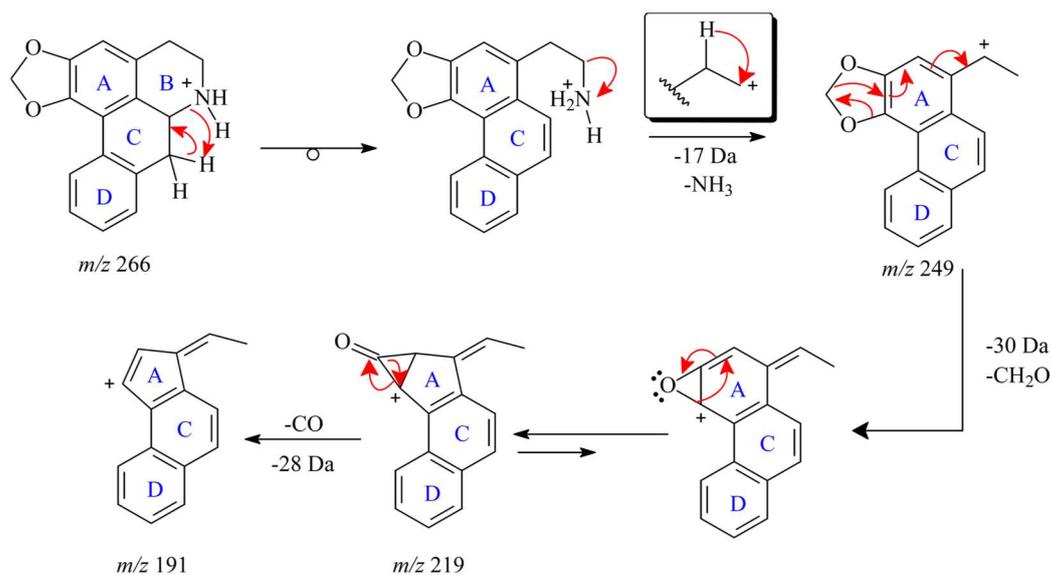
Em comparação com dados da literatura, tais fragmentos associados ao íon de m/z 266 correspondem ao alcaloide aporfínico **anonaina (1)**. Este alcaloide já fora relatado anteriormente na espécie nos galhos e cascas de *U. duckei*.

Figura 10. Espectro de fragmentação do íon m/z 266 $[M+H]^+$.



Fonte: O autor.

Figura 11. Mecanismo de fragmentação do íon m/z 266 $[M+H]^+$.

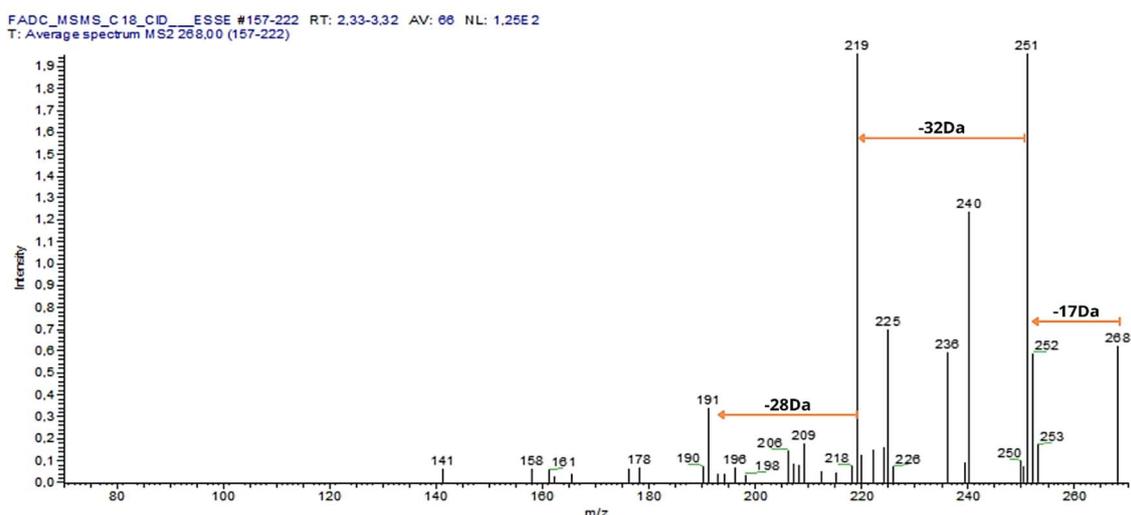


Fonte: O autor (adaptado de DE LIMA, 2019)

4.2.2. Fragmentação do íon m/z 268

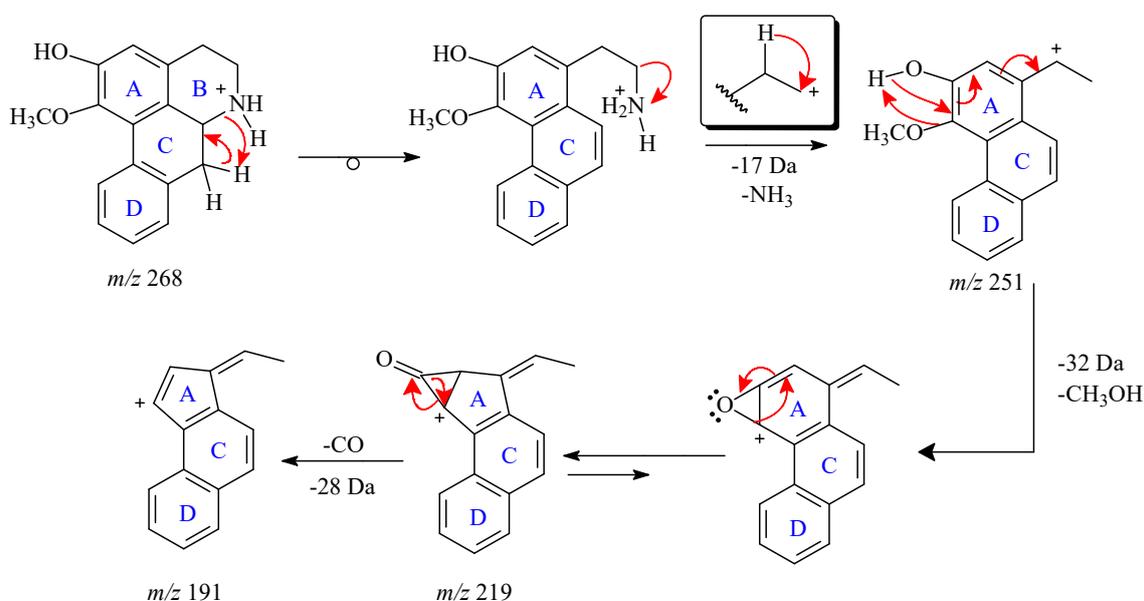
O íon m/z 268 ($[M+H]^+$) apresentou no espectro de fragmentação MS² uma perda inicial de 17Da correspondente ao grupo $-NH_3$ dando origem ao fragmento m/z 251, seguida por perdas de 32Da e 28Da, que correspondem a perdas de $-CH_2OH$ e $-CO$, dando origem aos fragmentos m/z 219 e m/z 191, respectivamente. O espectro de fragmentação e mecanismo de fragmentação deste íon são apresentados nas figuras 12 e 13, respectivamente. Em comparação com dados da literatura, tais fragmentos associados ao íon de m/z 268 correspondem ao alcaloide aporfínico **asimilobina (2)**. Este alcaloide já fora relatado anteriormente na espécie nos galhos e cascas de *U. duckei*.

Figura 12. Espectro de fragmentação do íon m/z 268 $[M+H]^+$.



Fonte: O autor.

Figura 13. Mecanismo de fragmentação do íon m/z 268 $[M+H]^+$.



Fonte: O autor (adaptado de DE LIMA, 2019).

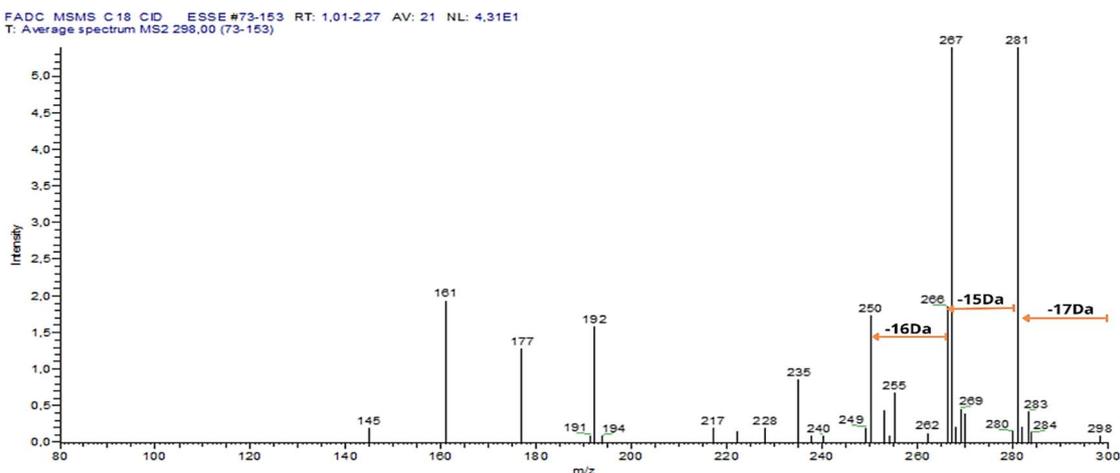
4.2.3. Fragmentação do íon m/z 282

O íon m/z 282 ($[M+H]^+$) apresentou no espectro de fragmentação MS² uma perda inicial de 17Da, correspondente a perda do grupo $-NH_3$, dando origem ao fragmento m/z 265. Em seguida, uma perda de 15Da que correspondem a perda de um grupo metil ($-CH_3$), respectivamente. O espectro de fragmentação e o mecanismo de fragmentação deste íon são apresentados nas figuras 14 e 15, respectivamente.

Em comparação com dados da literatura, tais fragmentos associados ao íon de m/z 282 correspondem ao alcaloide aporfínico **nornuciferina (3)**. Este

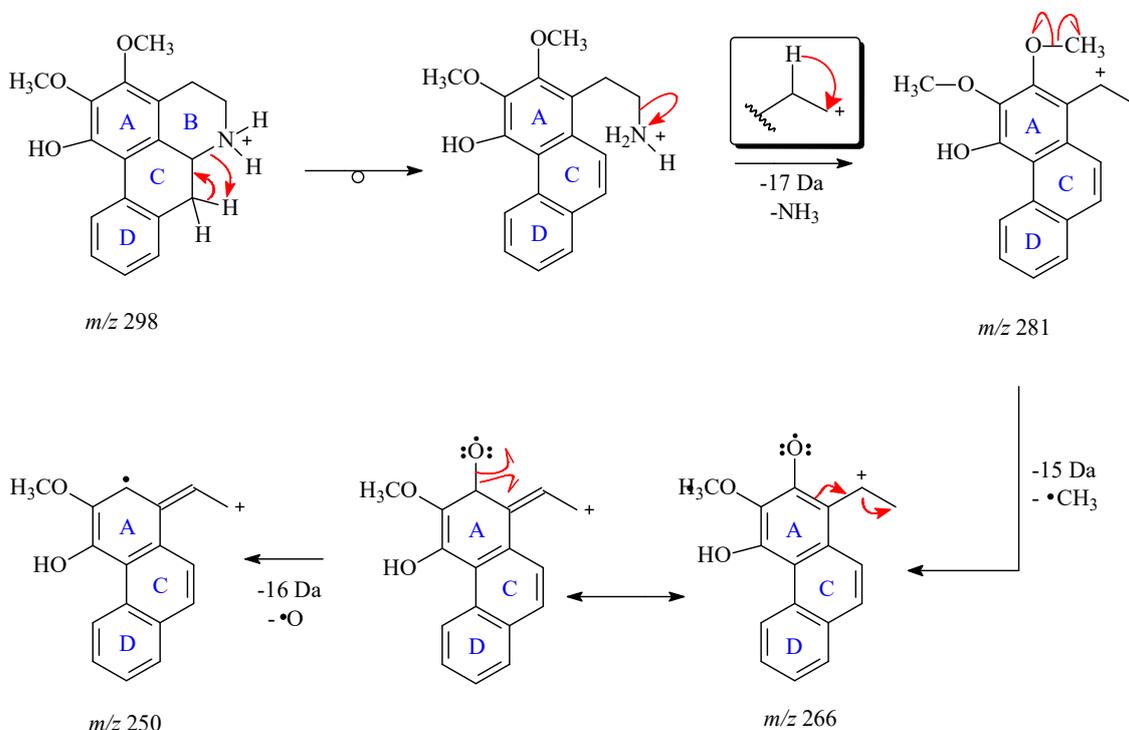
como reações importantes nesse tipo de molécula, é proposto na figura 17 um mecanismo em que a perda de 16 Da está relacionado à uma perda radicalar de oxigênio, reação não muito comum, mas existente na literatura. Ainda com base na literatura, segundo (DE LIMA; DA SILVA; SOARES; DE ALMEIDA *et al.*, 2020) os fragmentos observados (298 → 281 → 266 → 250) são atribuídos para a molécula de **isopilina (4)**, reportada pela primeira vez na espécie. Anteriormente, este íon m/z 298 fora reportado nas folhas da espécie *U. duckei* para o alcaloide glaziovina.

Figura 16. Espectro de fragmentação do íon m/z 298 $[M+H]^+$.



Fonte: O autor.

Figura 17. Proposta de mecanismo de fragmentação para o íon m/z 298 $[M+H]^+$.

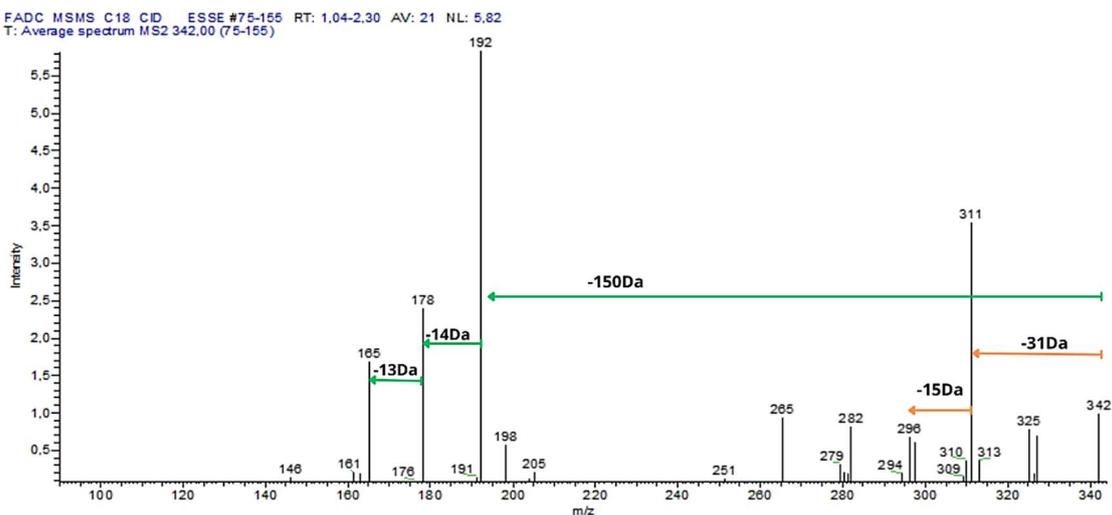


Fonte: O autor.

4.2.5. Fragmentação do íon m/z 342

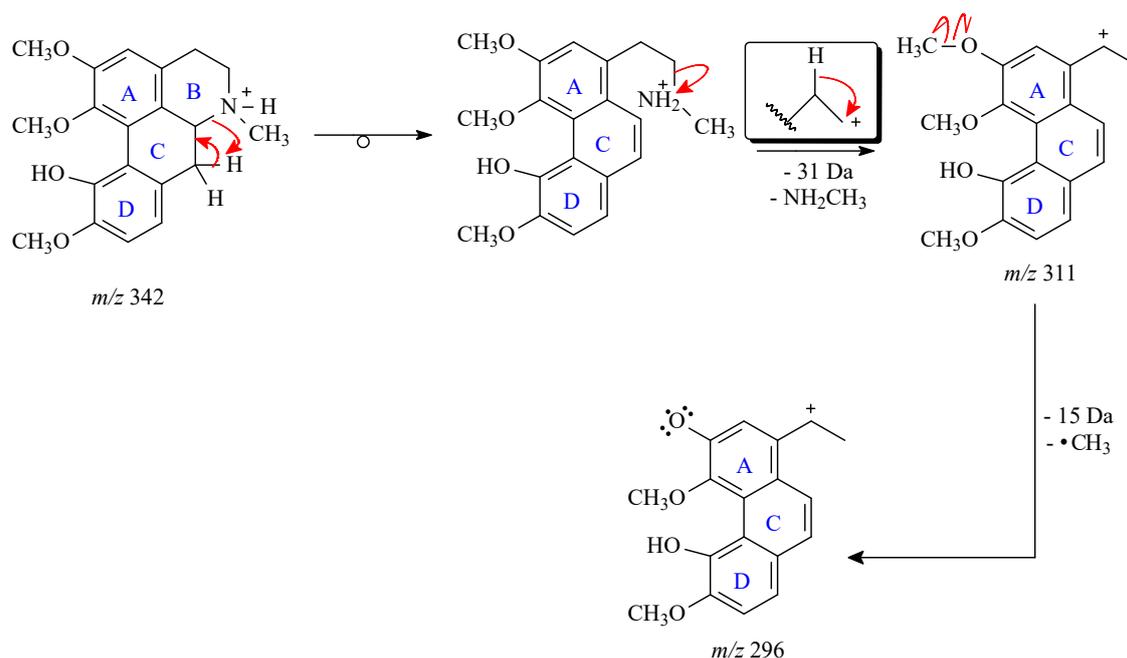
O íon m/z 342 ($[M+H]^+$) apresentou no espectro de MS² perdas competitivas que indicam uma co-eluição. Partindo do íon precursor m/z 342 para m/z 311, observamos uma perda -31 Da, corresponde à perda de um grupo -NH₂CH₃, em seguida, uma perda de -15 Da, indicando uma perda de um grupo -CH₃, dando origem ao fragmento m/z 296. Ao comparar com dados da literatura, pode-se propor essas fragmentações ao alcaloide aporfínico **isocoridina (5)**. Considerando o pico base m/z 192 pode-se associá-lo a uma fragmentação padrão para alcaloides do tipo benzilisoquinolínicos. De Lima (2020), relata a presença de um alcaloide desta classe e a mesma sequência de fragmentação apresentada no experimento realizado. As perdas observadas são demonstradas na figura 18 e o mecanismo de fragmentação proposto para este íon é apresentado na figura 19.

Figura 18. Espectro de fragmentação do íon m/z 342 $[M+H]^+$.



Fonte: O autor.

Figura 19. Proposta de fragmentação para o íon m/z 342 $[M+H]^+$.

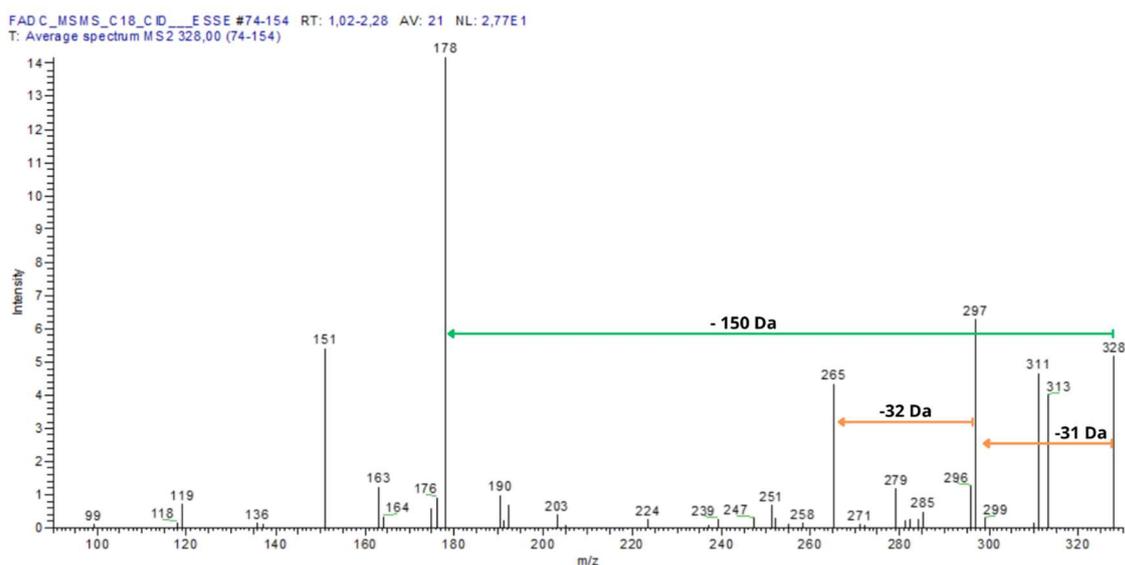


Fonte: O autor.

4.2.6. Fragmentação do íon m/z 328

O íon m/z 328 $([M+H]^+)$ apresentou no espectro de MS^2 perdas competitivas que indicam uma co-eluição. Partindo do íon precursor m/z 328 para m/z 287, observamos uma perda -31 Da, corresponde à perda de um grupo $-NH_2CH_3$, em seguida, uma perda de -32 Da, indicando uma perda de um grupo $-CH_2OH$. Ao comparar com dados da literatura, pode-se associar essas fragmentações ao alcaloide aporfínico **boldina (7)**. Se for avaliado do ponto de vista partindo do íon precursor m/z 328 para o íon m/z 178, pode-se observar um padrão de fragmentação correspondente a um alcaloide do tipo tetraidroprotoberberínico. Na literatura há registros de alcaloides tetraidroprotoberberínicos com m/z 328 e possuindo estes padrões de fragmentação, por exemplo, scoulerina e estefolidina. No entanto, não é possível fazer a diferenciação das moléculas pela técnica utilizada neste estudo.

Figura 20. Espectro de fragmentação do íon m/z 328 $[M+H]^+$.



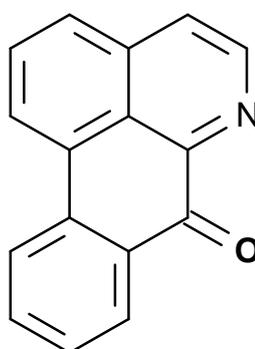
Fonte: O autor.

4.3. Identificação de alcaloides oxoaporfínicos

Os alcaloides oxoaporfínicos são derivados da isoquinolina, possuem uma estrutura condensada com alto sistema conjugado. Fazem parte do seu esqueleto básico o nitrogênio imina heterocíclico e cetona. São descritos na literatura como substituintes regulares somente pontes de dióxido de metileno, hidroxila e metoxila (SILVAA; FILHO; LIMA; ALMEIDA *et al.*, 2016).

Os alcaloides oxoaporfínicos não possuem um mecanismo de fragmentação padrão proposto na literatura, no entanto, estudos apontam que para a maioria destes alcaloides o sítio de protonação preferencial é o átomo de nitrogênio tipo imina heterocíclico. Para aqueles que possuem um grupo hidroxila em C-3, uma transferência de próton em fase gasosa do nitrogênio imina ocorre, o que permite a fragmentação direcionada à carga (SILVAA; FILHO; LIMA; ALMEIDA *et al.*, 2016).

Figura 21. Esqueleto básico de alcaloides oxoaporfínicos.



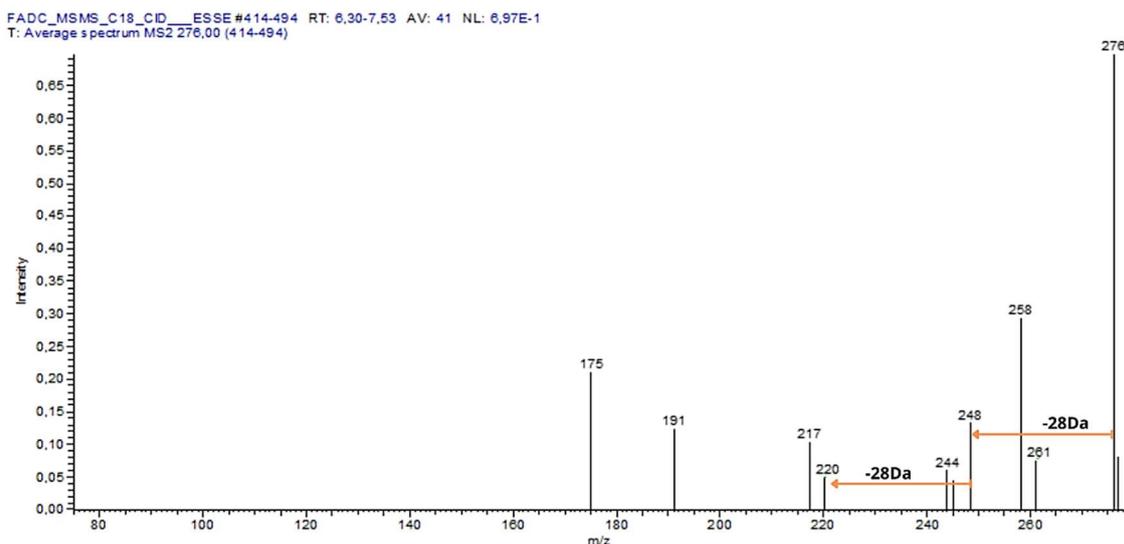
Fonte: O autor.

4.3.1. Fragmentação do íon m/z 276

O íon m/z 276 ($[M+H]^+$) apresentou no espectro de fragmentação MS^2 uma perda inicial de 28Da, seguida por mais outra perda de 28Da. Ambas as perdas correspondem a perdas de -CO, dando origem a fragmentos m/z 248 e m/z 220. O espectro de fragmentação deste íon é apresentado na figura 22.

Em comparação com dados da literatura, tais fragmentos associados ao íon de m/z 276 correspondem ao alcaloide oxoaporfínico **liriodenina (8)**. Este alcaloide já fora relatado anteriormente na espécie nos galhos e cascas de *U. duckei*.

Figura 22. Espectro de fragmentação do íon m/z 276 $[M+H]^+$.



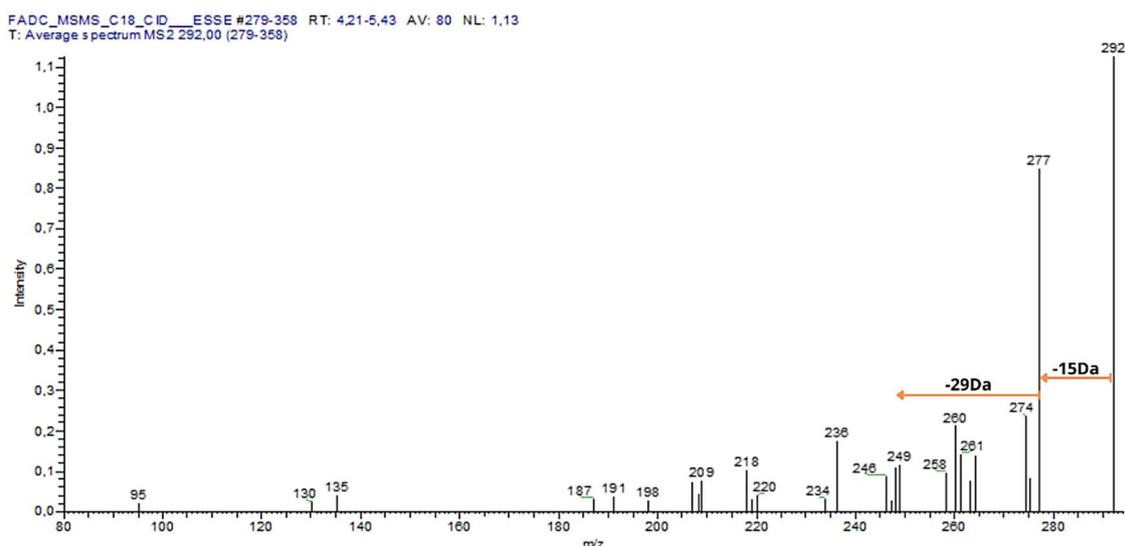
Fonte: O autor.

4.3.2. Fragmentação do íon m/z 292

O íon m/z 292 ($[M+H]^+$) apresentou no espectro de fragmentação MS^2 uma perda inicial de 15Da, correspondente a perda de um grupo metil (-CH₃) e em seguida uma perda de 29Da, correspondente a perda de -COH. O espectro de fragmentação deste íon é apresentado na figura 23.

Em comparação com dados da literatura, tais fragmentos associados ao íon de m/z 292 correspondem ao alcaloide aporfínico **lisicamina (11)**. Este alcaloide já fora relatado anteriormente na espécie nos galhos e cascas de *U. duckei*.

Figura 23. Espectro de fragmentação do íon m/z 292 $[M+H]^+$.



Fonte: O autor.

4.3.3. Fragmentação do íon m/z 306

O íon m/z 306 $[M+H]^+$ apresentou no espectro de fragmentação MS² uma perda inicial de 15Da, correspondente a perda de um grupo metil (-CH₃) e seguida por uma perda de 28Da, que corresponde a perda de -CO. O espectro de fragmentação deste íon é apresentado na figura 24.

Após comparação com dados da literatura, constatou-se que o íon m/z 306 apresentava diferentes possibilidades de substituições do grupo metoxila (-OCH₃) no anel D, podendo haver tal substituição nos carbonos C-8, C-9, C-10 e C-11, correspondendo aos alcaloides oxostefanina, lanuginosina, 10-metoxi-liriodenina e oxoputerina, respectivamente (GUINAUDEAU; LEBOEUF; CAVE, 1975; 1979), conforme a tabela 2.

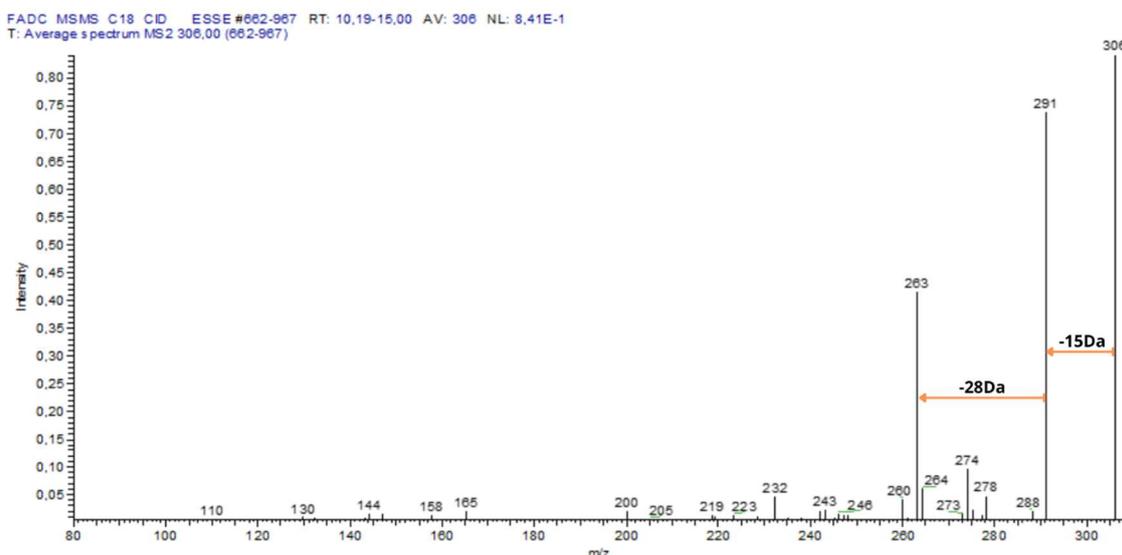
Tabela 2. Substâncias com grupo metoxila como substituinte no anel D.

Substância	C-n	M ^r	Referência
oxostefanina	8	305 → 276	GUINAUDEAU et al., 1979
Lanuginosina	9	305 → 276	GUINAUDEAU et al., 1975
10-metoxi-liriodenina	10	sem dados	
oxoputerina	11	305 → 290 → 263 → 235 → 206 → 204 → 176	GUINAUDEAU et al., 1979

Fonte: O autor.

Em comparação com dados apresentados, observamos que apesar das substâncias citadas possuírem o mesmo esqueleto e mesmo substituintes, mas em carbonos diferentes do anel D, as fragmentações destes íons divergem. Com isso, os fragmentos do íon m/z 306 observados no presente experimento podem ser associados ao alcaloide oxoaporfínico **oxoputerina (9)**. Este alcaloide está sendo relatado pela primeira na espécie *U. duckei*.

Figura 24. Espectro de fragmentação do íon m/z 306 $[M+H]^+$.

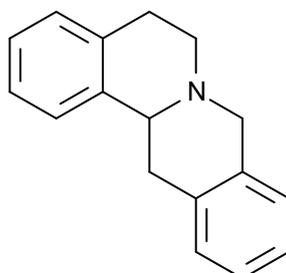


Fonte: O autor.

4.4. Identificação de alcaloides tetraidroprotoberberínicos

Os alcaloides tetraidroprotoberberínicos possuem esqueleto tipo protoberberínico, com íons diagnósticos gerados a partir de reações retro-Diels-Alder (RDA), que possibilitam a caracterização do padrão de substituição dos anéis A e D. (DEMARQUE et al., 2016 apud DE LIMA et al., 2019)

Figura 25. Esqueleto básico de alcaloides do tipo tetraidroprotoberberínicos.



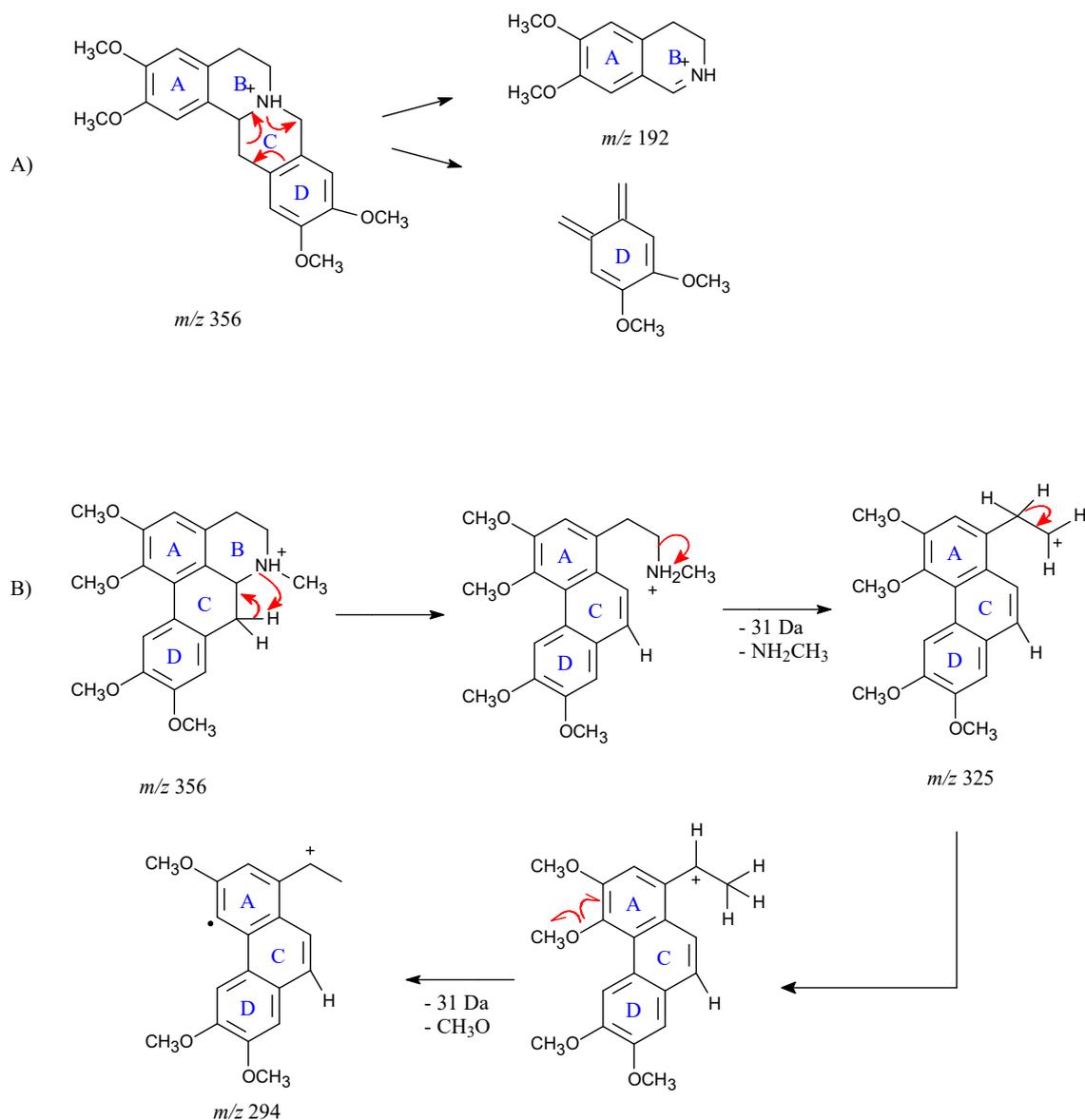
Fonte: O autor.

4.4.1. Fragmentação do íon m/z 356

O íon m/z 356 ($[M+H]^+$) apresentou no espectro de MS^2 diferentes padrões de perdas, indicando uma co-eluição. Essas perdas correspondem a perdas de alcaloides do tipo tetraidroprotoberberínico e aporfínico. O pico base de m/z 192 está associado ao íon diagnóstico de um alcaloide do tipo tetraidroprotoberberínico que possui como substituintes no anel A dois grupos metóxi ($-OCH_3$). Por outro lado, outro pico base com m/z 325 está associado à perda de um alcaloide aporfínico, sendo um fragmento originado a partir de uma perda de 31 Da, correspondente a perda do grupo $-NH_2CH_3$. O segundo pico diagnóstico apresenta m/z 294, associado à perda de um grupo metóxi ($-OCH_3$). A partir de comparações com dados da literatura (SINGH; BAJPAI; KUMAR;

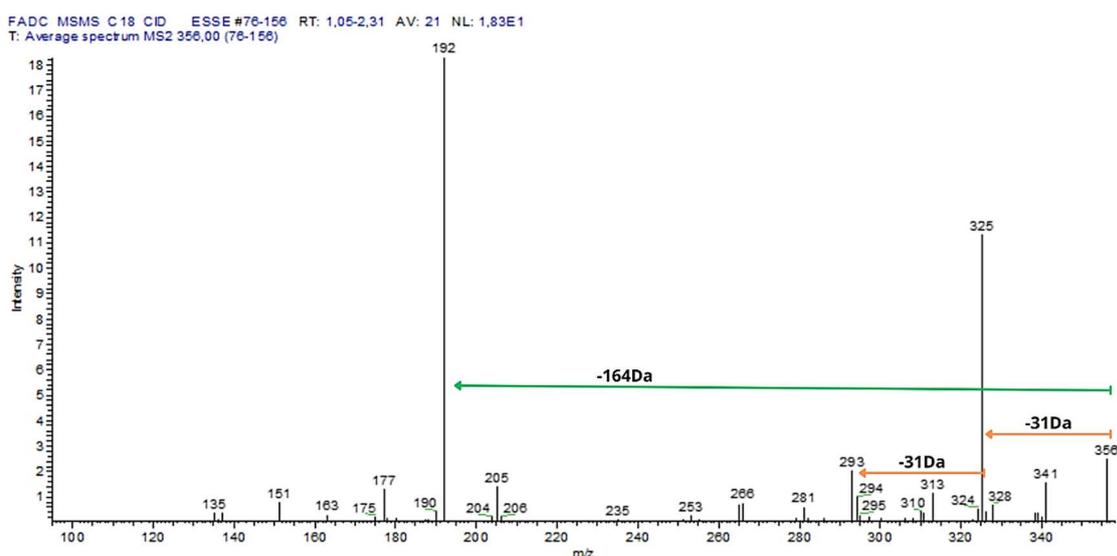
SINGH RAWAT *et al.*, 2017), foi possível propor a presença dos alcaloides **tetraidropalmatina (11)** e **glaucina (6)**. A tetraidropalmatina é reportada pela primeira vez na espécie, enquanto a glaucina já foi reportada nas folhas de *U. duckei*. A proposta de mecanismo de fragmentação e o espectro com suas perdas observadas destes íons, para os dois alcaloides identificados, é apresentado na figura 26 e 27, respectivamente.

Figura 26. Proposta de mecanismo para o íon m/z 356 $[M+H]^+$.



Fonte: O autor.

Figura 27. Espectro de fragmentação do íon m/z 356 $[M+H]^+$.



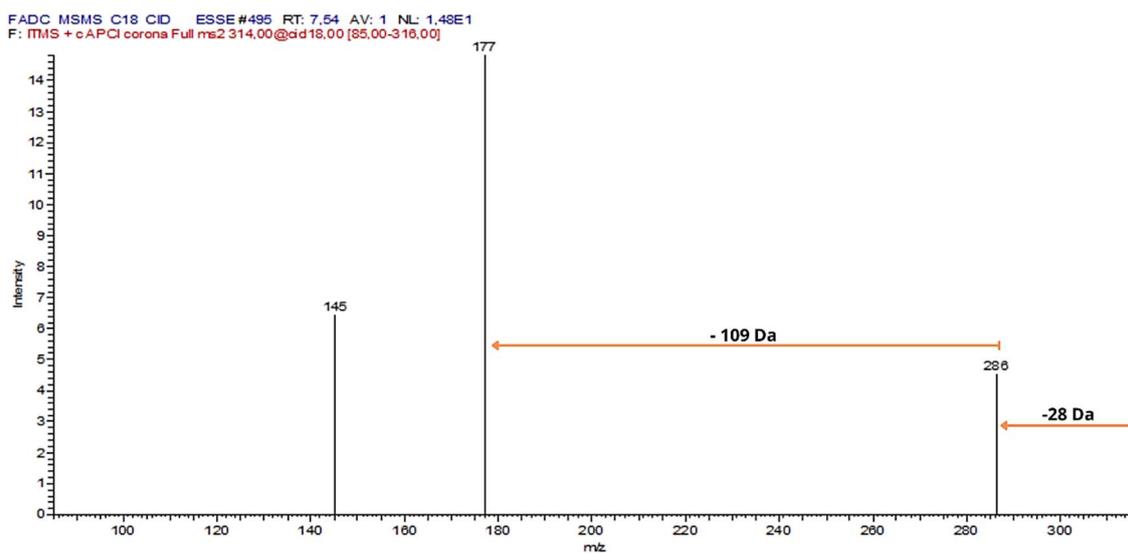
Fonte: O autor.

4.5. Identificação de alcaloides benziltetraidroisoquinolínicos

4.5.1. Fragmentação do íon m/z 314

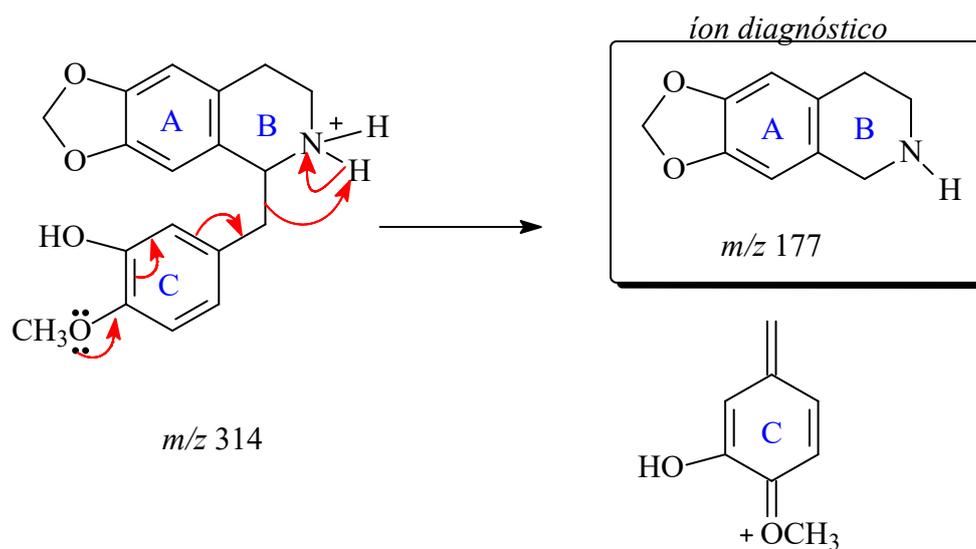
O íon m/z 314 ($[M+H]^+$) apresentou no espectro de MS^2 uma perda inicial de 28 Da, comumente associada a perda de $-CO$, seguida por uma perda de 109 Da. Essas perdas correspondem a um padrão de perdas em alcaloides do tipo benzilisoquinolínicos. A segunda perda não é considerada comum, visto que, a maioria dos registros na literatura indicam os íons diagnósticos neste tipo de alcaloide sendo m/z 192 ou m/z 178, correlacionando-as à respectiva presença ou não de um grupo metila ligado ao nitrogênio imina do anel B. Com isso, podemos propor um possível padrão de fragmentação para quando o substituinte no anel A for um grupo metileno dióxido, resultando em um íon diagnóstico de m/z 177. Com base na literatura (VINOGRADOVA; YUNUSOV; KHAMDAMOV; SADRIDINOV, 1979), propomos que substância para este íon seja o **fenol, 2-metoxi-5-[(5,6,7,8-tetraidro-1,3-dioxolo[4,5-g]isoquinolina-5-il)metil]- (9IC, ACI) (12)**, onde a mesma só foi relatada em síntese de produtos, sendo a primeira vez relatada em produtos naturais. O espectro de fragmentação e a proposta de mecanismo de fragmentação para o íon m/z 314 são apresentados nas figuras 28 e 29.

Figura 28. Espectro de fragmentação do íon m/z 314 $[M+H]^+$.



Fonte: O autor.

Figura 29. Proposta de fragmentação para o íon m/z 314 $[M+H]^+$.



Fonte: O autor.

5. CONCLUSÃO

O perfil alcaloídico das cascas de *Unonopsis duckei* utilizando a técnica de ionização de dissociação induzida por colisão mostrou-se eficaz na busca e identificação de alcaloides isoquinolínicos por meio da sua desreplicação. A partir desta aplicação foi possível a identificação provisória de 12 alcaloides na espécie, classificados como aporfínicos, oxoaporfínicos, tetraidroprotoberberínicos e benziltetraidroisoquinolínicos. Dentre esses, são reportados pela primeira vez na espécie *Unonopsis duckei* os alcaloides aporfínicos isopilina (4), isocoridina (5) e boldina (7); o oxoaporfínico oxoputerina (9) e os tetraidroprotoberberínico e benzilidroprotoberberínico tetraidropalmatina (11) e fenol, 2-metoxi-5-[(5,6,7,8-tetrahydro-1,3-dioxolo[4,5-g]isoquinolina-5-il)metil]- (9IC, ACl) (12), respectivamente. O último citado é reportado pela primeira vez como produto natural, tendo registros anteriores de obtenção a partir de síntese. Estes dados reforçam o significado quimiotaxonômico dos alcaloides isoquinolínicos para a família Annonaceae, principalmente para o gênero e espécie em questão.

6. REFERÊNCIAS

- ACIOLE, S. D. G.; PICCOLI, C. F.; DUQUE L, J. E.; COSTA, E. V. *et al.* Insecticidal activity of three species of *Guatteria* (Annonaceae) against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Rev. Colomb. Entomol.**, 37, n. 2, p. 262-268, 2011.
- BYRDWELL, W. C. Atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for analysis of lipids. **Lipids**, 36, n. 4, p. 327-346, 2001.
- COSTA, E. V.; DA CRUZ, P. E. O.; PINHEIRO, M. L. B.; MARQUES, F. A. *et al.* Aporphine and tetrahydroprotoberberine alkaloids from the leaves of *Guatteria friesiana* (Annonaceae) and their cytotoxic activities. **J. Braz. Chem. Soc.**, 24, n. 5, p. 788-796, 2013.
- COSTA, E. V.; DUTRA, L. M.; NOGUEIRA, P. C. D. L.; MORAES, V. R. D. S. *et al.* Essential oil from the leaves of *Annona vepretorum*: chemical composition and bioactivity. **Nat. Prod. Commun.**, 7, n. 2, p. 265-266, 2012.
- COSTA, E. V.; MARQUES, F. A.; PINHEIRO, M. L. B.; VAZ, N. P. *et al.* 7,7-Dimethylaporphine Alkaloids from the Stem of *Guatteria friesiana*. **J. Nat. Prod.**, 72, n. 8, p. 1516-1519, 2009.
- COSTA, E. V.; PINHEIRO, M. L. B.; MAIA, B. H. L. N. S.; MARQUES, F. A. *et al.* 7,7-Dimethylaporphine and Other Alkaloids from the Bark of *Guatteria friesiana*. **J. Nat. Prod.**, 79, n. 6, p. 1524-1531, 2016.
- COSTA, E. V.; PINHEIRO, M. L. B.; SILVA, J. R. D. A.; MAIA, B. H. L. D. N. S. *et al.* Antimicrobial and antileishmanial activity of essential oil from the leaves of *Annona foetida* (Annonaceae). **Quim. Nova**, 32, n. 1, p. 78-81, 2009.
- COSTA, E. V.; SOARES, L. N.; PINHEIRO, M. L. B.; MAIA, B. H. L. N. S. *et al.* Guaianolide sesquiterpene lactones and aporphine alkaloids from the stem bark of *Guatteria friesiana*. **Phytochemistry (Elsevier)**, 145, p. 18-25, 2018.
- COSTA, E. V.; TEIXEIRA, S. D.; MARQUES, F. A.; DUARTE, M. C. T. *et al.* Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of the Amazon *Guatteria* species. **Phytochemistry (Elsevier)**, 69, n. 9, p. 1895-1899, 2008.
- DA SILVA, D. B.; TULLI, E. C. O.; MILITAO, G. C. G.; COSTA-LOTUFO, L. V. *et al.* The antitumoral, trypanocidal and antileishmanial activities of extract and alkaloids isolated from *Duguetia furfuracea*. **Phytomedicine**, 16, n. 11, p. 1059-1063, 2009.

DA SILVA, F. M. A.; DE LIMA, B. R.; SOARES, E. R.; DE ALMEIDA, R. A. *et al.* Polycarpol in *Unonopsis*, *Bocageopsis* and *Onychopetalum* Amazonian species: chemosystematical implications and antimicrobial evaluation. **Rev. Bras. Farmacogn.**, 25, n. 1, p. 11-15, 2015.

DA SILVA, F. M. A.; KOOLEN, H. H. F.; DE LIMA, J. P. S.; SANTOS, D. M. F. *et al.* Leishmanicidal activity of fractions rich in aporphine alkaloids from Amazonian *Unonopsis* species. **Rev. Bras. Farmacogn.**, 22, n. 6, p. 1368-1371, 2012.

DA SILVA, T. B.; MENEZES, L. R. A.; SAMPAIO, M. F. C.; MEIRA, C. S. *et al.* Chemical composition and anti-Trypanosoma cruzi activity of essential oils obtained from leaves of *Xylopia frutescens* and *X. laevigata* (Annonaceae). **Nat Prod Commun**, 8, n. 3, p. 403-406, 2013.

DE LIMA, B. R.; DA SILVA, F. M. A.; SOARES, E. R.; DE ALMEIDA, R. A. *et al.* Integrative approach based on leaf spray mass spectrometry, HPLC-DAD-MS/MS, and NMR for comprehensive characterization of isoquinoline-derived alkaloids in leaves of *Onychopetalum amazonicum* R. E. Fr. **J. Braz. Chem. Soc.**, 31, n. 1, p. 79-89, 2020.

DEY, P.; KUNDU, A.; KUMAR, A.; GUPTA, M. *et al.*, 2020, **Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids)**. Elsevier B.V. 505.

FERRAZ, R. P. C.; BOMFIM, D. S.; CARVALHO, N. C.; SOARES, M. B. P. *et al.* Cytotoxic properties of the leaf essential oils of *Guatteria blepharophylla* and *Guatteria hispida* (Annonaceae). **Flavour Fragrance J.**, 29, n. 4, p. 228-232, 2014.

GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVE, A. Aporphine alkaloids. **Lloydia**, 38, n. 4, p. 275-338, 1975.

GUINAUDEAU, H.; LEBOEUF, M.; CAVE, A. Aporphine alkaloids. II. **J. Nat. Prod.**, 42, n. 4, p. 325, 1979.

JOHNSON, A. R.; CARLSON, E. E. Collision-Induced Dissociation Mass Spectrometry: A Powerful Tool for Natural Product Structure Elucidation. **Anal. Chem. (Washington, DC, U. S.)**, 87, n. 21, p. 10668-10678, 2015.

LIMA, J. M.; LEME, G. M.; COSTA, E. V.; CASS, Q. B. LC-HRMS and acetylcholinesterase affinity assay as a workflow for profiling alkaloids in *Annona salzmannii* extract. **J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.**, 1164, p. 122493, 2021.

LOPEZ, R.; CUCA, L. E.; DELGADO, G. Antileishmanial and immunomodulatory activity of *Xylopia discreta*. **Parasite Immunol.**, 31, n. 10, p. 623-630, 2009.

LYRIO, M. V. V.; FEU, A. E.; MOTTA, L. C.; FIGUEROA, L. P. R. *et al.* Comparando o desempenho de dois analisadores de massas (FT-ICR MS & LTQ MS): uma aula experimental sobre análise de compostos orgânicos. **Química Nova**, 45, 2022.

MOGHADAMTOUSI, S. Z.; FADAEINASAB, M.; NIKZAD, S.; MOHAN, G. *et al.* *Annona muricata* (Annonaceae): a review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. **Int. J. Mol. Sci.**, 16, n. 7, p. 15625-15658, 2015.

OLIVIER, D. K.; VAN VUUREN, S. F.; MOTEETEE, A. N. *Annickia affinis* and *A. chlorantha* (*Enantia chlorantha*) - A review of two closely related medicinal plants from tropical Africa. **J Ethnopharmacol**, 176, p. 438-462, 2015.

PARCHER, J. F.; WANG, M.; CHITTIBOYINA, A. G.; KHAN, I. A. In-source collision-induced dissociation (IS-CID): Applications, issues and structure elucidation with single-stage mass analyzers. **Drug Test. Anal.**, 10, n. 1, p. 28-36, 2018.

PENNA, T. C.; CORRERA, T. C. TÉCNICAS AVANÇADAS PARA A DIFERENCIAÇÃO DE ISÔMEROS POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS. **Química Nova**, 43, 2020.

ROCHA, P. R. N.; DE FREITAS, F. A.; ANGOLINI, C. F. F.; VASCONCELOS, L.-S. F. *et al.* Statistical mixture design investigation for extraction and quantitation of aporphine alkaloids from the leaves of *Unonopsis duckei* R.E. Fr. by HPLC-MS/MS. **Phytochem. Anal.**, 29, n. 6, p. 569-576, 2018.

SILVA, F. M. A.; SOUZA, A. D. L.; KOOLEN, H. H. F.; BARISON, A. *et al.* Phytochemical study of the alkaloidal fractions of *Unonopsis duckei* R. E. Fr. guided by electrospray ionization ion-trap tandem mass spectrometry. **Phytochem. Anal.**, 25, n. 1, p. 45-49, 2014.

SILVAA, F. M. A.; FILHO, F. A. S.; LIMA, B. R.; ALMEIDA, R. A. *et al.* Chemotaxonomy of the amazonian *Unonopsis* species based on leaf alkaloid fingerprint direct infusion ESI-MS and chemometric analysis. **J. Braz. Chem. Soc.**, 27, n. 3, p. 599-604, 2016.

SINGH, A.; BAJPAI, V.; KUMAR, S.; SINGH RAWAT, A. K. *et al.* Analysis of isoquinoline alkaloids from *Mahonia leschenaultia* and *Mahonia napaulensis*

roots using UHPLC-Orbitrap-MSn and UHPLC-QqQLIT-MS/MS. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, 7, n. 2, p. 77-86, 2017/04/01/ 2017.

STEVIGNY, C.; HABIB JIWAN, J.-L.; ROZENBERG, R.; DE HOFFMANN, E. *et al.* Key fragmentation patterns of aporphine alkaloids by electrospray ionization with multistage mass spectrometry. **Rapid Commun. Mass Spectrom.**, 18, n. 5, p. 523-528, 2004.

The Chemistry and Biology of Isoquinoline Alkaloids. Springer-Verlag, 1985. v. Copyright © 2023 American Chemical Society (ACS). All Rights Reserved.).

VINOGRADOVA, V. I.; YUNUSOV, M. S.; KHAMDAMOV, I.; SADRIDINOV, F. Synthesis and pharmacology of some diisoquinoline alkaloids. **Chemistry of Natural Compounds**, 15, n. 3, p. 296-302, 1979. Article.